UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

DESENVOLUPAMENT D'UNA RUTA SINTÈTICA VIABLE PER A UN API GENÈRIC D'INTERÈS COMERCIAL

Zeno Fazio Zalányi

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

Programa de Doctorat en Química

Facultat de Ciències

Departament de Química

DESENVOLUPAMENT D'UNA RUTA SINTÈTICA VIABLE PER A UN API GENÈRIC D'INTERÈS COMERCIAL

Zeno Fazio Zalányi

Dirigida per:

Dra. Ona Illa Soler

Departament de Química

Universitat Autònoma de Barcelona

Carles Sànchez Casals

Moehs Ibérica S. L.

Bellaterra, Maig 2024

Memòria presentada per Zeno Fazio Zalányi per optar al grau de

Doctor en Química per la Universitat Autònoma de Barcelona

Zeno Fazio Zalányi - Autor

Vist-i-plau:

Dra. Ona Illa Soler

Directora

Carles Sànchez Casals

Tutor de l'empresa

Bellaterra, Maig 2024

Fais de ta vie un rêve et d'un rêve une réalité.

Antoine de Saint-Exupéry

Agraïments.

Primer de tot, m'agradaria agrair a MOEHS Group per donar-me l'oportunitat de realitzar la tesi doctoral en el grup de Productes Nous del MOEHS Group Research Center i a l'AGAUR (Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca) de la Generalitat de Catalunya per la confiança dipositada i pel finançament rebut per realitzar aquesta estada a l'empresa. Així com també a la Helena Camps per la oportunitat.

També voldria donar les gràcies a l'Alicia Dobarro per cuidar-me com una mare però sobretot pel seu pragmatisme. Sempre disposada a ensenyar-me, donar-me un cop de mà, fent un seguiment constant dels meus progressos i treballant sempre per la meva millora diària.

Especial agraïment al meu tutor, en Carles Sànchez, per tot el temps, perseverança, dedicació, coneixement, forma de treballar, energia i molta paciència que ha invertit en mi durant tots aquests anys. M'ha ensenyat tot el que sé... Ha sigut un enorme plaer treballar colze amb colze amb tu i em sento molt orgullós d'haver sigut el teu aprenent. GRÀCIES PER TOT I PER LA TEVA AMISTAT MESTRE!

També m'agradaria donar els més sincers agraïments a la meva directora de tesi, la Dra. Ona Illa, per la seva confiança, ajuda i suport incondicional durant tota la tesi. Tot i molta feina que pogués tenir, sempre ha tret temps de sota les pedres per dedicar-lo en aquest projecte i aportar la seva visió enriquidora, coneixement i experiència. Gràcies per tot l'esforç, hores, e-mails, converses i energia invertida en mi durant tots aquests anys, així com tota l'ajut incondicional rebut. Sense tu, aquest treball no hagués sigut possible.

Agrair a l'Ariadna Garcés, per tot el suport, orientació, ensenyar al "polluelo" i per la seva amistat. Encara que no ho vulgui reconèixer, té un gran cor.

Gràcies a tota la gent del laboratori, però sobretot als companys del despatx per fer-me sentir com a casa. Sempre heu estat disposats a ajudar, donar consells, ensenyar-me i escoltar-me quan més ho necessitava. Gràcies Carles, Oscar, Ariño, Cele, Ronnie, Òscar Ramón, Guiu, Jordi, Elena i Roberto. També a en Esmael, company de projecte. A més gràcies a ells, es generava un molt bon ambient de treball on l'alegria no faltava mai. Trobaré a faltar els esmorzars didàctics... i els croissants.

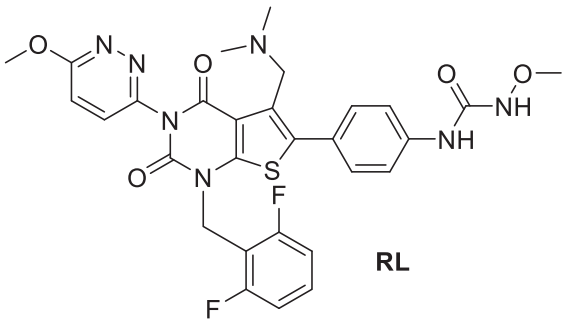
A la meva família, però sobretot a mon pare, per tota la paciència durant aquest període.

Als meus amics per sempre estar al meu costat, preocupant-se per mi i donant-me ànims quan més ho necessitava.

I per últim, i no per això menys important, a la meva parella Andrea per absolutament tot. Principalment per tenir molta paciència durant tot aquests anys, però sobretot en els moments més difícils quan m'ofuscava. Per ensenyar-me a relativitzar, contar fins a mil i que després del 1 ve el 2. Per creure sempre en mi i sempre estar al meu costat en tot. Pel teu amor incondicional i superar els obstacles junts.

RESUM

El propòsit d'aquesta tesi és desenvolupar un procediment de fabricació pel fàrmac Relugolix per poder entrar en el mercat mundial de genèrics, un cop la patent de producte hagi expirat. Aquest medicament s'utilitza pel tractament dels fibromes uterins (Japó) i pel tractament en adults del càncer de pròstata avançat (Estats Units).



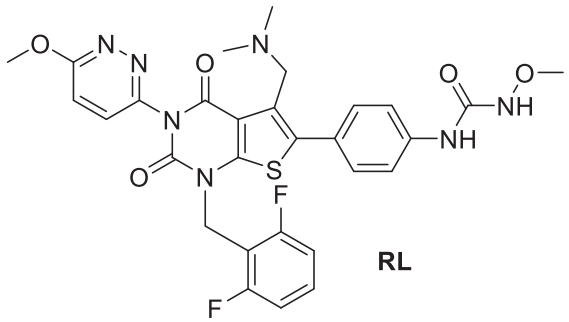
RL

L'objectiu és trobar una nova ruta sintètica competitiva i no infringent pel *principi actiu farmacèutic* (API) i optimitzar-la per tenir un procediment econòmicament viable i industrialitzable, complint amb tots els requisits de seguretat i qualitat. S'han proposat i provat diferents rutes de síntesi (RoS), d'on s'ha adquirit l'experiència i el coneixement sobre la naturalesa del producte en cada ruta prèvia provada. Únicament la RoS B ha demostrat ser una ruta adequada per tal propòsit. La RoS B s'ha verificat en la Fase I i també s'ha optimitzat en la Fase II, arribant -se a la fabricació a escala de KiloLab de dos lots conformes (Fase III).

Paraules clau: MOEHS, fibroides uterins, càncer de pròstata, genèric, API, síntesi, molècula petita.

RESUMEN

El propósito de esta tesis es desarrollar un procedimiento de fabricación para el fármaco Relugolix para poder entrar en el mercado mundial de genéricos, una vez la patente de producto haya expirado. Este medicamento se utiliza para el tratamiento de los fibromas uterinos (Japón) y para el tratamiento en adultos del cáncer de próstata avanzado (Estados Unidos).



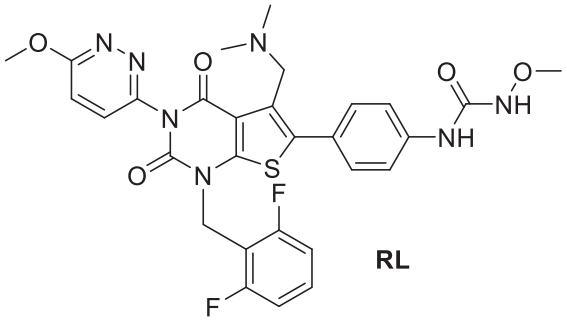
RL

El objetivo es encontrar una nueva ruta sintética competitiva y no infringente para el *principio activo farmacéutico* (API) y optimizarla para tener un procedimiento económicamente viable e industrializable, cumpliendo con todos los requisitos de seguridad y calidad. Se han propuesto y probado diferentes rutas de síntesis (RoS), de las cuales se ha adquirido la experiencia y el conocimiento sobre la naturaleza del producto en cada ruta previa probada. Únicamente la RoS B ha demostrado ser una ruta adecuada para tal propósito. La RoS B se ha verificado en la Fase I y también se ha optimizado en la Fase II, llegando a la fabricación a escala de KiloLab de dos lotes conformes (Fase III).

Palabras clave: MOEHS, fibromas uterinos, cáncer de próstata, genérico, API, síntesis, molécula pequeña.

SUMMARY

The purpose of this thesis is to develop a manufacturing procedure for the drug Relugolix in order to enter the global generics market once the product patent has expired. This drug is used for the treatment of uterine fibroids (Japan) and for the treatment of advanced prostate cancer in adults (United States).



RL

The goal is to find a new, competitive, and non-infringing synthetic route for the active pharmaceutical ingredient (API) and to optimize it to have an economically viable and industrially feasible procedure that meets all safety and quality requirements. Various synthetic routes (RoS) have been proposed and tested, from which experience and knowledge about the nature of the products in each route tested have been acquired. Only RoS B has proven to be an adequate route for this purpose. RoS B was verified in Phase I and further optimized in Phase II, leading to the KiloLab-scale manufacturing of two compliant batches (Phase III).

Keywords: MOEHS, uterine fibroids, prostate cancer, generic, API, synthesis, small molecule.

INDEX

RESUM i
RESUMEN iii
SUMMARY v
INDEX vii
ABREVIACIONS xi
1 INTRODUCCIÓ GENERAL 1
1.1 MOEHS GROUP I EL MGRC 1
1.2 RELUGOLIX 3
1.2.1 Introducció 3
1.2.2 Farmacodinàmica 6
1.2.3 Farmacocinètica 8
1.2.4 Interaccions farmacològiques 9
1.2.5 Forma d'administració 11
1.2.6 Assajos clínics 11
1.2.7 Efectes secundaris 12
2 OBJECTIUS 15
3 RESULTATS I DISCUSSIÓ 19
3.1 FASE 0 19
3.1.1 Introducció 19
3.1.2 Patent EP1591446B1 i US8058280B2 (Takeda, 2004) 23
3.1.3 Patent EP2900675B1 i US9758528B2 (Takeda, 2013) 25
3.1.4 Propostes sintètiques de MOEHS 27
3.1.5 Punts crítics del projecte 35
3.2 FASE I 39
3.2.1 Introducció 39
3.2.2 PoC patent EP2900675B1 (Takeda) 39
3.2.3 RoS B 50
3.2.4 RoS B.1 55
3.2.5 RoS C 68

3.2.6 RoS D 77
3.3 FASE II i III 111
3.3.1 Introducció 111
3.3.2 Optimització de RL-1 a RL-7 111
3.3.3 Optimització de l'obtenció de RL-24 116
3.3.4 Optimització de l'obtenció de RL-25 136
3.3.5 Optimització de l'obtenció de Relugolix 150
3.4 DESENVOLUPAMENT ANALÍTIC 183
3.4.1 Introducció 183
3.4.2 Mètode de *substàncies relacionades* 184
3.4.3 Caracterització de l'API genèric 201
3.4.4 Especificacions de l'API genèric 206
3.4.5 Estudis d'estabilitat de l'API genèric 208
4 CONCLUSIONS 215
5 PART EXPERIMENTAL 219
5.1 MÈTODES GENERALS 219
5.2 INSTRUMENTS I METODOLOGIA EMPRADA 219
5.2.1 Espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear (RMN) 219
5.2.2 Cromatografia de líquids 219
5.2.3 Cromatografia de gasos 223
5.2.4 Difracció de Raigs-X 224
5.2.5 Espectroscòpia infraroja (IR) (procediment *Ph. Eur. 2.2.24*) 224
5.2.6 Contingut d'aigua per Karl-Fischer (procediment *Ph. Eur. 2.5.12*) 224
5.2.7 Anàlisi de contingut de metalls 224
5.3 PREPARACIÓ DELS INTERMEDIS SINTÈTICS 225
5.3.1 PoC patent EP2900675B1 (Takeda) 226
5.3.2 RoS B 239
5.3.3 RoS C 248
5.3.4 RoS D 249
5.3.5 Síntesi d'impureses 283
ANNEXOS I

ABREVIACIONS

2-ClPyr: 2-cloropiridina
2-MeTHF: 2-metiltetrahidrofuran
4-NO_2-Phoc-Cl: cloroformiat de 4-nitrofenil
(ΔT_{ad}): increment de temperatura adiabàtic
ΔHr: entalpia de la reacció
AAPH: dihidroclorur de 2,2'-azobis(2-metilpropionamidina)
ABC: àrea sota la corba
ACN: acetonitril
ADVN: 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril)
AIBN: 2,2'-azobis(2-metilpropionitril)
Alloc: al·liloxicarbonil
AMVN: 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril)
API: principi actiu farmacèutic
Boc: *tert*-butoxicarbonil
carry-over: impuresa arrossegada
Cbz: benziloxicarbonil
CCP: certificat complementari de protecció
CDI: 1,1-carbonildiimidazole
CDMO: organització de desenvolupament i fabricació per contracte
CMO: organització de fabricació per contracte
CRO: organització de recerca per contracte
d: doblet
dd: doblet de doblets
DABCO: 1,4-diazabiciclo[2.2.2]octà
DBU: 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-è
DCM: diclorometà
DEA: dietilamina
DEPC: pirocarbonat de dietil
DIC: *N,N'*-diisopropilcarbodiimida
DIPEA: *N,N*-diisopropiletilamina
DIU: 1,3-diisopropilurea
DMA: dimetilamina
DMAc: dimetilacetamida
DMF: dimetilformamida
DMSO: dimetil sulfòxid
DMSO-d_6: dimetil sulfòxid deuterat
DoE: disseny d'experiments
DSC: calorimetria diferencial de rastreig
E-DMF: arxiu mestre del fàrmac europeu
eq.: equivalents
ESI-MS: espectrometria de masses amb ionització d'electroesprai
FDA: administració d'aliments i fàrmacs
FHS: hormona estimulant del fol·licle
GC: cromatografia de gasos
GC-HS: cromatografia de gasos d'espai de cap
GMP: normes de bones pràctiques de fabricació
GnRH: hormona alliberadora de gonadotropina
HPLC: cromatografia líquida d'alta eficàcia
ICH: consell internacional per a l'harmonització de requisits tècnics per a protocols farmacèutics per a ús humà
ICP-OES: espectrometria atòmica amb plasma d'acoblament inductiu
INI: impuresa no identificada
IPA: 2-propanol

IPC: control en procés
IR: infraroig
KF: Karl-Fischer
LH: hormona luteinizant
M: molaritat
m: multiplet
MEK: etilmetilcetona
MGRC: MOEHS GROUP RESEARCH CENTRE
MIDA: àcid trivalent *N*-metiliminodiacètic
MS: espectrometria de masses
MTBE: metil *tert*-butil èter
MTSR: màxima temperatura de síntesi
MTT: temperatura màxima tolerable pel sistema
N: normal
NBS: *N*-bromosuccinimida
n. d.: no detectat
NIS: *N*-iodosuccinimida
NMO: *N*-òxid de *N*-metilmorfolina
NMP: *N*-metilpirrolidona
Oxyme Pure ®: (2*Z*)-2-ciano-2-hidroxiiminoacetat d'etil
PDA: detector de fotodíodes en sèrie
Phoc: feniloxicarbonil
PoC: prova de concepte
PoD: prova de desenvolupament analític
ppm: part per milió
PSD: distribució de la mida de partícules
PTE: extensió del termini de la patent
PTFE: politetrafluoroetilè
Pyr: piridina
q: quadruplet
QDa: espectròmetre de masses quadrupolar
RH: humitat relativa
RL: Relugolix
RMN: ressonància magnètica nuclear
RoS: ruta de síntesi
rpm: revolucions per minut
rt: temperatura ambient, 20-25 ºC
s: singlet
SR: substàncies relacionades
T_{24}: temperatura màxima que es pot treballar durant 24 h sense descomposició
t: temps
t: triplet
T3P ®: anhídrid 2-propanfosfònic
TEA: trietilamina
TEMPO: (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oxil
TEOS: tetraetil ortosilicat
TFT: trifluorometilbenzè
THF: tetrahidrofuran
TMR_{ad}: temps per a l'índex màxim
TPAP: perrutenat de tetrapropilamoni
TPPO: òxid de trifenilfosfina
Troc: 2,2,2-tricloroetoxicarbonil
tt: triplet de triplets
UPLC: cromatografia líquida d'alta resolució
UHPLC: cromatografia líquida d'ultra-alta eficàcia
U. O.: unitat operatòria
US-DMF: arxiu mestre del fàrmac nord americà
UV: ultraviolat
Vol: volums

CAPITOL 1

Introducció general

1 INTRODUCCIÓ GENERAL

1.1 MOEHS GROUP I EL MGRC

El Grup MOEHS és la unió farmacèutica de diferents companyies de l'àrea de la química fina. La seva activitat majoritària se centra en la fabricació d'*ingredients farmacèutics actius* (APIs de l'anglès *active pharmaceutical ingredient*) genèrics i en la *fabricació personalitzada* (CDMO, de l'anglès *contract development and manufacturing organization*) per a la indústria farmacèutica. El Grup MOEHS està format per 11 centres de recerca i de producció a Europa i Nord Amèrica: MOEHS IBERICA, MOEHS CATALANA, MOEHS GROUP RESEARCH CENTER, MOEHS CANTABRA, COPRIMA, PROTEOS BIOTECH i MOEHS BCN a Espanya; BENECHIM a Bèlgica; NORCHIM a França; CHEMISCHE FABRIK BERG a Alemanya i Zeta Pharmaceuticals als Estats Units. Està present en més de 90 països, representat en les diferents plantes de fabricació i la seva àmplia xarxa de ventes. A maig de 2024, la companyia oferia 35 productes químics i 20 compostos que es troben en les últimes etapes de desenvolupament.[1,2]

MOEHS fou fundada a Rubí (Espanya) el 1962 pel Sr. Melchor Mallasen Ornat (**M**allasen **O**rnat **e** **H**ijo**s**) sent una empresa de química fina de fabricació per a la indústria farmacèutica. L'any 1980, MOEHS va passar a formar part de la secció química del grup francès Sanofi, esdevenint la principal planta de fabricació situada a Espanya durant els següents 15 anys. Al 1995, MOEHS fou adquirida per l'American Plastic Management Corporation i, juntament amb altres companyies del sector, es creà una amplia xarxa europea de química fina.

L'any 2000, la companyia original MOEHS S.A. canvia de nom i es divideix en dos: MOEHS IBERICA com l'entitat financera i MOEHS CATALANA com la planta de producció. Un any més tard, s'inaugura una nova planta de fabricació a Polanco, Cantabria (MOEHS CANTABRIA).

Entre el 2005 i 2009, el Grup MOEHS amplia la seva xarxa amb la compra de COPRIMA (2005), BENECHIM (2008), NORCHIM (2008) i CHEMISKIE FABRIK BERG (2009) sent centres de fabricació. L'any 2011, s'expandeix en el camp de la biotecnologia, comprant el 50 % de PROTEOS BIOTECH (més tard esdevé el 60 %).[3] Amb l'obertura de MOEHS BCN el 2013, s'augmenta la capacitat productora del grup, millorant així el servei al client. Zeta Pharmaceuticals s'uneix al Grup MOEHS l'any 2019,

[1] https://moehs.com/es/productos-y-servicios/genericos/ [Accés, 25 de maig 2024].
[2] https://moehs.com/es/productos-y-servicios/productos-pipeline/ [Accés, 25 de maig 2024].
[3] A setembre de 2023, PROTEOS BIOTECH deixa de formar part del Grup MOEHS.

oferint serveis de fabricació per contracte (CMO, de l'anglès *contract manufacturing organization*), d'investigació personalitzada (CRO, de l'anglès *contract research organization*) així com també la síntesi personalitzada.

A mitjans de 2017, s'inaugura el nou centre d'investigació i desenvolupament a Rubí: MOEHS GROUP RESEARCH CENTER (MGRC). Aquest agrupa tota la investigació, desenvolupament i innovació del Grup MOEHS.

El MGRC està format per un equip amb més de 60 professionals qualificats que treballen amb més de 60 principis actius contínuament. El centre es divideix en diverses àrees, on diàriament, constantment, cooperativament i treballant de forma rigorosa, asseguren la producció de compostos orgànics nous i competitius pel mercat d'APIs. Aquestes àrees són els següents departaments: Registres, Propietat Intel·lectual, Toxicologia, Productes Nous i Desenvolupament.

L'equip d'investigadors de Productes Nous és el responsable de l'estudi i disseny de noves rutes sintètiques i dels mètodes analítics adequats per als diferents compostos orgànics. Juntament amb l'equip de Desenvolupament, hi ha un seguiment constant dels projectes des de les etapes preliminars a escala laboratori fins a la seva transferència a la indústria, amb una millora continua assegurant productes d'alta qualitat i competitius.

El desenvolupament d'un procés de fabricació està basat en mètodes capdavanters en el sector. MOEHS treballa amb els seus nous projectes seguint les següents fases:

· **Fase 0:** proposta de rutes sintètiques (RoS, de l'anglès *route of synthesis*) viables i avaluació de riscos.

· **Fase I:** disseny, verificació i selecció de la RoS i forma polimòrfica de l'API. Obtenció d'una mostra preliminar del producte acabat i sol·licitud de patents.

· **Fase II:** optimització de la RoS seleccionada i estudis de seguretat. Preparació d'una mostra pels possibles clients del producte acabat.

· **Fase III:** escalats sense estar sota les *normes de bones pràctiques de fabricació* en la planta pilot i optimització continua de la RoS seleccionada.

· **Fase IV:** validació del procediment de fabricació produint 3 lots seguint la normativa de bones pràctiques de fabricació (GMP, de l'anglès *good manufacturing practice*) i elaboració de l'arxiu mestre del fàrmac (DMF, de l'anglès *drug master file*) de l'API, per exemple pel mercat nord americà i/o europeu (US-DMF i E-DMF, respectivament).

· **Fase V:** industrialització i gestió del cicle de vida del producte.

L'àrea sintètica del departament de Productes Nous centra la seva activitat en les etapes inicials del projecte (Fase 0 a Fase III) mentre que el departament de

Desenvolupament es focalitza en la validació i transferència a escala industrial del procés (Fase IV i V).

El Relugolix va ser escollit com a nou API per a la cartera de productes per oferir del Grup MOEHS per ser estudiat, deguda la seva demostrada eficàcia en el tractament de fibromes uterins, així com més recentment en el tractament del càncer de pròstata.

1.2 RELUGOLIX

1.2.1 Introducció

El Relugolix (CAS: 737789-87-6, ***Figura 1***) és un fàrmac no peptídic oral antagonista de l'hormona alliberadora de gonadotropina (GnRH) utilitzat pel tractament dels fibromes uterins (Japó) i pel tractament en adults del càncer de pròstata avançat (Estats Units). Va ser desenvolupat per l'empresa Takeda juntament amb ASKA Pharmaceuticals (TAK-385).[4] El fet de ser un antagonista de la GnRH amb naturalesa no peptídica, millora l'estabilitat metabòlica i la seva biodisponibilitat oral, degut a la seva millor solubilitat en l'aigua.[5]

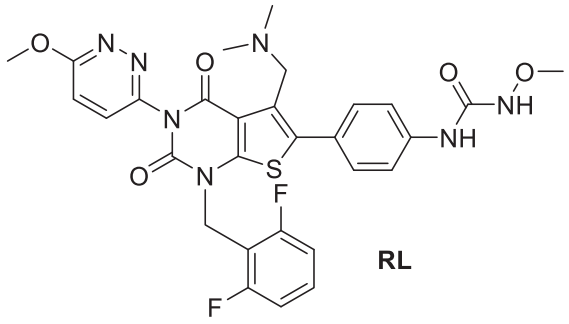


Figura 1: *Estructura del Relugolix.*

La seva comercialització va ser aprovada al Japó en el mes de febrer de 2019 pel tractament dels fibromes uterins i als Estats Units va ser aprovat per l'Administració d'Aliments i Medicaments (FDA, de l'anglès *food and drug administration*) al desembre de 2020 pel càncer de pròstata avançat.[6] Es comercialitza sota la marca Orgovyx ® (pel càncer de pròstata) i Relumina ® (pels fibromes uterins). Actualment, també s'està estudiant el seu ús en el tractament del dolor derivat de l'endometriosi.[7] La seva

[4] https://www.takeda.com/newsroom/newsreleases/2018/aska-and-takeda-enter-into-licensing-agreement--for-Relugolix-in-womens-health-indications/ [Accés, 13 d'octubre 2023].
[5] Tukun, F.L., Olberg, D., Riss, P., Haraldsen, I., Kaass, A., Klaveness, J. *Molecules,* **2017**, *22*, 2188.
[6] **a)**https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1221642001/FT_1221642001.html [Accés, 12 d'octubre 2023].
b)https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2021/fda-Relugolix-terapia-privacion-androgenos-cancer-prostata [Accés, 12 d'octubre 2023].
[7] Markham, A. *Drugs* **2019**, *79*, 675.

administració és oral en comprimits de color rosat amb forma d'ametlla de 40 mg i 120 mg, marcats amb una "R" identificativa (***Figura 2*** i ***Figura 3***). Els excipients utilitzats són: manitol (E-421), carboximetilcel·lulosa sòdica entrellaçada (E-468), hidroxipropil cel·lulosa (E-463), esterat de magnesi (E-572), hipromelosa (E-464), diòxid de titani (E-171), òxid de ferro vermell (E-172) i cera de carnauba (E-903).

Existeix, a més, un combinat de fàrmacs anomenat Myfembree ® (comercialitzat per les empreses Pfizer i Myovant Sciences) que conté Relugolix conjuntament amb estradiol i acetat de noretindrona (relació 40 : 1 : 0,5 mg, respectivament), per controlar el sagnat menstrual agut degut als fibromes uterins durant la menopausa.[8]



Figura 2: *Relumina ® en dosis oral de 40 mg.*



Figura 3: *Orgovyx ® en dosis oral de 120 mg.*

Els fibromes uterins o miomes, són tumors cancerígens benignes que es troben adherits en la paret del úter. La presència d'aquestes protuberàncies és a causa del creixement anòmal de teixit procedent de les cèl·lules de múscul llis i de les del múscul connectiu. Acostuma a ser una patologia comú en les dones en edat fèrtil (25 %), tot i que també es manifesta fins a un 40 % en les dones en edats inferiors als 50 anys.[8] Els símptomes més destacats solen ser dolor en la zona de la pelvis (dismenorrea i disparèunia), períodes menstruals forts amb sagnat abundant, molèsties o sensació de plenitud en l'estómac baix. Cal destacar que acostuma acompanyar-se de la reducció en la fertilitat de la pacient i possibles complicacions durant el part. Tot i així, un 30 % de les pacients, són asimptomàtiques.[9] El tractament clàssic ha sigut des d'un inici el tractament quirúrgic amb l'extirpació dels tumors, sent la histerectomia la intervenció més realitzada. Aquesta tècnica és molt invasiva i comporta diverses complicacions post-operacionals, sent la infecciosa la més freqüent.[9] Per a aquest motiu, s'aposta per tractaments mèdics que afavoreixin la regressió del mioma, per exemple amb l'ús de fàrmacs antagonistes de la GnRH.

L'endometriosi, per la seva part, és una afecció inflamatòria on cèl·lules similars al revestiment de l'úter creixen fora d'ell (principalment en els òrgans i teixits de la pelvis). S'estima que afecta aproximadament un 10 % de las dones en els seus anys fèrtils, del

[8] https://www.myfembree.com/ [Accés, 12 d'octubre 2023].
[9] Fábregues, F.; Peñarrubia, J. *Med. Integral* **2002**, *40*, 190.

50-60 % en les adolescents amb dolor en la zona de la pelvis i fins el 50 % de les dones infèrtils.[10,11] Els símptomes són similars als ja descrits pels fibromes uterins, tot i que se'n destaca la reducció de la fertilitat de la pacient.[11] Les zones més freqüents en originar-se són en els ovaris, en la trompa de Fal·lopi, en l'intestí, en el melic, en l'apèndix i en la bufeta. Pel que fa al tractament, hi ha hagut millores substancials en considerar-se que no és una malaltia d'intervenció quirúrgica per defecte excepte les dones que estan buscant l'embaràs.[11] El tractament més eficaç a dia d'avui és l'hormonal (anticonceptius hormonals combinats, acetat de noretisterona, dienogest, com també els anàlegs de la GnRH), disminuint-ne significativament el dolor associat.

Tot i que no té la visibilitat social que hauria de tenir, és un patologia que afecta aproximadament al 10 % mundial de les dones en edat reproductiva repercutint directament en la qualitat de vida de les pacients, ja sigui amb dolor greu, pèrdua de fertilitat però també comportant ansietat i depressió.[12]

Per l'altra part, el càncer de pròstata és un dels càncers més comuns en la població mundial masculina. Als Estats Units, per exemple, és la segona causa de mort per càncer en homes.[13] A mesura que avança l'edat del pacient, la incidència augmenta significativament, representant un 34 % dels casos en homes de 50 anys i un 70 % en homes de 80 anys.[13]

Aquesta malaltia pren importància dins la salut pública per dos gran motius:

a) La freqüent aparició en tot el món masculí, afectant cada cop més a individus menors de 50 anys.
b) Absència de símptomes en les fases inicials i el creixement lent del tumor fan que passi desapercebut pel pacient i que el diagnòstic es faci un cop ja s'ha propagat fora de la glàndula. La regressió tumoral en aquest estadi esdevé molt difícil.

Actualment existeixen diferents tractaments disponibles:[13]

- **Prostatectomia** amb la extirpació de la pròstata, vesícules seminals i deferents distals, implicant la impotència i incontinència en el 95 % i 50 % dels casos, respectivament.
- **Radioteràpia externa** en els estadis prematurs del càncer, podent provocar lesions en la uretra (60 % dels casos) i cistitis post-radiació (40 % dels casos).
- **Quimioteràpia**, que fins a l'actualitat presenta resultats decebedors en els pacients.

[10] Quevedo, M. L. *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento* **2019**, *3*, 283.
[11] Carrillo Torres, P.; Martínez Zamora, M. A.; Carmona Herrera, F. *Clínica e Investigación en Ginecología y Obstetricia* **2021**, *48*, 100686.
[12] https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/endometriosis [Accés, 12 de maig 2024].
[13] Lozano Mérida, J. A. *Offarm* **2004**, *23*, 84.

- **Hormonals** per a la reducció dels estímuls sobre la pròstata amb la supressió de l'alliberament de l'hormona luteïnitzant hipofisiària.

Com es pot observar, en les tres patologies descrites, els fàrmacs anàlegs antagonistes de la GnRH com el Relugolix, són una aposta ferma.

Farmacodinàmica

Relugolix és un antagonista no peptídic selectiu del receptor de GnRH de la hipòfisi. S'hi uneix competitivament, inhibint la secreció de gonadotropines i reduint així l'alliberament de l'hormona luteïnitzant (LH) i de l'hormona estimulant del fol·licle (FSH). D'aquesta forma disminueixen els nivells de les hormones sexuals, testosterona en els homes i estrogen i progesterona en les dones, evitant així la propagació de les cèl·lules canceroses en els pacients.[7]

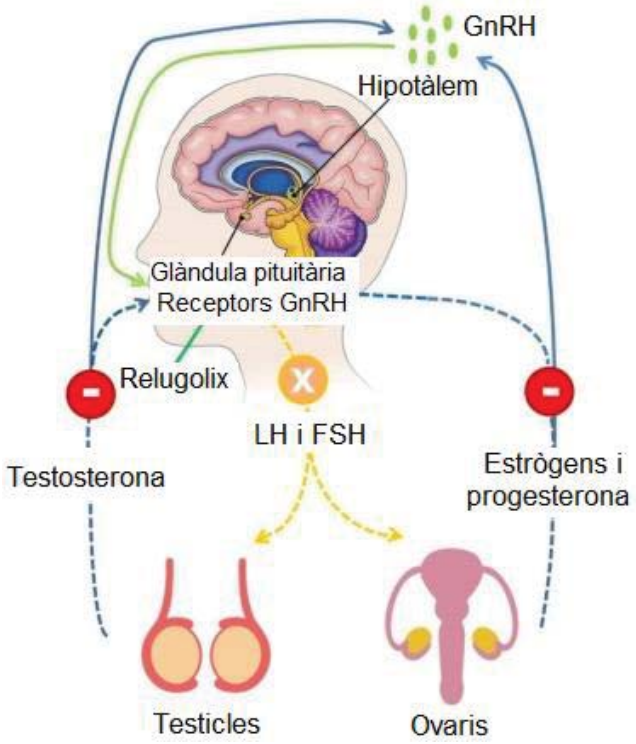


Figura 4: *Esquema adaptat de l'actuació del Relugolix en dones i homes.* [14]

Com a exemple dins d'aquest apartat s'explica l'estudi clínic de farmacodinàmica pel Relugolix en el tractament del càncer de pròstata.

A la bibliografia publicada fins al moment, s'ha demostrat que en el tractament contra el càncer de pròstata, Relugolix va reduir les concentracions de LH i FSH. D'aquesta forma, els nivells de testosterona van disminuir després de la seva

[14] Esquema adaptat de: https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/Relugolix [Accés, 05 de novembre 2023].

administració oral amb una càrrega inicial de 360 mg seguida de dosis diàries de 120 mg (***Figura 5***).

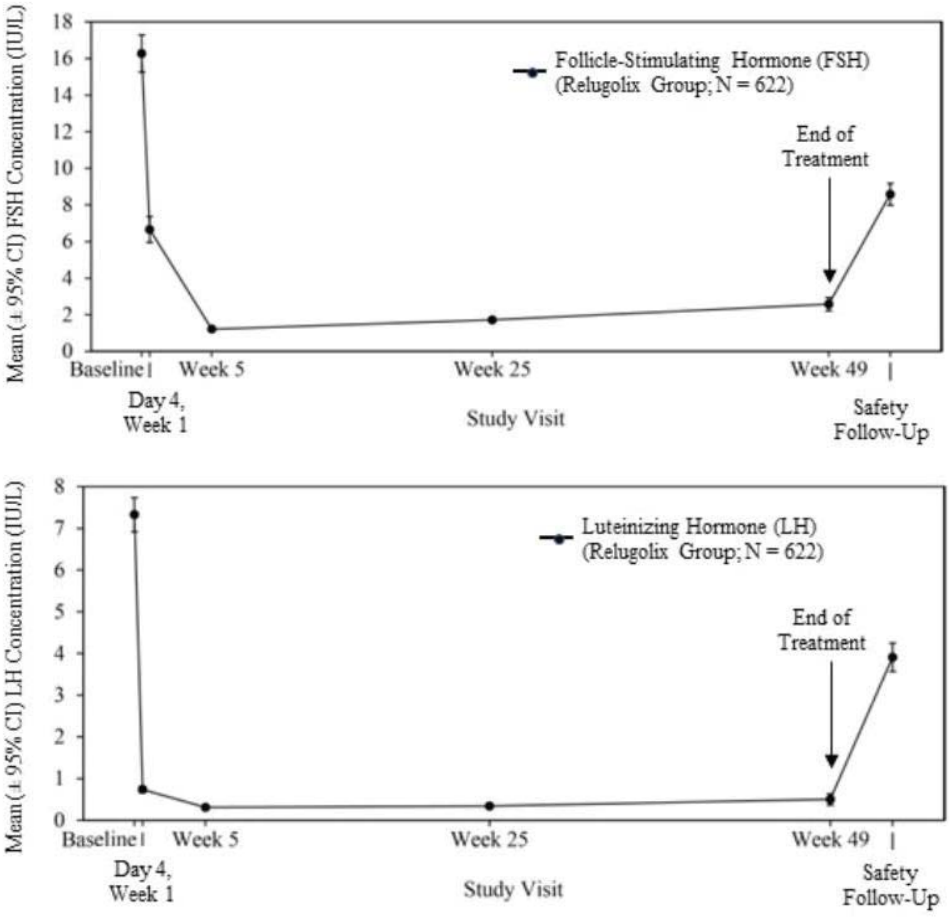


Figura 5: *Nivells de FSH (superior) i LH (inferior) en els pacients durant el tractament amb Relugolix per 48 setmanes.*[15]

Es va realitzar l'estudi Fase Clínica III (HERO (NCT03085095)) amb 930 pacients on 622 pacients van seguir un tractament amb Relugolix (360 mg seguit de 120 mg) i 308 pacients un tractament amb acetat de leuprolida que és bloquejador de la GnRH (22,5 mg o 11,25 mg) a mode comparatiu.[15] Els pacients del grup Relugolix van demostrar tenir una supressió de testosterona a nivell de castració (concentració < 50 ng / dL) durant les 48 setmanes del 96,7 % enfront el 88,8 % del grup de pacients de l'acetat de leuprolida. Tal i com s'observa en la ***Taula 1***, Relugolix presenta una supressió ràpida de la testosterona: els pacients tractats amb Relugolix que van arribar a un nivell de castració (< 50 ng / dL) durant el tractament al 4t dia va ser del 56,0 % mentre que en el cas de l'acetat de leuprolida del 0,0 % i en el 15è dia va ser del 98,7 % i 12,1 %, respectivament.

[15] https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/214621s000lbl.pdf [Accés, 28 d'octubre 2023].

Taula 1: *Nivells de testosterona durant el tractament amb Relugolix i acetat de leuprolida.* [15]

		Testosterona < 50 ng / dL		Testosterona < 20 ng / dL	
Entrada	**Dia**	**Orgovix ®** **(622 pacients)**	**Acetat de leuprolida** **(308 pacients)**	**Orgovix ®** **(622 pacients)**	**Acetat de leuprolida** **(308 pacients)**
1	4	56 %	0 %	7 %	0 %
2	8	91 %	0 %	27 %	0 %
3	15	99 %	12 %	78 %	1 %
4	29	99 %	82 %	95 %	57 %

Interrompent el tractament durant 90 dies, el grup de pacients de Relugolix va arribar a un 54 % de recuperació al nivell normal de testosterona (≥ 280 ng / dL) mentre que en el grup de l'acetat de leuprolida només el 3 % el va recuperar.[15]

En pacients de càncer de pròstata, reduir els nivells de testosterona ràpidament i recuperar-los el més aviat possible després de suspendre el tractament són d'una elevada importància per a la qualitat de vida del pacient. És per aquest motiu que el tractament de la patologia amb aquest fàrmac és avantatjós.

1.2.3 Farmacocinètica

Absorció

Relugolix és un substrat per a la glicoproteïna-P intestinal, que és una proteïna associada al transport i que contribueix a l'eliminació de molts fàrmacs mitjançant la seva secreció directa de la sang al lumen intestinal. La biodisponibilitat absoluta mitjana de Relugolix és aproximadament del 12 %, essent el temps màxim d'absorció per l'organisme de 2,25 hores.[15] Es recomana no administrar-lo juntament amb inhibidors de la glicoproteïna-P.

Efecte dels àpats

L'àpat no té influència en l'administració de Relugolix degut a que no s'han observat diferències en la farmacocinètica del fàrmac després del consum d'un àpat ric en calories i greixos (prenent com a referència un àpat amb 500 calories de greixos, 220 calories de carbohidrats i 124 calories de proteïnes).[15]

Distribució

La unió de Relugolix a les proteïnes plasmàtiques és entre el 68-71 %, principalment a la albúmina i en menor grau a la glicoproteïna àcida α_1. La proporció entre sang i plasma és del 0,78.[15]

Eliminació

La vida mitjana efectiva del Relugolix és de 25 hores i la vida mitjana d'eliminació és de 60,8 hores. El seu aclariment total mig és de 29,4 L / h mentre el renal és de 8 L / h.[15]

Metabolisme

Relugolix es metabolitza principalment per l'enzim CYP3A (45 %) seguit per l'enzim CYP2C8 (37 %) i CYP2C19 (< 1 %).[15] Aquests enzims són responsables del metabolisme oxidatiu dels fàrmacs en el fetge i en l'intestí prim.

Excreció

Aproximadament el 19 % de Relugolix s'elimina com a principi actiu inalterat en l'orina mentre que un 80 % passa per diversos processos de biotransformació, principalment degut als enzims CYP3A i CYP2C8. Després d'una administració oral de 80 mg de Relugolix radiomarcat, aproximadament el 81 % de la radioactivitat es va recuperar en els excrements i el 4,1 % en l'orina.[15]

Població

No s'han observat diferències clínicament significatives en el tractament amb Relugolix degudes a l'edat (rang 45 a 91 anys), raça (19 % asiàtica, 71 % blanca, 6 % afroamericana) i pes corporal (rang 41 a 193 kg). Tampoc en el cas de patir insuficiència renal lleu o insuficiència hepàtica de lleu a moderada.[15]

1.2.4 Interaccions farmacològiques

La interacció del Relugolix amb la glicoproteïna-P així com amb l'enzim CYP3A ha estat avaluada.

-Inhibidor combinat de la glicoproteïna-P i inhibidor moderat de l'enzim CYP3A: la coadministració amb eritromicina va augmentar l'àrea sota la corba (ABC) i la concentració màxima (C_{max}) de Relugolix fins a 6,2 vegades.[15,16]

[16] **ABC:** mesura de la quantitat d'un fàrmac que arriba al torrent sanguini del pacient en un determinat temps després de la seva administració.
C_{max}: major concentració d'un fàrmac en el metabolisme d'un pacient.

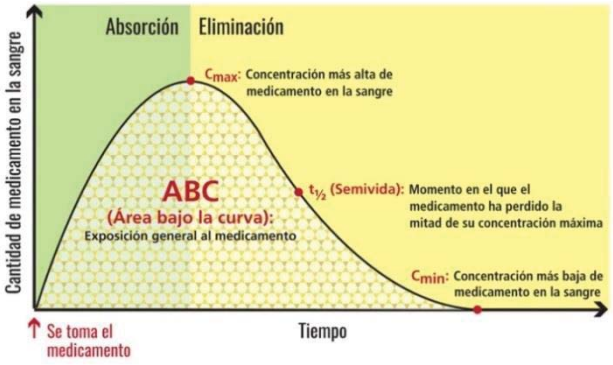


Figura 6: *Absorció i eliminació d'un fàrmac.*[17]

-Inhibidor combinat de glicoproteïna-P i inhibidor fort de l'enzim CYP3A: la coadministració amb rifampicina va fer disminuir la ABC i la C_{max} de Relugolix en un 55 % i 23 %, respectivament (***Figura 6***).[15]

No s'han observat diferències clínicament significatives en la farmacocinètica de Relugolix amb la coadministració amb altres fàrmacs (***Figura 7***) com voriconazol (inhibidor potent del CYP3A), atorvastatina, enzalutamida, agents reductors d'àcid, midazolam (substrat sensible al CYP3A) o rosuvastatina (substrat del BCRP).[15,18]

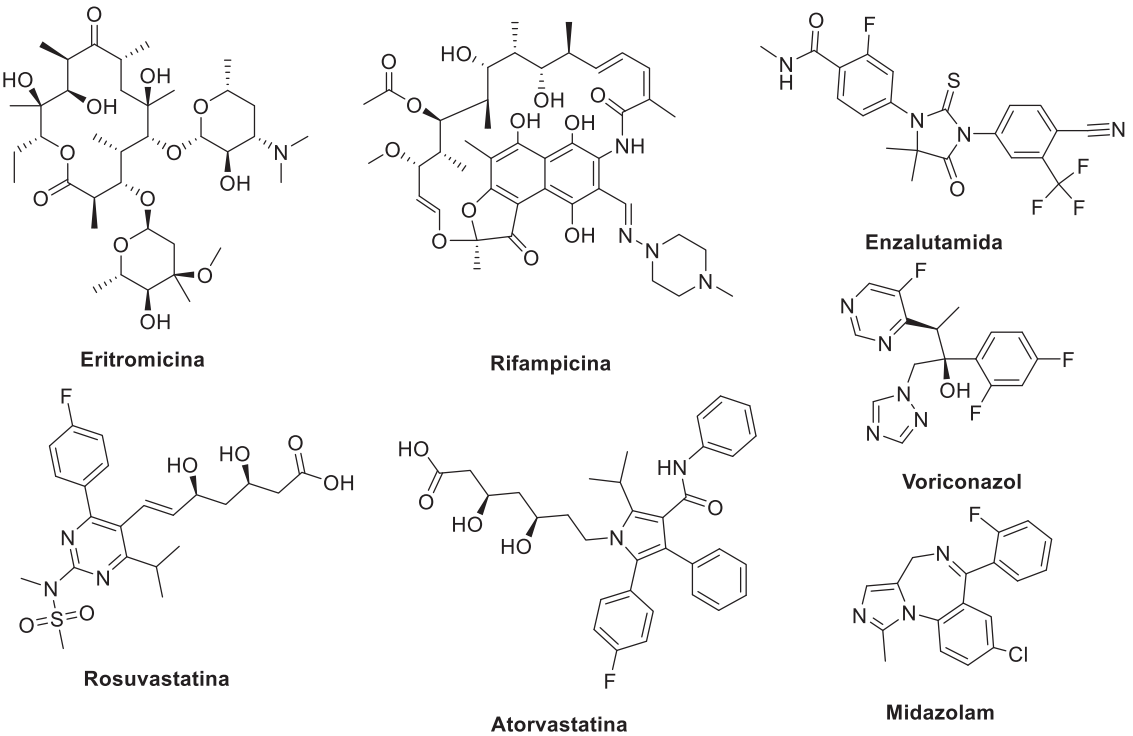


Figura 7: *Estudi de la interacció de Relugolix amb: eritromicina, rifampicina, voriconazol, rosuvastatina, enzalutamida, atorvastatina i midazolam.*[15]

[17] https://clinicalinfo.hiv.gov/es/glossary/concentracion-maxima-cmax [Accés, 05 de novembre 2023].

[18] **Transportador BCRP:** intervé en el transport transmembranal cel·lular i útil per a la introducció de fàrmacs en les cèl·lules. Tot i així, les cèl·lules cancerígenes poden desenvolupar resistència als anticancerígens degut a ells.

1.2.5 Forma d'administració

El tractament amb Relugolix en el càncer de pròstata es comença amb una dosi de càrrega inicial de 360 mg el primer dia i es continua el tractament amb una dosi de 120 mg un cop al dia aproximadament a la mateixa hora cada dia, tal i com indica l'*Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios*.[19] Es pot prendre amb i sense aliments però empassant-se els comprimits sencers. En el cas d'oblidar-se, cal prendre's la dosi diària abans de les 12 hores. Si no pot ser, cal continuar amb la següent dosi programada. Si el tractament amb Relugolix s'interromp durant més de 7 dies, s'ha de reiniciar amb la dosi de càrrega de 360 mg el primer dia i continuar amb una dosi de 120 mg un cop al dia.[7]

En el tractament dels fibromes uterins i els seus símptomes associats, es pren una dosi diària de Relugolix de 40 mg abans dels àpats empassant-se els comprimits sencers. La primera dosi ha de fer-se entre el 1r i 5è dia del cicle menstrual.[20]

1.2.6 Assajos clínics

Tal i com es pot apreciar en la ***Taula 2***, s'estan acabant de completar els estudis clínics de la Fase III per al tractament del dolor degut a la endometriosi, el sagnat abundant degut als fibroides uterins així com pel tractament del càncer de pròstata avançat.[7,21] Com s'ha mencionat anteriorment, a desembre de 2020, basant-se en els resultats inicials favorables obtinguts durant la Fase III (HERO, NCT03085095) en el tractament de càncer de pròstata avançat, la FDA va aprovar Relugolix per al seu ús.[21] En el mercat japonès, ja al gener de 2019 es va aprovar l'ús de Relumina ® pel tractament dels fibromes uterins i els símptomes associats.

[19] https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1221642001/FT_1221642001.html [Accés, 05 de novembre 2023].
[20] https://www.pmda.go.jp/english/review-services/reviews/approved-information/drugs/0001.html [Accés, 12 de maig 2024].
[21] https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/Relugolix [Accés, 05 de novembre 2023].

Taula 2: *Estat dels assajos clínics del Relugolix.*[21]

Key clinical trials of relugolix (Takeda)					
Drug(s)	Indication	Phase	Status	Location(s)	Identifier
Relugolix, placebo	Uterine fibroids	II	Completed	Japan	NCT01452659
Relugolix, leuprorelin, placebo	Endometriosis	II	Completed	Japan	NCT01458301
Relugolix, leuprorelin, placebo	Endometriosis	II	Completed	Japan	NCT01452685
Relugolix, fluconazole, atorvastatin	Effects of fluconazole and atorvastatin on pharmacokinetics in volunteers	I	Completed	USA	NCT02093390
Relugolix, leuprorelin	Prostate cancer	II	Completed	USA, Canada	NCT02083185
Relugolix	Prostate cancer	I	Completed	Japan	NCT02141659
Relugolix, degarelix	Prostate cancer	II	Completed	USA, UK	NCT02135445
Relugolix	Pharmacokinetic study in male volunteers	I	Completed	UK	NCT02252354
Relugolix	Pharmacokinetic study in volunteers	I	Completed	USA	NCT02396147
Relugolix, leuprorelin	Uterine fibroids	III	Completed	Japan	NCT02655237
Relugolix, placebo	Pain associated with uterine fibroids	III	Completed	Japan	NCT02655224
Relugolix	Pharmacokinetic study in premenopausal women		Completed	Japan	NCT02792062
Relugolix, estradiol/norethindrone acetate, placebo	Heavy menstrual bleeding associated with uterine fibroids	III	Ongoing	Multinational	NCT03103087 (LIBERTY 2)
Relugolix, estradiol/norethindrone acetate, placebo	Heavy menstrual bleeding associated with uterine fibroids	III	Ongoing	USA	NCT03049735 (LIBERTY 1)
Relugolix, estradiol/norethindrone acetate	Heavy menstrual bleeding associated with uterine fibroids	III	Recruiting	USA	NCT03412890 (LIBERTY EXTENSION)
Relugolix, leuprolide	Advanced prostate cancer	III	Recruiting	Multinational	NCT03085095 (HERO)
Relugolix, estradiol/norethindrone acetate, placebo	Endometriosis-associated pain	III	Recruiting	Multinational	NCT03204331 (SPIRIT 2)
Relugolix, estradiol/norethindrone acetate, placebo	Endometriosis-associated pain	III	Recruiting	Multinational	NCT03204318 (SPIRIT 1)
Relugolix, estradiol/norethindrone acetate	Endometriosis-associated pain	III	Recruiting	USA	NCT03654274 (SPIRIT EXTENSION)
Relugolix, estradiol/norethindrone acetate, placebo	Heavy menstrual bleeding associated with uterine fibroids	III	Recruiting	USA	NCT03751124 (LIBERTY long-term efficacy)

1.2.7 Efectes secundaris

En el assajos clínics de Fase II en dones pel tractament dels fibroides uterins realitzat en Japó (NCT01458301), de les 225 pacients, 193 van manifestar els següents efectes secundaris: ofegament (42,2 %), sagnat uterí (42,2 %), menorràgia (21,8 %), mal de cap (10,2 %), hiperhidrosi (8,9 %) i sagnat genital (6,7 %).[21] Les tendències són similars a les detectades en la Fase III (NCT02655237).

Amb l'ús d'Orgovyx® en el tractament de càncer de pròstata es poden donar alteracions en l'activitat elèctrica miocardial, podent manifestar-se la síndrome de QT llarg, que és un trastorn cardíac que fa bategar el cor de forma més accelerada i caòtica (arrítmia). En ocasions, condueix a convulsions i esvaïments sobtats. També s'han detectat com a efectes secundaris ofegament (54 %), dolors musculars i esquelètics (30 %), fatiga (26 %), diarrea (12 %) o estrenyiment (12 %).[22]

[22] https://www.orgovyx.com/content/pdfs/orgovyx-prescribing-information.pdf [Accés, 05 de novembre 2023].

CAPITOL 2

Objectius

2 OBJECTIUS

L'objectiu d'aquest projecte és el desenvolupament d'una ruta de síntesi no infringent i competitiva que permeti fabricar l'API Relugolix industrialment. Això inclou els següents apartats:

- Estudi i desenvolupament d'una nova ruta sintètica factible que compleixi amb els següents requisits:
  - Ruta sintètica no infringent, i si és possible, que sigui innovadora i patentable.
  - Ruta industrialment escalable i procediment econòmicament viable (tenint en compte l'alta competitivitat en el mercat dels APIs genèrics).
  - Ruta que compleixi les restriccions i consideracions de seguretat, toxicològiques i de medi ambient.
- Estudi i cerca d'una forma polimòrfica estable adient i no infringent per a l'API final.

CAPITOL 3

Resultats i discussió

3 RESULTATS I DISCUSSIÓ

3.1 FASE 0

3.1.1 Introducció

La selecció d'una API genèric d'interès comporta, entre d'altres factors, realitzar prèviament un estudi exhaustiu per part del Departament de Propietat Intel·lectual de l'estat de la tècnica del fàrmac. Això implica la recopilació de totes les patents sobre el producte, intermedis i condicions dels processos d'obtenció (***Taula 3***), així com també de les formes polimòrfiques del producte acabat i/o d'intermedis (***Taula 4***); tot determinant l'abast de la protecció, ja sigui temporal o geogràfica (mercats comercials implicats).

En el cas del Relugolix, l'estat de les patents mostra que és necessari desenvolupar una nova ruta sintètica pel Relugolix, donat que el procediment descrit en la primera família de patents corresponent a la patent europea EP1591446B1 (presentada per Takeda l'any 2004 i que divulga per primera vegada el producte donant a més protecció sobre el mateix) no és industrialitzable (***Taula 3***).[23] Aquesta patent descriu l'obtenció del fàrmac seguint estratègies sintètiques de química mèdica i on les purificacions dels intermedis es realitzen mitjançant l'ús de cromatografies en columna amb gel de sílice (veure apartat 3.1.2).

Una família de patents posterior corresponent a la patent europea EP2900675B1 (presentada per Takeda el 2013), dona protecció a un procediment millorat i industrialitzable (***Taula 3*** i veure apartat 3.1.3).[24] El procediment desenvolupat per a la fabricació de Relugolix, haurà d'evitar les reivindicacions de la patent EP2900675B1. La data d'expiració d'aquesta patent és el 2033 i la comercialització dels medicaments genèrics de Relugolix a Europa es preveu que sigui l'any 2031, en el cas que es concedeixi el certificat complementari de protecció (CCP) en relació amb la patent de producte i un cop finalitzi l'exclusivitat de 8 + 2 anys associada al fàrmac autoritzat inicialment per la Agència Europea del Medicament (EMA). [25,26]

En el cas dels Estats Units, la patent US7300935B2 (atorgada a Takeda) que dona

[23] EP Pat., EP1591446:B1, **2013**.
[24] EP Pat., EP2900675:B1, **2019**.
[25] **Certificat Complementari de Protecció:** títol de propietat industrial que estén en un màxim de 5 anys la protecció sobre un principi actiu quan la protecció de la patent de producte ha vençut al passar els 20 anys de protecció. En Europa es coneix com a CCP mentre que l'extensió de la protecció de manera equivalent als Estats Units es coneix com a "*patent term extension"* (PTE).
[26] **Exclusivitat 8 + 2 anys:** a tot medicament aprovat per la EMA per primera vegada a la Unió Europea, se li garanteix un període de 8 anys d'exclusivitat de dades, més un període de 2 anys addicionals d'exclusivitat comercial perquè els medicaments genèrics puguin ser comercialitzats. Relugolix va ser aprovat com a medicament per la EMA el juliol de l'any 2021.

protecció al producte en aquest país, expirarà el 2029 (considerant l'extensió del termini de la patent, PTE) i la patent que dona protecció al procediment US9758528B2 (atorgada a Takeda) expirarà el 2033.[27,28] Es preveu la comercialització dels genèrics a partir del gener de 2029 i, en aquest cas, també serà necessària una ruta alternativa pel mercat americà.

Taula 3: *Sol·licituds de patents de producte, procediment i intermedis del Relugolix fins març del 2020.*

Entrada	Patent	Sol·licitud	Empresa aplicant	Protecció
1	EP1591446B1[23]	28/01/2004	Takeda	Producte *per se*
2	EP2900675B1[24]	27/09/2013	Takeda	Procediment **RL-8** i **RL-9** *per se* Solvat de THF de **RL**
3	CN111423452A[29]	26/03/2020	Jiangxi Qingfeng Pharma	**RL-31** i **RL-32 (com -Cl i -I derivats)** *per se*
4	CN113444105A[30]	27/03/2020	Nanjing Hairun Medicine	Procediment

Respecte a les sol·licituds de patents relacionades amb les formes polimòrfiques de Relugolix, hi ha un ampli ventall tal i com es pot apreciar en la ***Taula 4***. Per a la comercialització del producte acabat en el mercat de genèrics, s'ha d'evitar la infracció.

[27] US Pat., US7300935:B2, **2007**.
[28] US Pat., US9758528:B2, **2017**.
[29] CN Pat., CN111423452:A, **2020**.
[30] CN Pat., CN113444105:A, **2020**.

Taula 4: *Sol·licituds de patents de formes polimòrfiques del Relugolix fins 2020.*

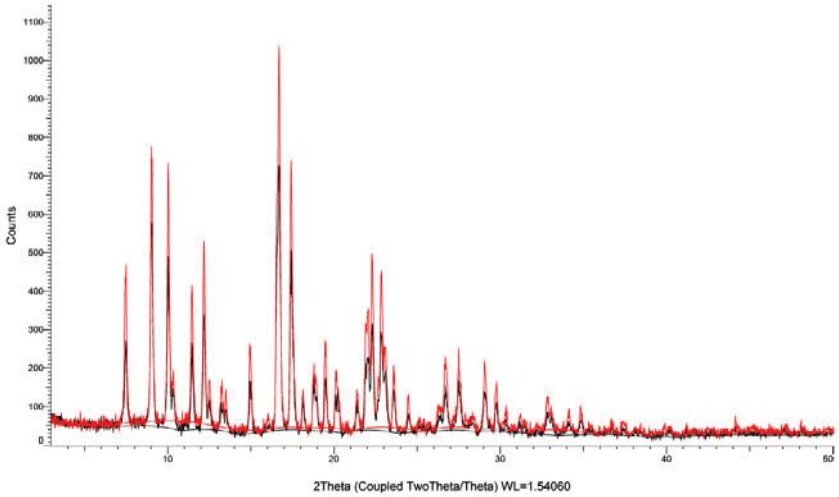
Entrada	Patent[31]	Sol·licitud	Empresa aplicant	Forma polimòrfica
1	EP3415517B1	27/09/2013	Takeda	Solvat de THF
2	EP3666776A1	11/12/2018	Novartis	Hemihidrat
3	WO2019/068604A1	14/03/2019	Teva	Formes F, G, H, J i amorf
4	WO2021/031148A1	21/08/2019	Shenzhen Rentai Pharma	Formes C i D
5	WO2020/230094A1	15/05/2020	Dr. Reddy's Laboratories	Formes R1 a R10 i forma amorfa
6	WO2021/026011A1	31/07/2020	Johnson Matthey	Solvat de DMF i Formes A a la C
7	WO2021/069700A1	09/10/2020	Myovant/Takeda	Forma cristal·lina XIII (solvat 2,5 x DMSO)
8	WO2021/069711A1	09/10/2020	Myovant/Takeda	Forma cristal·lina II
9	CN112552312B	07/12/2020	Hangzhou Cheminspire	Relugolix maleat, Relugolix oxalat i Relugolix fosfat

Respecte a la forma comercial, corporativament es va apostar per la forma anhidra de Relugolix. No existeix cap protecció per patent sobre aquesta forma ja que en un article publicat l'any 2011 es divulgava un procediment d'obtenció de Relugolix que presentava les mateixes característiques cristal·lines d'aquesta forma i que es va reivindicar inicialment també a la patent EP2900675B1.[24,32] Com l'article indicat es va publicar amb anterioritat a la data de presentació efectiva de la patent EP2900675B1, Takeda no va aconseguir la protecció per la forma cristal·lina anhidra sol·licitada inicialment (***Figura 8***).[24,32]

Aquest polimorf ja és considerat com a *estat de la tècnica* i, per tant, no es pot protegir posteriorment la forma anhidra com a tal. Prèviament, a l'estudi de la Fase I, en el nostre laboratori s'ha comprovat com la forma polimòrfica que s'obté utilitzant les condicions descrites a la patent EP2900675B1 és la mateixa que la que s'obté si se segueix la descripció experimental descrita a l'article (***Figura 8***).[24,32]

[31] **a)** EP Pat., EP3415517:A1, **2013**. **b)** EP Pat., EP3666776:A1, **2018**. **c)** WO Pat., WO2019/068604:A1, **2019**. **d)** WO Pat., WO2021/031148:A1, **2019**. **e)** WO Pat., WO2020/230094:A1, **2020**. **f)** WO Pat., WO2021/026011:A1, **2020**. **g)** WO Pat., WO2021/069700:A1, **2020**. **h)** WO Pat., WO2021/069711:A1, **2020**. **i)** CN Pat., CN112552312:B, **2020**.

[32] Miwa, K.; Hitaka, T.; Imada, T.; Sasaki, S.; Yoshimatsu, M.; Kusaka, M.; Tanaka, A.; Nakata, D.; Furuya, S.; Endo, S.; Hamamura, K.; Kitazaki, T. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4998.



Pics principals (2θ)

7,4 °	14,9 °	19,4 °	23,6 °
9,0 °	16,5 °	20,1 °	26,7 °
10,0 °	16,7 °	21,4 °	29,0 °
10,3 °	17,4 °	22,0 °	29,7 °
11,4 °	18,1 °	22,2 °	49,0 °
12,1 °	18,8 °	22,8 °	

Figura 8: *A dalt: difractograma de Raigs X comparatiu del polimorf obtingut segons les condicions citades a l'article (AcOEt / THF) en negre i segons les condicions de EP2900675B1 (DMSO / EtOH) en vermell. A baix: Taula dels pics principals obtinguts expressats com a angles de 2θ.*[24,32]

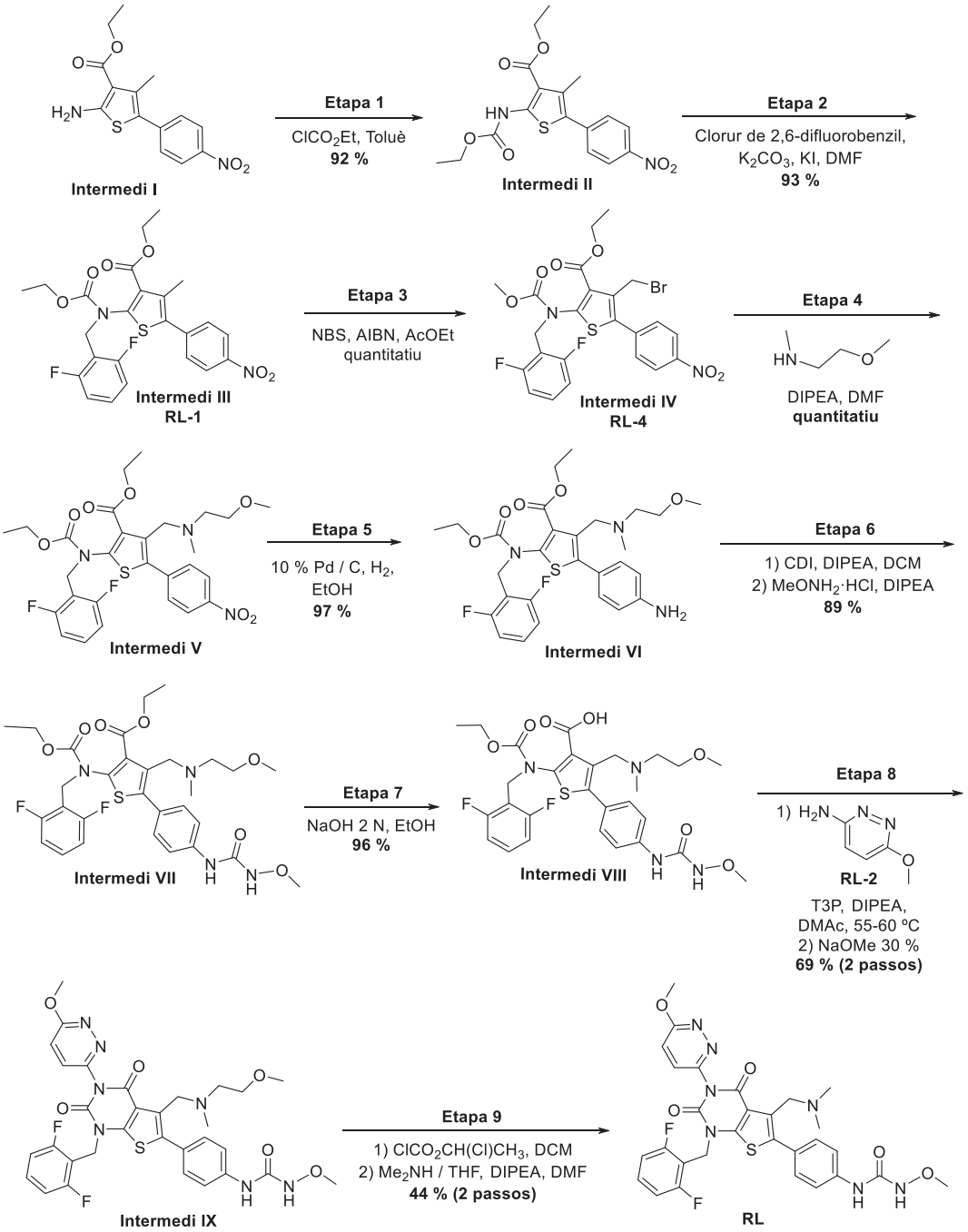
A continuació s'explicaran amb detall les rutes sintètiques descrites en les patents EP1591446B1 i EP2900675B1 així com les rutes proposades per MOEHS.

3.1.2 Patent EP1591446B1 i US8058280B2 (Takeda, 2004)

La primera síntesi de Relugolix va ser descrita a la família de patents EP1591446B1 al 2004 i US8058280B2 al 2007 de Takeda i publicada posteriorment en un article en una revista científica al 2011 (***Esquema 1***).[23,32,33]

Aquesta patent presenta una ruta sintètica lineal de 9 passos on, en una estratègia clàssica de química mèdica, s'obtenen intermedis oliosos que es purifiquen per columna cromatogràfica. El procés utilitza un intermedi avançat (**Intermedi I**) com a material de partida. La primera etapa es basa en la formació del carbamat d'etil utilitzant cloroformiat d'etil, resultant en un sòlid groc amb rendiment del 92 %. Segueix una *N*-alquilació per introduir el fragment de 2,6-difluorobenzil amb un 93 % de rendiment del sòlid groc obtingut (**Etapa 2**). Un cop aïllat l'**Intermedi III** (**RL-1**), es duu a terme una bromació utilitzant *N*-bromosuccinimida obtenint-se el corresponent derivat bromat **Intermedi IV** de forma quantitativa i que no es purifica. El cru de la reacció anterior s'utilitza directament en la següent etapa on té lloc una substitució nucleòfila sobre el carboni que suporta l'àtom de brom mitjançant l'ús de 2-metoxi-*N*-metiletan-1-amina per donar **Intermedi V** de forma quantitativa (**Etapa 4**). Aquest intermedi tampoc es purifica i s'utilitza el cru de la reacció en la següent reacció de formació de l'**Intermedi VI** sense cap purificació addicional (**Etapa 5**). La reducció del grup nitro de l'**Intermedi V** dona l'intermedi de tipus anilina **Intermedi VI** amb un rendiment del 97 % després de purificació per columna amb gel de sílice. L'**Intermedi VI** es fa reaccionar primer amb CDI i després amb metoxiamina en medi bàsic per a donar **Intermedi VII**, que es purifica per cromatografia en columna amb gel de sílice obtenint-se amb un 89 % de rendiment (**Etapa 6**). A continuació es dona la hidròlisi bàsica de l'èster etílic de l'**Intermedi VII** formant-se l'àcid carboxílic **Intermedi VIII** (**Etapa 7**). Aquest àcid s'activa per donar lloc a l'acoblament amb l'amina de la piridazina **RL-2** (**Etapa 8**). Seguidament, el tractament en medi bàsic indueix a la ciclació formant l'anell d'uracil de **Intermedi IX**, amb un rendiment del 69 % (**Etapa 8**). Finalment, es produeix la transformació del grup *N*-metil-*N*-metoxietilamino en *N,N*-dimetilamino en dues etapes, donant lloc a Relugolix amb un rendiment del 44 % (**Etapa 9**). La ruta sintètica presenta un rendiment global del 22 %.

[33] US Pat., US8058280:B2, **2011**.



Esquema 1: *Síntesi descrita en la família de patents EP1591446B1 / US8058280B2.*[23,33]

Aquesta estratègia presenta diversos inconvenients:

- Es tracta d'una ruta de química mèdica per poder arribar a diversos intermedis per realitzar els estudis clínics. L'objectiu és aïllar-los sense que s'hagin optimitzat del tot les reaccions per maximitzar els rendiments.
- És una síntesi lineal amb 9 passos amb sub-etapes.
- Varis intermedis es purifiquen per columna cromatogràfica, esdevenint

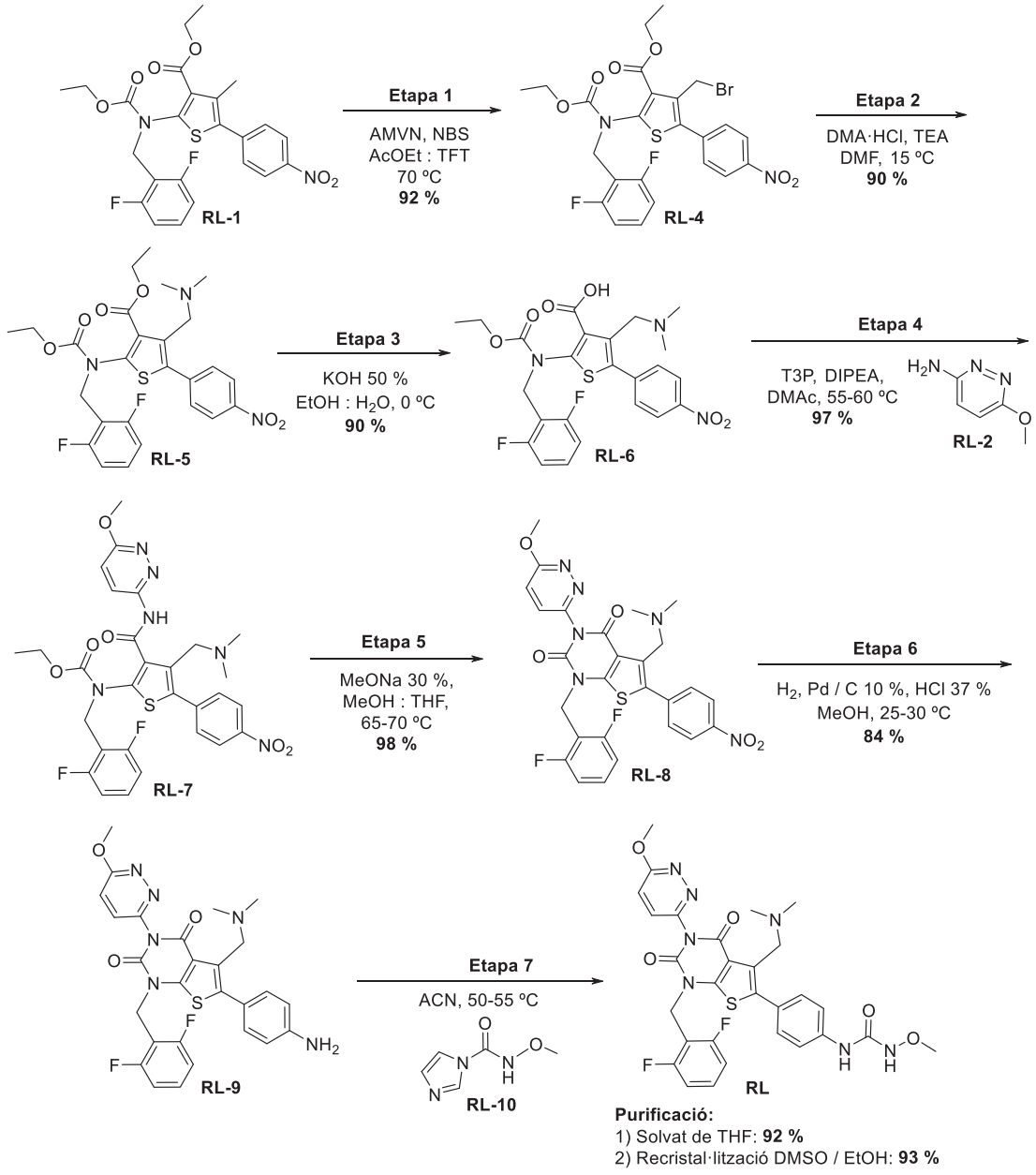
inviable a escala industrial. Principalment s'aïllen olis.

- S'obtenen rendiments baixos en les últimes etapes de síntesi quan els intermedis tenen elevat valor afegit.
- El grup dimetilamino no s'introdueix de forma convencional (a partir del bromo derivat) sinó mitjançant la substitució de cadenes alquíliques, donant baix rendiment.

3.1.3 Patent EP2900675B1 i US9758528B2 (Takeda, 2013)

Les patents EP2900675B1 i US9758528B2 descriuen un procés millorat respecte al descrit en la família de patents EP1591446B1/US8058280B2.[23,24,28,33] Utilitzen un intermedi avançat **RL-1** com a material de partida. És una ruta sintètica lineal formada per 7 etapes, tal i com es pot observar en l'***Esquema 2***. A diferència de la primera família de patents EP1591446B1/US8058280B2, s'aïllen tots els intermedis com a sòlids donant elevat rendiment i puresa cromatogràfica.[23,33]

La primera reacció és la bromació clàssica de tipus Wohl-Ziegler del grup metil de **RL-1** utilitzant *N*-bromosuccinimida (NBS) com a font de brom i el 2,2'-azobis (2,4-dimetilvaleronitril) (ADVN) com a iniciador radicalari, aïllant-se **RL-4** com a sòlid amb un rendiment del 92 % després de cristal·litzar-lo en EtOH / *n*-heptà (**Etapa 1**). En la següent etapa es duu a terme la substitució nucleòfila amb la dimetilamina sobre el bromoderivat **RL-4** donant lloc a **RL-5** (**Etapa 2**). En aquest cas també s'aïlla un sòlid d'elevada puresa cromatogràfica i amb un rendiment del 90 %, un cop es fa precipitar en el medi amb EtOH / aigua. La saponificació del grup èster del compost **RL-5**, posterior activació de l'àcid **RL-6** mitjançant l'agent d'acoblament anhídrid de l'àcid propanfosfònic (T3P ®), i subseqüent reacció amb la piridazina **RL-2**, permet la formació de **RL-7** com a sòlid amb elevada puresa i rendiment (**Etapes 3** i **4**). **RL-7** cicla en medi bàsic formant l'anell d'uracil en la molècula, donant **RL-8** quantitativament (**Etapa 5**). La hidrogenació del grup nitro a amino, en condicions àcides i sota catàlisi heterogènia, permet formar l'intermedi **RL-9** que s'aïlla per precipitació amb un rendiment del 84 % (**Etapa 6**). La reacció de l'amina de **RL-9** amb 1,1-carbonildiimidazole (CDI) i posterior tractament amb metoxiamina, permet obtenir Relugolix, que es purifica via solvat de THF (**Etapa 7**, ***Esquema 2***). Posteriorment aquest solvat de THF de **RL**, es recristal·litza en DMSO / EtOH obtenint un rendiment del 93 %. La ruta sintètica presenta un rendiment global del 55 %.



Esquema 2: *Síntesi descrita en la família de patents EP2900675B1 / US9758528B2.*[24,28]

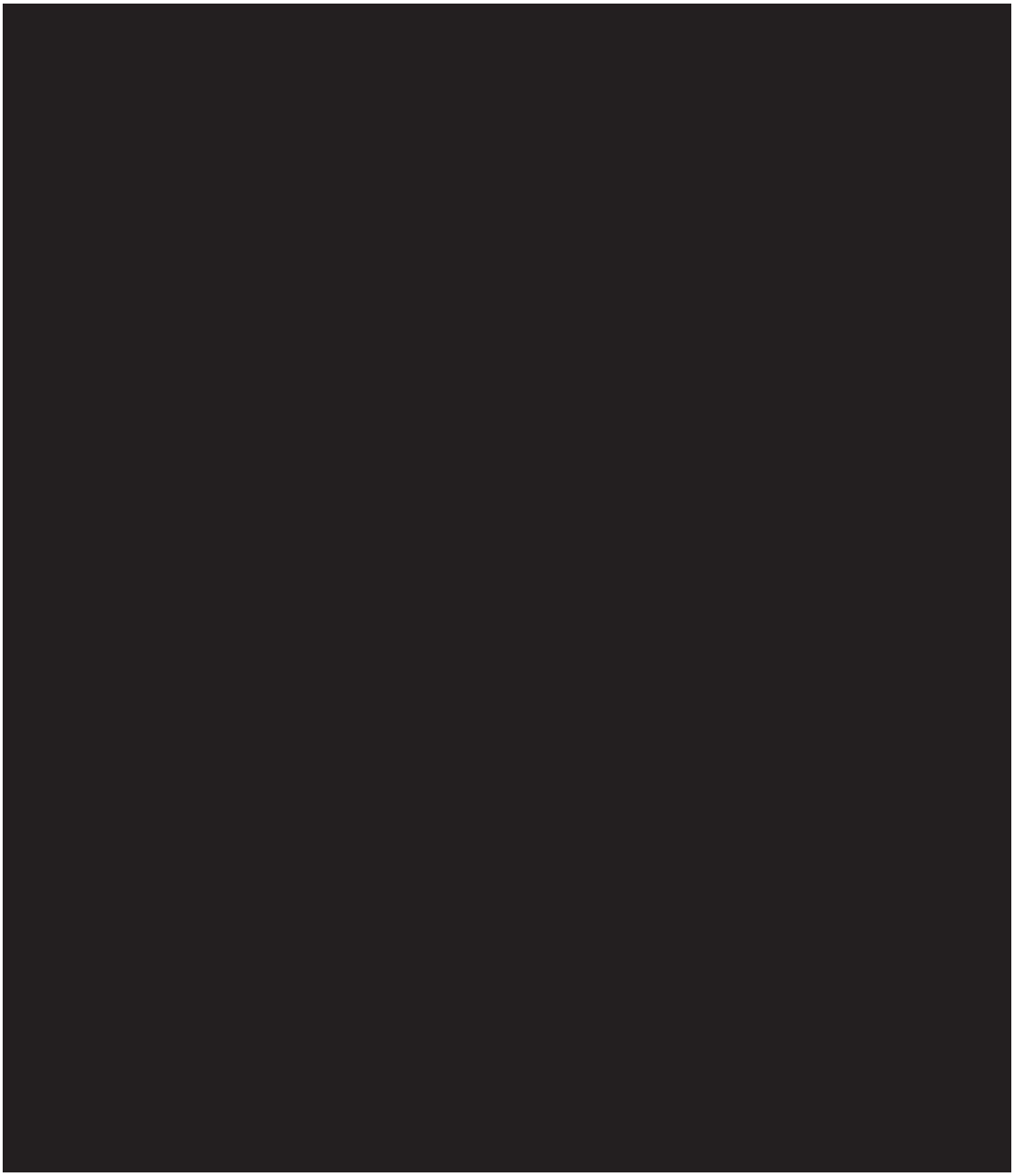
Desafortunadament, aquesta estratègia presenta diverses proteccions per patent fins el 2033:

- **Protecció sobre els intermedis RL-8 i RL-9.** En les noves rutes sintètiques proposades s'haurà d'evitar la infracció passant per aquests intermedis.
- **Protecció sobre la formació de Relugolix a partir de RL-9.** Això implica el treballar amb un rang de CDI entre 1,6 a 2,5 equivalents respecte **RL-9** i entre 1,0 a 1,5 equivalents de metoxiamina respecte al CDI utilitzat prèviament. És una infracció que no afectaria en les noves rutes sintètiques proposades ja que l'intermedi **RL-9** està protegit.

- **Protecció sobre el solvat de THF de Relugolix.** Un cop obtingut Relugolix a partir de **RL-9**, es forma el solvat de THF, suposant que és per purificar l'API d'impureses del procés. Per tal de no cometre infracció, les noves rutes sintètiques no poden comprendre la obtenció del solvat de THF de Relugolix i, addicionalment, serà convenient evitar utilitzar THF per minimitzar els riscos de cristal·lització del solvat infringent.

3.1.4 Propostes sintètiques de MOEHS

Considerant l'*estat de la tècnica* així com també la viabilitat del procés a escala industrial, es proposen diverses rutes sintètiques factibles, d'on s'escullen les següents com a més prometedores:



[redacted]

- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]

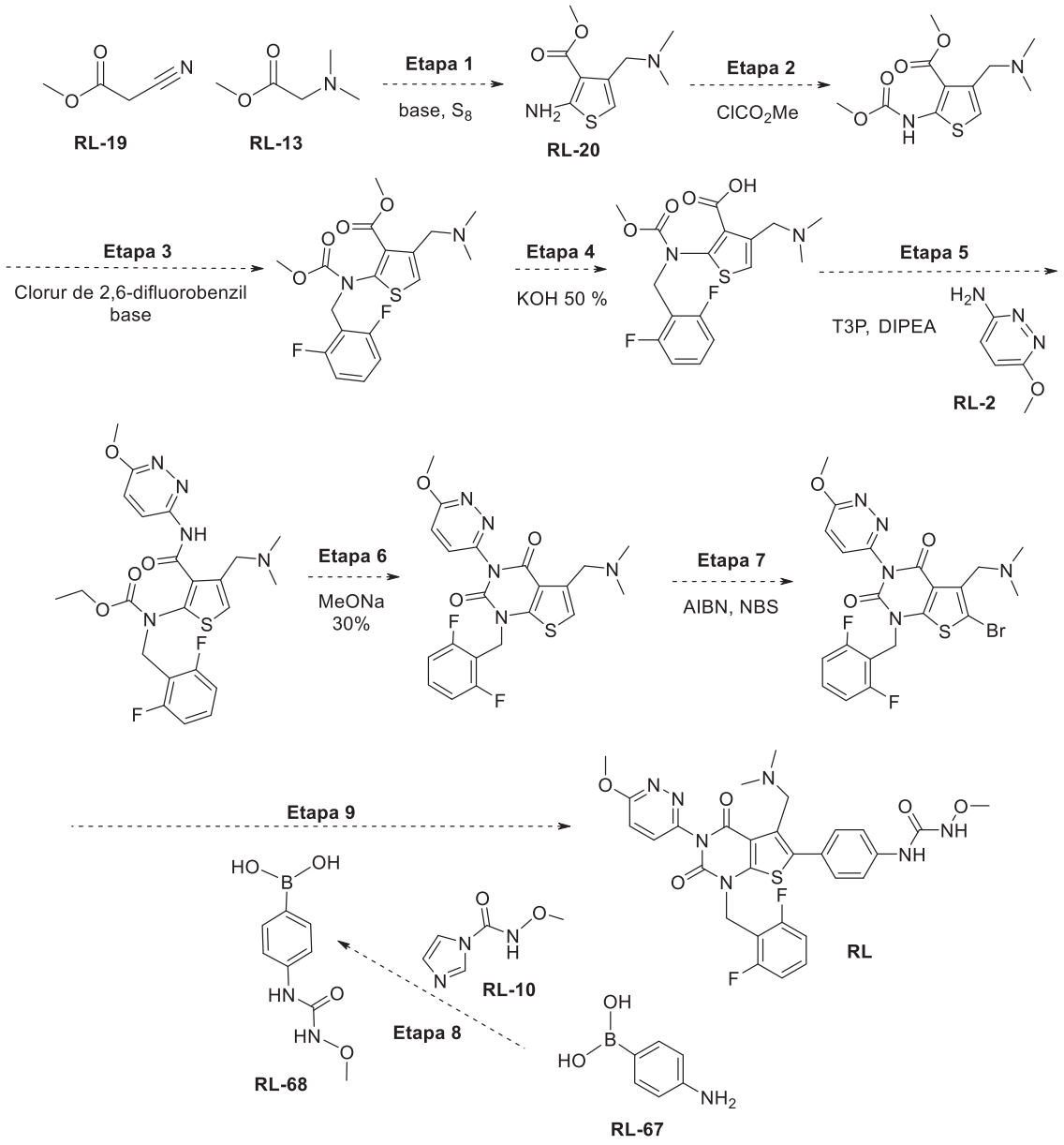
[redacted]



[redacted]

3.1.4.2 RoS C

La RoS C proposada és una estratègia sintètica convergent, a diferència de la RoS B presentada anteriorment, que és lineal (***Esquema 5***). Això implica tenir la síntesi d'intermedis avançats de forma independent i la seva posterior reacció en les etapes últimes del procés, permetent obtenir un millor rendiment global i reduint els costos econòmics.



Esquema 5: *RoS C.*

En aquesta ruta s'utilitza cianoacetat d'etil i hidroxiacetona com a reactius de partida, que són comercials i econòmicament assequibles. La ruta consta de 9 etapes i l'estratègia es basa en la formació de l'anell de tiofè via una reacció de Gewald, i inserint

així des d'un inici el grup dimetilamino a l'estructura (**Etapa 1**). En l'últim pas es duu a terme una reacció de Suzuki-Miyaura per obtenir Relugolix, tot inserint la urea funcionalitzada de forma convergent. Si es compara aquesta ruta amb les rutes descrites prèviament, cal considerar que són 8 etapes des d'un intermedi avançat on l'anell de tiofè ja està format.

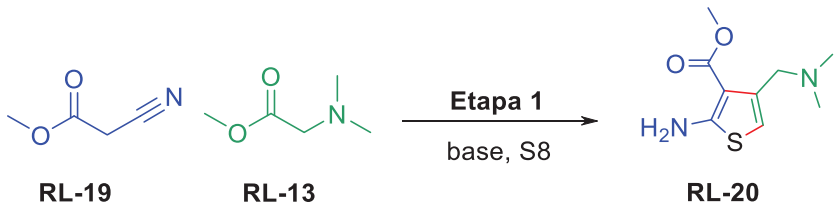
En aquesta ruta les etapes són:

1. Formació de l'anell de tiofè via reacció de Gewald.
2. Formació del carbamat.
3. *N*-alquilació del grup carbamat.
4. Saponificació del grup èster.
5. Formació del grup amida.
6. Ciclació en medi bàsic.
7. Bromació.
8. Funcionalització de l'àcid borònic amb el grup urea.
9. Inserció de la urea funcionalitzada via reacció de Suzuki-Miyaura.

A priori, totes les reaccions semblen específiques i selectives. Aquesta ruta seria patentable donat que és innovadora i amb elevada activitat inventiva. Caldrà tenir present les següents consideracions de cada etapa:

Etapa 1: Formació de l'anell de tiofè via reacció de Gewald.

La síntesi d'anells de tiofè a través de la reacció de Gewald es basa en la condensació d'una acetona o aldehid, o un altre tipus de compost amb un grup carbonil, amb un α-cianoèster en presència de sofre elemental en medi bàsic. D'aquesta forma s'obtenen 2-aminotiofens polisubstituïts (***Esquema 6***).



Esquema 6: *Esquema general de la síntesi de Gewald.*[36]

[36] Li, J.J. (**2021**). Gewald Aminothiophene Synthesis. In: Name Reactions. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-50865-4_57 [Accés, 01 d'abril 2024].

Basant-se en els rendiments descrits en la bibliografia, es preveu que serà una reacció poc selectiva que necessitarà una etapa de purificació del producte. Es poden formar diverses impureses que poden afectar a la qualitat del producte si no es desenvolupen metodologies de purificació adequades. Per altra banda, es preveu que les traces de sofre en el producte aïllat no afectaran en la reacció de Suzuki-Miyaura (enverinament del catalitzador), donat que hi ha 7 etapes de síntesi pel mig que permetrien purgar el sofre romanent. Tot i així, caldrà tenir-ho present.

Etapa 2: Formació del carbamat.

La síntesi del carbamat utilitzant cloroformiat de metil, *a priori*, no hauria de presentar inconvenients donat que a la patent EP2900675B1 es descriu la formació d'un carbamat en un substrat similar en toluè utilitzant cloroformiat d'etil amb un rendiment del 96 %.[24] El cloroformiat de metil, tot i ser molt tòxic per inhalació, és un reactiu d'ús rutinari en la planta de producció. S'haurà d'optimitzar l'aïllament de l'intermedi.

Etapa 3: *N*-alquilació del grup carbamat.

Tot i ser un substrat diferent, es preveu utilitzar les condicions de la patent EP2900675B1 i s'espera que no hi haurà falta de conversió.[24] S'utilitzarà bromur de 2,6-difluorobenzil en acetonitril per dur a terme l'alquilació.

Etapa 4: Saponificació del grup èster.

Es durà a terme amb KOH seguint les condicions de la patent EP2900675B1, intentant substituir l'etanol per metanol o isopropanol. [24] Com a subproducte es podria obtenir el d'hidròlisi del carbamat.

Etapa 5: Formació de del grup amida.

Com a punt de partida i per tal d'assegurar conversió total, s'utilitzaran les condiciones descrites en EP2900675B1, tot i no ser els mateixos substrats de partida.[24] Es farà servir el T3P ® com agent d'acoblament per formar l'enllaç amida però mirant de substituir-lo més endavant per altres agents d'acoblament més econòmics.

Etapa 6: Ciclació en medi bàsic.

S'utilitzarà metòxid sòdic com a base per dur a terme la ciclació per formar l'anell d'uracil, tal i com està descrit per a un substrat similar en la patent EP2900675B1.[24]

S'haurà d'avaluar el perfil d'impureses i desenvolupar estratègies efectives de purificació.

Etapa 7: Bromació.

L'estratègia consisteix en bromar la posició 5 de l'anell de tiofè utilitzant NBS com a font de brom i un iniciador radicalari com AIBN. Podria haver-hi el risc de que no funcionés la reacció o que es donés la bromació en altres posicions de la molècula.

Etapa 8: Funcionalització de l'àcid borònic amb el grup urea.

La síntesi de la urea funcionalitzada en forma d'àcid borònic, *a priori*, no hauria de presentar cap inconvenient. S'utilitzaria l'àcid 4-aminofenilborònic com a reactiu de partida. Tot i així, per tal d'evitar impureses dimèriques en la reacció de l'àcid 4-aminofenilborònic amb CDI s'invertirà l'ordre de reacció, preparant primer **RL-10** i després es formarà **RL-68**, tal i com es descriu en la patent EP2900675B1.[24] Cal tenir present que si l'àcid borònic resulta ser inestable o degrada en l'emmagatzematge, aquest es podria estabilitzar mitjançant la seva reacció amb el lligand trivalent àcid *N*-metiliminodiacètic (MIDA), com formar l'intermedi equivalent d'èster borònic.[37]

Etapa 9: Inserció de la urea funcionalitzada via reacció de Suzuki-Miyaura.

L'etapa es basa en l'acoblament de l'àcid borònic (**RL-68**) amb l'intermedi bromat per formar un nou enllaç carboni-carboni, utilitzant un catalitzador de pal·ladi i en medi bàsic. S'haurà d'estudiar el tipus de catalitzador, la base, el sistema de dissolvents i condicions per tal d'assegurar la màxima conversió. Posteriorment, serà necessari trobar unes condicions de purificació per eliminar o reduir les impureses formades durant el procés, obtenint un producte conforme que compleixi amb les especificacions de qualitat. Cal tenir present que el grup dimetilamino podria coordinar-se amb el pal·ladi durant el cicle catalític.

3.1.5 Punts crítics del projecte

Es preveuen diversos punts crítics en el projecte, fites que s'hauran de superar durant el procés de I+D:

- Les 2 rutes sintètiques proposades (RoS B i C) són similars en llargària a la del la patent EP2900675B1 i semblen factibles a nivell sintètic [redacted]

[37] Gillis, E. P.; Burke, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6716.

[redacted] A priori, les reaccions proposades no presenten incompatibilitat amb els grups funcionals. Tot i així, les etapes més crítiques de la RoS B i de la RoS C es troben presents en cada moment al final de cada ruta: [redacted]

- [redacted] En el cas de la RoS C, no s'ha trobat cap intermedi avançat útil per a l'estratègia plantejada i s'haurà de començar la ruta utilitzant reactius comercials.
- [redacted] Pel que fa a la RoS C, les reaccions utilitzades difereixen bastant a les descrites en la RoS B, tenint més probabilitat de donar problemes com la falta de conversió, reaccions secundàries i la formació d'impureses difícils d'eliminar.
- Com que els intermedis que es formaran en RoS B i RoS C són nous, s'hauran de desenvolupar mètodes analítics adequats per al seguiment de les reaccions en els controls de procés (IPCs) així com per a la caracterització de cada intermedi.
- S'hauran d'identificar totes les impureses crítiques generades durant el procés i també s'haurà d'intentar minimitzar-les amb diferents mètodes de purificació. No fer-ho repercutiria directament en la qualitat final del API. Serà necessari, per tant, desenvolupar i optimitzar mètodes analítics capaços d'identificar les impureses crítiques en les matèries primes, intermedis i producte acabat. Caldrà fer un seguiment dels *carry-over*s així com identificar

i eliminar les impureses que presenten propietats carcinogèniques, d'acord amb les guies de la *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) Q3A-Q3D. [38]

- Caldrà assegurar tenir un API de qualitat farmacèutica segons les guies ICH.[38]
- Caldrà assegurar que, durant el procés, l'API no passa per cap polimorf infringent així com que tampoc s'aïlli el producte acabat en una forma polimòrfica reivindicada. En la patent de procés de Takeda, es descriu tant el solvat de tetrahidrofuran (THF) del Relugolix (protegit) com la forma anhidra, sobre la qual no s'ha trobat cap protecció. Aquesta forma anhidra podria ser la que es va descriure amb anterioritat a la bibliografia i que té un punt de fusió de 228 ºC.[32] D'aquesta manera, la forma anhidra està lliure de protecció i es podria comercialitzar Relugolix amb aquesta forma polimòrfica.

[38] https://www.ich.org/page/quality-guidelines [Accés, 01 d'abril 2024].

3.2 FASE I

3.2.1 Introducció

L'estudi i la verificació de les potencials rutes sintètiques (Fase I) s'ha basat en una estratègia experimental de prova de concepte seqüencial i iterativa amb l'avaluació contínua dels resultats, tot redissenyant les rutes en forma de noves variants/aproximacions potencials. Cal remarcar que en la Fase I es valora la viabilitat del procés. La millora del procés i la seva optimització es realitzarà en una posterior Fase II.

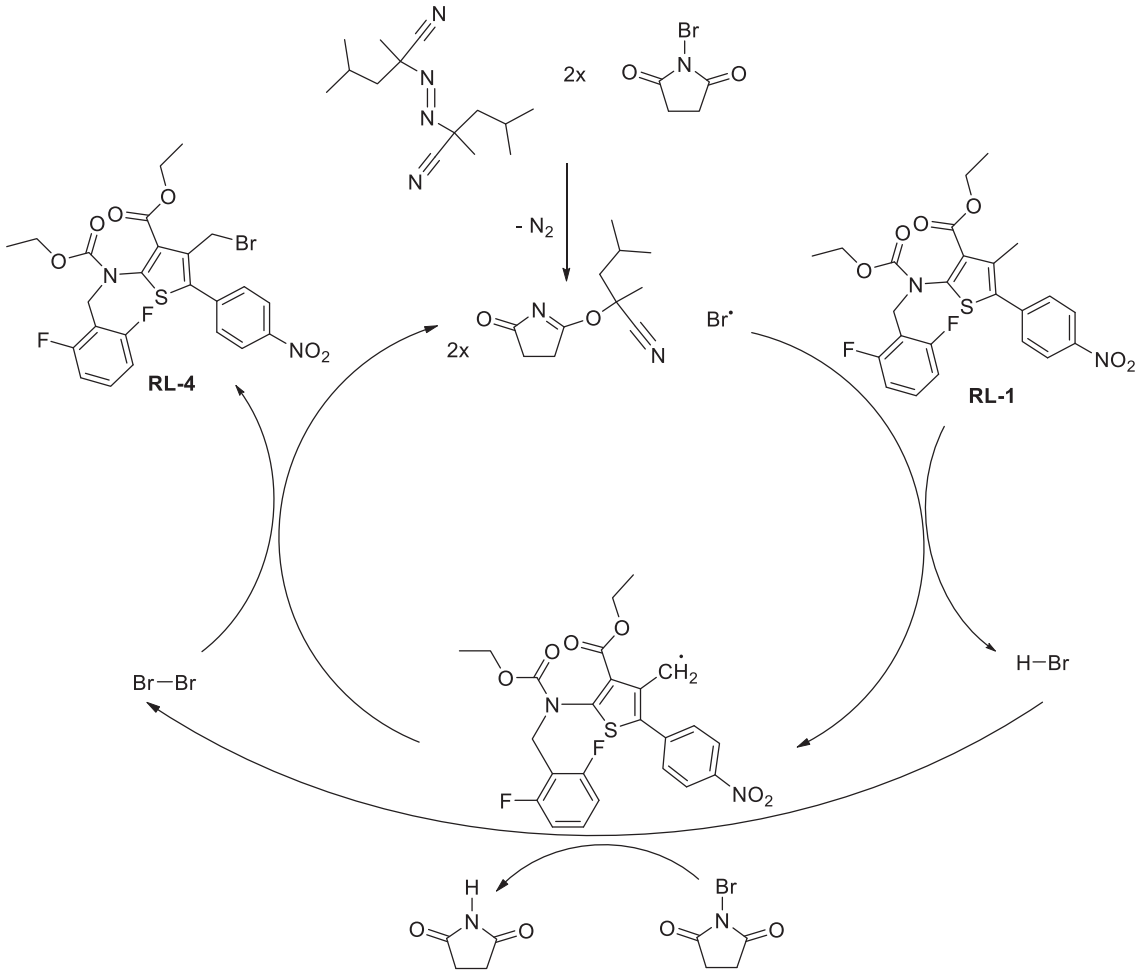
Inicialment es va començar amb una prova de concepte (PoC) reproduint les condicions descrites a la patent de procés EP2900675B1, per tal de guanyar coneixement de la naturalesa i propietats de cada intermedi així com per detectar els punts crítics de cada etapa, detectar les etapes més delicades i per identificar les fonts d'impureses potencials.[24] Seguidament es van estudiar les RoS proposades per MOEHS: la RoS B i C.

3.2.2 PoC patent EP2900675B1 (Takeda)

El procés descrit a les patents EP2900675B1 / US9758528B2 / JP5260564B2 de Takeda, consta de 7 etapes de síntesi tal i com es mostra a l'***Esquema 2***.[24,28,39] L'objectiu d'aquest apartat fou la verificació de la ruta descrita a la patent. Es va partir del material de partida avançat i disponible comercialment **RL-1** així com també de **RL-2** comercial.

El primer pas va ser la bromació de Wohl-Ziegler del metil de l'anell de tiofè de **RL-1** per donar **RL-4** (**Etapa 1**, ***Esquema 2***). S'utilitza NBS com a font de brom i AMVN com a iniciador radicalari per generar les espècies de radical brom actiu. El Br·abstreu l'hidrogen de la posició heterobenzílica, posició on el radical resultant està estabilitzat per ressonància. El Br_2 es regenera amb el segon equivalent de NBS, tot bromant la posició d'interès i tornant a generar un radical Br en el medi (***Esquema 7***).[40]

[39] JP Pat., JP5260564:B2, **2013**.
[40] **a)** Wohl, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1919**, *52*, 51. **b)** Djerassi, C. *Chem. Rev.* **1948**, *43*, 271.



Esquema 7: *Mecanisme de bromació de* ***RL-1****.*

El dissolvent per excel·lència en aquestes reaccions és el CCl_4, degut a que el derivat de tipus succinimida resultant és insoluble i flota en la superfície, sent una senyal visual òbvia de que la reacció ha acabat. Degut a l'elevada toxicitat que presenta aquest dissolvent s'aposta per substituir-lo pel diclorometà. En la patent s'utilitza un sistema d'acetat d'etil : α,α,α-trifluorotoluè (AcOEt : TFT) en una relació 8 Vol : 0,8 Vol, sent el TFT una alternativa menys tòxica que el diclorometà i utilitzant aquest co-dissolvent per estabilitzar els radicals formats.[41] Cal destacar que no es va utilitzar l'iniciador radicalari AMVN degut a que no està disponible comercialment a Europa per la seva perillositat explosiva i únicament es pot adquirir al Japó. D'aquesta forma, es van utilitzar iniciadors

[41] https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/sial/547948 [Accés, 19 de gener 2024].

radicalaris alternatius, com són l'AIBN i el dihidroclorur de 2,2'-azobis(2-amidinopropà) (AAPH)(**Figura 9**).

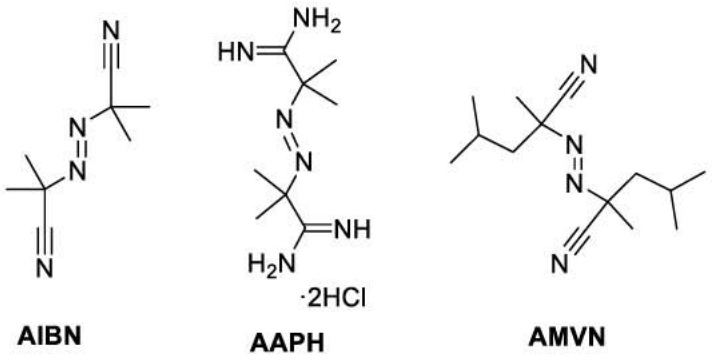


Figura 9: *Estructures dels iniciadors radicalaris AIBN, AAPH i AMVN.*

Únicament el AIBN va donar pureses i rendiments equiparables als descrits (**Entrada 3**, ***Taula 5***), després d'una digestió en EtOH / *n*-heptà a 30 ºC. En l'escalat corresponent (**Entrada 4**, ***Taula 5***) es van reproduir les condicions (malauradament, en aquest experiment es va perdre un 20% de rendiment en les aigües mares degut a un contratemps en el laboratori). La reacció portada a terme utilitzant AAPH presentava una conversió completa i una puresa del 86 % després de deixar la reacció fins a 48 h a 70 ºC, tot i fent-li una segona addició de NBS i AAPH (**Entrada 2**,***Taula 5***).

Taula 5: *Comparativa entre condicions EP2900675B1 descrites i les experimentals per a* ***RL-4***.[24]

Condicions generals					
2,25 eq. NBS, 0,35 eq. iniciador radicalari, 8 Vol AcOEt, 0,8 Vol TFT, 70 ºC					
Entrada	**U. O.**	**Iniciador radicalari**	**Temps**	**Rendiment**	**Puresa RL-4**
1[a]	1,1 Kg	AMVN	40 min	92 %	92,9 %
2	5 g	AAPH	48 h	35 %	86,0 %
3	5 g	AIBN	90 min	80 %	92,9 %
4[b]	200 g	AIBN	90 min	75 %	91,5 %

a: *condicions descrites en EP2900675B1.*[24] ***b:*** *pèrdua d'un 20% de producte en les aigües mares.*

La formació de **RL-5** es duu a terme mitjançant una substitució nucleòfila sobre **RL-4** amb dimetilamina (DMA). Es van reproduir les condicions descrites tot obtenint un rendiment i una puresa equiparables (**Entrada 2**, ***Taula 6***). **RL-5** precipita en el mateix medi de reacció a temperatura ambient amb l'addició d'EtOH : H_2O (2 : 2,5 Vol). Amb un escalat de 180 g es van verificar les condicions de reacció (**Entrada 3**, ***Taula 6***).

Taula 6: *Comparativa entre condicions EP2900675B1 descrites i les experimentals per a* ***RL-5****.*[24]

Condicions generals			
1,5 eq. DMA·HCl, 2,6 eq. TEA, 6 Vol DMF, 15 ºC, 1 h			
Entrada	**U. O.**	**Rendiment**	**Puresa RL-5**
1[a]	10 g	90 %	99,6 %
2	5 g	80 %	99,5 %
3	180 g	87 %	99,5 %

a: *condicions descrites en EP2900675B1.*[24]

La hidròlisi bàsica de **RL-5** es va dur a terme amb KOH 50% en etanol, tot obtenint-se **RL-6** amb un rendiment i puresa similars als descrits (**Entrada 1** vs. **Entrada 2**, ***Taula 7***).

Un cop acaba la reacció, el producte s'aïlla per digestió en EtOH / AcOEt / aigua a 40-45 ºC a un pH de 6-7 durant 1 h. Es reprodueixen satisfactòriament les condicions a escala de 139 g (**Entrada 3**, ***Taula 7***).

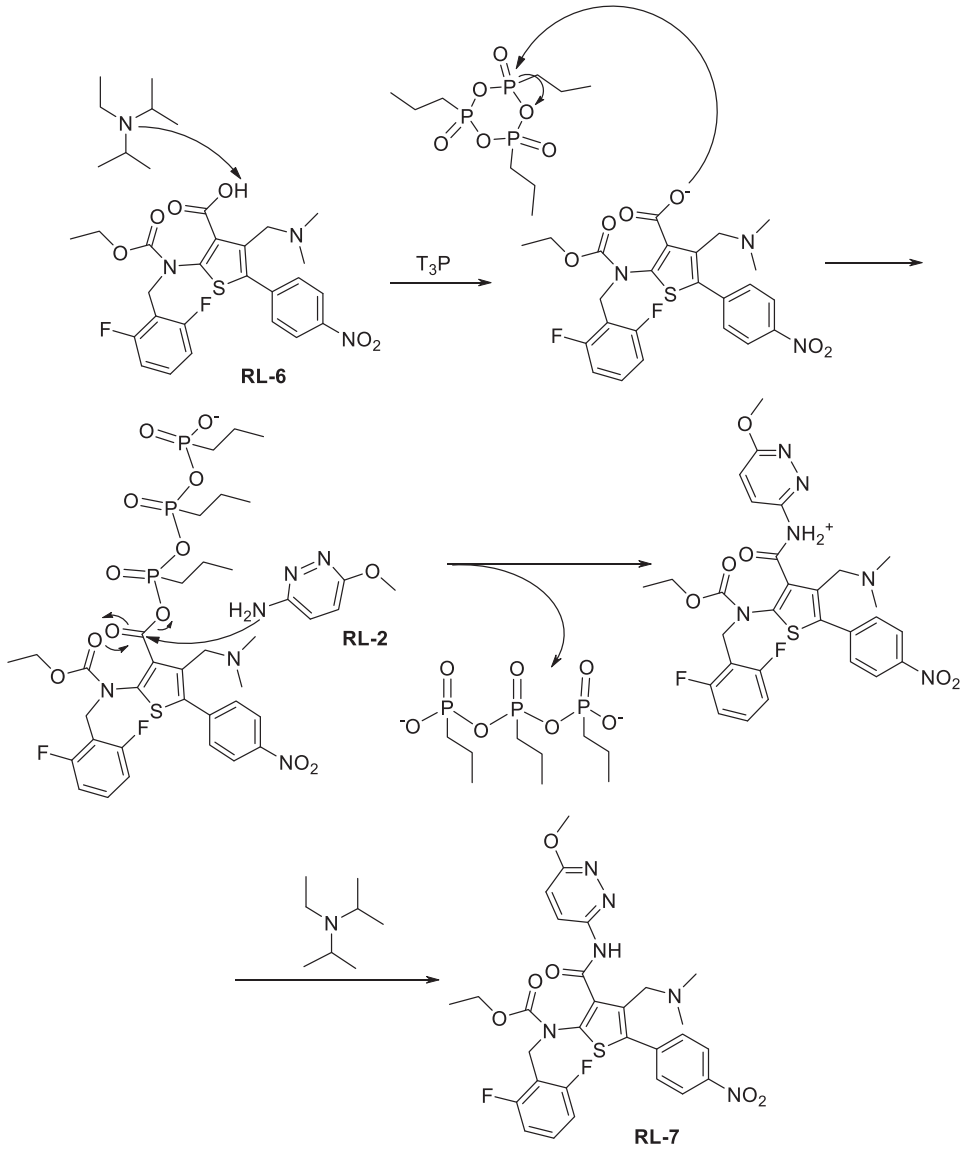
Taula 7: *Comparativa entre condicions EP2900675B1 descrites i les experimentals per a* ***RL-6****.*[24]

Condicions generals			
1,5 eq. KOH 50%, 9 Vol EtOH, 2,6 Vol H_2O, 60 ºC, 5 h			
Entrada	**U. O.**	**Rendiment**	**Puresa RL-6**
1[a]	8 g	90 %	98,7 %
2	10 g	89 %	96,2 %
3	139 g	88 %	97,9 %

a: *condicions descrites en EP2900675B1.*[24]

L'amida **RL-7** es va obtenir utilitzant l'anhídrid 2-propanfosfònic (T3P ®) com agent d'acoblament. S'empra *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) com a base per desprotonar l'àcid carboxílic de **RL-6** i que el carboxilat pugui atacar al T3P ® tot obtenint una espècie activada. Amb l'atac de la 6-metoxipiridazin-3-amina (**RL-2**) s'aconsegueix formar **RL-7** (***Esquema 8***).[42]

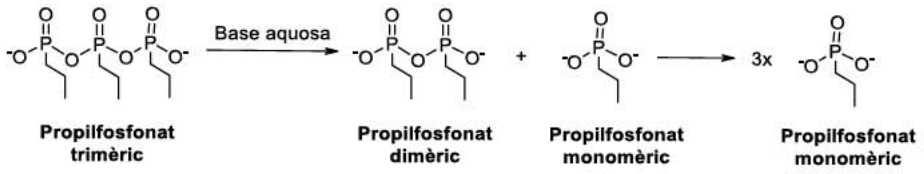
[42] https://www.commonorganicchemistry.com/Rxn_Pages/Amine_to_Amide_Coupling/Amine_to_Amide_Coupling_T3P_Mech.htm [Accés, 20 de gener 2024].



Esquema 8: *Mecanisme d'acoblament de* ***RL-2*** *amb* ***RL-6*** *utilitzant T3P ®.*

Amb un rentat aquós s'aconsegueix eliminar el sub-producte del T3P ® (propilfosfonat trimèric lineal) i els seus productes de degradació, donat que són molt solubles en aigua (***Esquema 9***).[43]

[43] Davidson, A.; Foley, D. A.; Frericks-Schmidt, H.; Ruggeri, S. G.; Herman, M.; LaCasse, S.; Liu, Y.; McInturff, E. L.; Morris, R.; Mugheirbi, N.; Samas, B.; Sarkar, A.; Singer, R. A.; Witkos F.; Yu, S. *Org. Process Res. Dev.* **2021**, *25*, 621.



Esquema 9: *Productes de degradació del T3P ® en medi aquós.*[43]

Seguint la metodologia descrita a la patent EP2900675B1, tot afegint el T3P ® a 55-60 ºC a la mescla de **RL-6**, **RL-2** i DIPEA en dimetilacetamida (DMAc), s'aconsegueix només una conversió parcial del 70 %, quedant **RL-6** per reaccionar.[24] Tant deixant la reacció durant més hores com fent diverses addicions posteriors de DIPEA i T3P ® a 55-60 ºC no es va observar cap millora, arribant només fins el 73 % de conversió (**Entrada 2**, ***Taula 8***). L'addició del T3P ® a la reacció a temperatura ambient i el posterior escalfament gradual de la mescla de reacció a 55 ºC, sí que va donar els resultants descrits amb bon rendiment i bona puresa cromatogràfica (**Entrada 3**, ***Taula 8***). L'escalat a 112 g va demostrar que les condicions eren reproduïbles (**Entrada 5**, ***Taula 8***). La reacció en acetonitril (ACN) va presentar resultats similars, sent un bon dissolvent alternatiu tot i donar-se la transformació heterogèniament (**Entrada 4**, ***Taula 8***).

Taula 8: *Comparativa entre condicions EP2900675B1 descrites i les experimentals per a* ***RL-7****.*[24]

Condicions generals					
1,2 eq. **RL-2**, 2 eq. DIPEA, 1,45 eq. T3P ® 50 % en ACN, 5 Vol dissolvent, 55-60 ºC					
Entrada	**U. O.**	**Dissolvent**	**Temps**	**Rendiment**	**Puresa RL-7**
1[a]	6,5 g	DMAc	1 h	97 %	98,5 %
2[b]	3,8 g	DMAc	12 h	51 %	98,0 %
3[c]	3,5 g	DMAc	90 min	90 %	95,1 %
4[c]	3,0 g	ACN	90 min	89 %	95,8 %
5[c]	112 g	DMAc	90 min	99 %	97,5 %

a: *condicions descrites en EP2900675B1.*[24] ***b:*** *addició del T3P ® a 55-60 ºC.*
c: *addició del T3P ® a temperatura ambient.*

La formació de l'anell d'uracil es va aconseguir a partir de la ciclació de **RL-7** sota catàlisi de metòxid sòdic, donant lloc a **RL-8**. Es va obtenir una conversió quantitativa juntament amb una selectivitat elevada tal i com es pot observar a l'**Entrada 2** de la ***Taula 9***. Aplicant les condicions descrites en la patent de procés es va confirmar la bona reproductibilitat del procés (**Entrada 3**, ***Taula 9***).

Taula 9: *Comparativa entre condicions EP2900675B1 descrites i les experimentals per a* ***RL-8****.*[24]

Condicions generals			
0,2 eq. MeONa 30 %, 25 Vol MeOH, 1,7 Vol THF, 65-70 ºC, 90 min			
Entrada	**U. O.**	**Rendiment**	**Puresa RL-8**
1ª	7,5 g	98 %	99,9 %
2	5,0 g	99 %	99,9 %
3	66 g	99 %	98.8 %

a: *condicions descrites en EP2900675B1.*[24]

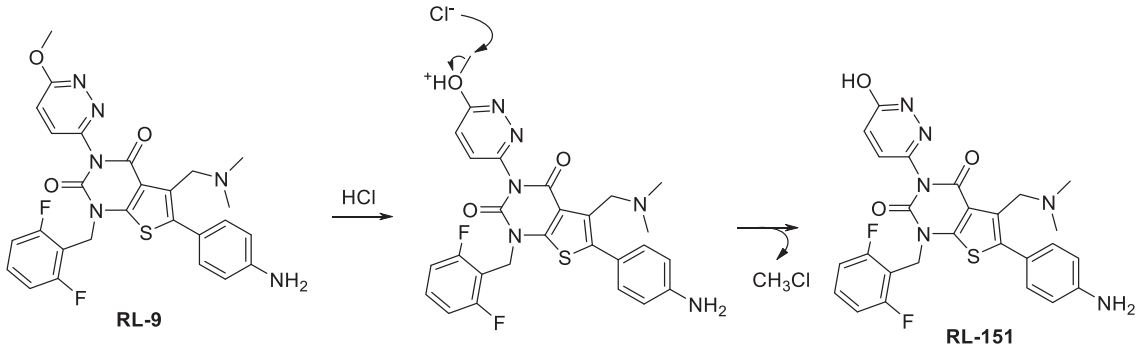
La penúltima etapa del procés és la hidrogenació del grup nitro de **RL-8** per convertir-lo en l'anilina corresponent **RL-9**. La hidrogenació va funcionar de forma eficaç donant bona conversió a temperatura ambient, aïllant-se **RL-9** amb un 89,7 % de puresa cromatogràfica però amb un rendiment limitat (**Entrada 2**, ***Taula 10***).

Taula 10: *Comparativa entre condicions EP2900675B1 descrites i les experimentals per a* ***RL-9****.*[24]

Condicions generals				
8 Vol MeOH, 25 ºC, 4 h				
Entrada	**U. O.**	**Reactius**	**Rendiment**	**Puresa RL-9**
1ª	80 g	10 % en pes Pd/C 10 % 0,8 eq. HCl 37 %, 3 bar H_2	84 %	99,0 %
2	66 g	20 % en pes Pd/C 5 % 0,8 eq. HCl 37 %, 4 bar H_2	67 %	89,7 %

a: *condicions descrites en EP2900675B1.*[24]

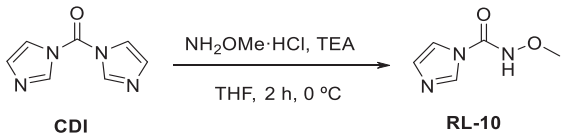
El principal inconvenient de la falta reproductibilitat fou que la selectivitat del procés es va veure afectada marcadament per la formació d'impureses, majoritàriament destacant-ne **RL-151**, producte de desmetilació de la piridazina degut al HCl que s'empra (***Esquema 10***). Fent una digestió del sòlid **RL-9** amb MeOH a pH = 8-8,5, s'observa millora en la reducció del perfil d'impureses però sense mostrar cap efecte de purga en **RL-151**. Aquesta, de fet, serà un *carry-over* crític que donarà no conformitat al producte acabat.



Esquema 10: *Impuresa desmetilada* ***RL-151****.*

L'últim pas del procediment és la formació del grup urea mitjançant la reacció entre **RL-9** i metoxiamina activada amb CDI com a **RL-10**, tal i com s'observa en l'***Esquema 11***. La formació del grup urea es realitza en dos passos:

1) Primer es genera **RL-10** a partir de la reacció de CDI amb la metoxiamina, que ha estat prèviament alliberada de l'hidroclorur corresponent amb trietilamina (TEA) a 0 ºC (***Esquema 11***).



Esquema 11: *Formació de* ***RL-10*** *a partir del CDI.*

2) Un cop es forma **RL-10**, se li addiciona **RL-9** donant lloc a Relugolix. El producte se suspèn en aigua i es cristal·litza amb una mescla de dimetilsulfòxid / etanol absolut (DMSO / EtOH), per aïllar el polimorf d'interès.

Tal i com es pot observar a la **Entrada 2** de la ***Taula 11***, el Relugolix obtingut no és conforme segons les guies de la ICH per cromatografia ja que té una gran quantitat d'impureses per sobre del 0,15 %. Una anàlisi quantitativa d'aquestes impureses va demostrar que la majoria d'elles es formen durant el procés d'hidrogenació (**Etapa 6,** ***Esquema 2***). Pel que fa al rendiment, s'obté un 10% menys del descrit.

Taula 11: *Comparativa entre condicions EP2900675B1 descrites i les experimentals per a* ***RL****.*[24]

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	Rendiment	Puresa RL
1ª	10 g	**Formació RL-10:** 1) 1,7 eq. CDI, 0,85 eq. TEA 2) 1,9 eq. $NH_2OMe \cdot HCl$ **Formació de RL:** 1 eq. **RL-9** sobre **RL-10** **Recristal·lització:**	3 Vol ACN 0 ºC, 2 h 50-55 ºC, 12 h 2,3 Vol DMSO / 15,7 Vol EtOH 40-45 ºC, 1 h → 25 ºC, 12 h	92 %	99,9 %
2	5 g	**Formació RL-10:** 1) 1,7 eq. CDI, 0,85 eq. TEA 2) 1,9 eq. $NH_2OMe \cdot HCl$ **Formació de RL:** 1 eq. **RL-9** sobre **RL-10** **Recristal·lització:**	3 Vol ACN 0 ºC, 2 h 50-55 ºC, 12 h 2,3 Vol DMSO / 15,7 Vol EtOH 40-45 ºC, 1 h → 25 ºC, 12 h	82 %	98,6 %

a: *condicions descrites en EP2900675B1.*[24]

Observant aquests resultats es pot veure com l'etapa crítica del procés de Takeda (patent EP2900675B1) és la hidrogenació, donat que genera un gran contingut d'impureses que no s'aconsegueixen purgar i s'arrosseguen fins a producte acabat, fent-lo no-conforme segons els criteris d'especificació.[24]

La ruta es va reproduir correctament obtenint rendiments i pureses equiparables a les descrites en les patents. Un cop finalitzada la prova de concepte se'n van extreure les següents observacions:

- **Etapa 1 - Bromació:** És necessari treballar amb un excés de NBS (2,25-2,50 eq.) i amb 0,2 eq. d'iniciador radicalari AIBN per obtenir un conversió quantitativa en un temps de reacció curt (1-3 h) en un sistema de dissolvents de AcOEt : TFT (8 : 0,8 Vol). En el tractament de la reacció s'haurà d'evitar afegir l'aigua a temperatura superior als 30 ºC, ja que a aquestes temperatures es produeixen impureses d'hidròlisi. La digestió de **RL-4** en EtOH / *n*-heptà a 30 ºC és efectiva per aïllar un producte d'una puresa

superior al 93 %. Aquestes condicions es poden adoptar en les rutes de MOEHS, evitant l'ús del TFT si és possible donat que és un dissolvent de Classe I.[44]

- **Etapa 2 - Aminació:** la substitució nucleòfila sobre **RL-4** amb dimetilamina (alliberada amb TEA) en DMF dona de forma satisfactòria **RL-5** amb rendiments i pureses elevades. El producte precipita en el mateix DMF donant una puresa cromatogràfica de **RL-5** superior al 99 %. Aquestes condicions es poden adoptar en les rutes de MOEHS.

- **Etapa 3 – Saponificació del grup èster:** la hidròlisi bàsica de **RL-5** amb KOH 50% en etanol dona de forma satisfactòria **RL-6** amb rendiments i pureses elevades. Tot i així, s'hauria de substituir l'etanol per un altre alcohol com metanol o 2-propanol en el procediment de MOEHS degut als costos i permisos necessaris per treballar amb l'etanol. Cal tenir present que en la hidròlisi es podria donar també la substitució del fragment etil del carbamat per un fragment metílic o isopropílic.

- **Etapa 4 - Formació del grup amida:** la formació de l'amida **RL-7** va donar-se a 50-60 ºC en presència del T3P ® com agent d'acoblament obtenint-se pureses i rendiments superiors al 97 %. Aquestes condicions es poden adoptar en les rutes de MOEHS, tot valorant si es pot substituir el T3P ® per altres agents d'acoblament més econòmics. La reacció realitzada en ACN dóna valors equivalents, malgrat ser una mescla heterogènia (suspensió durant tota la reacció). Donat que roman al voltant de 1-3 % de piradizina **RL-2** sense reaccionar, es pot treballar sense utilitzar-ne un excés. Cal assegurar bons rentats aquosos durant el tractament de la reacció per eliminar els subproductes generats pel T3P ®, donat que poden enverinar el catalitzador de pal·ladi a l'**Etapa 6** (***Esquema 2***).

- **Etapa 5 – Ciclació:** la ciclació de **RL-7** en metanol utilitzant metòxid sòdic de forma catalítica dóna quantitativament **RL-8** amb puresa i rendiment superiors al 99 %. Tot i així, durant la síntesi de l'anell d'uracil, es forma una suspensió densa (a mesura que precipita **RL-8**). Aquesta suspensió es pot

[44] Classificació dels dissolvents seguint les Guies de ICH Q3D.

agitar correctament, però caldrà tenir-ho present en aplicar la metodologia en les rutes de MOEHS.

- **Etapa 6 – Reducció del grup nitro a amino**: la hidrogenació del grup nitro **RL-8** a l'anilina **RL-9** es dona amb un baix rendiment i amb una puresa acceptable. El medi àcid permet la solubilització de l'intermedi **RL-8** i el producte **RL-9**, ajudant així a la cinètica de la reacció. Malauradament, això comporta un elevat grau de formació d'impureses, destacant la impuresa **RL-151**. En l'estratègia MOEHS s'haurà d'estudiar si portar a terme la reacció en medi àcid o no. D'altra banda, la càrrega de catalitzador és acceptable des del punt de vista dels costos.

- **Etapa 7 – Formació del grup urea**: aquesta etapa està dividida en dues parts. A la primera es forma l'intermedi **RL-10**, tot activant la metoxiamina amb el CDI en ACN a 0-2 ºC. A la segona etapa té lloc l'atac nucleòfil de l'amina **RL-9** a **RL-10** formant el grup urea corresponent al Relugolix final. Un cop es forma el producte, se suspèn en aigua i es cristal·litza en DMSO / EtOH. És una etapa on es formen moltes impureses i on s'arrosseguen els *carry-overs* de l'etapa d'hidrogenació. S'haurà d'estudiar l'etapa en profunditat a l'aplicar-la a les altres rutes estudiades, per poder aïllar un producte conforme i amb el polimorf desitjat. Relugolix presenta una baixa solubilitat en els dissolvents convencionals. El DMSO sembla ser un dels pocs que permet dissoldre el producte sense necessitat d'elevats volums de dissolvent.

El rendiment global obtingut és del 35 % lleugerament més baix que el 55 % descrit i el producte final resulta ser no conforme per les substàncies relacionades. Tot i així, queda verificada la PoC de la ruta de la patent EP2900675B1.[24]





[redacted]





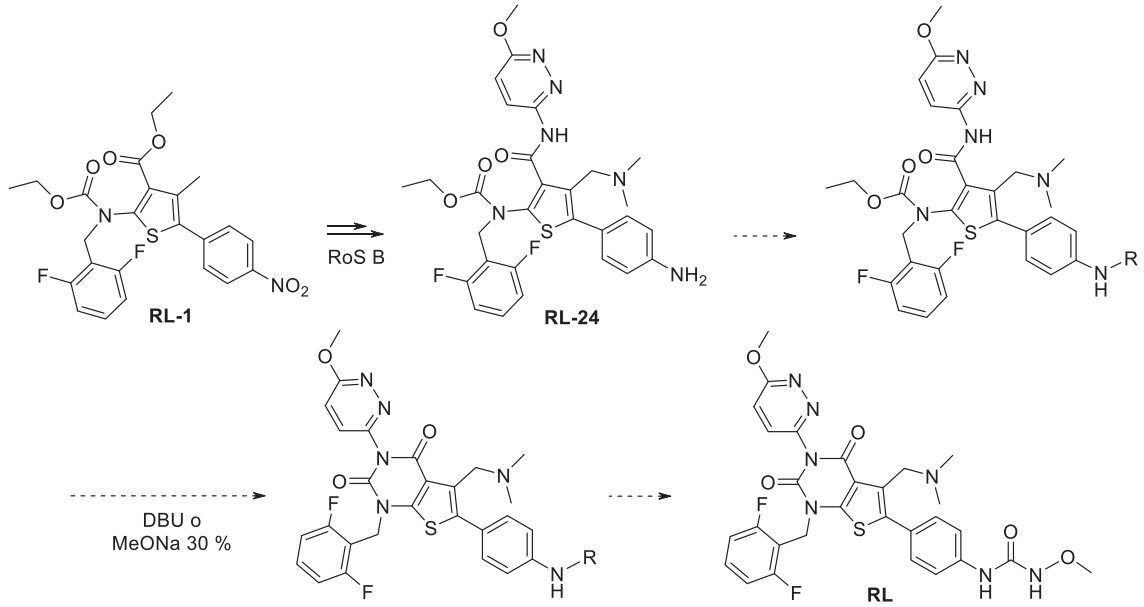




[redacted]

3.2.4 RoS B.1

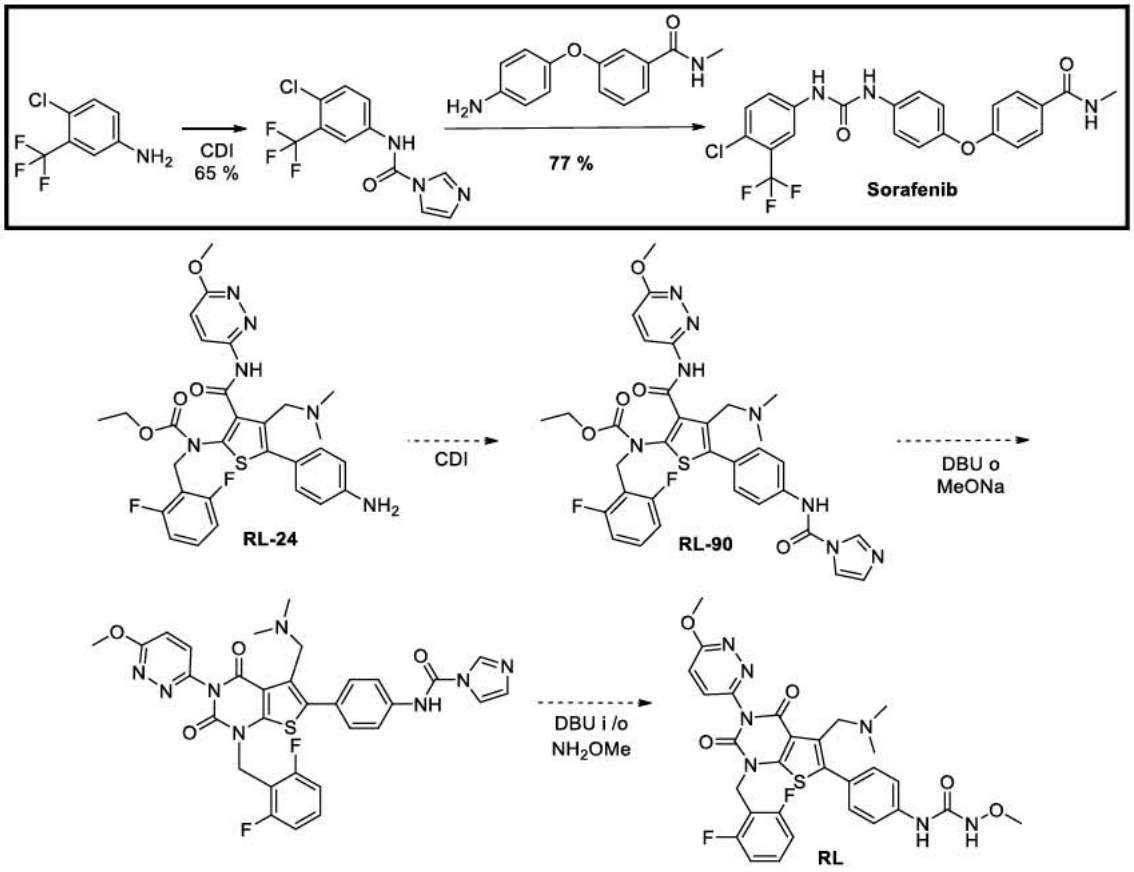
L'objectiu d'aquesta estratègia és trobar una via alternativa que parteixi de **RL-24** per obtenir **RL** sense passar per **RL-25**, reduint dins del possible el número d'etapes necessàries (***Esquema 12***). L'obtenció de **RL-24** es durà a terme com s'ha vist amb anterioritat en la RoS B. Aquesta estratègia estaria formada per 8 etapes sintètiques i presentaria activitat inventiva, des de **RL-24** fins a **RL**. La idea és funcionalitzar l'anilina **RL-24**, on l'intermedi obtingut se ciclaria amb DBU o MeONa tot acabant la ruta amb la formació de la urea d'interès **RL** (***Esquema 12***).



Esquema 12: *Plantejament de la RoS B.1.*

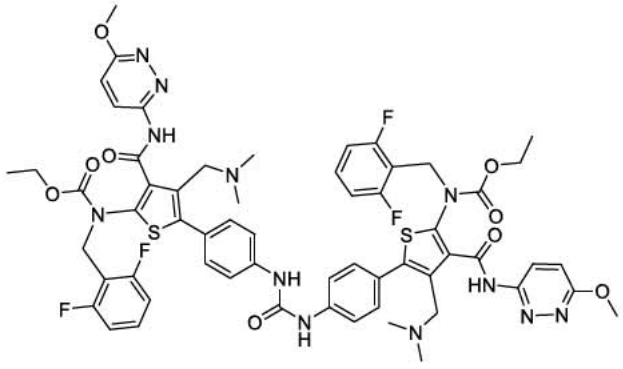
Una primera estratègia que es va plantejar fou l'activació de **RL-24** amb CDI tot aïllant **RL-90**, metodologia utilitzada prèviament a l'empresa en la síntesi de l'API Sorafenib (**Esquema 13**).[46]

[46] Rawling, T.; Mcdonagh, A. M.; Tattam, B.; Murray, M. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 6065.



Esquema 13: *Formació de* ***RL-90*** *seguint estratègia descrita pel Sorafenib.*[36]

Malauradament, no es va detectar **RL-90** però sí la formació majoritària de la impuresa d'urea simètrica **RL-91** (**Entrada 1**, ***Taula 17*** i ***Figura 11***).



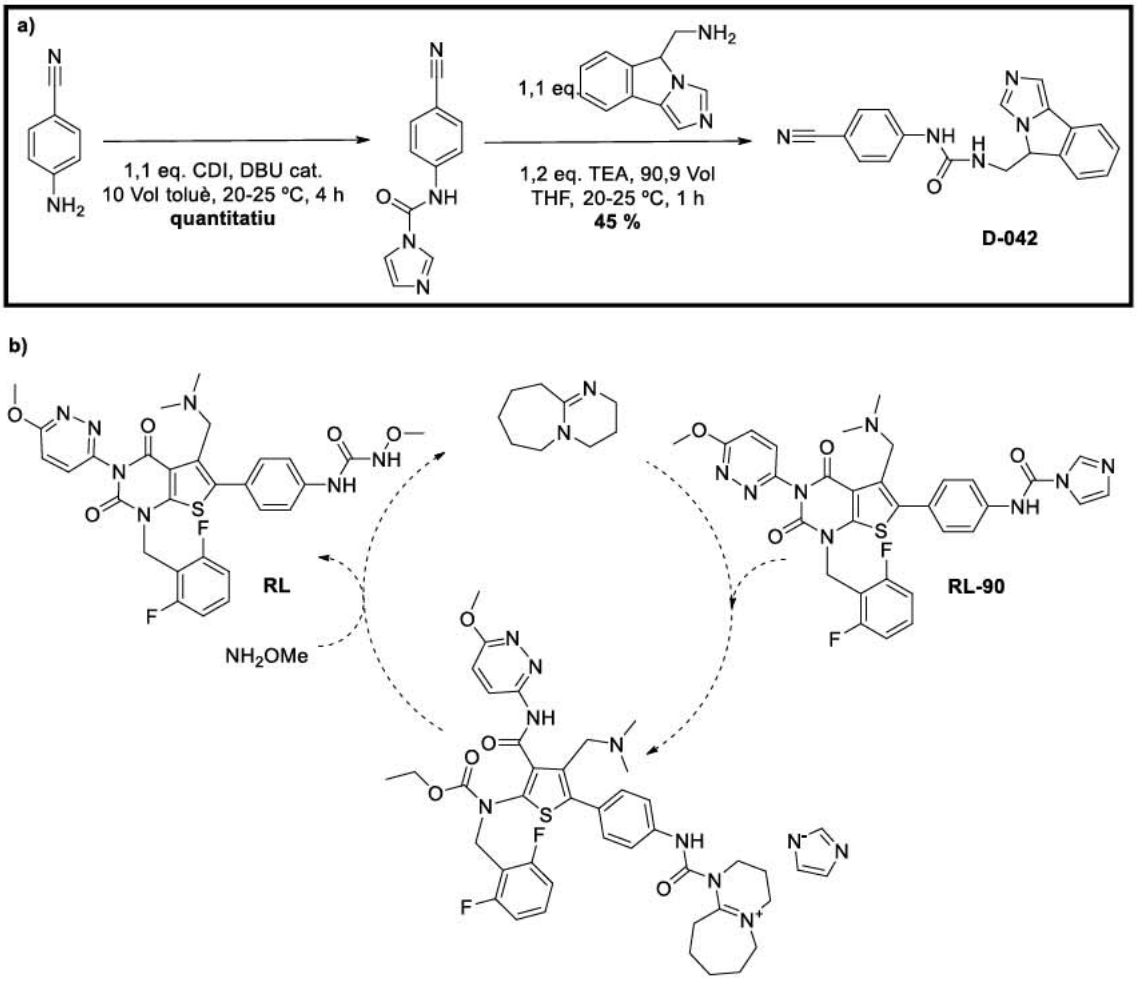
RL-91

Figura 11: *Impuresa* ***RL-91****.*

Una altra opció és la que proposa la patent xinesa US20180362531A1 on aïllen l'intermedi *N*-(4-cianofenil)imidazol-1-carboxamida, mitjançant l'activació del 4-aminobenzonitril amb CDI emprant catàlisi de DBU (***Esquema 14***).[47] A l'***Esquema 14***

[47] US Pat., US20180362531:A1, **2018**.

es mostra el possible mecanisme que proposen Larrivée-Aboussafy i col·laboradors des de Pfizer aplicat a **RL-90**.[48] Utilitzant aquesta metodologia per **RL-24**, no es va detectar **RL-90** sinó la formació de la impuresa **RL-91** (***Figura 11*** i **Entrada 2**, ***Taula 17***).



Esquema 14: *a) Síntesi de* ***D-042*** *descrit en la patent US20180362531A1 (STANDARD LLC), b) Mecanisme proposat per a l'obtenció de* ***RL*** *a partir de* ***RL-90*** *utilitzant DBU.*[47]

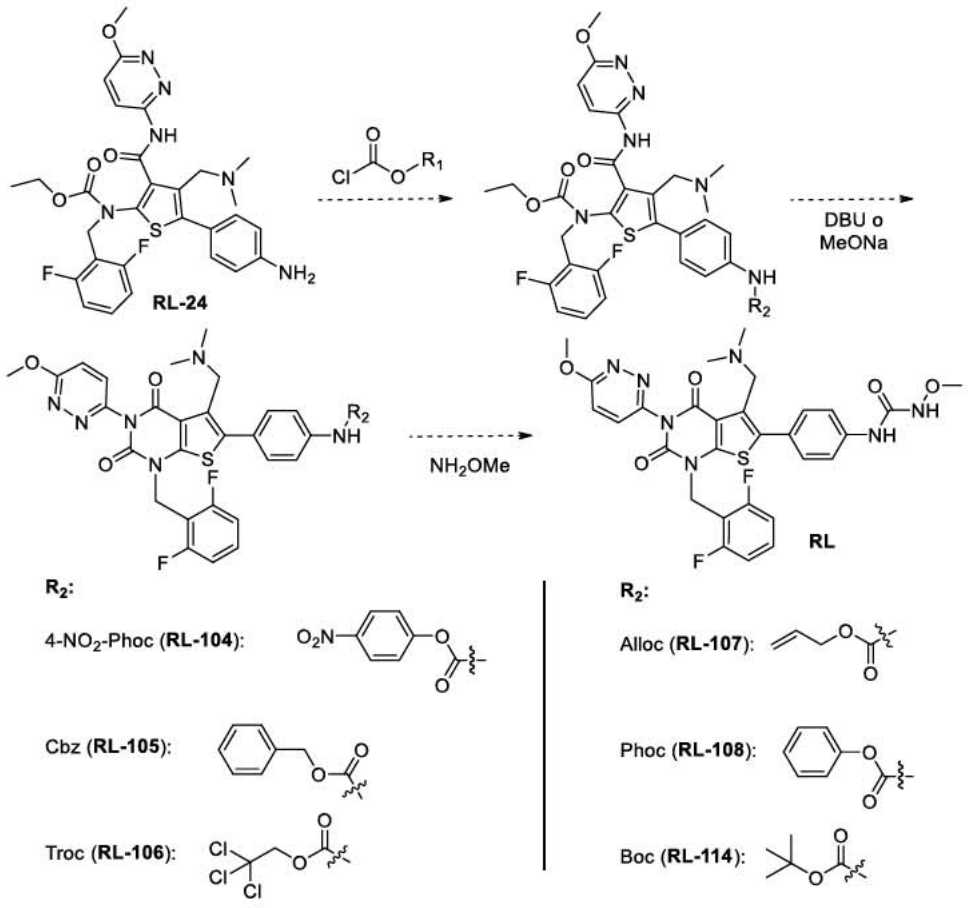
Treballant en condicions diluïdes, tot afegint **RL-24** sobre la suspensió amb lleuger excés de CDI, no es va observar la formació de **RL-90** però sí la de la impuresa **RL-91** en un 77,7 % (**Entrada 3**, ***Taula 17***). Es comprova com l'intermedi **RL-90** és molt reactiu i que en presència d'un nucleòfil, com **RL-24**, s'afavoreix la formació de la urea simètrica.

[48] Larrivée-Aboussafy, C.; Jones, B. P.; Price, K. E.; Hardink, M. A.; McLaughlin, R. W.; Lillie, B. M.; Hawkins, J. M.; Vaidyanathan, R. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 324.

***Taula 17:** Síntesi de **RL-90**.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-90	Impuresa RL-91
1	2 g	1,4 eq. CDI	10 Vol DCM 20-25 ºC, 12 h	n.d.	79,9 %
2	2 g	1,4 eq. CDI, 0,2 eq. DBU	10 Vol toluè 0 ºC, 3 h → rt, 12 h	n.d.	58,0 %
3	1 g	2,5 eq. CDI	40 Vol DCM 0 ºC, 3 h	n. d.	77,7 %

Una altra possible estratègia és la formació del carbamat de **RL-24**, amb la condició que sigui prou estable en el medi bàsic de la ciclació per formar l'anell d'uracil abans de la formació de la urea, requisit per no infringir cap patent (***Esquema 15***).



***Esquema 15:** Estratègia d'obtenció de **RL** via formació del carbamat de **RL-24**.*

Basant-se en aquesta estratègia, es va fer un *screening* d'obtenció de carbamats a partir de **RL-24**. Es va plantejar la formació dels següents carbamats: -*p*-nitrofenil, -benzil, -al·lil, -fenil, -2,2,2-tricloroetil i -*tert*-butil.

La protecció de **RL-24** com a carbamat de *p*-nitrofenil seguida de la ciclació i posterior formació de la urea, *a priori*, hauria de ser una transformació fàcil degut a major reactivitat del carbonil del carbamat en la reacció amb metoxiamina, si es compara amb la protecció amb carbamat de fenil.[49] La formació de l'intermedi carbamat de *p*-nitrofenil va donar majoritàriament la formació de **RL-91** (47 %) sense detectar **RL-104** (**Entrada 1**, ***Taula 18***).[50] L'ús d'una base inorgànica com el K_2CO_3 va donar la formació de **RL-104** en un 42,4 %. En aquesta reacció la conversió de **RL-24** vas ser completa, comportant també una gran quantitat d'impureses no identificades (**Entrada 2**, ***Taula 18***). [51]

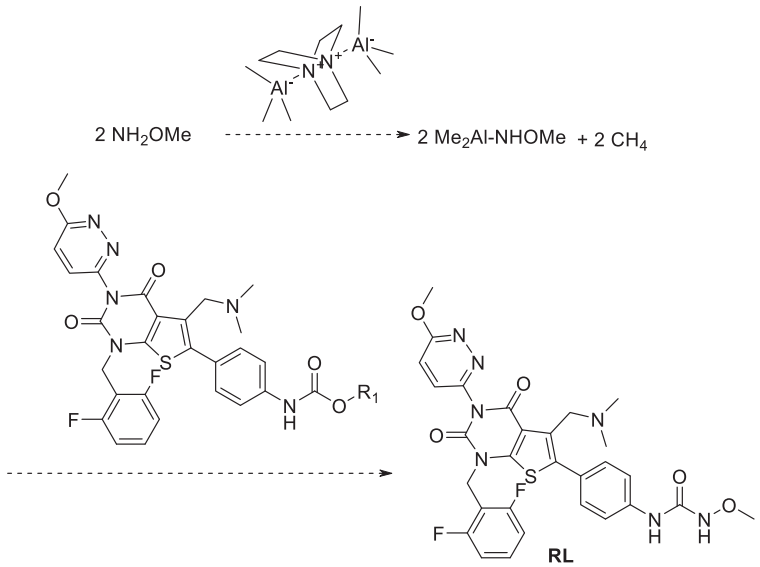
Taula 18: *Millors condicions de la formació de diversos carbamats de* ***RL-24****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-24	Carbamat
1	1,5 g	1,5 eq. piridina, 1 eq. 4-NO_2- Phoc-Cl	14 Vol THF anhidre 0 ºC, 1 h → 20-25 ºC, 12 h	23,8 %	n.d. (**RL-104**)
2	0,5 g	1,04 eq. K_2CO_3, 1 eq. 4-NO_2- Phoc-Cl	8 Vol THF anhidre 0 ºC, 1 h → 20-25 ºC, 12 h	n. d.	42,4 % (**RL-104**)
3	0,5 g	1,2 Eq. DIPEA, 1 eq. Cbz-Cl	10 Vol DCM anhidre 0 ºC, 1 h → 20-25 ºC, 12 h	5,1 %	n.d. (**RL-105**)
4	0,5 g	1,2 eq. TEA, 1 eq. Troc-Cl	10 Vol DCM anhidre 0 ºC, 2 h	n. d.	45,0 % (**RL-106**)
5	0,5 g	2 eq. TEA, 2 eq. Alloc-Cl	10 Vol DCM anhidre rt, 12 h → reflux, 12 h	54,9 %	11,6 % (**RL-107**)
6	0,5 g	1,2 eq. DIPEA, 1 eq. Phoc-Cl	10 Vol DCM anhidre 0 ºC, 1 h → 20-25 ºC, 12 h	9,6 %	46,4 % (**RL-108**)
7	0,5 g	3 eq. TEA, 2 eq. Boc_2O	20 Vol DCM anhidre 60 ºC, 12 h	5,2 %	55,5 % (**RL-114**)

Soosung Kang i Hee-Kwon Kim van descriure una síntesi directa d'urees asimètriques a partir de les amines protegides en forma de carbamat de benzil (Cbz) i d'al·lil (Alloc), tot emprant DABAL-Me_3.[52] El DABAL-Me_3, és un adducte de trimetilalumini amb 1,4-diazabiciclo[2.2.2]octà (DABCO), que permet treballar amb seguretat amb el reactiu pirofòric $AlMe_3$ sense necessitat d'utilitzar atmosfera inert. [53] La síntesi transcorre

[49] Tran, V. H.; Kim, H.-K. *New J Chem* **2019**, *43*, 14093.
[50] Black, D. S.; Kumar, N.; Mitchell, P. S. R. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2464.
[51] WO Pat., WO2014042176:A1, **2014**.
[52] Kang, S.; Kim, H.-K. *Tetrahedron* **2018**, *74*, 4036.
[53] https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/technical-documents/technical-article/chemistry-and-synthesis/reaction-design-and-optimization/dabal [Accés, 03 de gener 2024].

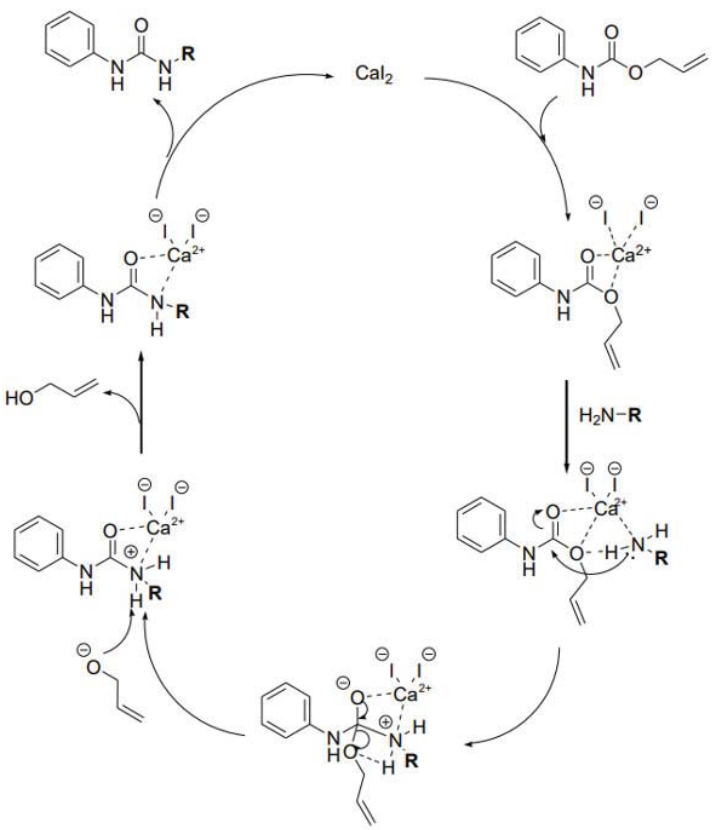
a través de l'activació de la metoxiamina com a amidur d'alumini, fent-la reaccionar amb el carbamat d'interès (***Esquema 16***) per aconseguir la urea. [54]



Esquema 16: *Formació de la urea amb el DABAL-Me3.*

D'altra banda, Tran i Kim van descriure la transformació d'amines *N*-Alloc i *N*-Troc protegides a urees asimètriques tot emprant CaI_2 com a catalitzador.[49] Cal mencionar que aquesta és una ruta atractiva donat que el catalitzador que s'empra és econòmic. La reacció es duu a terme en toluè a 80 ºC i s'ha proposat el cicle catalític que es mostra en l'***Esquema 17***.[55]

[54]**a)** Novak, A.; Humphreys, L. D.; Walker, M. D.; Woodward, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 5767. **b)** Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4171. **c)** Lipton, M. F.; Basha, A.; Weinreb, S. M.; Hutchins, C. W.; Coates, R. M. *Org. Synth.* **1979**, *59*, 49.
[55]https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/search/cai2?focus=products&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=cai2&type=product [Accés, 03 de gener 2024].



Esquema 17: *Cicle catalític de la formació d'urees asimètriques amb CaI_2.*[54]

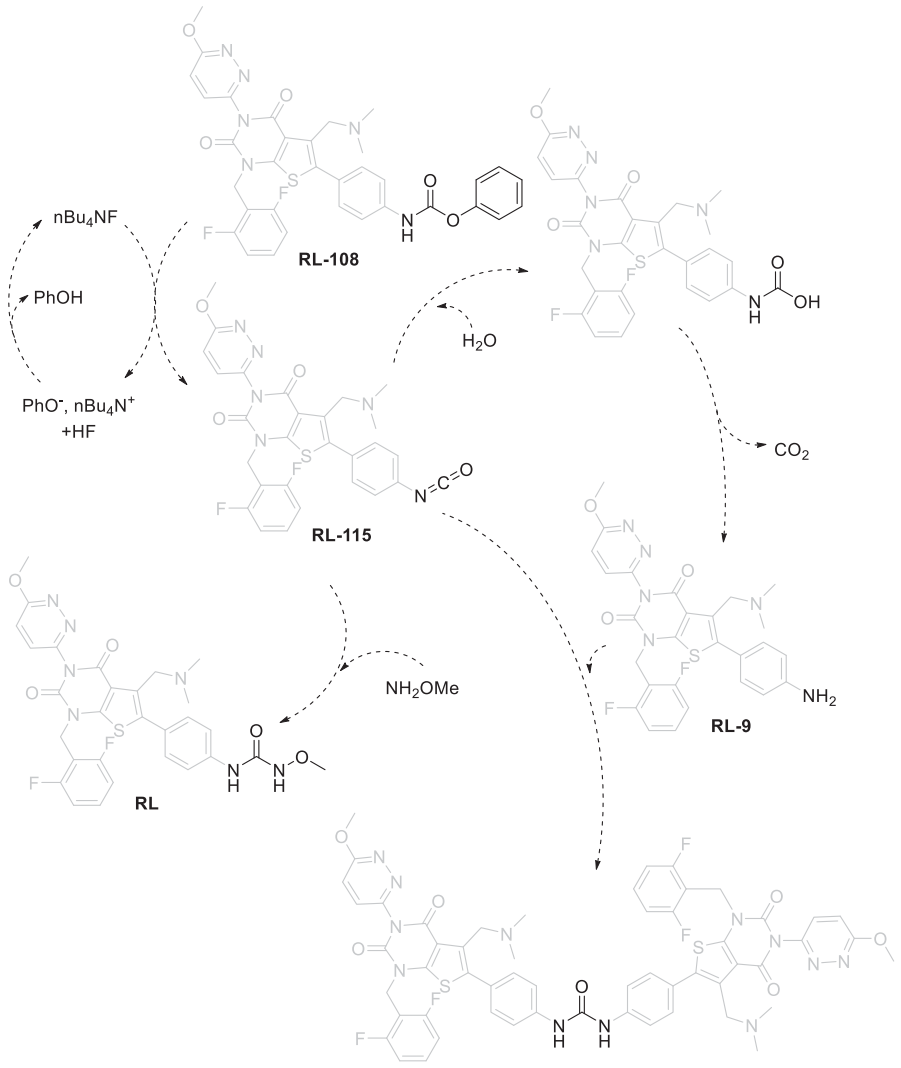
Tenint en compte aquests precedents bibliogràfics, es va procedir a protegir el grup amino de **RL-24** en forma de carbamat de benzil, carbamat d'al·lil i carbamat de 2,2,2-tricloroetil.

La protecció de **RL-24** en forma de carbamat de benzil amb *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) no va ser satisfactòria, donant un perfil brut d'impureses no identificades i sense detectar **RL-105** (**Entrada 3**, ***Taula 18***). En el cas d'emprar cloroformiat d'al·lil (Alloc-Cl), la reacció va arribar a donar un 11,6 % de **RL-107** sense avançar més ja fos afegint més equivalents de Alloc-Cl com treballant també a reflux de diclorometà (DCM) (**Entrada 5**, ***Taula 18***). També cal remarcar que no és gaire atractiu utilitzar Alloc-Cl en una ruta a nivell industrial, degut a la seva elevada toxicitat. Donat que la protecció de **RL-24** amb Alloc no va ser satisfactòria, es va provar la protecció amb clorur de 2,2,2-tricloroetoxicarbonil (Troc). Tal i com es pot veure en l'**Entrada 4** de la ***Taula 18***, es va aconseguir una conversió completa però només un 45 % del producte desitjat **RL-106**. No es va insistir més en aquesta via.

D'altra banda, també es podria considerar l'atac nucleòfil directe del NH_2OMe sobre el carbamat de fenil (**RL-108**) per donar **RL**. La protecció de **RL-24** es va intentar amb cloroformiat de fenil (PhocCl) i després de varis intents, només es va aconseguir un 46,4 % de **RL-108** (**Entrada 6**, ***Taula 18***).

Donat el baix rendiment en les reaccions de formació dels carbamats de *p*-nitrofenil, benzil, al·lil, 2,2,2-tricloroetil i fenil, es van buscar altres alternatives a la substitució amb dimetilamina directa a la bibliografia.

Es troben descrites vàries estratègies de formació d'urees asimètriques via isocianat. Una possibilitat descrita amb el carbamat de fenil és la de transformació en el corresponent intermedi isocianat mitjançant l'actuació del fluorur de tetrabutilamoni (TBAF) (***Esquema 18***).[56] Després, se li podria afegir NH_2OMe per formar la urea asimètrica d'interès **RL**. Cal destacar, que s'hauria d'evitar el medi aquós per no formar la urea simètrica de **RL-24** (***Esquema 18***).



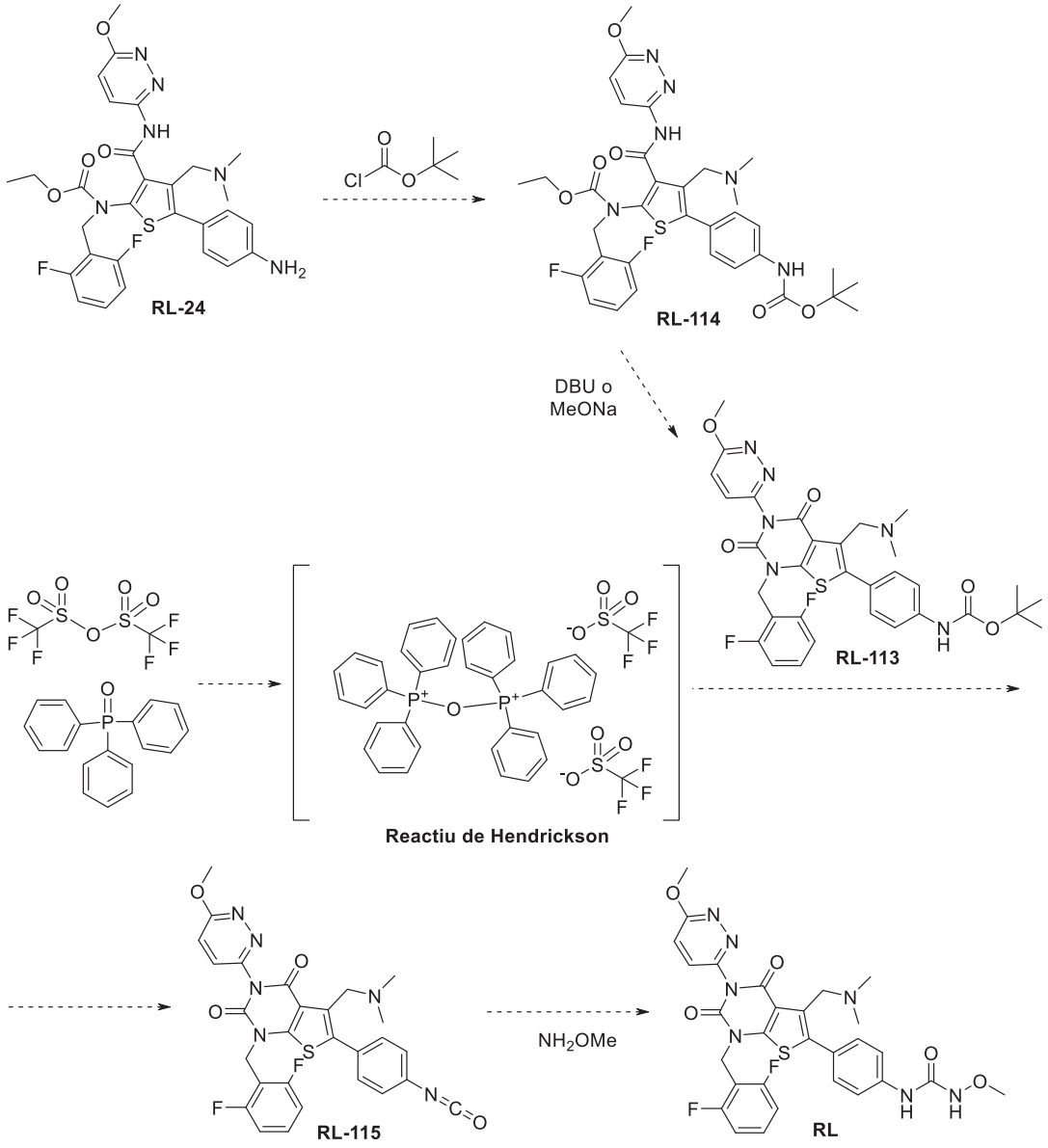
Esquema 18: *Formació de la urea simètrica via isocianat amb TBAF.*[56]

Donat que no es va aconseguir aïllar **RL-108** en pureses acceptables, es va descartar aquesta estratègia.

[56] Huguenot, F.; Vidal, M. *ACS Omega* **2022**, *7*, 44861.

Partint de carbamats de *tert*-butil, es troben descrites almenys quatre possibilitats de transformació fins a urea asimètrica. Totes elles a través d'un intermedi de tipus isocianat:

1) **Via reactiu de Hendrickson:** transformació on s'empra òxid de trifenilfosfina i l'anhídrid trifluorometansulfònic per formar el reactiu de Hendrickson (***Esquema 19***). Aquest s'utilitzaria com a agent deshidratant, formant l'isocianat a partir de l'intermedi **RL-113** *N*-Boc protegit.[57]



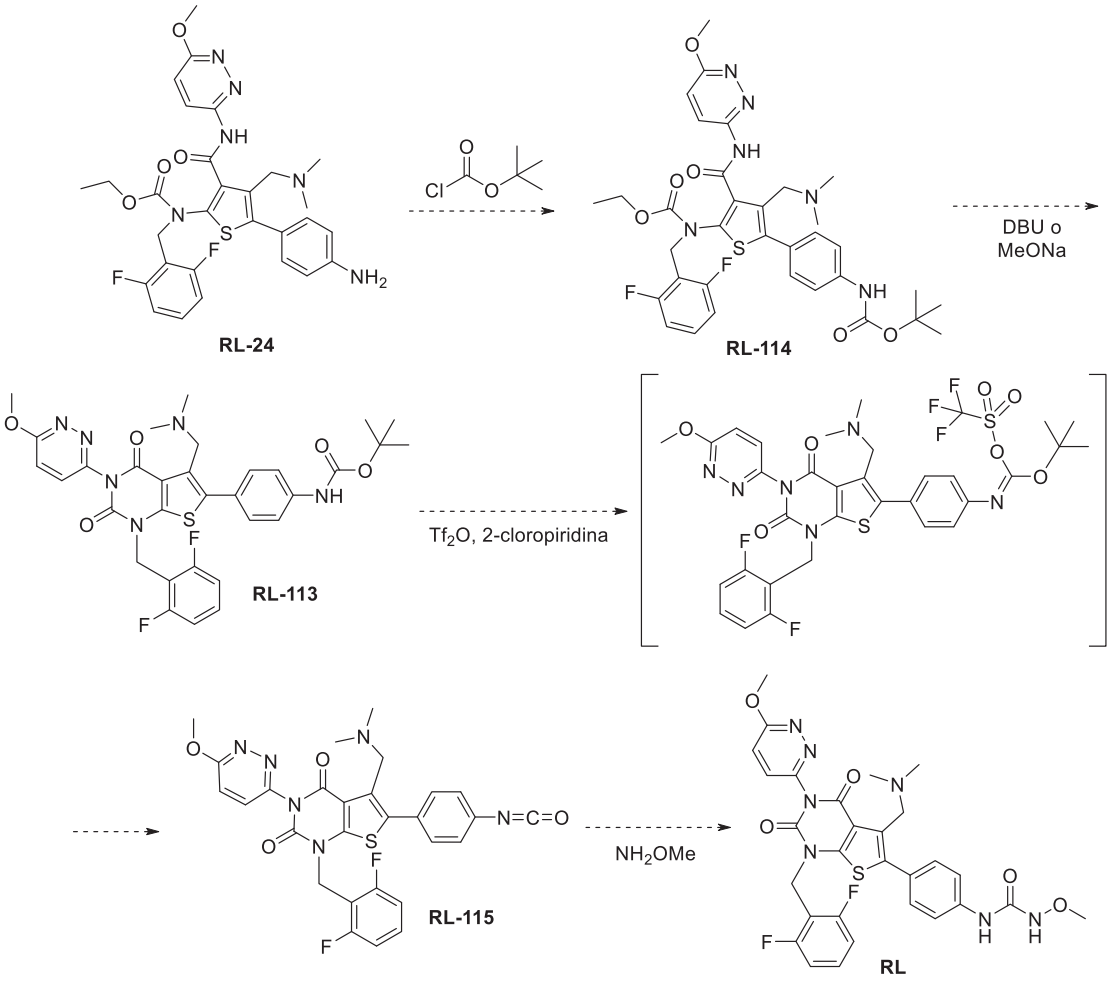
Esquema 19: *Proposta de formació del reactiu de Hendrikson i reacció amb* ***RL-113*** *per a la síntesi de* ***RL****.*

El subproducte d'òxid de trifenilfosfina (TPPO) es podria eliminar de forma selectiva formant el complex de trifenilfosfina-Zn (TPPO-Zn) utilitzant $ZnCl_2$,

[57] Cho, H.; Lee, J. O.; Hwang, S.; Seo, J. H.; Kim, S. *Asian J. Org. Chem.* **2016**, *5*, 287.

estratègia factible en dissolvents polars donat que el complex és insoluble i es pot eliminar mitjançant una simple filtració.[58]

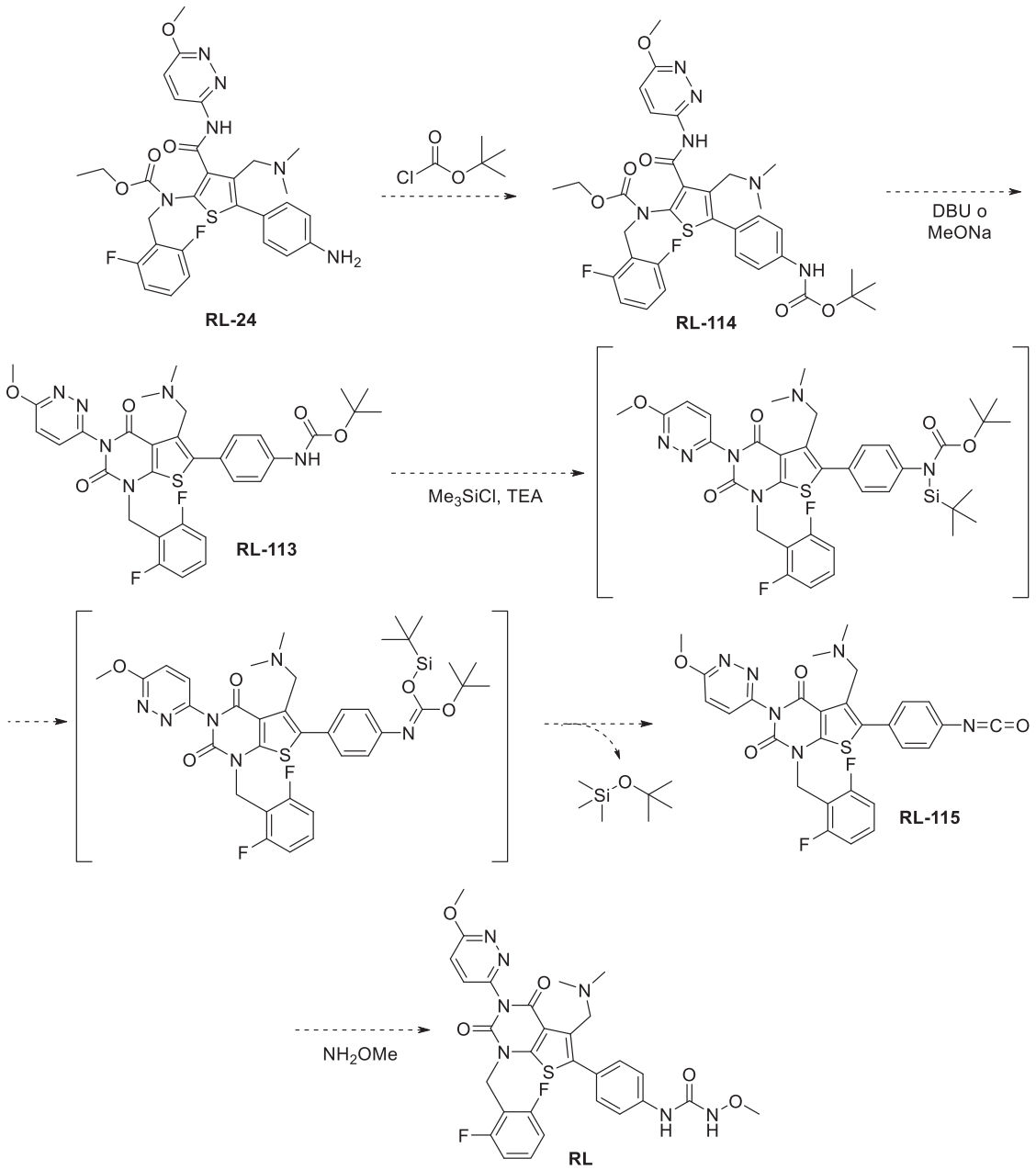
2) **Via l'ús de 2-cloropiridina i anhídrid tríflic:** s'utilitza l'anhídrid trifluorometanosulfònic en presència de la base 2-cloropiridina com a agent deshidratant (***Esquema 20***).[59] Aquesta estratègia es basa en la formació d'un intermedi imino-triflat que col·lapsaria a l'isocianat **RL-115**.



Esquema 20: *Formació de* ***RL-115*** *via 2-cloropiridina i anhídrid trifluorometanosulfònic.*

[58] Batesky, D. C.; Goldfogel, M. J.; Weix, D. J. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 9931.
[59] **a)** Kim, H.-K.; Lee, A. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 4890. **b)** Spyropoulos, C.; Kokotos, C. G. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 4477.

3) **Via l'ús de silans:** formació del intermedi imino-silà que col·lapsaria a isocianat a partir de trimetilclorosilà en medi bàsic i temperatures superiors a 70 ºC (***Esquema 21***).[60] Si es vol optar per unes condicions més suaus a baixa temperatura, l'ús de SiI_2H_2 utilitzant la base de Hünig és una bona opció.[61]

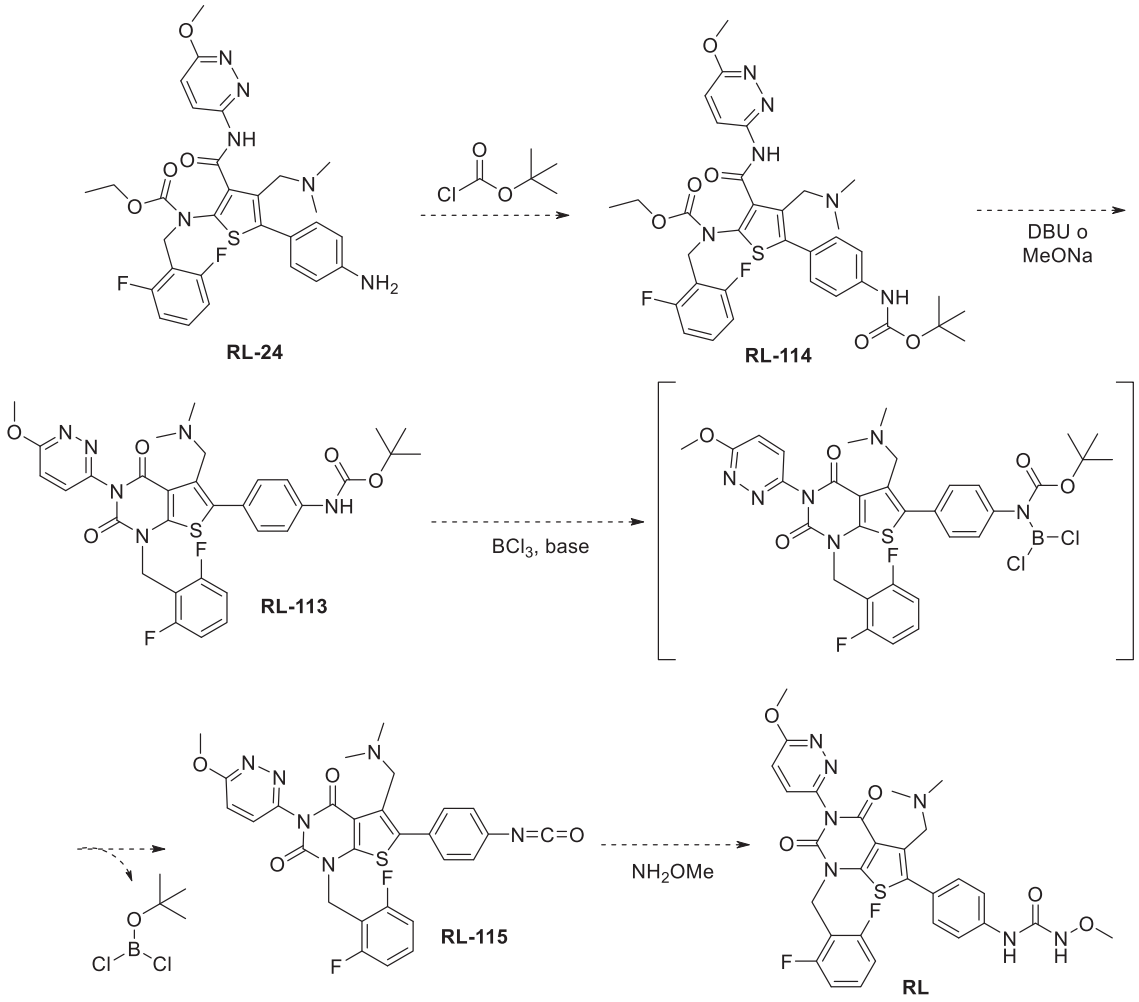


Esquema 21: *Formació del isocianat emprant Me_3SiCl.*

4) **Via l'ús de BX_3:** l'ús d'halurs de bor (X: Br, Cl) per a la formació de l'intermedi isocianat **RL-115** (***Esquema 22***). S'ha descrit que l'ús de BCl_3 és una opció

[60] Chong, P. Y.; Janicki, S. Z.; Petillo, P. A. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8515.
[61] Gastaldi, S.; Weinreb, S. M.; Stien, D. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 3239.

eficaç, a més de ser una opció molt més econòmica i suau que emprar el B-clorocatecolborà.[62,63] Tot i així, el BCl_3 presenta una toxicitat aguda, fet que el descartaria com a candidat a l'industria.



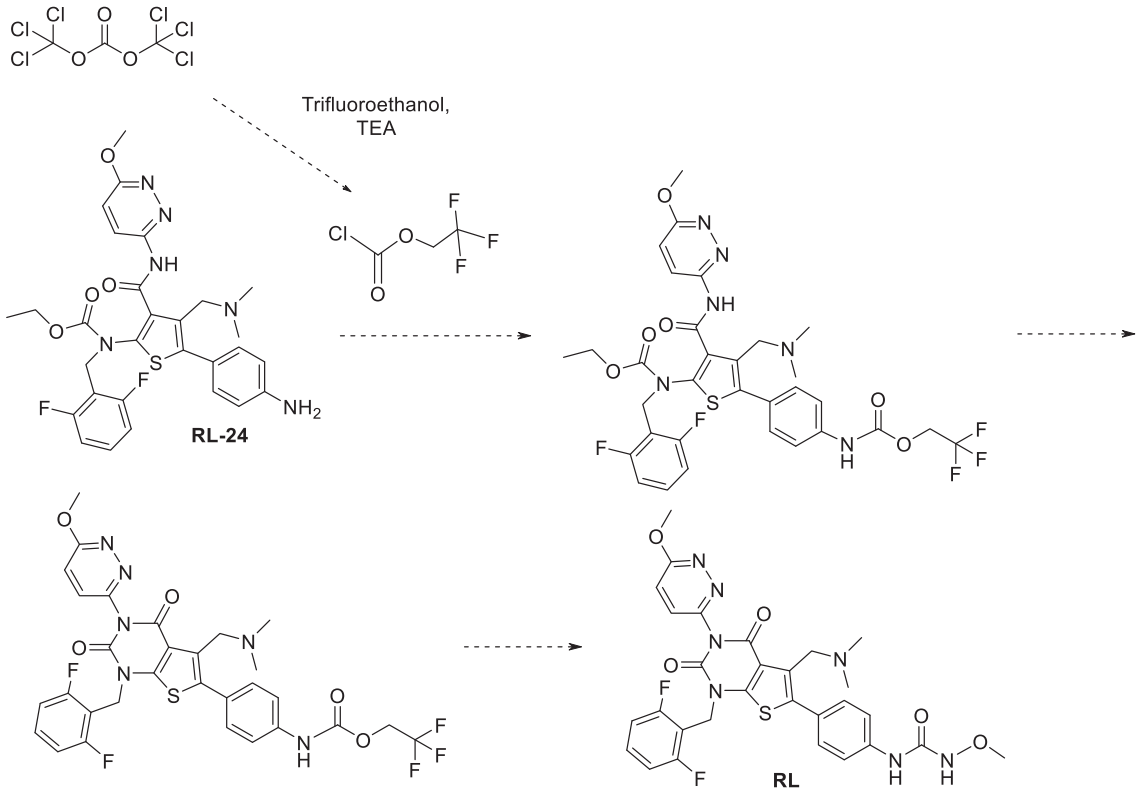
Esquema 22: *Formació del isocianat utilitzant halurs de bor.*

Tenint vàries opcions per a provar, es va decidir com a pas previ realitzar la protecció de **RL-24** en forma de carbamat de *tert*-butil (Boc). Es van realitzar diverses proves però en el millor dels casos només es va obtenir conversió total amb un 55,5 % de **RL-114** (**Entrada 7, *Taula 18***).[64] Aquesta estratègia es va descartar per falta de selectivitat i baixa puresa.

Una altra estratègia seria la formació del cloroformiat de trifluoroetil a partir de trifosgè (***Esquema 23***).[65]

[62] Butler, D. C. D.; Alper, H. *Chem. Commun.* **1998**, 2575.
[63] Ramachandran, P. V.; Gong, B.; Brown, H. C. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 41.
[64] WO Pat., WO9942443:A1, **1999**.
[65] Bogolubsky, A. V.T; Ryabukhin, S. V.; Pipko, S. E.; Lukin, O.; Shivanyuk, A.; Mykytenko, D.; Tolmachev, A. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 3619.

Òbviament aquesta estratègia es va descartar degut a la letalitat per inhalació del trifosgè.



Esquema 23: *Formació del carbamat de trifluoroetil.*

[redacted]

[redacted]

[redacted]

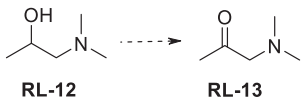
[redacted]

3.2.5 RoS C

A diferència de les rutes descrites fins a ara, la RoS C és una estratègia convergent i innovadora amb possibilitat de protecció per patent. S'utilitzen materials de partida comercials i econòmics (no es parteix d'un *building block* avançat com **RL-1**) i és una estratègia més curta en comparació de la RoS B (si considerem l'anàleg de **RL-1** com a punt de partida). L'estratègia es basa en la formació de l'anell de tiofè mitjançant una reacció de Gewald tenint ja així el nucli clau amb el grup dimetilamino introduït (***Esquema 5***). En l'Etapa 9 (***Esquema 5***) es duria a terme la reacció de acoblament creuat entre l'intermedi bromat i l'àcid bòrònic. Malauradament, **RL-13** no es troba disponible comercialment i s'haurà de sintetitzar prèviament.

El primer repte de la ruta va ser la síntesi de l'intermedi **RL-13** per poder utilitzar-lo en la reacció de Gewald amb **RL-19** i donar lloc al anell de tiofè **RL-20** (***Esquema 5***).

Una primera estratègia fou la d'obtenir **RL-13** a partir de l'oxidació de 1-(dimetilamino)propan-2-ol **RL-12** a la cetona corresponent, tal i com es mostra en l'***Esquema 24*.**



RL-12 **RL-13**

Esquema 24: *Oxidació de* ***RL-12****.*

Mentre que en l'entorn acadèmic les oxidacions són reaccions molt freqüents i molts cops practicades sense tenir en consideració la toxicitat dels reactius així com la dels residus formats, en el món industrial són transformacions que es tendeix a evitar, tot introduint les diverses funcionalitats amb el grau d'oxidació correcte. Tant és així, que les oxidacions només representen un 3% de totes les reaccions utilitzades.[67] Aquesta reticència és deguda principalment a raons de seguretat, donat que la majoria de les oxidacions són transformacions altament exotèrmiques que es duen a terme en

[67] Caron, S.; Dugger, R. W.; Ruggeri, S. G.; Ragan J. A.; Ripin, D. H. B. *Chem. Rev*. **2006**, *106*, 2943.

dissolvents orgànics inflamables. En un procés industrial seran processos molt crítics, des del punt de vista de seguretat i qualitat del producte. Cal estudiar i tenir en compte l'ordre en que s'addiciona l'oxidant, el temps d'addició i la temperatura de reacció, donat que molt oxidants són termolàbils, podent-se afavorir reaccions no desitjades Tot i així, les oxidacions també es realitzen en el sector farmacèutic, però sempre s'aposta per l'ús d'oxidants suaus, sense elevada toxicitat com la que presentarien, per exemple, les clàssiques oxidacions amb òxids de crom. A escala industrial, per a la transformació d'un alcohol secundari a la corresponent cetona és molt comú utilitzar les següents estratègies:[67]

- **Catalitzadors metàl·lics:** l'ús de quantitats catalítiques de catalitzadors metàl·lics en presència d'un co-oxidant. Alguns exemples són: el perrutenat de tetrapropilamoni (TPAP) amb *N*-òxid de *N*-metilmorfolina (NMO) com a co-oxidant; el $RuCl_3$ utilitzant bromat sòdic donada la seva reactivitat, baix cost i subproductes innocus; o utilitzant el catalitzador Na_2WO_4 amb H_2O_2 com a co-oxidant amb agents de transferència de fase.
- **Procés de Pfitzner-Moffatt:** oxidació a través de l'activació de l'alcohol secundari amb DMSO tot utilitzant com a oxidant el complex de SO_3·piridina o utilitzant el P_2O_5 en medi bàsic o amb l'anhídrid de l'àcid trifluoroacètic. Tot i així, cal tenir present que pot ser crítica la formació de la impuresa tioèter durant el procés. Una estratègia per minimitzar-la és la que presenta l'oxidació de Corey-Kim, per reacció del dimetilsulfòxid (DMSO) amb clor o *N*-clorosuccinimida. [68]
- **Procés via TEMPO-NaClO:** formació de la sal *N*-oxoamoni *in situ* gràcies a l'oxidació del catalitzador radicalari (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oxidanil (TEMPO) amb NaClO. Cal treballar a pH alcalí per assegurar l'estabilitat del NaClO en un medi aigua-DCM.
- **NaClO:** oxidació directa utilitzant NaClO procedent del lleixiu o generant-lo *in situ* amb hipoclorit de calci amb carbonat de sodi en aigua. Es duu a terme en medi aquós i se sol utilitzar el KBr catalític per afavorir la cinètica de la reacció.
- **Procés Oppenauer:** oxidació que es dona utilitzant isopropòxid d'alumini amb un excés d'acetona. És un procediment utilitzat rares vegades donat que requereix d'elevada quantitat d'acetona de sacrifici per desplaçar

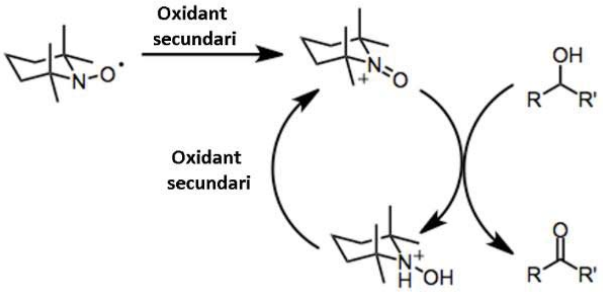
[68] Corey, E. J.; Kim, C. U. *J. Am. Chem. Soc*. **1972**, *94*, 7586.

l'equilibri cap al producte d'interès i donat que també necessita d'elevats temps de reacció.

Altres oxidacions com la de Dess-Martin no es contemplen industrialment degut l'elevat cost del reactiu de iode hipervalent necessari (5 g / 136 €) i el perill d'explosivitat.[69] Una altra opció és l'oxidació de Swern però degut a la perillositat de la manipulació del clorur d'oxalil en una planta de producció i la constant desgasificació necessària del medi de reacció, la fa poc atractiva.

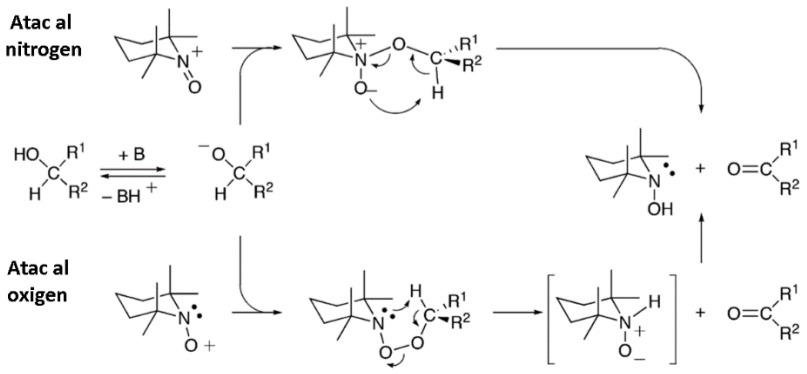
L'opció que es va escollir fou l'ús l'hipoclorit sòdic com a oxidant, ja que és un oxidant econòmic i suau. Vista l'evident eficàcia del NaClO amb TEMPO davant de solament el NaClO en substrats similars d'altres projectes i basant-nos en l'experiència del grup de recerca, es va apostar per utilitzar la via TEMPO amb NaClO com a oxidant secundari. Donat que són molècules de baix pes molecular i sense presentar una estructura amb molts grups cromòfors, les reaccions es van seguir per cromatografia de gasos.

Es va utilitzar l'heterocicle TEMPO com a catalitzador radicalari en l'oxidació de **RL-12** a **RL-13** (***Esquema 24***). El cicle catalític es basa en la formació de la sal de *N*-oxoamoni com agent oxidant actiu, format gràcies a l'oxidació del TEMPO pel NaClO. Sota condicions bàsiques (pH superior a 9), l'alcohol **RL-12** reacciona amb l'espècie *N*-oxoamoni (**Esquema 25**). [70] L'atac de l'intermedi alcòxid pot donar-se sigui en l'àtom de nitrogen com en el d'oxigen, tal i com es pot apreciar en l'***Esquema 26***.[71,72]



Esquema 25: *Cicle catalític d'oxidació amb TEMPO / NaClO.*[71,72]

[69] https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/aldrich/274623 [Accés, 15 de gener 2024].
[70] Merbouh, N.; Bobbitt, J. M.; Brückner, C. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5116.
[71] Semmelhack, M. F.; Schmid, C. R.; Cortés, D. A. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1119.
[72] Bailey, W. F.; Bobbitt J. M.; Wiberg, K. B. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4504.



Esquema 26: *Mecanismes proposat en l'oxidació en medi bàsic.*[71,72]

S'utilitza una quantitat catalítica de d'hidrogensulfat de tetrabutilamoni amb la finalitat d'actuar com a agent de transferència de fase, facilitant la transferència dels reactius fent possible la reacció entre substrat i els agents oxidants en les fases aquosa-orgànica.

En l'oxidació directa a 0 ºC, només va haver-hi un 25 % de conversió però malauradament no es va detectar **RL-13** (**Entrada 1**, ***Taula 19***).[73,74] En el cas d'utilitzar un tampó de Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 tenint un pH de 5,7 inicial sí que es va formar **RL-13** en un 71,9 %, després de fer fins a 3 addicions graduals de 1 eq. de NaClO a 0 ºC (**Entrada 2**, ***Taula 19***). Durant l'addició del NaClO, es genera el medi alcalí suficient perquè es doni la reacció sense la degradació del NaClO. Desgraciadament, **RL-13** es degrada en el tractament de la reacció, a més de tenir una gran afinitat pel medi aquós. L'oxidació utilitzant des d'un inici 4 eq. de NaClO va presentar una conversió completa amb un 76,4 % de **RL-13** acompanyat d'una gran quantitat d'impureses, tot i portar-se a terme a 0 ºC (**Entrada 3**, ***Taula 19***). En aquest cas **RL-13** també es degrada durant el tractament sent una estratègia no viable.

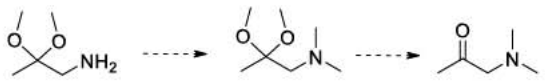
L'intent de realitzar l'oxidació utilitzant $NaClO{\cdot}5H_2O$ sòlid, sense fer servir un tampó Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 i minimitzant la quantitat de fase aquosa en el sistema, no va presentar cap millora: només es va detectar un 10,3 % de **RL-13** quedant un 85 % de **RL-12** per reaccionar, després de varies addicions d'oxidant en el cru de reacció (**Entrada 4**, ***Taula 19***).

[73] Zhao, M.; Li, J.; Mano, E.; Song, Z.; Tschaen, D. M.; Grabowski E. J. J.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2564.
[74] Huang, L.; Teumelsan, N.; Huang, X. *Chemistry* **2006**, *12*, 5246.

Taula 19: *Proves d'oxidació de* ***RL-12*** *a* ***RL-13****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-12	RL-13
1	5 g	0,1 eq. NaBr, 0,05 eq. $TBAHSO_4$, 0,02 eq. TEMPO, 1 eq. $NaClO_{(aq)}$ 15 %	3 Vol DCM 0 ºC, 4 h	84,5 %	n.d.
2	5 g	0,1 eq. NaBr, 0,1 eq. $Na_2HPO_4 \cdot 7\ H_2O$, 0,2 eq. $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 1,2 eq. H_2O, 0,02 eq. TEMPO, 3 x 1 eq. $NaClO_{(aq)}$ 15 %	5 Vol DCM 0 ºC, 5 h	23,6 %	71,9 %
3	5 g	0,1 eq. NaBr, 0,1 eq. $Na_2HPO_4 \cdot 7\ H_2O$, 0,2 eq. $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 1,2 eq. H_2O, 0,02 eq. TEMPO, 4 eq. $NaClO_{(aq)}$ 15 %	5 Vol DCM 0 ºC, 1 h	n.d.	76,4 %
4	1,5 g	0,1 eq. NaBr, 0,05 eq. $TBAHSO_4$, 0,02 eq. TEMPO, 2,2 eq. $NaClO \cdot 5\ H_2O$	7,5 Vol DCM 0 ºC, 4 h	85,3 %	10,3 %

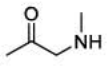
Una altra estratègia per obtenir **RL-13** és la *N*-alquilació de l'acetal **RL-14** per donar l'intermedi **RL-15** i posterior hidròlisi àcida per recuperar la cetona, tot aïllant **RL-13** (***Esquema 27***).



RL-14 **RL-15** **RL-13**

Esquema 27: *Obtenció de* ***RL-13*** *a partir de* ***RL-14****.*

El material de partida **RL-14** no es troba comercialment disponible i es fa servir l'intermedi procedent d'un altre projecte. La metilació del grup amino de **RL-14** en ACN utilitzant MeI com agent alquilant va donar lloc a conversió completa afavorint-se l'espècie monoalquilada i alhora donant lloc a un medi àcid degut a l'alliberament del subproducte HI. Al tenir medi àcid, es va observar que augmenta la impuresa **RL-16** al llarg del temps (***Figura 12***).



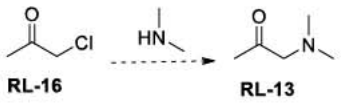
RL-16

Figura 12: *Formació de la impuresa* ***RL-16.***

Tenint en compte aquests resultats es va decidir utilitzar TEA per segrestar el HI generat i donar el medi alcalí necessari. Es va donar la reacció quasi completament però només observant-se un 23,1 % de **RL-15**. A la posterior hidròlisi àcida amb HCl 2 N es va detectar **RL-13**. D'aquesta forma es va aconseguir verificar l'estratègia, però es va

constatar que es tracta d'una reacció molt poc selectiva i que **RL-13** té una gran afinitat per la fase aquosa i no s'aconsegueix aïllar.

A continuació es va seguir una altra estratègia. Es va canviar la *N*-alquilació per una substitució nucleòfila sobre el cloroderivat: en aquest cas el substrat fou la 1-cloropropan-2-ona **RL-16** i es va fa reaccionar amb dimetilamina per obtenir **RL-13**, tal i com es pot apreciar l'***Esquema 28***.



Esquema 28: *formació de* ***RL-13*** *a partir de* ***RL-16****.*

L'aminació es va donar de forma satisfactòria tant a temperatura ambient en THF (utilitzant una dissolució de dimetilamina 2 M en THF) com a reflux d'èter etílic (Et_2O) (utilitzant l'hidroclorur de la dimetilamina, i alliberant-la *in situ* amb TEA).[75, 76] Es va aïllar **RL-13** amb pureses cromatogràfiques del 99,5 % i 99,8 % (**Entrada 1** i **2** respectivament, ***Taula 20***). Tot i així, els rendiments foren moderats, 54 % i 59 %, respectivament. Hi ha falta de selectivitat segurament per la formació d'impureses de tipus enamines (***Figura 13***). Aquestes impureses resultants són insolubles en el medi de reacció donant lloc a un sòlid rosat i s'eliminen per filtració juntament amb les sals de DMA.

Taula 20: *Formació de* ***RL-13*** *per aminació.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	Rendiment	RL-13
1	5 g	2,1 eq. DMA 2 M	5 Vol THF anhidra 20-25 ºC, 12 h	54 %	99,5 %
2	5 g	2 eq. DMA·HCl 2 M, 3 eq. TEA	5 Vol Et_2O reflux, 48 h	59 %	99,8 %

[75] Zhang, J.; Chen, Z. X.; Du, T.; Li, B.; Gu, Y.; Tian, S. K. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 4872.
[76] **a)** Kosmalski, T.; Wojtczak, A.; Zaidlewicz, M. *Tetrahedron Asymmetry* **2009**, *20*, 1138.
b) Zaugg H. E.; Horrom, B. W. *J. Am. Chem. Soc*. **1950**, *72*, 3004.
c) Elderfield R. C.; Ressler, C. *J. Am. Chem. Soc*. **1950**, *72*, 4059.

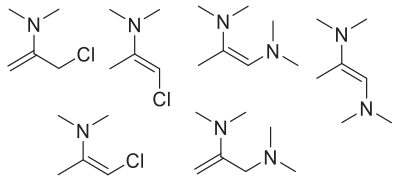
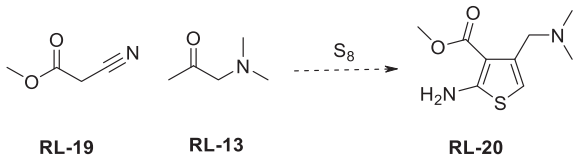


Figura 13: *Possibles impureses formades en la aminació de* ***RL-16****.*

Cal remarcar que l'aïllament de **RL-13** és un procediment delicat donat que s'ha observat que hi ha degradació en el temps al concentrar la fase orgànica en el rotavapor a una temperatura de bany superior a 35-40 ºC. En els arrossegaments amb *n*-heptà per eliminar traces de TEA es formen olis marrons que donen perfils al cromatograma de gasos amb una gran quantitat d'impureses. Una alternativa per purificar el producte seria a partir d'extraccions àcid-base. A l'hora de basificar la fase aquosa per extreure **RL-13**, es comprova com el producte té més afinitat per la fase aquosa que no pas per la fase orgànica, havent-se provat com a dissolvents AcO^{i}Pr, DCM, THF saturant la fase aquosa amb NaCl 20 %, *n*-heptà, toluè, Et_2O i etil metil cetona. Tot i que el rendiment d'aquesta reacció fou moderat, es va prioritzar realitzar la reacció de Gewald enfront l'optimització d'aquesta etapa, per verificar la viabilitat del procés.

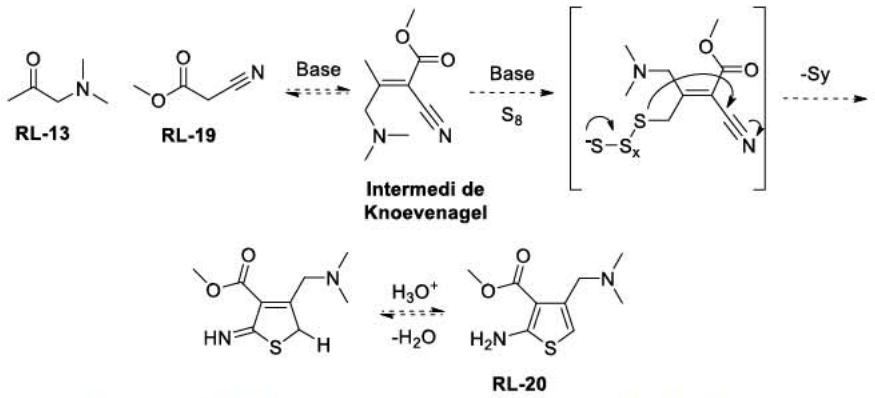
La formació de **RL-20** es duu a terme mitjançant la reacció de Gewald tot utilitzant **RL-13** sintetitzat i **RL-19** comercial (***Esquema 29***).



Esquema 29: *Formació de* ***RL-20****.*

La síntesi del derivat de 2-aminotiofè **RL-20** esdevé en dos passos (***Esquema 30***). En el primer pas es duu a terme la condensació de Knoevenagel-Cope en medi bàsic entre la cetona **RL-13** i l'α-cianoèster **RL-19**, donant lloc a l'intermedi de Knoevenagel (***Esquema 30***). En el segon pas se li afegeix sofre elemental donant lloc a la tiolació i ciclació que, per tautomerització, dona el producte desitjat **RL-20**.[77]

[77] Sabnis, R. W.; Rangnekar, D. W.; Sonawane, N. D. *J. Heterocycl. Chem*. **1999**, *36*, 333.



Esquema 30: *Proposta del mecanisme de formació del tiofè.*

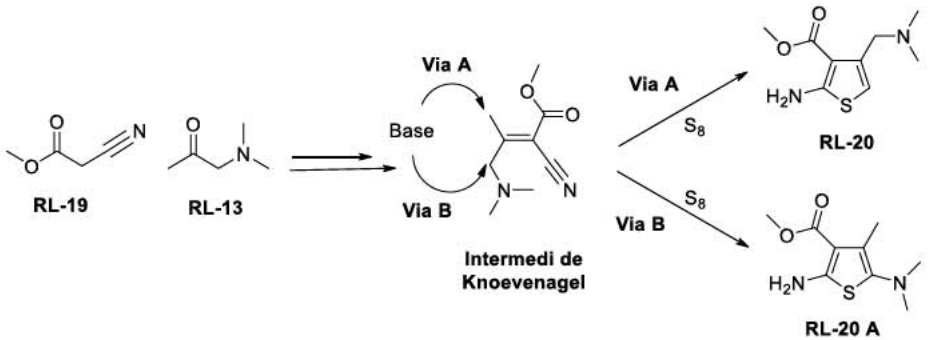
Malauradament, no es va aconseguir obtenir **RL-20** amb una puresa acceptable, tal i com es pot observar en l'**Entrada 1** de la ***Taula 21***. Els estudis d'estabilitat de **RL-13**, sota reflux de metanol (MeOH), van demostrar que es degrada. Per aquest motiu es va descartar aquesta estratègia.

Taula 21: *Formació de **RL-20** sota condicions de Gewald.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	Intermedi Knoevenagel	RL-20	INIs
1	1 g	1 eq. RL-13, 1,2 eq. morfolina, 1,1 eq. S_8	2 Vol MeOH reflux, 1,5 h	4,8 %	17,6 %	77,6 %

Alternatives de formació d'anells de tiofè com la reacció de Paal-Knorr, tot utilitzant P_4S_{10} o el reactiu de Lawesson, es van descartar d'entrada degut a que es forma H_2S com a subproducte.[78,79]

Donat que no es va poder obtenir **RL-20** amb una puresa acceptable i que la reacció de Gewald pot donar lloc a dos isòmers constitucionals (**RL-20** i **RL-20 A**, ***Esquema 31***) la ruta sintètica es va descartar.

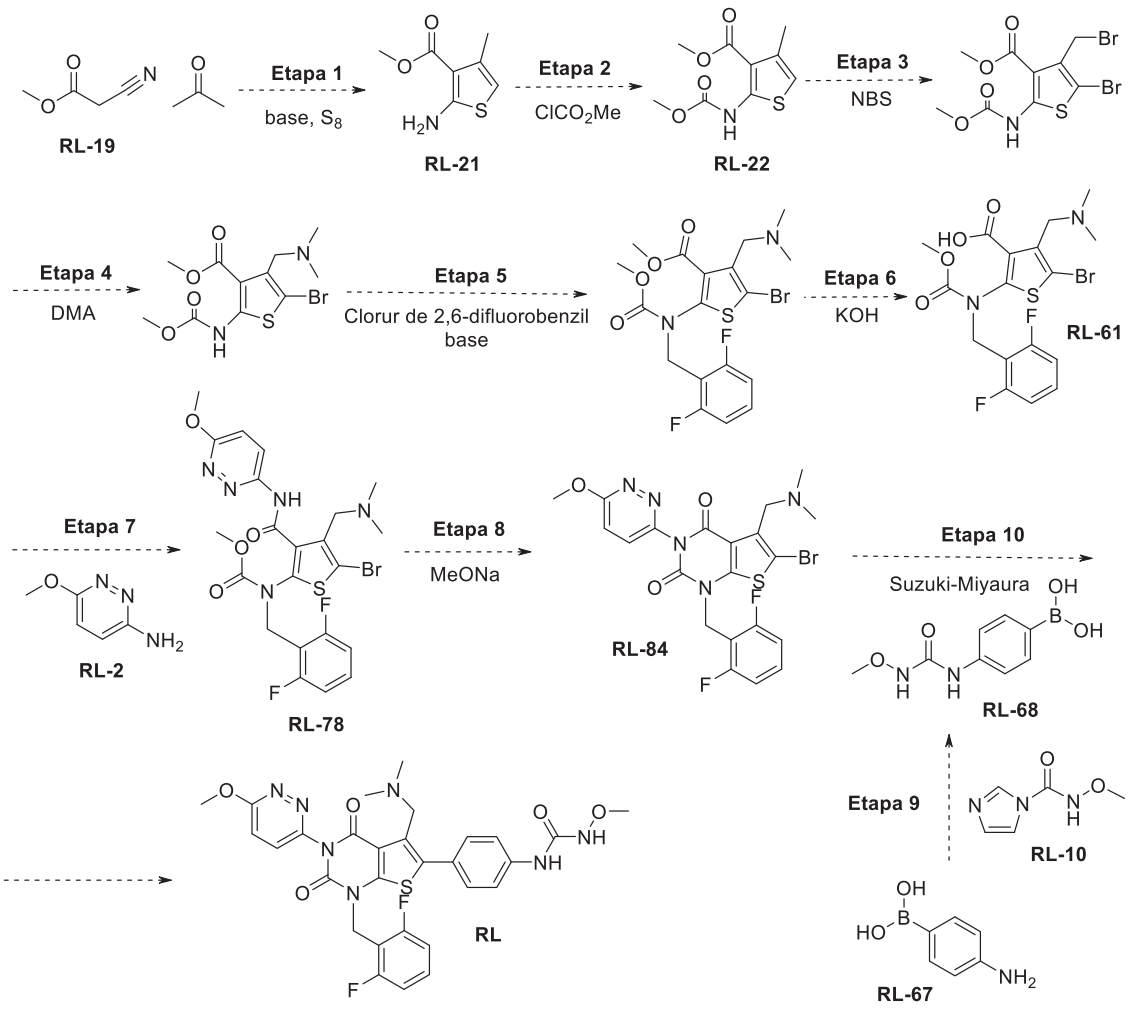


Esquema 31: *Síntesi de Gewald podria donar dos isòmers **RL-20** i **RL-20A**.*

[78] Campaigne, E.; Foye, W. O. *J. Org. Chem.* **1952**, *17*, 1405.
[79] Jesberger, M.; Davis, T. P.; Barner, L. *Synthesis* **2003**, *13*, 1929.

3.2.6 RoS D

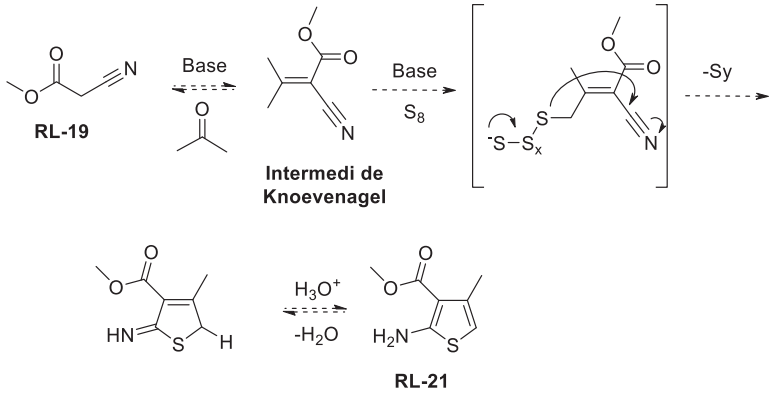
Una alternativa a la RoS C és la que presenta la RoS D (***Esquema 32)*** on l'anell de tiofè es forma mitjançant la reacció de Gewald però emprant una cetona simètrica (acetona) per evitar així la possible formació d'isòmers constitucionals. A diferència de la RoS C, la cetona utilitzada es troba disponible comercialment i és, a més, molt econòmica, reduint així considerablement els costos de producció. En l'**Etapa 3** (***Esquema 32***) es realitzarà una dibromació, on es bromarà tant el grup metil de la posició heterobenzílica com el carboni 5 del anell de tiofè. En el primer cas, es podrà insertar el grup dimetilamino, mentre que en el segon cas, es podrà realitzar la reacció de Suzuki-Miyaura en l'**Etapa 10**, utilitzant **RL-68** sintetitzat prèviament.



Esquema 32: *RoS D.*

La formació de l'anell de tiofè es va realitzar utilitzant l'estratègia que presenta la reacció de Gewald (***Esquema 33***). En un primer pas es duu a terme la condensació de Knoevenagel-Cope en medi bàsic entre l'acetona i el α-cianoèster **RL-19**, donant lloc al

intermedi de Knoevenagel. Mentre que en un segon pas se li afegeix sofre elemental donant lloc a la tiolació i ciclació tot donant el producte desitjat **RL-21**.



Esquema 33: *Mecanisme reacció de la reacció de Gewald en la RoS D emprant* ***RL-19*** *i acetona.*

Com a punt de partida es va emprar la morfolina com a base.[80,81] Primer es formava l'intermedi de Knoevenagel, reacció ràpida a temperatura ambient, que presentava una puresa elevada (**Entrada 1**, ***Taula 22***). Un cop es confirma la formació de l'intermedi de Knoevenagel, se li afegeix el sofre elemental i s'escalfa a 40-45 ºC. Passades 16 h de reacció, s'esgota l'intermedi de Knoevenagel però només s'obté un 49,6 % de **RL-21** amb un gran contingut d'impureses (**Entrada 1, *Taula 22***). Entre elles destacar la formació en un 11,3 % de la impuresa **RL-21 / morfolina** (**Figura 14**).[81]

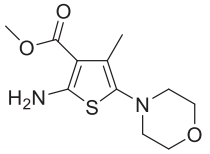


Figura 14: *Impuresa* ***RL-21/morfolina*** *durant la reacció de Gewald.*[81]

Seguint les condicions descrites en CN107151251A, on afegeixen el sofre des de l'inici, s'obté un 71,6 % de **RL-21** (**Entrada 2**, ***Taula 22***).[82] Es pot apreciar com la impuresa **RL-21/morfolina** es redueix considerablement, però el contingut global d'impureses (INIs) segueix sent elevat. La síntesi de **RL-21** emprant piridina com a dissolvent i la dietilamina (DEA) com a base no va ser satisfactòria, donant que només

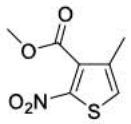
[80] Nakhi, A.; Adepu, R.; Rambabu, D.; Kishore, R.; Vanaja, G. R.; Kalle, A. M.; Pal, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **2012**, *22*, 4418.
[81] Sánchez, A. I.; Meneses, R.; Mínguez, J. M.; Núñez, A.; Castillo, R. R.; Filace, F.; Burgos, C.; Vaquero, J. J.; Álvarez-Builla, J.; Cortés-Cabrera, A.; Gago, F.; Terricabras, E.; Segarra, V. *Org. Biomol. Chem*. **2014**, *12*, 4233.
[82] CN Pat., CN107151251:A, **2017**.

es forma un 22,4 % de **RL-21** passades 48 h de reacció (**Entrada 3**, ***Taula 22***).[83] Veient que emprant DEA com a base la síntesi de Gewald presenta una cinètica molt lenta, es van considerar formar **RL-21** en medi aquós tot irradiant amb microones.[84] És una estratègia senzilla segons la bibliografia, obtenint diversos 2-aminotiofens en pocs minuts i aïllant els productes per filtració. Tot i ser una estratègia que no es pot aplicar a escala industrial, la finalitat era verificar la formació de **RL-21** tot aïllant l'intermedi amb elevada puresa. No es detecta la formació de **RL-21** però sí la del intermedi de Knoevenagel. Sigui en el cas d'emprar 37 KHz com 80 KHz, s'obtenen percentatges similars d'intermedi de Knoevenagel a temperatura ambient (**Entrada 4** i **5**, ***Taula 22***). L'augment de la temperatura de reacció a 50 ºC a 80 KHz, no afavoreix a la formació de **RL-21** (**Entrada 6**, ***Taula 22***). El sòlid aïllat en els 3 casos, no correspon ni a **RL-21** ni al intermedi de Knoevenagel. D'altra banda, utilitzant altres bases com la DBU no es va observar cap millora, tot formant-se una mescla complexa d'impureses no identificables (**Entrada 7**, ***Taula 22***). Per tal d'evitar impureses com la **RL-21 / morfolina** (***Figura 14***), es va avaluar també formar l'anell de tiofè sense utilitzar una base nucleòfila. Es va escollir la TEA com a candidata. En dur a terme la síntesi de Gewald, a les 3 h de reacció es té una bona conversió, formant-se un 66,2 % de **RL-21** però s'observa encara un 5,3 % del intermedi de Knoevenagel per reaccionar (**Entrada 8**, ***Taula 22***). L'augment del temps de reacció a 16 h es tradueix en un augment del perfil d'impureses on s'afavoreix l'oxidació de **RL-21** a **RL-21 Nitro** (passa d'un 7,4 % a un 56,4 %, **Entrada 8**, ***Taula 22***, ***Figura 15***). En dur a terme la reacció amb només 6 h de reflux, s'obté un 77,5 % de **RL-21** (**Entrada 9**, ***Taula 22***). Tot i així, durant el tractament en aigua es dona l'oxidació del producte formant **RL-21 Nitro**, baixant la puresa de **RL-21** en un 52,6 % i augmentant el contingut de **RL-21 Nitro** en un 36,7 % (**Entrada 9**, ***Taula 22***). Es va comprovar experimentalment com **RL-21 Nitro** correspon a l'estructura de la ***Figura 15***, donat que la seva reducció en THF amb NH_4Cl i Zn pre-activat prèviament amb HCl 2 N, dóna **RL-21**.[85]

[83] McKibben, B. P.; Cartwright, C. H.; Castelhano, A. L. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 5471.
[84] Mojtahedi, M. M.; Abaee, M. S.; Mahmoodi, P.; Adib, M. *Synth. Commun.* **2010**, *40*, 2067.
[85] Smith, C. R. *SYNLETT* **2009**, *9*, 1522.

***Taula 22:** Formació de **RL-21**.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	Intermedi Knoevenagel	RL-21	INIs
1	5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 1 eq. morfolina	2 Vol MeOH 20-25 ºC, 30 min	98,0 %	-	2,0 %
		1,1 eq. S_8	40-45ºC, 16 h	-	49,6 %	39,1 % (11,3 % **RL-21 / morfolina**)
2	5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 1 eq. morfolina, 1,1 eq. S_8	2 Vol MeOH reflux, 3 h	-	71,6 %	26,9% (1,5 % **RL-21 / morfolina**)
3	5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 1 eq. DEA, 1,1 eq. S_8	2 Vol piridina 20-25 ºC, 48 h	-	22,4 %	77,6 %
4	2,5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 0,6 Vol DEA, 1,1 eq. S_8	2 Vol H_2O, 37 KHz, 20-25 ºC, 30 min	88,4 %	-	11,6 %
5	2,5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 0,6 Vol DEA, 1,1 eq. S_8	2 Vol H_2O, 80 KHz, 20-25 ºC, 30 min	84,5 %	-	15,5 %
6	2,5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 0,6 Vol DEA, 1,1 eq. S_8	2 Vol H_2O, 80 KHz, 50 ºC, 30min	91,6 %	-	8,4 %
7	5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 1 eq. DBU, 1,1 eq. S_8	2 Vol MeOH reflux, 3 h	-	11,3 %	88,7 %
8	5 g **RL-19**	1 eq. acetona, 1 eq. TEA, 1,1 eq. S_8	2 Vol MeOH reflux, 3 h	5,3 %	66,2 %	28,5 % (7,4 % **RL-21 Nitro**)
			Reflux 16 h	-	13,5 %	86,5 % (56,4 % **RL-21 Nitro**)
9	50 g **RL-19**	1 eq. acetona, 1 eq. TEA, 1,1 eq. S_8	2 Vol MeOH reflux, 6 h	-	77,5 %	22,5% (4,9 % **RL-21 Nitro**)



RL-21 Nitro

***Figura 15:** Impuresa **RL-21 Nitro**.*

La comparativa de tractament de la reacció en aigua i en una dissolució aquosa reductora de tiosulfat al 10%, no van presentar diferències significatives, tot donant, en el millors dels casos, sòlids del 71-76 % de puresa de **RL-21**, tenint un 10-15 % de **RL-**

21 Nitro. La recristal·lització en acetona, AcOEt, EtOH, MeOH, metil *tert*-butil èter (MTBE), 1,4-dioxà, DCM i toluè no va ser efectiva, donat que no es dissolia per complet el cru tot arribant als 20 Vol de dissolvent a 60 ºC. Només en el cas del DMSO es va dissoldre amb només 2 Vol a 60 ºC però refredant a 20-25 ºC, no es va observar la precipitació de **RL-21**. Pel tal de purificar el cru de reacció, es va apostar per formar la sal de **RL-21** utilitzant àcids tant inorgànics com orgànics (***Taula 23***). Es va dissoldre el cru en AcOEt i acetona, respectivament, tot filtrant la part de producte que quedava en suspensió i se li va afegir l'àcid corresponent. Cap dels casos va ser satisfactori.

Taula 23: *Proves de formació de la sal de* ***RL-21****.*

Entrada	Àcid	Sal en AcOEt	Sal en acetona
1	HCl 4 M en dioxà	X	X
2	H_3PO_4 85 %	X	X
3	H_2SO_4 98 %	X	X
4	Àcid benzensulfònic[a]	X	X
5	Àcid *p*-toluensulfònic[a, b]	X	X
6	HCl 37 %	X	X
7	AcOH	X	X
8	Àcid DL-làctic	X	X
9	Àcid succínic[a, b]	X	X
10	Hidrogensulfat de metil	X	X
11	Àcid camforsulfònic[a, b]	X	X

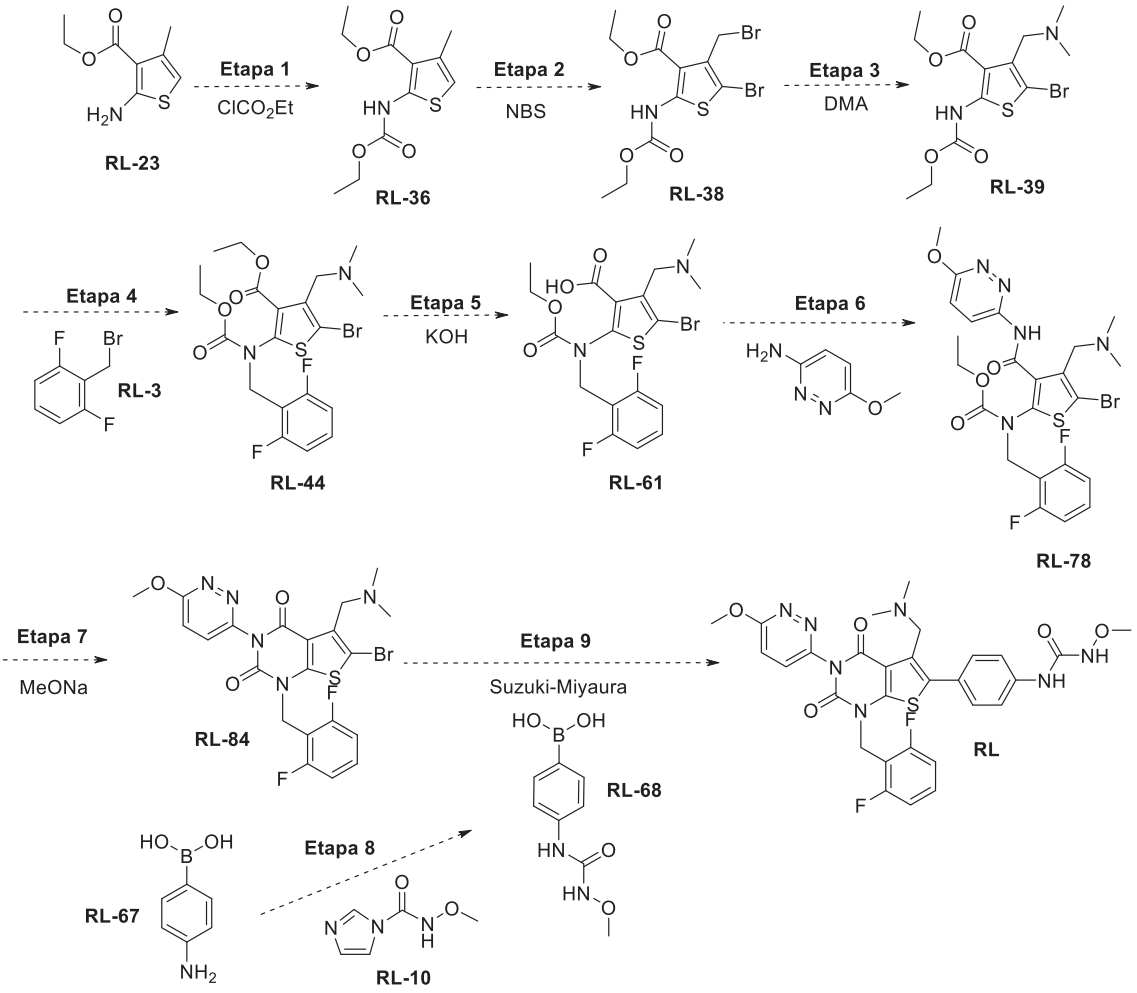
a: *àcids dissolts prèviament en AcOEt o acetona, respectivament.*
b: *àcids dissolts prèviament en* H_2O*.*

També es va intentar formar l'hidroclorur **RL-21** utilitzant HCl 4 M en dioxà amb MTBE i dioxà com a dissolvents respectivament, però no es va observar la formació de cap sòlid. D'altra banda es va utilitzar HCl 15 % en 2-propanol (IPA) amb EtOH, MeOH i MTBE com a dissolvents respectivament, i en aquests casos, tampoc se'n va detectar. Les digestions dels crus de reacció emprant 5 Vol de MeOH i IPA, no van presentar cap millora en la puresa de **RL-21**.

La reacció de Gewald resultava ser una reacció poc selectiva, presentant crus de reacció amb elevat contingut d'impureses on no s'aconseguia purificar efectivament **RL-21**. Per l'altre costat, es va observar l'oxidació del producte durant la manipulació i tractament posterior formant la impuresa **RL-21 Nitro** (***Figura 15***) i, per tant, es va descartar aquesta ruta.

3.2.6.1 RoS D Aproximació-1

Just abans d'abandonar la ruta D degut a les dificultats aparegudes a la primera etapa de síntesi, es va trobar disponible comercialment l'intermedi avançat **RL-23** (anàleg al **RL-21**) i es va decidir utilitzar-lo com a material de partida. Aquest compost hauria de permetre simplificar la ruta i superar les dificultats de la síntesi del tiofè descrites anteriorment (***Esquema 34***).



Esquema 34: *RoS D Aproximació-1.*

L'estratègia és la mateixa que la descrita en la RoS D (***Esquema 32***) però enlloc d'utilitzar l'èster metílic **RL-21**, s'empra l'èster etílic **RL-23**. Amb la dibromació en l'**Etapa**

2 (**RL-38**, ***Esquema 34***), s'aconsegueix posteriorment introduir el grup dimetilamina en la posició heterobenzílica (**Etapa 3**, ***Esquema 34***) i després realitzar la reacció de Suzuki entre **RL-84** i **RL-68** (**Etapa 9**,***Esquema 34***).

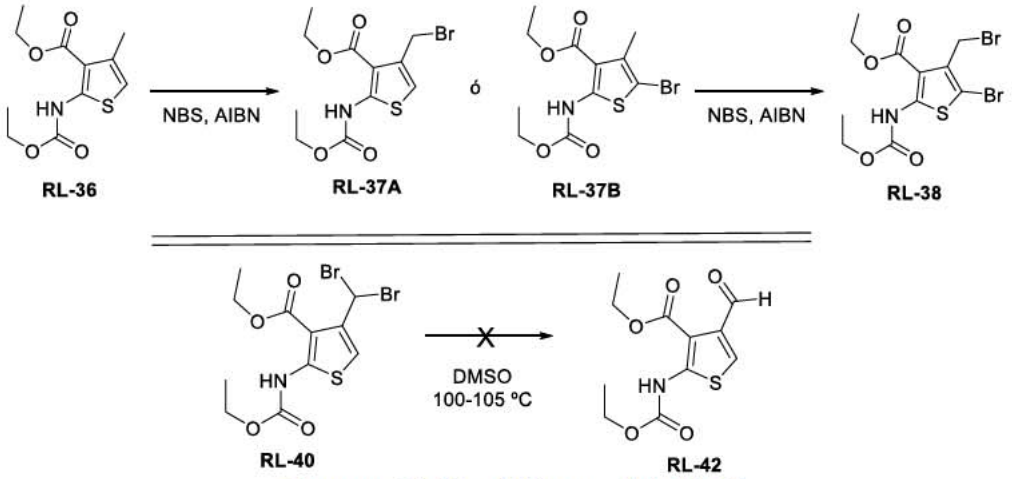
La primera etapa fou la formació del carbamat d'etil **RL-36**, utilitzant cloroformiat d'etil en toluè. Aquesta transformació presenta una conversió quantitativa amb bona selectivitat, tot obtenint **RL-36** amb elevada puresa i rendiment (**Entrada 1**, ***Taula 24***). L'escalat de la reacció a 25 g i posteriorment a 50 g (**Entrada 2** i **3**, ***Taula 24***), van demostrar la robustesa del procés. La recristal·lització del producte obtingut amb EtOH va millorar la puresa de **RL-36** presentant un perfil cromatogràfic del 100% i un rendiment alt (**Entrada 3**, ***Taula 24***).

Taula 24: *Formació de* ***RL-36****.*

Condicions generals			
2 eq. cloroformiat d'etil, 8 Vol toluè, reflux, 3 h			
Entrada	**U. O.**	**Rendiment**	**Puresa RL-36**
1	2,5 g	100 %	98,4 %
2	25 g	100 %	98,3 %
3	50 g	-	98,3 %
	Recristal·lització 1 Vol EtOH	89 %	100 %

El segon pas va ser la bromació de **RL-36** utilitzant NBS com a font de brom i AIBN com a iniciador radicalari per generar les espècies de Br actives (***Esquema 7***). Es van utilitzar d'entrada les condicions descrites en la patent EP2900675B1 però utilitzant el AIBN enlloc del AMVN com a iniciador radicalari.[24] En una primera etapa es va utilitzar només 1,25 eq. de NBS per afavorir la monobromació. Tal i com es pot apreciar en l'**Entrada 1** de la ***Taula 25***, a 20-25 ºC es forma majoritàriament l'espècie monobromada (**RL-37 A** o **RL-37 B**), que amb el pas del temps es transforma en l'espècie dibromada **RL-38**. També es comprova com escalfant la reacció a 35-40 ºC, s'afavoreix la formació de **RL-38** amb el pas del temps. Es pot observar com amb 1,25 eq. de NBS i a 35-40 ºC majoritàriament es forma l'espècie monobromada **RL-37 A / RL-37 B** (**Entrada 2**, ***Taula 25***) i amb l'addició de 1 eq. més de NBS, es forma transforma tot en **RL-38**. Tot i així, també s'afavoreix amb la temperatura la impuresa **RL-62** (***Figura 16***). Mitjançant la caracterització per ressonància magnètica nuclear es va comprovar que el producte dibromat era **RL-38**. Experimentalment també es va determinar que el producte dibromat no corresponia a la dibromació de la mateixa posició heterobenzílica donat l'intent fallit

de formar l'aldehid **RL-42** amb DMSO (***Esquema 35***)[86] La dibromació emprant 2,5 eq. de NBS amb 0,2 eq. de AIBN a 35-40 ºC va ser efectiva donant selectivament **RL-38** (**Entrada 3, *Taula 25***). Cal mencionar que s'han de realitzar dues addicions consecutives de NBS / AIBN per evitar l'acumulació d'espècies radicalàries de brom i la formació de **RL-62** (***Figura 16***). Es va augmentar la puresa de **RL-38** en 3 punts percentuals en realitzar una recristal·lització del producte amb AcOEt (**Entrada 3, *Taula 25***).



Esquema 35: *Mono i dibromació de **RL-36**.*

Taula 25: *Bromació de **RL-36**.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-36	RL-37 A / RL-37 B	RL-38	INIs
1	2,5 g	1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 20-25 ºC, 3 h	42,7 %	52,1 %	3,6 %	1,6 %
			20-25 ºC, 72 h	-	46,0 %	52,5 %	1,5 %
2	15 g	1,25 eq NBS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 35-40 ºC, 2 h	-	75,6 %	15,3 %	1,8 % (7,3% **RL-62**)
		Addició: 1 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	35-40 ºC, 16 h	-	-	82,1%	3,1% (14,8 % **RL-62**)
3	2 g	2,5 eq. NBS, 0,2 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 35-40 ºC, 16 h	-	-	96,1 %	3,9 %
		Recristal·lització 3 Vol AcOEt		-	-	99,5 % **RL-38** (Rendiment: 91 %)	

[86] Li, W.; Li, J.; DeVincentis, D.; Mansour, T. S. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1071.



RL-62

Figura 16: *Impuresa* ***RL-62****.*

L'aminació de **RL-38** amb dimetilamina en THF va donar **RL-39** amb resultats satisfactoris i presentant elevada puresa cromatogràfica amb un rendiment del 84 % (**Entrada 1**, ***Taula 26***).

Taula 26: *Formació de* ***RL-39****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	Rendiment	Puresa RL-39
1	23,4 g	3,5 eq. DMA 2 M en THF	5 Vol THF anhidre, 20-25 ºC, 1,5 h	84 %	99,0 %

Com a punt de partida en la *N*-benzilació de **RL-39** amb **RL-3**, es va utilitzar carbonat de potassi com a base i com a dissolvent DMAc, procediment que es troba descrit a la patent EP2900675 B1 per a la síntesi de **RL-1**.[24] Reproduint les condicions, va haver-hi una conversió completa però només es va formar un 17,6 % de **RL-44** i una gran quantitat d'impureses (**Entrada 1**, ***Taula 27***). Donat que **RL-39** és molt més soluble en dimetilformamida (DMF) que no pas en DMAc, es va provar la *N*-benzilació en aquest dissolvent a 35-40 ºC, per evitar la possible degradació dels reactius amb la temperatura (**Entrada 2**, ***Taula 27***). A les 2 h de reacció, es va veure com encara quedava un 22,2 % de **RL-39** i **RL-3** en el medi per reaccionar. En augmentar la temperatura de reacció a 60-65 ºC, no es va acabar d'esgotar **RL-39** i només hi havia un 50,1 % del producte d'interès **RL-44** (**Entrada 2**, ***Taula 27***). Tot i que **RL-39** no era tant soluble en DMAc, **RL-44** sí que ho era, es va valorar d'utilitzar una base inorgànica més soluble en dissolvents orgànics com el carbonat de cesi. Es va formar un 70 % de **RL-44** a 35-40 ºC després de 16 h de reacció però encara amb un elevat contingut d'impureses no identificades (**Entrada 3**, ***Taula 27***). Malauradament, utilitzant Cs_2CO_3 només es verifiquen les condicions i que es pot obtenir **RL-44** amb una puresa i rendiment acceptables, però l'estratègia no és aplicable a escala industrial donat l'elevat preu del Cs_2CO_3 (K_2CO_3: 500 g / 62 € vs. Cs_2CO_3: 500 g / 379 €).[87] Utilitzant TEA com a base, a les 16 h a 20-25 ºC de reacció, només es va formar un 49,3 % de **RL-44** (**Entrada 4**,

[87] **a)** https://www.sigmaaldrich.com/ES/en/product/sigald/209619 [Accés, 26 de maig 2024].
b) https://www.sigmaaldrich.com/ES/en/product/aldrich/441902 [Accés, 26 de maig 2024].

Taula 27). En augmentar la temperatura a 40-45 ºC no s'incrementa la conversió cap a **RL-44** i a 60-65 ºC s'afavoreix únicament la formació d'impureses entre elles les de descarboxilació (**Entrada 4**, ***Taula 27***).

Donada la baixa selectivitat de la reacció de *N*-benzilació, es va decidir canviar d'estratègia i modificar l'ordre de les reaccions.

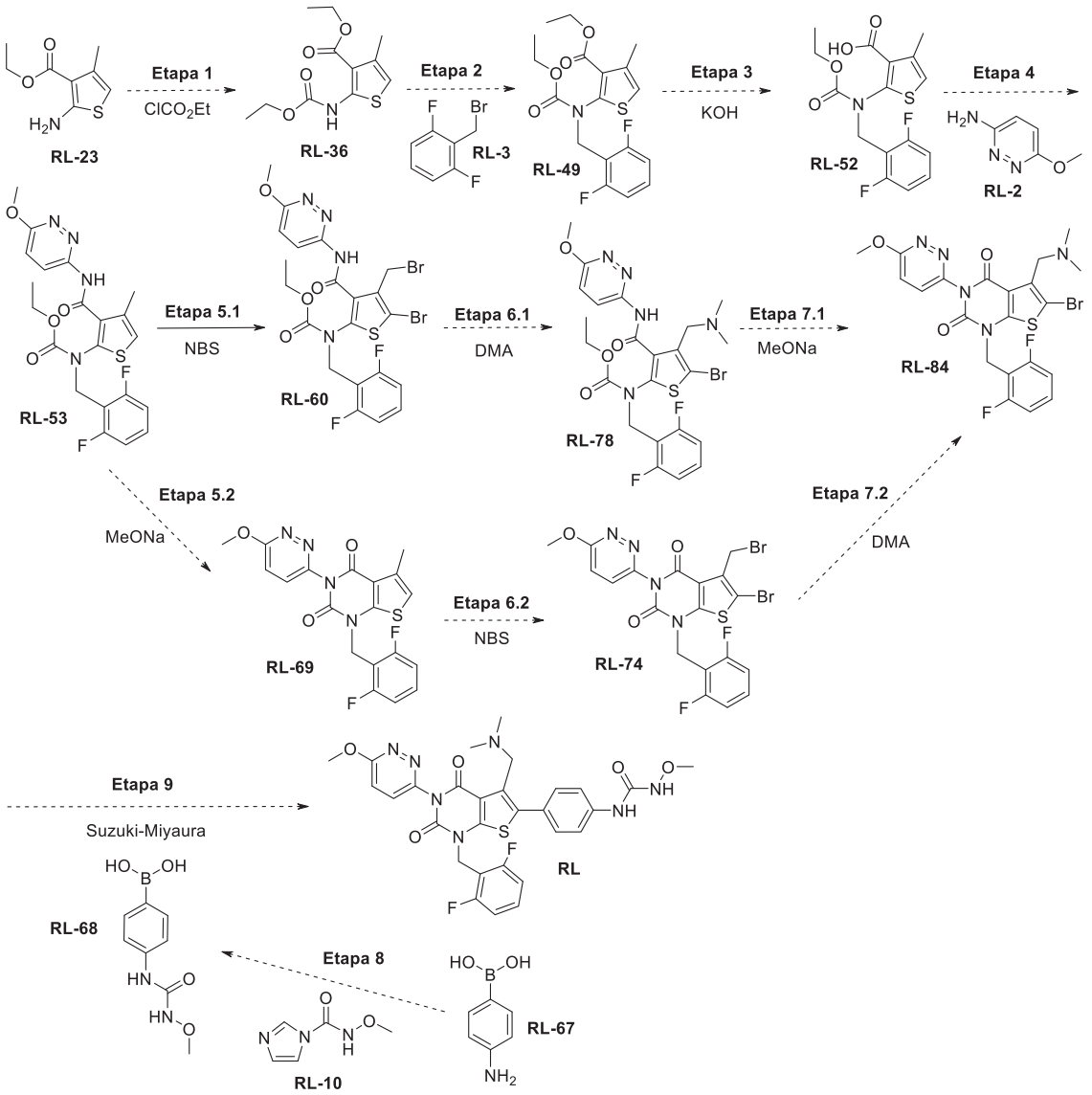
Taula 27: *Formació de* ***RL-44****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-39	RL-44	INIs
1	1,7 g	1,1 eq. K_2CO_3, 1,1 eq. **RL-3**	3 Vol DMAc, 1 Vol ACN, 85-90 ºC, 2 h	-	17,6 %	82,4 %
2	2,6 g	1,1 eq. K_2CO_3, 1,1 eq. **RL-3**	3 Vol DMF, 1 Vol ACN, 35-40 ºC, 2 h	22,2 %	44,9 %	32,9 %
			60-65 ºC, 16 h	9,5 %	50,1 %	40,4 %
3	1,5 g	1,1 eq. Cs_2CO_3, 1,1 eq. **RL-3**	3 Vol DMAc, 1 Vol ACN, 35-40 ºC, 16 h	0,5 %	70,0 %	29,5 %
4	0,8 g	1,1 eq. TEA, 1,1 eq. **RL-3**	3 Vol DMAc, 1 Vol ACN, 20-25 ºC, 16 h	45,2 %	49,3 %	5,5 %
			40-45 ºC, 2 h	44,6 %	48,1 %	7,3 %
			60-65 ºC, 1 h	39,2 %	39,5 %	21,3 %

3.2.6.2 RoS D Aproximació-2

En l'estratègia que es presenta en l'***Esquema 36*** la diferència amb la RoS D Aproximació-1 és que la *N*-benzilació de **RL-36** té lloc abans de la reacció de bromació amb la intenció de minimitzar la formació d'impureses i millorar la selectivitat de la reacció.

Un cop es forma **RL-53**, es plantegen dues possibilitats: introduir el brom en el carboni 5 del tiofè i el grup dimetilamino en la posició heterobenzílica aïllant **RL-78** i al final ciclar per donar **RL-84** o ciclar des d'un inici **RL-53** donant lloc a **RL-69** i inserir, *a posteriori,* el brom en la posició 5 del tiofè i el grup dimetilamino en la posició heterobenzílica, donant lloc a **RL-84**. L'últim pas és la reacció de Suzuki-Miyaura amb **RL-84** i **RL-68**, per afegir el fragment romanent de urea de la molècula. **RL-68** se sintetitza a partir de l'àcid 4-aminofenil borònic **RL-67** comercial.



Esquema 36 : *RoS D Aproximació-2.*

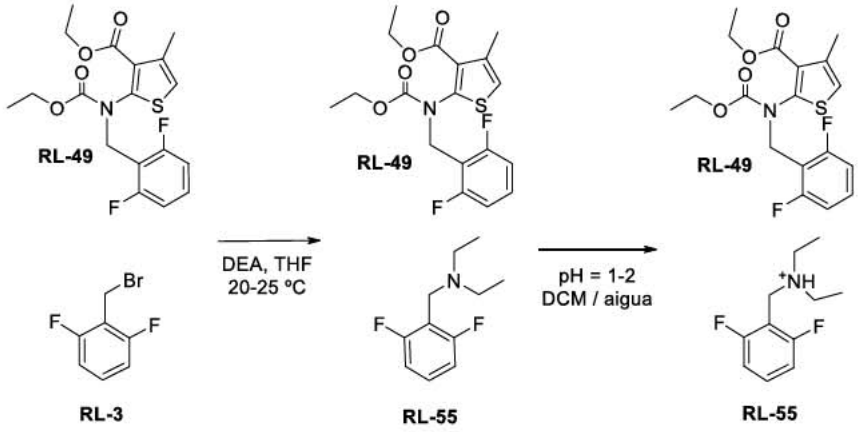
La formació de **RL-36** ja havia estat estudiada en la RoS D Aproximació-1 i s'han utilitzat les condicions optimitzades de la ***Taula 24*** (**Entrada 3**) per a la síntesi d'aquest intermedi.

Com a punt de partida en la *N*-benzilació de **RL-36** amb **RL-3**, es va utilitzar K_2CO_3 com a base i com a dissolvent DMAc, procediment que es descriu a la patent EP2900675 B1 per a la síntesi de **RL-1**.[24] En aquest cas es va aconseguir una conversió completa amb riqueses elevades de l'intermedi **RL-49** (**Entrada 1** i **2**, ***Taula 28***).

Taula 28: *Síntesi de* ***RL-49****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-36	RL-49	INIs	Rendiment
1	2,0 g	1,1 eq. K_2CO_3, 1,1 eq. **RL-3**	3 Vol DMAc, 1 Vol ACN, 55-60 ºC, 16 h	3,3 %	92,2 %	4,5 %	-
			85-90 ºC, 4 h	-	95,2 %	4,8 %	95 %
2	100 g	2 eq. K_2CO_3, 1,1 eq. **RL-3**	3 Vol DMAc, 1,4 Vol ACN, 85-90 ºC, 6 h	-	92,4 %	7,6 %	Superior al 100 %

Per eliminar el **RL-3** romanent en **RL-49** aïllat, va ser efectiu el tractament del cru de reacció amb 2,2 eq. de dietilamina per formar **RL-55** (***Esquema 37***). Es va poder extreure **RL-55** selectivament com a sal d'amoni per tractament amb aigua a pH = 1-2. D'aquesta forma s'obtenien pureses del 94,7 % de **RL-49** quan es partia d'un 66 % de **RL-49** amb 29 % de **RL-3**.



Esquema 37: *Purificació de* ***RL-49****.*

A l'escalat a 100 g es van reproduir les condicions òptimes (**Entrada 2**, ***Taula 28***), tot obtenint un oli. Proves de cristal·lització de l'oli resultant amb AcOEt / *n*-heptà, IPA, EtOH van ser inefectives. L'intermedi **RL-49** cru es va utilitzar directament en el següent pas sintètic.

La hidròlisi bàsica del èster etílic de **RL-49** es va realitzar amb KOH 50% en una mescla d'EtOH / H_2O, seguint les condicions descrites a la patent de procés.[24] Es va observar com era una transformació lenta que requeria com a mínim 16 h de reacció a 55-60 ºC per assegurar una conversió completa (**Entrada 1** vs. **Entrada 2**, ***Taula 29***). Tot i així, s'obtenia **RL-52** amb un 88,5 % de puresa cromatogràfica i un alt contingut d'impureses. Treballant amb una base menys forta i en condicions suaus (**Entrada 3**, ***Taula 29***), no es va millorar en el perfil d'impureses, tenint una puresa de **RL-52** equiparable en el cas d'emprar hidròxid de potassi. L'oli que s'aïlla cristal·litza amb el

pas del temps, indicant que es podria aïllar **RL-52** com a sòlid. Es comprova com **RL-52** és insoluble en toluè i ciclohexà, dos candidats de dissolvents per la recristal·lització. Es va apostar per utilitzar KOH 50% com a base, tot reproduint i verificant les condicions de l'**Entrada 2** (***Taula 29***), amb un escalat a 59 g. La recristal·lització del cru aïllat amb 10 Vol de ciclohexà va ser efectiva donant **RL-52** amb una puresa cromatogràfica del 97,1 % i un rendiment elevat (**Entrada 4**, ***Taula 29***).

Taula 29: *Formació de* ***RL-52****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-49	RL-52	INIs	Rendiment
1	2,8 g	1,5 eq. KOH 50%	9 Vol EtOH, 2,6 Vol H_2O, 55-60ºC, 6 h	2,1 %	83,5 %	14,4 %	96 %
2	10 g	1,5 eq. KOH 50%	9 Vol EtOH, 2,6 Vol H_2O, 55-60ºC, 16 h	-	88,5 %	11,5 %	96 %
3	2 g	1,5 eq. NaOH 30%	9 Vol EtOH, 2,6 Vol H_2O, 30-35ºC, 16 h	1,0 %	86,7 %	12,3 %	56 %
4	59 g	1,5 eq. KOH 50%	9 Vol EtOH, 2,6 Vol H_2O, 55-60ºC, 12 h	-	94,7 %	5,3 %	Superior al 100 %
		Recristal·lització amb 10 Vol ciclohexà		-	97,1 %	2,9 %	85 %

A continuació, es van provar diverses condicions i agents d'acoblament per a la formació de l'amida **RL-53**, tal i com es pot observar en la ***Taula 30***.

Utilitzant les condicions estàndard utilitzades fins ara amb T3P ® a 50-55 ºC no hi va haver conversió completa i només es va formar un 3,7 % de **RL-53** amb un elevat contingut d'impureses no identificades (**Entrada 1**, ***Taula 30***). Treballant en condicions més suaus, a 20-25 ºC, amb 2 eq. de DIPEA i 1,4 eq. de T3P ®, no es va veure cap millora, presentant el mateix perfil d'impureses (**Entrada 2**, ***Taula 30***).

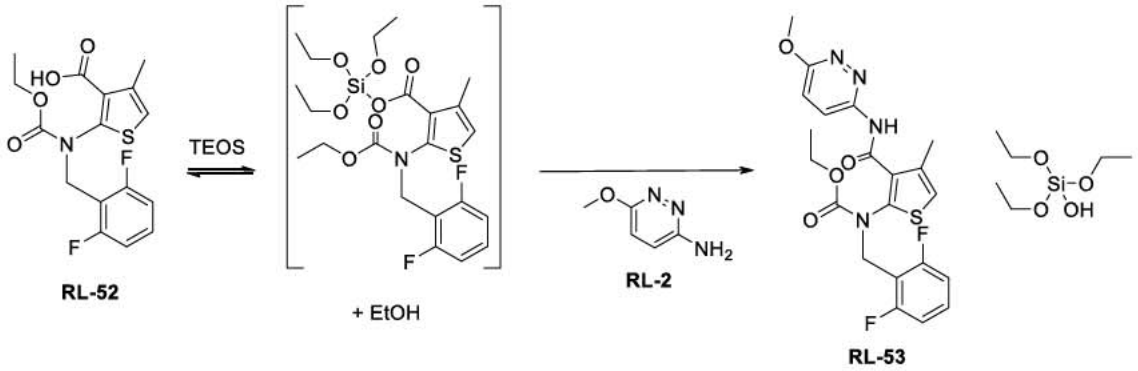
Una alternativa factible va ser l'activació de l'àcid carboxílic **RL-52** com a silil èter utilitzant el tetraetil ortosilicat (TEOS), donat que és un reactiu econòmic i disponible comercialment. Amb un tractament post-reacció senzill es podria obtenir l'amida amb elevada puresa i rendiment, tal i com es descriu bibliogràficament (***Esquema 38***).[88] Malauradament, només es va detectar un 1,8 % de **RL-53** amb un elevat contingut d'impureses (**Entrada 3**, ***Taula 30***).

[88] Braddock, D. C.; Lickiss, P. D.; Rowley, B. C.; Pugh, D.; Purnomo, T.; Santhakumar, G.; Fussell, S. J. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 950.

Taula 30: *Formació de* ***RL-53*** *amb diversos agents d'acoblament.*

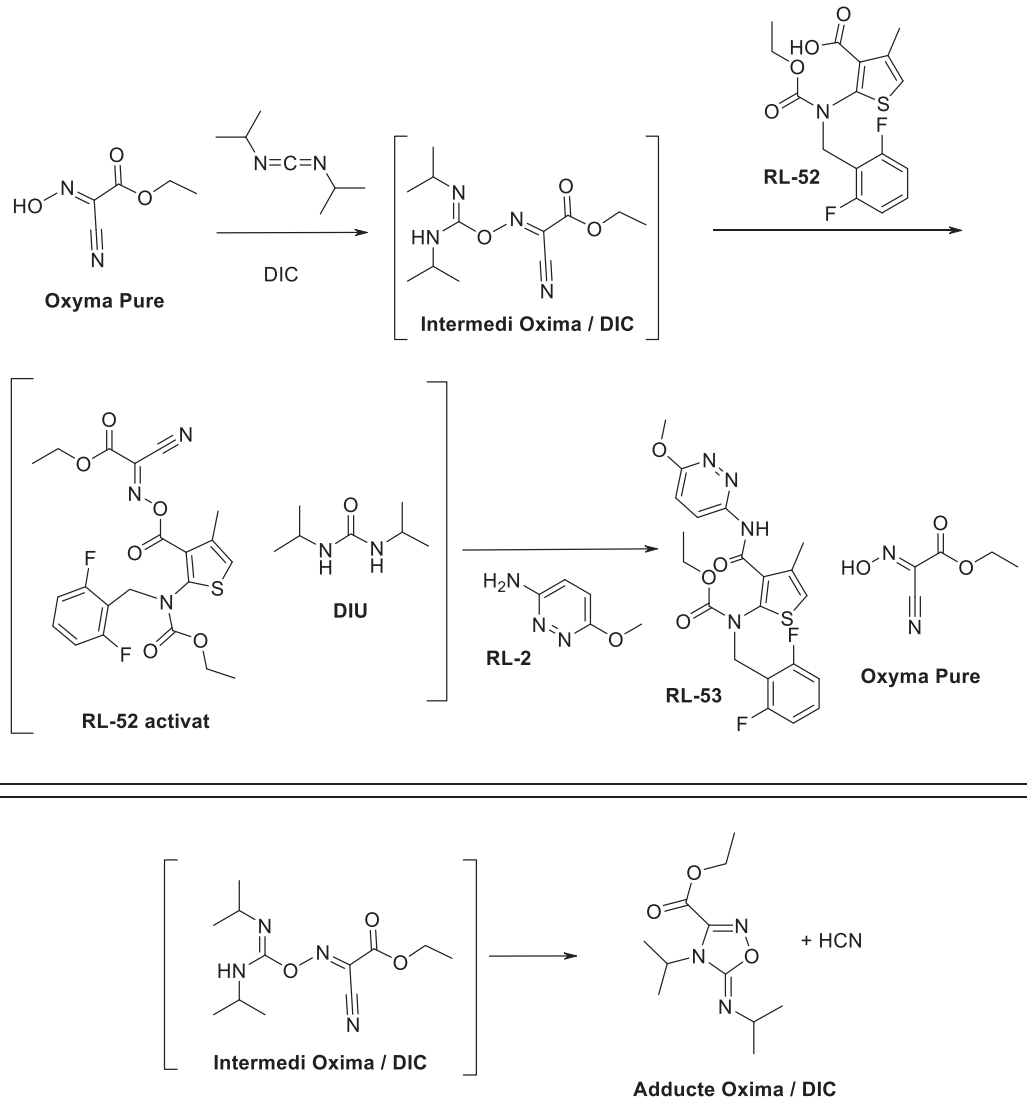
Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-52	RL-53	INIs
1	2,2 g	1,2 eq. **RL-2**, 1,5 eq. DIPEA, 1,2 eq. T3P ® 50% en AcOEt	4,5 Vol DMAc, 50-55 ºC, 1 h	14,2 %	3,7 %	82,1 %
2	0,8 g	1,1 eq. **RL-2**, 2 eq. DIPEA, 1,4 eq. T3P ® 50% en AcOEt	8 Vol AcOEt, 20-25 ºC, 2 h	17,3 %	4,1 %	78,6 %
3	2,5 g	2 eq. **RL-2**,1,25 eq. TEOS	2 Vol toluè, reflux, 16 h	10,7 %	1,8 %	87,5 %
4	5,2 g	1,1 eq. DIC, 1,1 eq. Oxyme Pure ®, 1,1 eq. DIPEA, 1,1 eq. **RL-2**	5 Vol DCM anhidre, 0-2 ºC, 16 h	36,6 %[a]	49,2 %	14,2 %
			rt, 16 h	9,7 %[a]	73,0 %	17,3 %
5	1,7 g	1,1 eq. DIC, 1,1 eq. Oxyme Pure ®, 2,2 eq. **RL-2**	5 Vol ACN, 0-2 ºC, 16 h	93,8 %[a]	-	6,2 %
			20-25 ºC, 16 h	24,0 %[a]	69,9 %	6,1 %
			40-45 ºC, 16 h	12,2 %	79,5 %	8,3 %
			55-60 ºC, 16 h	0,2 %	82,5 %	17,3 %
6	36 g	1,1 eq. DIC, 1 eq. Oxime Pure ®, 2 eq. **RL-2**	5 Vol ACN anhidre, 40-45 ºC, 16 h	0,8 %	84,0 %	15,2 %
		Recristal·lització amb 1 Vol AcOiPr		-	99,5 %	Rendiment: 60 %

a: *es considera també* ***RL-52*** *activat.*



Esquema 38: *Activació de* ***RL-52*** *com a silil èter per formar* ***RL-53****.*

Una altra estratègia és la que presenta el sistema Oxyme Pure ® / DIC per la formació d'amides (***Esquema 39***).[89,90]



Esquema 39: *Formació de* ***RL-53*** *emprant Oxyme Pure ® / DIC i de l'adducte Oxima / DIC.*

Un primer pas és la reacció entre la oxima i la DIC per formar l'Intermedi **Oxima / DIC**, que no s'aïlla. Afegint **RL-52** es formarà l'intermedi **RL-52 activat**, alliberant la 1,3-diisopropilurea (DIU). A continuació, se li afegeix **RL-2** i DIPEA donant lloc a l'enllaç peptídic, tot obtenint-se **RL-53**. Cal destacar que en la formació de l'intermedi **Oxima / DIC** és possible la ciclació espontània formant l'**Adducte Oxima / DIC** i alliberant HCN al medi (***Esquema 39***). Per tal d'evitar aquesta reacció secundaria, es va evitar utilitzar DMF donat que bibliogràficament es descriu que en aquest dissolvent és favorable

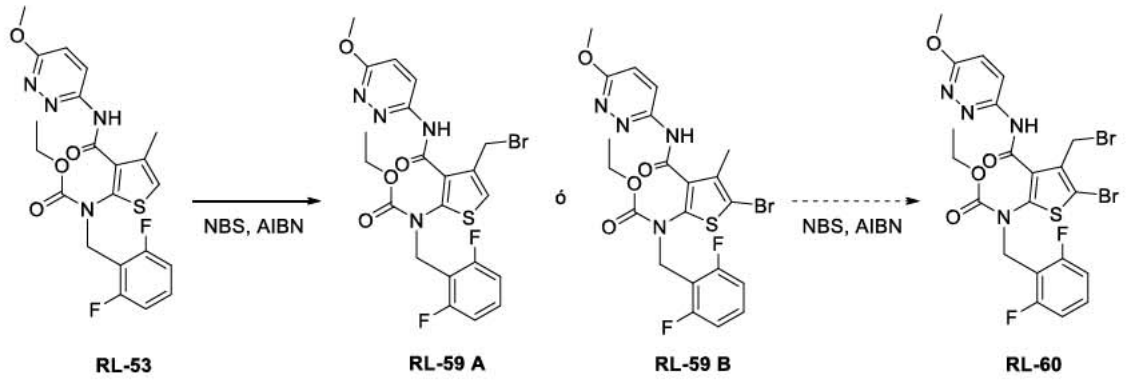
[89] Subirós-Funosas, R.; Prohens, R.; Barbas, R.; El-Faham, A.; Albericio, F. *Chemistry* **2009**, *15*, 9394.
[90] El-Faham, A.; Al Marhoon, Z.; Abdel-Megeed, A.; Albericio, F. *Molecules* **2013**, *18*, 14747.

l'alliberament de HCN en el medi.[91,92] Un dissolvent alternatiu que es va provar va ser el DCM. Treballant a baixa temperatura a les 16 h, es va observar la meitat de la conversió tot tenint un 49 % de **RL-53** format (**Entrada 4**, ***Taula 30***). Pujant la temperatura, es va obtenir 73 % de **RL-53**, sense esgotar-se completament **RL-52** (**Entrada 4**, ***Taula 30***). Després de tractar la reacció, es va obtenir un **RL-53** amb un 93,6 % de puresa i un rendiment del 53 %. Donat que en la reacció ja es té l'amina **RL-2** en el medi, es va valorar de treure la DIPEA del sistema i treballar amb la quantitat corresponent **RL-2** de forma addicional. Com que **RL-2** és molt soluble en ACN, es va realitzar l'acoblament en ACN. Es va observar com la reacció va avançar però presentava una cinètica lenta i només pujant la temperatura a 55-60 ºC i després de 16 h de reacció, s'aconseguia una conversió quasi completa presentant un **RL-53** amb 82,5 % de puresa cromatogràfica (**Entrada 5**, ***Taula 30***). Després del tractament de la reacció, es va obtenir un **RL-53** amb una puresa del 95,7 % amb un rendiment del 69 %. L'escalat a 36 g va confirmar com les condicions són robustes donant conversió completa i una bona puresa cromatogràfica (**Entrada 6**, ***Taula 30***). La recristal·lització en AcO^{i}Pr va demostrar ser efectiva, aïllant-se **RL-53** amb un 99,5 % de puresa cromatogràfica (**Entrada 6**, ***Taula 30***). Tot i així, de cara a un futur s'hauria d'estudiar el procés per augmentar el rendiment d'aquesta.

L'estratègia Oxyme Pure ® / DIC presenta l'avantatge que és una combinació de reactius més segura a escala industrial respecte els agents d'acoblament clàssics com l'hidroxibenzotriazol o el 1-hidroxi-7-azabenzotriazol, donat que no és explosiva per fricció.[89] A més, presenta una bona capacitat d'inhibir la racemització en la síntesi de pèptids. Malauradament, recentment s'ha descobert que l'inconvenient principal és la possible formació de HCN durant la reacció. Per tal de reduir la formació de l'**Adducte Oxima / DIC**, s'ha descrit que l'ús de dissolvents com la *N*-metilpirrolidona (NMP) o una mescla NMP : AcOEt, redueix considerablement l'alliberament de l'àcid prússic.[91]

Un cop es va aïllar **RL-53**, es va dur a terme la dibromació per obtenir **RL-60** (***Esquema 40***).

[91] Erny, M.; Lundqvist, M.; Rasmussen, J. H.; Ludemann-Hombourger, O.; Bihel, F.; Pawlas, J. *Org. Process Res. Dev.* **2020**, *24*, 1341.
[92] McFarland, A. D.; Buser, J. Y.; Embry, M. C.; Held, C. B.; Kolis, S. P. *Org. Process Res. Dev*. **2019**, *23*, 2099.

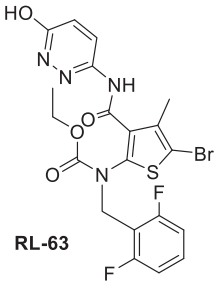


Esquema 40: *Formació de* ***RL-60*** *via dibromació.*

D'entrada es van utilitzar les condicions optimitzades en la RoS D Aproximació-1 (**Entrada 3**, ***Taula 25***), utilitzant 2,5 eq. de NBS en AcOEt. No es va detectar **RL-60** presentant un perfil molt brut d'impureses on predominava una impuresa desmetilada de **RL-59 A** o **RL-59 B** (**Entrada 1**, **Taula 31**). Una proposta d'estructura és la de **RL-63** de la ***Figura 17***, formant-se segurament degut al HBr generat en el medi de reacció. D'aquesta forma es va optar per dur a terme la bromació seqüencial, primer la monobromació donant **RL-59 A** o **RL-59 B** i després la segona bromació per formar **RL-60** (***Esquema 40***). En realitzar-ho, en la primera etapa es va formar quantitativament l'espècie monobromada **RL-59 A** o **B**, però en la segona bromació es va formar quantitativament la impuresa **RL-63** (**Entrada 2**, **Taula 31**). La formació de l'espècie monobromada a baixa temperatura (per preservar la qualitat del intermedi) es va realitzar satisfactòriament (**Entrada 3**, **Taula 31**). Per ressonància magnètica nuclear es va confirmar que l'espècie monobromada es tractava de **RL-59 B** (***Esquema 40***). Per analogia, en la bromació de **RL-36**, el producte de monobromació molt probablement correspon al compost **RL-37-B** (RoS D, Aproximació 1).

Taula 31: *Formació de* ***RL-60****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-53	RL-59 A / RL-59 B	RL-60	INIs
1	5,8 g	2,5 eq. NBS, 0,2 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 65-70 ºC, 2 h	7,0 %	-	-	49,6 % (43,4 % **RL-63**)
2	1,3 g	1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 40-45 ºC, 1 h	0,5 %	79,7 %	-	19,8%
		Addició: 1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	40-45 ºC, 16 h	-	-	-	23,4 % (76,6% **RL-63**)
3	5 g	1 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	0-2 ºC, 3h	-	97,1 %	-	2,9 %



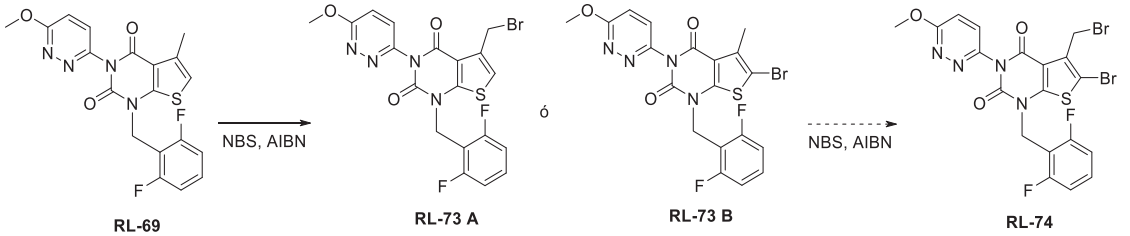
RL-63

Figura 17: *Impuresa desmetilada* ***RL-63****.*

Es va descartar obtenir **RL-60** donat que es formava selectivament la impuresa desmetilada **RL-63** (***Figura 17***).

Així que es va provar la segona estratègia de la RoS D Aproximació-2 (***Esquema 36***), on primer se cicla **RL-53** per donar **RL-69** i sobre aquest intermedi provar la dibromació. **RL-69** es va obtenir satisfactòriament seguint un procés *one-pot* des de **RL-52**, formant primer **RL-53** segons les condicions optimitzades sense la recristal·lització (**Entrada 6**, ***Taula 25***), i en acabat afegint 0,5 eq. de DBU tot escalfant a reflux durant 4 h. D'aquesta forma es va aïllar **RL-69** amb una puresa cromatogràfica superior al 96 % i un rendiment del 100 %.

A partir de **RL-69** es va dur a terme la formació de l'espècie monobromada a baixa temperatura (per preservar la qualitat del intermedi), obtenint-se satisfactòriament en una mescla de ACN i DCM (**Entrada 1**, ***Taula 32***). La monobromació de **RL-69** en DCM va donar els millors resultats amb un rendiment del 92 % (**Entrada 2**, ***Taula 32***). Per ressonància magnètica nuclear es va confirmar que l'espècie monobromada és **RL-73 B** (***Esquema 41***). Es va comprovar com en THF la reacció de monobromació per obtenir **RL-73 B** dóna resultats equiparables (**Entrada 3,*Taula 32***). El que es va detectar és que amb un augment de la temperatura a 40-45 ºC, s'afavoreix la formació de la impuresa desmetilada de **RL-73 B**, segurament degut al HBr del medi formant-se **RL-75** (estructura proposada en la ***Figura 18***). En afegir 1,25 eq. de NBS per a formar **RL-74**, es forma quantitativament **RL-75** amb un 94,1 % enlloc del producte desitjat (**Entrada 3**, ***Taula 32***).

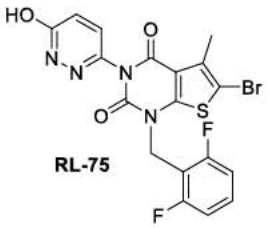


RL-69 RL-73 A RL-73 B RL-74

Esquema 41: *Formació de* ***RL-74*** *via dibromació.*

Taula 32: *Formació de les espècies mono i dibromades.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-69	RL-73 A / RL-73 B	RL-74	INIs
1	1,2 g	1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol ACN, 3,3 Vol DCM, 0-2 ºC, 1 h	-	93,9 %	-	6,1 %
2	0,6 g	1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	13,5 Vol DCM, 0-2 ºC, 2 h	-	98,2 %	-	1,8 %
3	0,7 g	1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	16,7 Vol THF, 0-2 ºC, 2 h	-	94,7 %	-	5,3 %
			40-45 ºC, 1 h	-	28,1 %	-	6,2 % (65,7 % **RL-75**)
		Addició: 1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	40-45 ºC, 1 h	-	-	-	5,9 % (94,1 % **RL-75**)

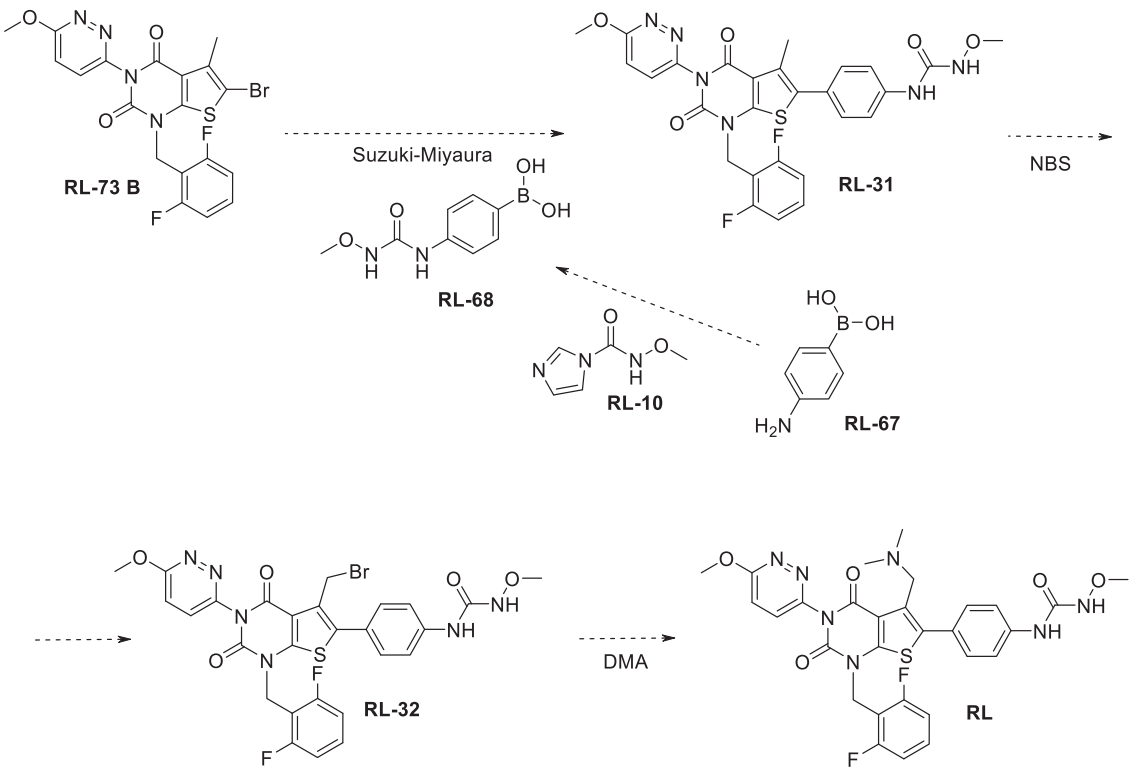


RL-75

Figura 18: *Impuresa desmetilada* ***RL-75****.*

La segona estratègia de la RoS Aproximació-2 queda descartada donada la impossibilitat de dibromar formant **RL-74**.

Una alternativa és la de realitzar la reacció de Suzuki-Miyaura amb **RL-73 B** i **RL-68**, aïllant **RL-31** (***Esquema 42***). Després es procediria a realitzar la bromació del metil del tiofè obtenint **RL-32** i finalment realitzar la substitució del bromur amb dimetilamina (***Esquema 42***). Aquesta estratègia seria vàlida malgrat s'allargui la ruta amb una etapa. Malauradament, s'havia verificat en l'estudi de la RoS H (una altra RoS del projecte), com la bromació de **RL-31** no era viable perquè donava mescles complexes d'impureses. Tot i així, es va dur a terme la reacció 0 ºC, 20-25 ºC i 60 ºC sense observar millores en el perfil ni detectant **RL-32**. En utilitzar *N*-clorosuccinimida, només és va aconseguir un 28 % del producte halogenat.



Esquema 42: *Formació de Relugolix a partir de* ***RL-73 B*** *passant per* ***RL-32****.*

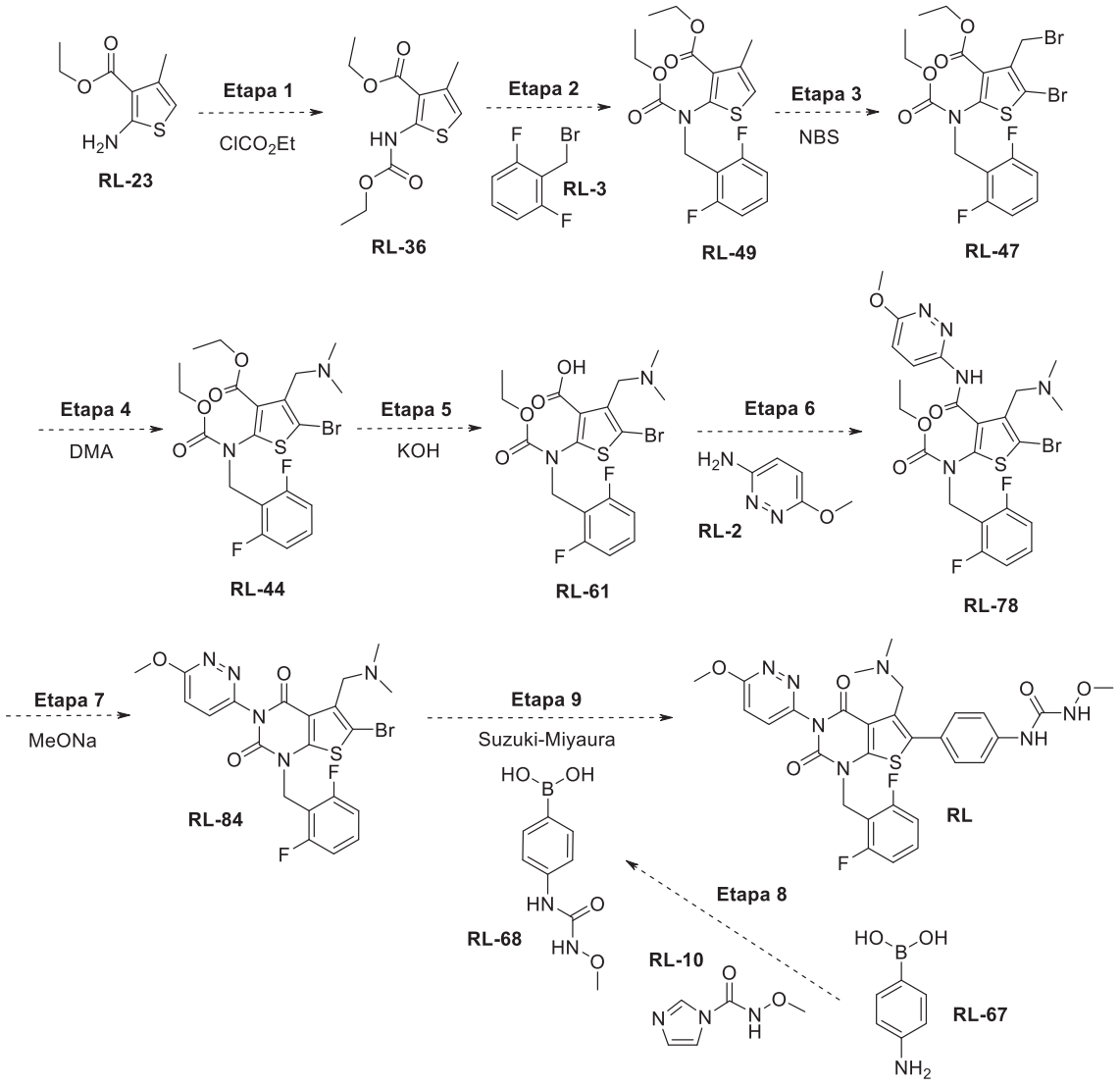
A més, es va detectar que **RL-31** i **RL-32** es troben descrits en la sol·licitud de patent CN113135934A (Beijing Health Medical Technology Co.), sent estat de la tècnica i descartant la possibilitat de patentar el procediment.[93] Si es presentés una extensió internacional apareixeria el perill d'infracció per part de MOEHS. En la sol·licitud de patent WO2022/214645A1 (Farmhispania), es protegeixen **RL-31** i **RL-32** *per se* així com també un agent halogenant en un dissolvent adequat per obtenir **RL-32**.[94] D'aquesta forma es descarta per complet aquesta estratègia.

Queda descartada la RoS D Aproximació-2 donat que no es pot dibromar **RL-53** ni **RL-69** (***Esquema 36***).

[93] CN Pat., CN113135934:A, **2021**.
[94] WO Pat., WO2022/214645:A1, **2022**.

3.2.6.3 RoS D Aproximació-3

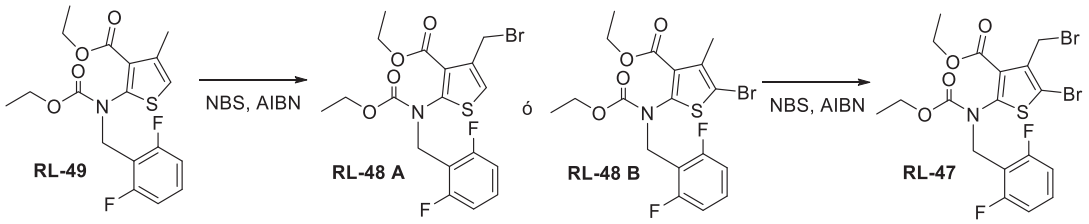
En l'estratègia que es presenta en l' ***Esquema 43*** es realitza la *N*-benzilació de **RL-36** (**Etapa 2**, ***Esquema 43***) abans de la reacció de bromació amb la intenció de minimitzar la formació d'impureses i millorar la selectivitat de la reacció. Així mateix, la dibromació té lloc abans de la formació de l'enllaç amida amb **RL-2** (**Etapa 3**, ***Esquema 43***), evitant així la formació d'impureses desmetilades com ja s'havia vist pel cas de **RL-53** i **RL-69** en la RoS D Aproximació-2 (***Esquema 36***).



Esquema 43: *RoS D Aproximació-3.*

La formació de **RL-36** (**Etapa 1**, ***Esquema 43***), ja havia estat estudiada a la RoS D Aproximació-1 i s'han utilitzat les condicions optimitzades de la ***Taula 24*** (**Entrada 3**) per a la síntesi d'aquest intermedi. En l'Etapa 2 (***Esquema 43***), **RL-49** se sintetitza utilitzant les condicions de l'**Entrada 2** de la ***Taula 28*** de la RoS D Aproximació-2.

La reacció de bromació de **RL-49** es va realitzar en AcOEt donat que l'intermedi **RL-49** hi és soluble i utilitzant NBS amb AIBN, condicions ja utilitzades per a la síntesi de **RL-38** (***Taula 25***). S'observa com amb 1,25 eq. de NBS a temperatura ambient ja s'obté selectivament l'espècie monobromada **RL-48 A** o **RL-48 B** després de 16 h de reacció (**Entrada 1**, ***Taula 33***). En fer una addició de 1,25 eq. més de NBS i pujant la temperatura a 65-70 ºC per accelerar la cinètica de la reacció, s'observa com es va bromant **RL-48 A** o **RL-48 B** donant **RL-47** (**Entrada 1**, ***Taula 33***). Es van realitzar vàries addicions consecutives de NBS amb AIBN, veient com per a la dibromació de **RL-49** es necessita un excés important de NBS (5 eq.) perquè es doni una conversió completa (**Entrada 1**, ***Taula 33***). D'aquesta forma es va provar de dur a terme la dibromació de **RL-49** amb un excés inicial de 4 eq. NBS a 45-50 ºC. Així, es va obtenir una conversió quantitativa tot obtenint **RL-47** en un 91,2 % de puresa cromatogràfica (**Entrada 2**, ***Taula 33***). L'escalat a 50 g va verificar les condicions, tot i tenir una puresa de **RL-47**, lleugerament més baixa que a escala 2 g (**Entrada 2** vs. **3**, ***Taula 33***). **RL-47** s'obté com un oli, que no s'ha aconseguit cristal·litzar, donant rendiments superiors al 100 %. L'oli resultant es dissol en DCM i es renta amb tiosulfat de sodi 10 % per tal l'eliminar les traces de Br_2 romanents. La fase orgànica resultant es renta diverses vegades amb aigua per assegurar eliminar traces de sofre en el producte **RL-47** que podrien enverinar el catalitzador en l'**Etapa 9** (***Esquema 43***) durant la reacció de Suzuki-Miyaura. Per ressonància magnètica nuclear, es va confirmar que l'espècie dibromada de **RL-49** és **RL-47** (**Esquema 44**). Per analogia en la monobromació de la RoS D Aproximació 2, molt probablement el producte monobromat de **RL-49** seria **RL-48 B** (**Esquema 44**).



Esquema 44: *Reacció de dibromació passant per l'intermedi monobromat de* ***RL-49****.*

Taula 33: *Dibromació de* ***RL-49****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-49	RL-48 A / RL-48 B	RL-47	INIs	Rendiment
1	1,6 g	1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 20-25 ºC, 16 h	-	90,0 %	5,4 %	4,6 %	-
		Addició: 1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	65-70 ºC, 16 h	-	40,3 %	51,6 %	8,1 %	-
		Addició: 1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	65-70 ºC, 2 h	-	16,1 %	77,7 %	6,2 %	-
		Addició: 1,25 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	65-70 ºC, 1 h	-	3,2 %	83,4 %	13,4 %	Superior al 100 %
2	2 g	4 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 45-50 ºC, 16 h	-		91,2 %	8,8 %	Superior al 100 %
3	50 g	4 eq. NBS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 45-50 ºC, 16 h	-		77,5 %	22,5 %	Superior al 100 %
		Rentat amb tiosulfat de sodi 10 %		-		89,9 %	10,1 %	97 %

A l'**Etapa 2** (***Esquema 43***) es va realitzar la substitució del bromur utilitzant dimetilamina dissolta en THF, estratègia emprada en la patent de Takeda.[24] Treballant amb un excés de dimetilamina, es va obtenir **RL-44** amb una conversió quantitativa i una puresa cromatogràfica superior al 81 % (**Entrada 1**, ***Taula 34***). L'escalat va verificar les condicions però el rendiment va ser lleugerament superior al 100 %, ja que hi havia un cert contingut de sals de DMA·HBr en el medi (**Entrada 2**, ***Taula 34***).

Taula 34: *Formació de* ***RL-44****.*

Condicions generals				
4,2 eq. DMA 2 M en THF, 5 Vol THF anhidre, 20-25 ºC, 16 h				
Entrada	**U. O.**	**Rendiment**	**Puresa RL-44**	**INIs**
1	2,3 g	92 %	81,9 %	10,7 % (7,4 % **RL-39**)
2	68,6 g	>100 %	85,8 %	4,5 % (9,7 % **RL-39**)

Aquesta etapa requereix una optimització donat que es forma la impuresa desbenzilada **RL-39** (***Figura 19***) en percentatges del 7,4 % i 9,7 %, respectivament (**Taula 34**). Tot i així, es van utilitzar aquests intermedis sense purificació complementaria donat que en la formació de **RL-61** i la seva posterior recristal·lització es va observar que s'elimina **RL-79**, *carry over* de **RL-39** hidrolitzat (***Figura 19***).

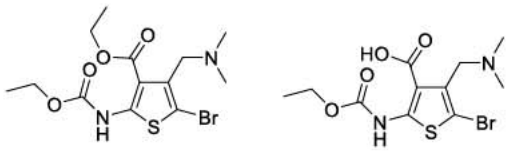


Figura 19: *Impureses* ***RL-39*** *i* ***RL-79****.*

La hidròlisi bàsica de **RL-44** va donar-se com s'esperava formant **RL-61** amb elevades pureses cromatogràfiques, tot utilitzant KOH 50% com a base, seguint el procediment estàndard utilitzat amb anterioritat (***Taula 35***). **RL-61** es va recristal·litzar amb 8 Vol de IPA presentant elevada puresa cromatogràfica, rendiment moderat i un elevat efecte de purga d'impureses com la **RL-79** (**Entrada 2**, ***Taula 35***).

Taula 35: *Formació de* ***RL-61****.*

Condicions generals					
1,5 eq. KOH 50%, 9 Vol EtOH, 2,6 Vol H_2O, 55-60 ºC, 3 h					
Entrada	**U. O.**	**RL-44**	**RL-61**	**INIs**	**Rendiment**
1	2 g	-	90,9 %	2,9 % (6,2 % **RL-79**)	61 %
2	60,5 g	-	90,3 %	2,3 % (7,4 % **RL-79**)	84 %
	Recristal·lització amb 8 Vol IPA	-	99,7 %	0,3 %	75 %

L'Etapa 6 (***Esquema 43***) es basa en la formació de l'enllaç amida entre **RL-44** i **RL-2** per a donar lloc a **RL-78**.

A part d'utilitzar estratègies d'acoblament ja vistes amb anterioritat com el T3P ® o Oxyme Pure ®, també es va apostar pel clorur cianúric utilitzant com a base *N*-metilmorfolina (**Entrada 3**, ***Taula 36***). És una estratègia econòmica on es treballa en quantitats estequiomètriques del clorur cianúric evitant l'augment de residus generats. Tot i que el clorur cianúric és sensibilitzant, corrosiu i tòxic; el subproducte format és

l'àcid cianúric que no presenta toxicitat i només irritabilitat; estratègia que es podria valorar de traslladar a planta.[95] Malauradament, seguint aquesta estratègia no es va detectar **RL-78** (**Entrada 3**, **Taula 36**).

D'entre els diversos agents d'acoblament, es va escollir l'estratègia $SOCl_2$ / TEA com a millor candidata, perquè la resta de casos donen resultats poc satisfactoris (**Taula 36**). L'ús de $SOCl_2$ / TEA a -40 ºC va donar els millors resultats comparant-ho a 0 ºC i a -15 ºC (**Entrades 4**, **5** i **6**; ***Taula 36***).

Taula 36: *Formació de* ***RL-78****.*

Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-61	RL-78	INIs	Rendiment
1	2 g	1 eq. DIC, 0,1 eq. Oxyme Pure®, 2 eq. **RL-2**	10 Vol DCM anhidre, 0-2 ºC, 2 h	87,9 %	-	12,1 %	-
			reflux, 16 h	0,7 %	28,6 %	70,7 %	-
2	2 g	1,2 eq. **RL-2**, 1,5 eq. DIPEA, 1,2 eq. T3P® 50% en AcOEt	8 Vol AcOEt, 20-25 ºC, 16 h	45,3 %	17,1 %	37,6 %	-
			40-45 ºC, 3 h	28,7 %	23,1 %	48,2 %	-
3	1 g	0,6 eq. clorur cianúric, 3 eq. *N*-metilmorfolina, 1 eq. **RL-2**	10 Vol ACN, 65-70 ºC, 1 h	58,5 %	-	41,5 %	-
4	1 g	2 eq. TEA, 1,5 eq. $SOCl_2$, 1,5 eq. **RL-2**	10 Vol DCM anhidre, 0 ºC, 1 h	4,5 %	75,0 %	20,5 %	-
5	1 g	2 eq. TEA, 1,5 eq. $SOCl_2$, 1,5 eq. **RL-2**	10 Vol DCM anhidre, -15 ºC, 3 h	1,7 %	86,6 %	11,7 %	-
6	11,5 g	2 eq. TEA, 1,5 eq. $SOCl_2$, 1,5 eq. **RL-2**	13,5 Vol DCM anhidre, -40 ºC, 16 h	1,6 %	93,9 %	4,5 %	96 %

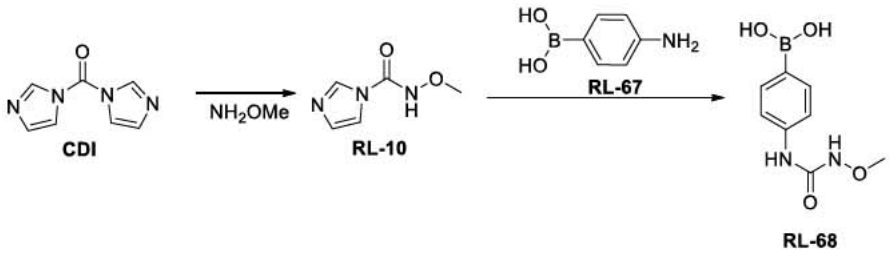
Amb **RL-78** aïllat, es va formar l'anell d'uracil **RL-84** tot emprant MeONa 30 % o DBU donant bones pureses (***Taula 37***). Com que en el cas d'emprar MeONa 30 % s'obtenien pureses lleugerament superiors, es va escalar la reacció utilitzant aquestes condicions (**Entrada 3**, ***Taula 37***).

[95] **a)** https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/cyanuric-chloride [Accés, 28 de març 2024]. **b)** Dunetz, J. R.; Magano, J.; Weisenburger, G. A. *Org. Process Res. Dev*. **2016**, *20*, 140.

Taula 37: *Formació de* ***RL-84*** *amb MeONa 30 % o DBU.*

Entrada	U. O.	Eq. base	Condicions	Rendiment	Puresa RL-84
1	1,3 g	0,5 eq. DBU	9,3 Vol ACN 35-40 ºC, 16 h	85 %	96,5 %
2	0,2 g	0,2 eq. MeONa 30%	4 Vol MeOH 20-25 ºC, 16 h	87 %	99,1 %
3	13,5 g	0,2 eq. MeONa 30 %	12 Vol ACN, 0 ºC, 3 h	86 %	97,2 %

També es va sintetitzar **RL-68** per poder dur a terme la reacció de Suzuki amb **RL-84**. Primer es forma **RL-10** fent reaccionar metoxiamina amb CDI. Després es fa reaccionar amb **RL-67** per donar lloc a la urea d'interès **RL-68** (***Esquema 45***). La síntesi de **RL-68** va ser satisfactòria donant elevada puresa de **RL-68** (**Entrada 1**, ***Taula 38***). Es realitza una recristal·lització de **RL-68** amb 4 Vol d'aigua per eliminar traces d'imidazole i sals, donant un rendiment moderat del 62 % però assegurant una gran puresa (***Taula 38***).



Esquema 45: *Formació de* ***RL-68****.*

Taula 38: *Formació de* ***RL-68****.*

Entrada	U. O.	Condicions	Puresa RL-68	Rendiment
1	10 g	(1). 1,70 eq. CDI, 0,85 eq. TEA, 1,90 eq.NH_2OMe·HCl, 3,5 Vol ACN, 0 ºC. (2). 1 eq. **RL-67**, 0,5 Vol ACN, 50-55 ºC, 2 h. (3). Recristal·lització en 4 Vol H_2O a 20-25 ºC.	99,0 %	62 %

L'última etapa de la RoS D Aproximació-3 és la reacció de Suzuki entre **RL-84** i **RL-68** sintetitzats. S'utilitza un catalitzador de Pd en medi bàsic, per formar l'enllaç C-C entre l'halur **RL-84** i l'àcid bòrònic **RL-68**. Després d'un exhaustiu *screening* de catalitzadors i condicions, no es va detectar la formació de **RL** (***Taula 39***).

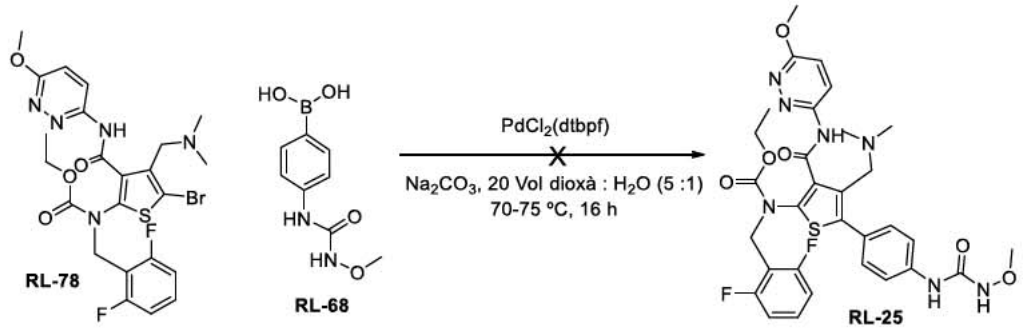
Taula 39: *Screening de catalitzadors i condicions per la formació de Relugolix.*

Entrada	U. O.	Catalitzador	Dissolvents	Condicions	RL
1	0,2 g	$PdCl_2$(dtbpf)	20 Vol acetona : H_2O (5:1)	65-70 ºC[a]	X
2	0,1 g	$PdCl_2$(dtbpf)	20 Vol dioxà : H_2O (5:1)	95-100 ºC[a]	X
3	0,2 g	Pd(dppf)Cl_2·CH_2Cl_2	20 Vol dioxà : H_2O (5:1)	65-70 ºC[a]	X
4	0,2 g	$PdCl_2[P(cy)_3]_2$	20 Vol dioxà : H_2O (5:1)	95-100 ºC[a]	X
5	0,3 g	Pd$(OAc)_2$	4 Vol acetona : H_2O (5:1)	60-65 ºC[b]	X
6	0,2 g	XPhos G4	20 Vol dioxà : H_2O (5:1)	70-75 ºC[a]	X
7	0,2 g	Pd$(PPh_3)_4$	20 Vol dioxà : H_2O (5:1)	70-75 ºC[a]	X

a: 1 eq. **RL-84**, 1,5 eq. **RL-68**, 3 eq. Na_2CO_3, 5 % molar catalitzador, 16 h.

b: 1 eq. **RL-84**, 1,1 eq. **RL-68**, 3 eq. K_3PO_4·$3H_2O$, 1 % molar TTBP·HBF_4, 5 % molar catalitzador, 16 h.

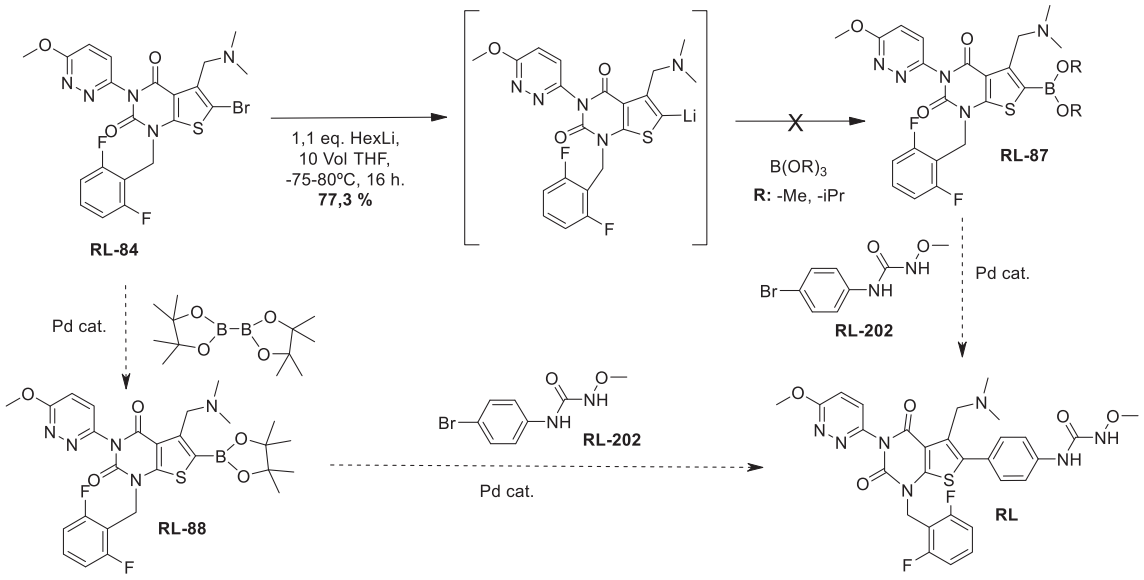
Que la reacció no funcioni pot ser degut a diversos factors: la poca reactivitat del derivat bromat **RL-84** o la coordinació de l'amina terciària de **RL-84** amb el catalitzador de pal·ladi o a l'impediment estèric que podria exercir el grup dimetilamino sobre la posició heterobenzílica. Per altra part, la reacció de Suzuki per formar **RL-25** partint de l'intermedi previ a **RL-84**, **RL-78**, tampoc va funcionar (***Esquema 46***).



Esquema 46: *Formació de **RL-25** a partir de **RL-78**.*

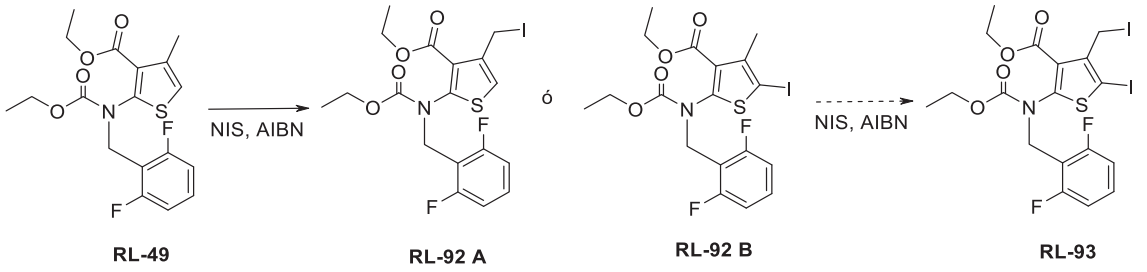
Per intentar solventar el cas de la poca reactivitat del derivat de brom en la reacció de Suzuki, es va proposar provar de bescanviar les funcionalitats dels grups implicats tal i com es mostra en l'***Esquema 47***. D'aquesta forma ara la molècula amb el grup urea seria l'haloderivat **RL-202** mentre que **RL-84** es convertiria en l'àcid borònic o pinacol èster (**RL-87** o **RL-88**, respectivament). En el cas de la síntesi de **RL-87**, es va formar

quantitativament l'intermedi aril-liti però a l'addicionar el borat de trimetil o borat de triisopropil no es va detectar l'àcid borònic ni l'èster borònic corresponent (***Esquema 47***).[96] La formació de **RL-88** es va descartar donat que requereix de catàlisi amb pal·ladi per a la seva formació i ja s'havia experimentat prèviament com no funciona la reacció de Suzuki-Miyaura utilitzant **RL-84**.



Esquema 47: *Formació de Relugolix via* ***RL-87*** *o* ***RL-88****.*

Una altra opció factible era canviar l'àtom de brom de **RL-84** per un de iode, donat que aquest és molt més làbil. D'aquesta manera es va treballar amb la diiodació de **RL-49**, utilitzant *N*-iodosuccinimida (NIS) i AIBN (***Esquema 48***).



Esquema 48: *Diiodació de* ***RL-49****.*

Després de diversos esforços, no es va aconseguir aïllar l'intermedi diiodat **RL-93** (***Taula 40***). Inicialment es va treballar amb 1,25 eq. de NIS per estudiar la formació de l'intermedi monoiodat **RL-92 A** o **RL-92 B** (**Entrada 1**, ***Taula 40***). És una reacció molt lenta, donat que passades 16 h a 20-25 ºC encara es té un 28,7 % de **RL-49** sense

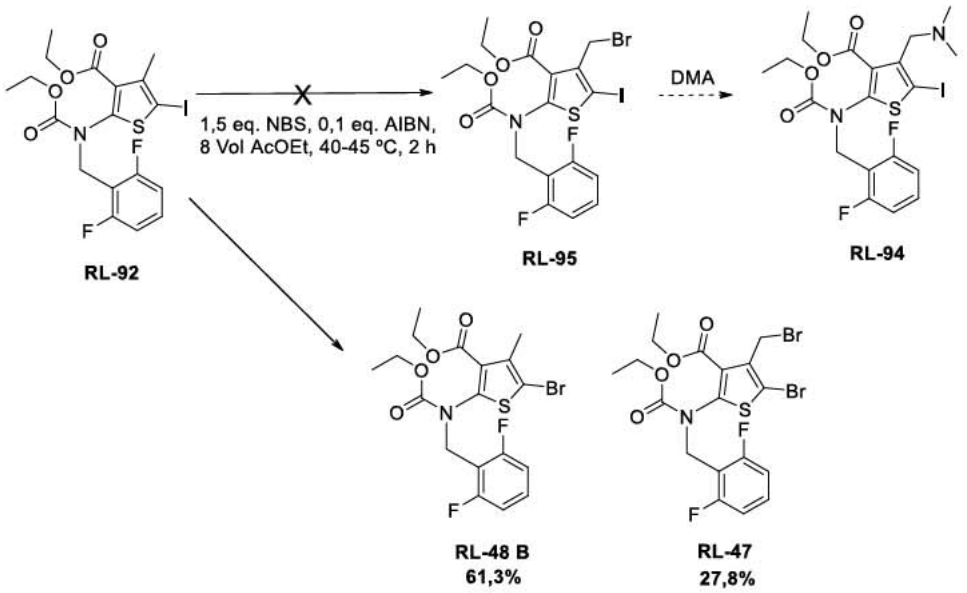
[96] WO Pat., WO2007110337:A1, **2007**.

reaccionar (**Entrada 1**, ***Taula 40***). Amb l'addició de 1,25 eq. més de NIS, s'esgota completament **RL-49** però no es detecta **RL-93**. Treballant des d'un inici amb 2 eq. de NIS a 45-50 ºC, es forma quantitativament l'intermedi monoiodat però no es detecta **RL-93** (**Entrada 2**, ***Taula 40***). Amb un excés de NIS tampoc es forma **RL-93** (**Entrada 3**, ***Taula 40***). També es va dur a terme la iodació utilitzant clorur de iode, operant en aquest cas un mecanisme no radicalari, i es va obtenir únicament el compost monoiodat de **RL-49**, coincident amb el temps de retenció i fragmentació en l'espectre de masses amb els compostos monoiodats via mecanisme radicalari (**Entrada 3**, ***Taula 40***). Per ressonància magnètica nuclear, es va confirmar que l'intermedi monoiodat de **RL-49** es tracta de **RL-92 B** (***Esquema 48).***

Taula 40: *Diiodació de* ***RL-49****.*

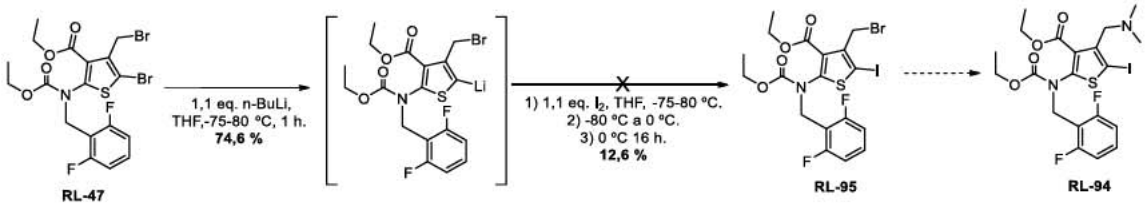
Entrada	U. O.	Reactius	Condicions	RL-49	RL-92 A / RL-92 B	RL-93	INIs	Rendiment
1	2 g	1,25 eq. NIS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 35-40 ºC, 16 h	28,7 %	68,8 %	-	2,5 %	-
		Addició: 1,25 eq. NIS, 0,1 eq. AIBN	40-45 ºC, 4 h	-	97,6 %	-	2,4 %	Superior al 100 %
2	2,5 g	2 eq. NIS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 45-50 ºC, 2 h	-	97,3 %	-	2,7 %	95 %
3	2 g	4,5 eq. NIS, 0,1 eq. AIBN	8 Vol AcOEt, 45-50 ºC, 16 h	-	97,5 %	-	2,5 %	97 %
4	1 g	3 eq. ICl 50% en DCM	6 Vol MeOH, 2,6 Vol DCM, 55-60 ºC, 4 h	-	96,8 %	-	3,2 %	-

Com que no s'havia pogut iodar la posició heterobenzílica de **RL-92 B**, es va proposar bromar-la utilitzant NBS i AIBN (***Esquema 49***). Com se sospitava per avançat, no es va formar **RL-95** sinó una mescla de la substitució del iode pel brom formant **RL-48 B** i la seva bromació en la posició heterobenzílica formant **RL-47**, en una relació 2:1 (***Esquema 49***).



Esquema 49: *Bromació de la posició heterobenzílica de* ***RL-92****.*

Una manera alternativa d'obtenir **RL-95** és utilitzant **RL-47** i realitzant un intercanvi d'halogen via aril-liti (***Esquema 50***). Mentre l'intercanvi brom-liti va ser efectiu, l'intercanvi liti-iode no ho va ser, detectant-se només un 12,6 % de **RL-95** (***Esquema 50***).



Esquema 50: *Formació de* ***RL-95*** *via intercanvi d'halogen.*

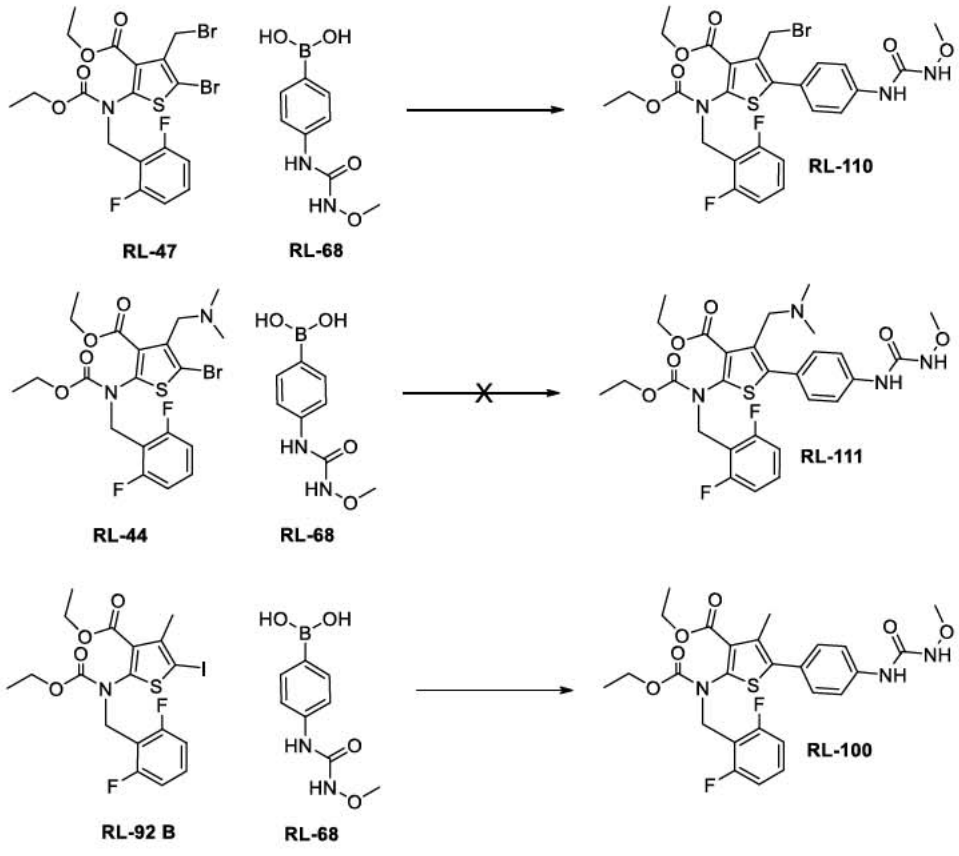
D'altra banda, la reacció de Suzuki-Miyaura amb **RL-47** i **RL-44** amb l'àcid borònic **RL-68**, va demostrar com la presència del grup dimetilamino en l'estructura influïa en l'èxit de la reacció, reforçant la hipòtesi que o es coordina amb el pal·ladi, impedint d'alguna manera la reacció, o bé el seu volum impedeix que la reacció tingui lloc (**Entrada 1** i **2**, ***Taula 41***). La formació de **RL-110** s'hauria d'estudiar i optimitzar per millorar el rendiment i puresa cromatogràfica (**Entrada 1**, ***Taula 41***). Tot i així, no té sentit formar **RL-110** donat que un cop s'hi acobli **RL-2**, si se substitueix amb dimetilamina s'obté **RL-25** (RoS B, ***Esquema 3***) i si es cicla es forma **RL-32** (***Esquema 42***), intermedi amb el qual s'entraria en infracció amb la sol·licitud de patent WO2022/214645A1 (Farmhispania).[94]

Per l'altra part, treballant amb el iododerivat **RL-92 B**, la reacció de Suzuki-Miyaura és molt selectiva. Aquest fet experimental és degut segurament per la seva major labilitat comparat amb el bromoderivat **RL-47** (**Entrada 3**, ***Taula 41***). Tot i així, seguir endavant amb la síntesi a partir de **RL-100** no té sentit, donat que s'hauria de bromar en presència del grup urea i ja s'ha comprovat prèviament (en la bromació de **RL-31**, ***Esquema 42***) com és una reacció que no funciona bé.

Taula 41: *Reacció de Suzuki sobre* ***RL-47***, ***RL-44*** *i* ***RL-92 B****.*

Entrada	U. O.	Reactiu	RL-110	RL-111	RL-100
1ª	1 g	**RL-47**	37,9 %		
2ª	1 g	**RL-44**		X	
3ª	1 g	**RL-92 B**			89,9 %

a: 1 eq. **RL-84**, 1,5 eq. **RL-68**, 3 eq. Na_2CO_3, 5 % molar de $PdCl_2$(dtbpf), 70-75 ºC, 16 h.



Esquema 51: *Reacció de Suzuki amb* ***RL-44***, ***RL-47*** *i* ***RL-92 B****.*

Donat que no es pot dur a terme la reacció de Suzuki-Miyaura en l'Etapa 9 (***Esquema 43***) per la presència del grup dimetilamino en l'intermedi **RL-84**, la RoS D Aproximació-3 es va descartar.

En la ***Taula 42*** es poden veure les RoS estudiades en la Fase I amb els seus avantatges i desavantatges. Tot i que les RoS C i D no van ser factibles sintèticament i es van descartar, la RoS B es va poder verificar i va ser escollida com a ruta per la fabricació de **RL**.

Taula 42: *Resum dels avantatges i desavantatges de les rutes provades en Fase I.*

Entrada	RoS	Avantatges	Desavantatges	Estat
1	**PoC patent EP2900675B1**	-7 etapes (lineal). -Procés reproduïble. -Tots els intermedis són sòlids. -Elevat rendiment en cada etapa. -Rendiment global descrit del 55%.	-Protecció sobre: **RL-8**, **RL-9**, condicions de formació de **RL** a partir de **RL-9**, solvat de THF de **RL**. -Rendiment global reproduint condicions del 35%.	**Patentada**
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
3	**RoS C**	-9 etapes (convergent). -Materials de partida econòmics. -Ruta innovadora / patentable.	-Poca selectivitat en la reacció de Gewald (**RL-20**, **RL-20 A**). -Baix rendiment en la formació de **RL-13**. -Gran contingut d'impureses en la reacció de Gewald.	**Descartada**
4	**RoS D** Aproximació 1	-Material de partida avançat (**RL-23**). -9 etapes (convergent). -Materials de partida econòmics. -Ruta innovadora / patentable.	-Baixa selectivitat en la *N*-benzilació (**RL-44**).	**Descartada**
	RoS D Aproximació 2		-Sense dibromació de **RL-53** i **RL-69**.	**Descartada**
	RoS D Aproximació 3		-Suzuki incompatible entre **RL-84** i **RL-68**.	**Descartada**

[redacted]

3.3 FASE II i III

3.3.1 Introducció

Corporativament es va escollir la RoS B per iniciar la Fase II del projecte, ruta que s'ha verificat en la Fase I. Això significa que a la Fase II s'haurà de dur a terme l'optimització de cada etapa de la ruta sintètica escollida.

[redacted]

[redacted]

[redacted]

[redacted]









[redacted]

[redacted]

,

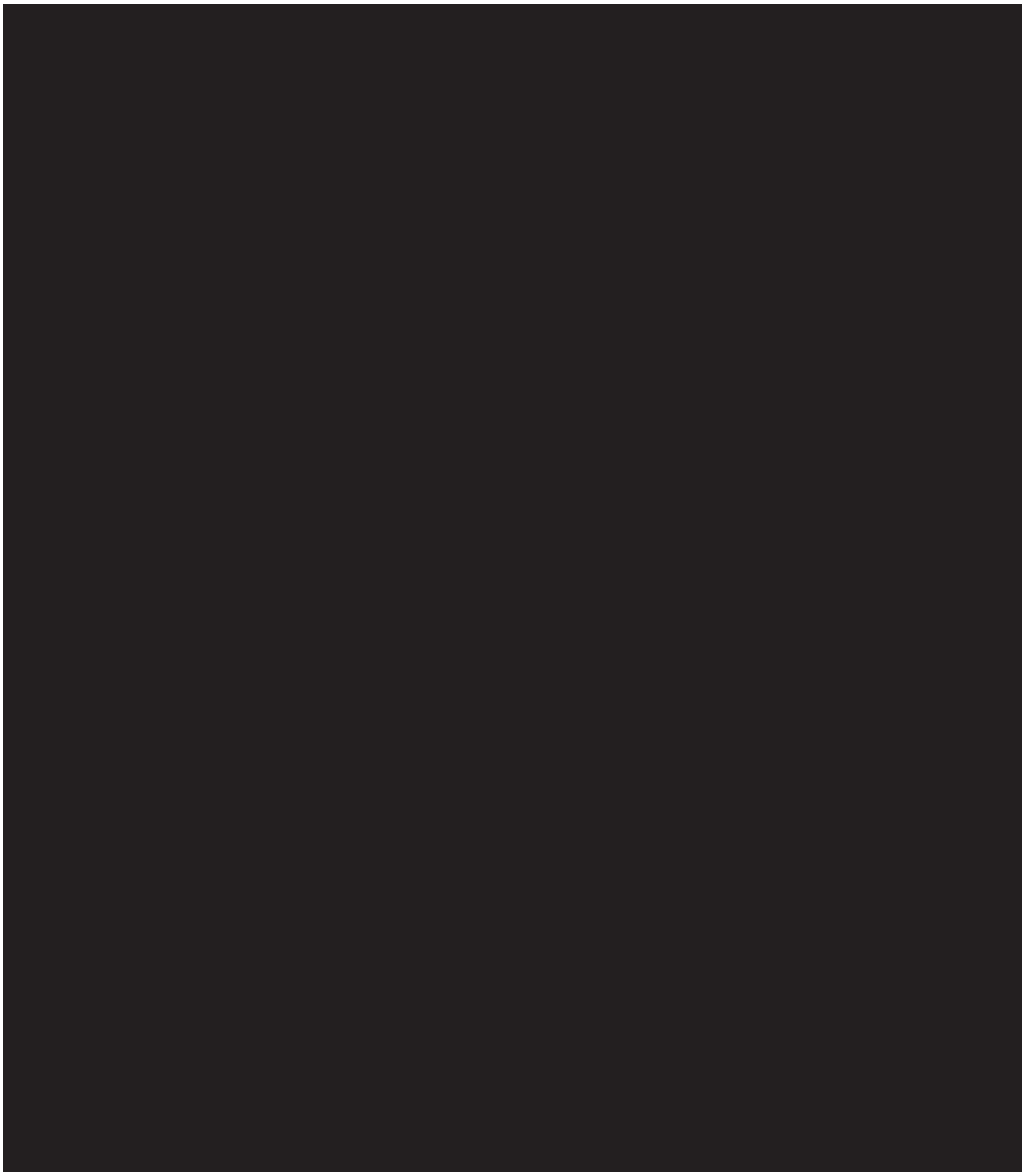






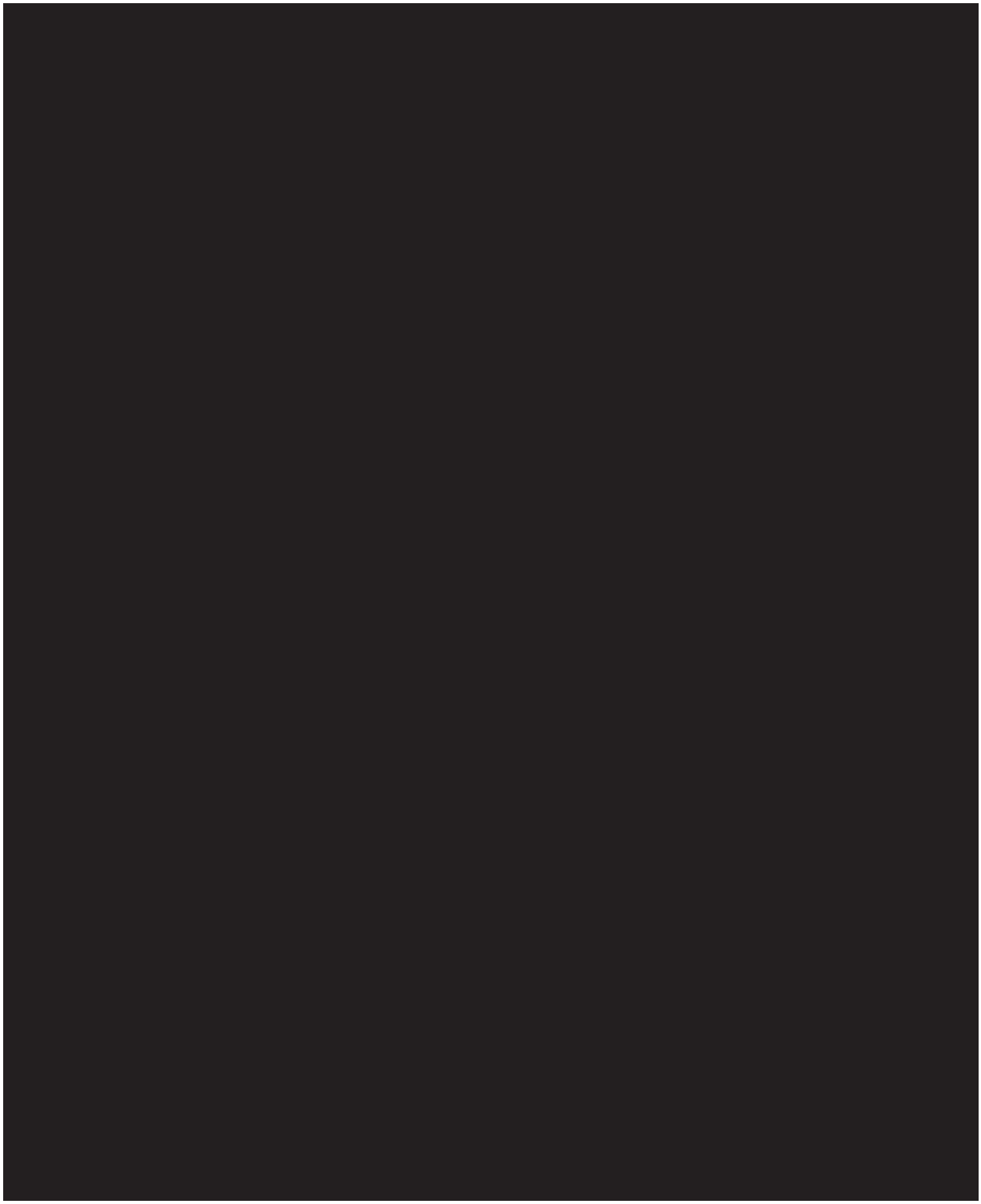


















[redacted]



[redacted]





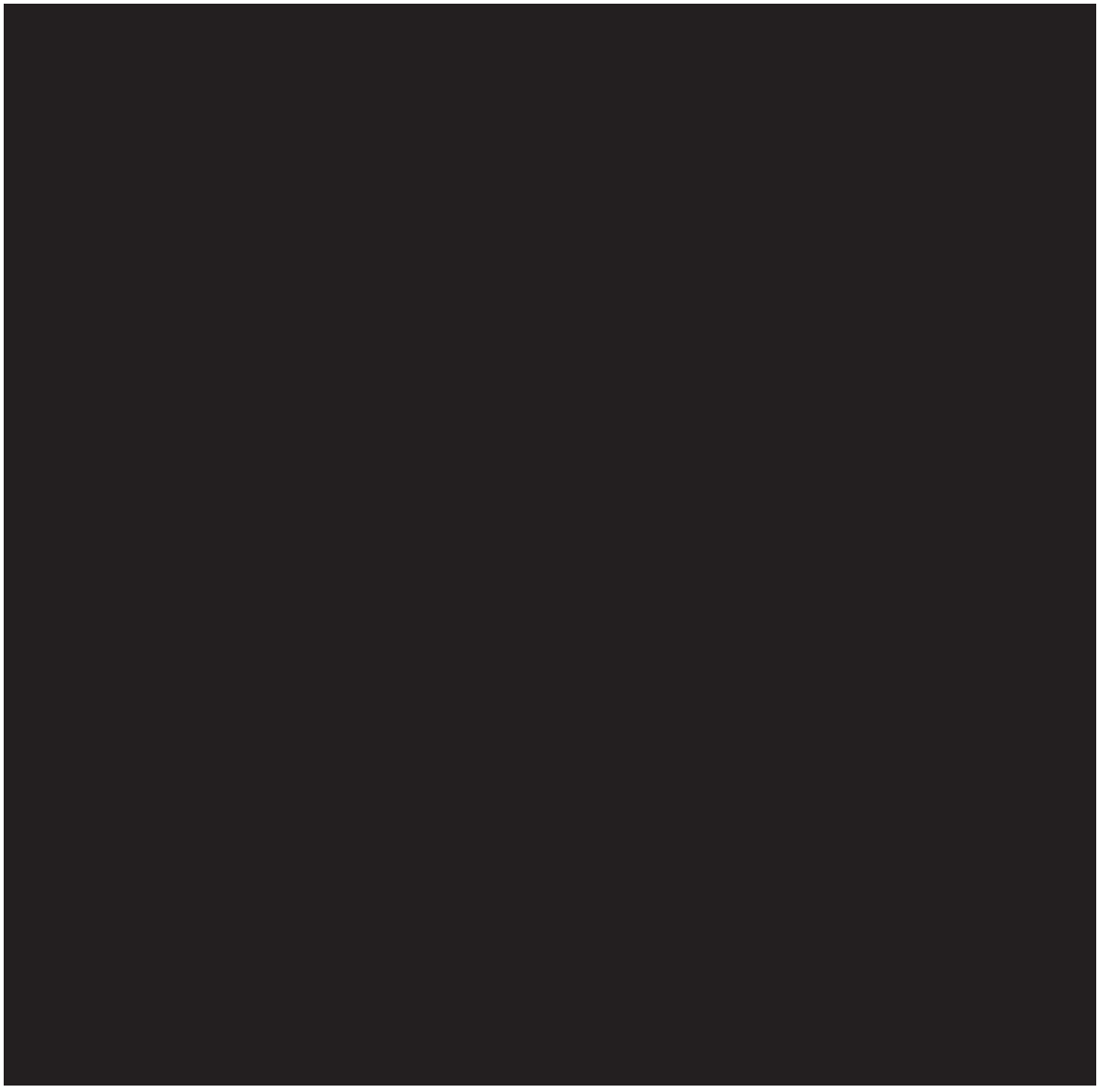
























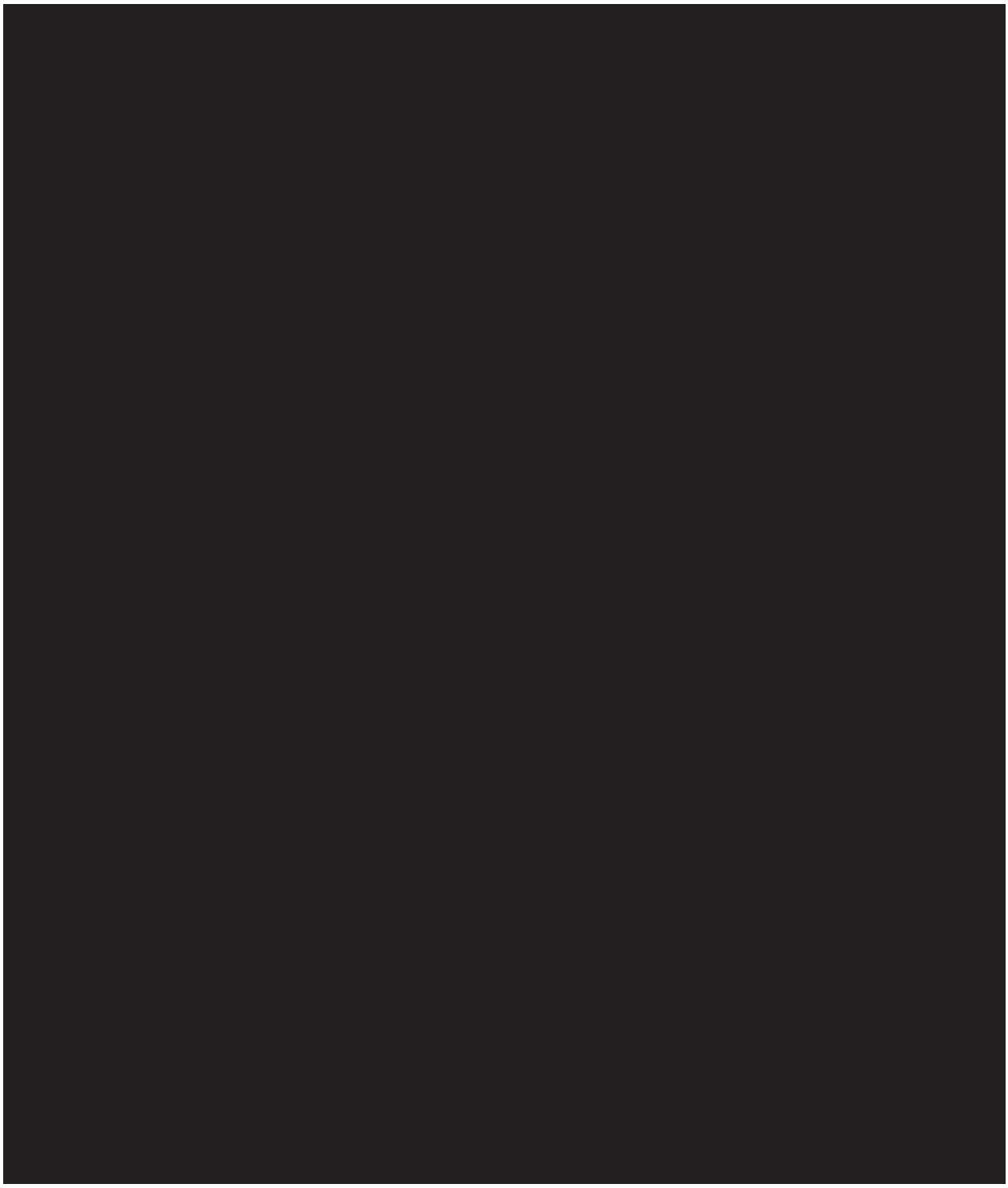


























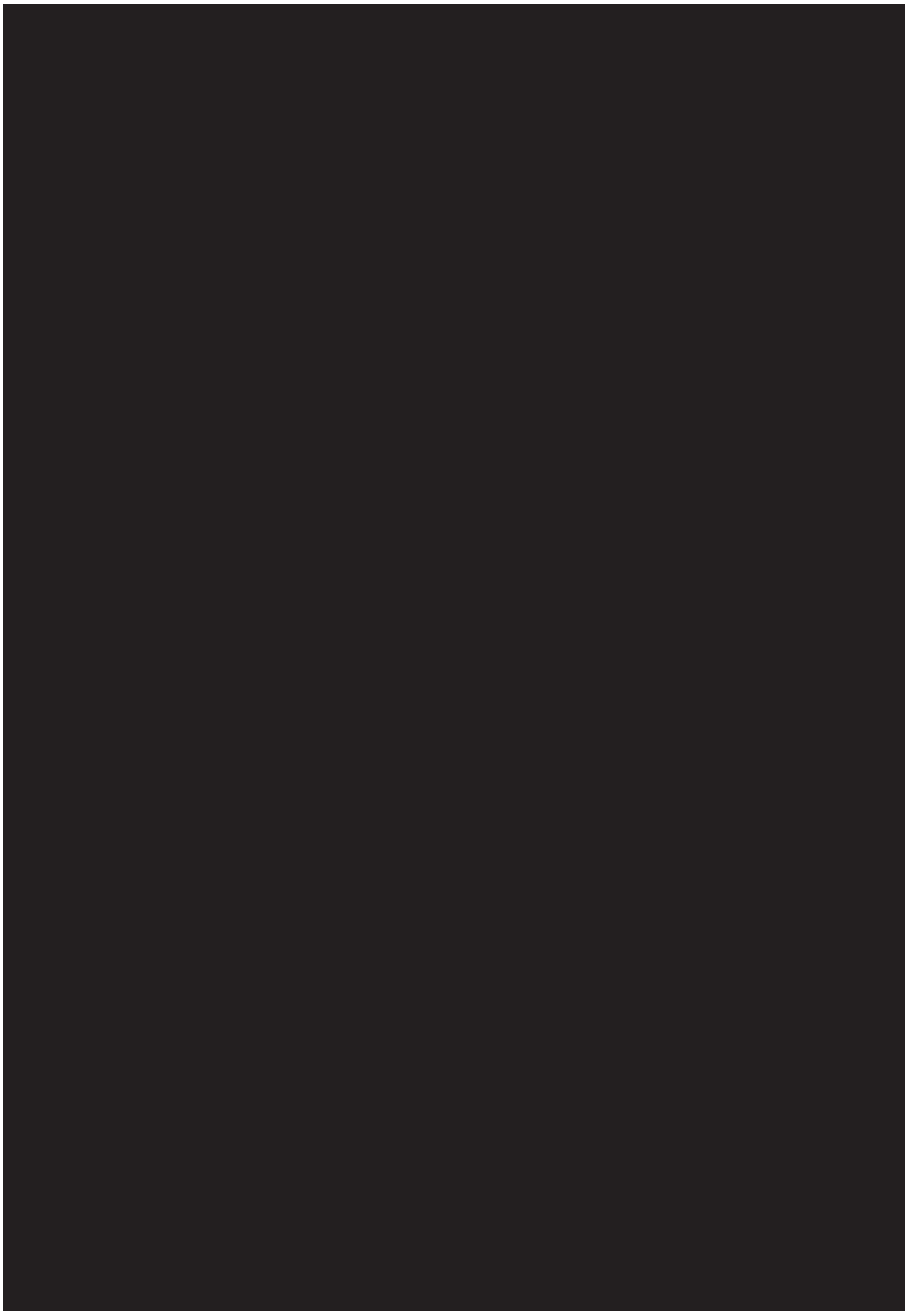
[redacted]

- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]













































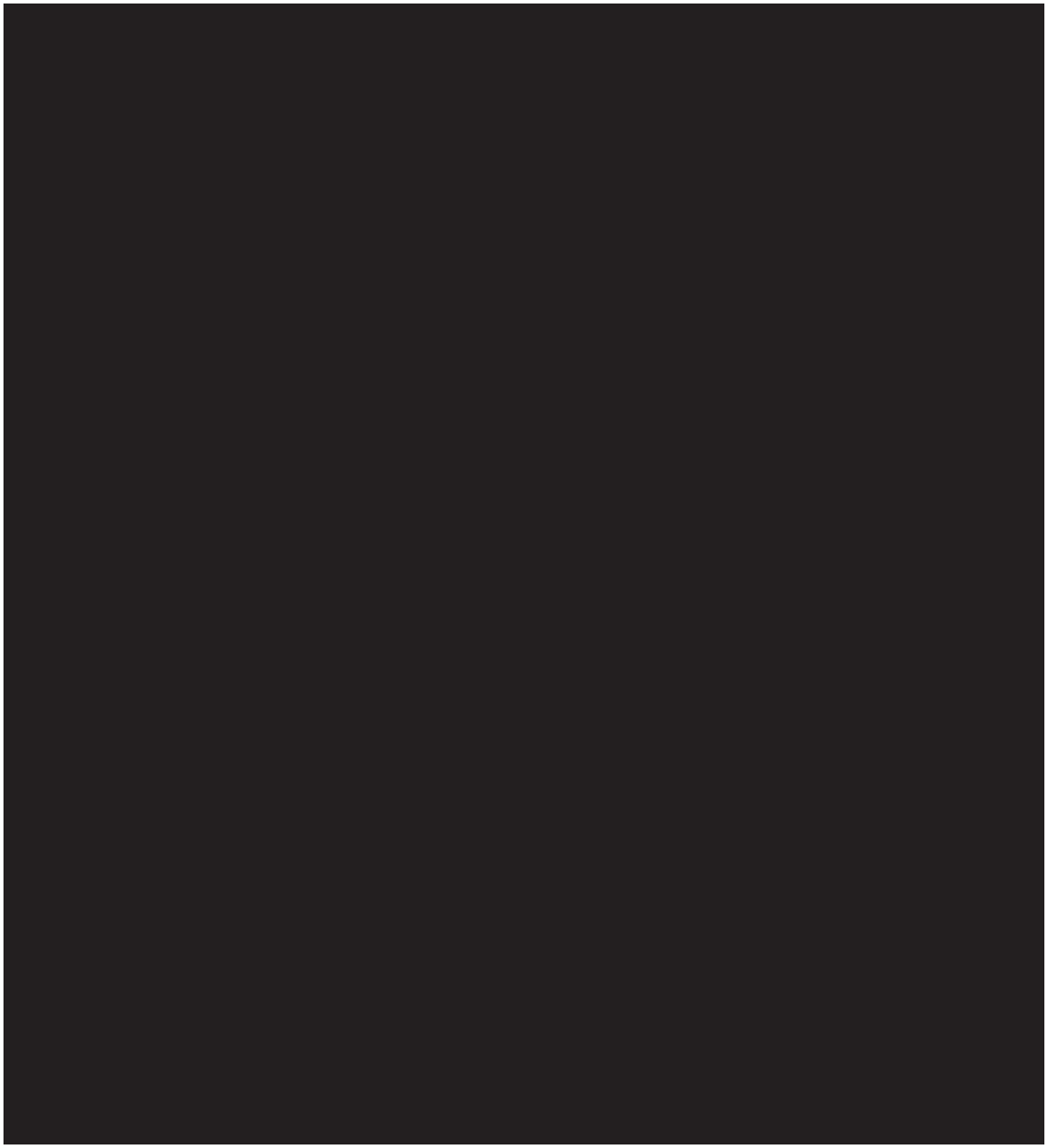






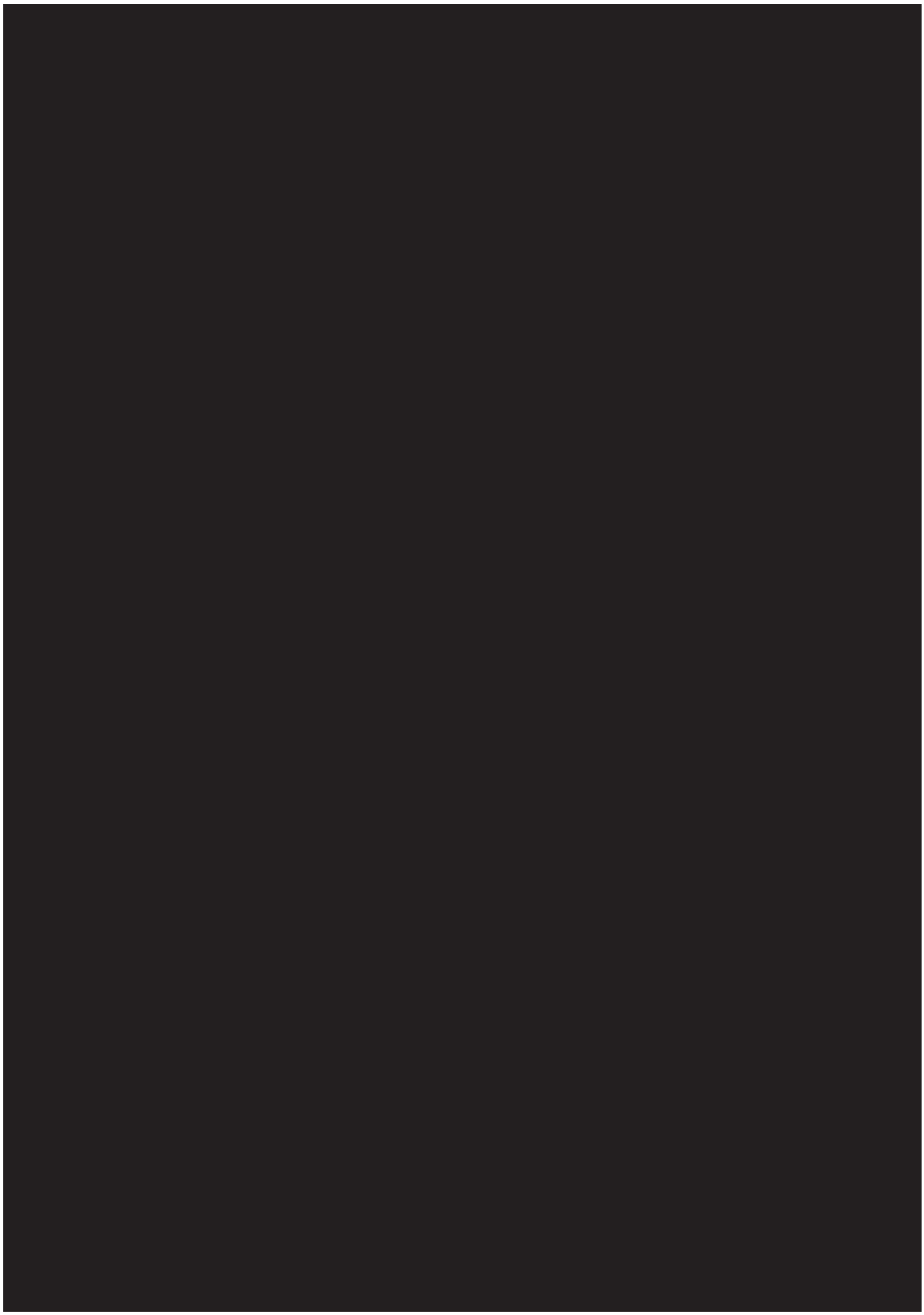


















[redacted]







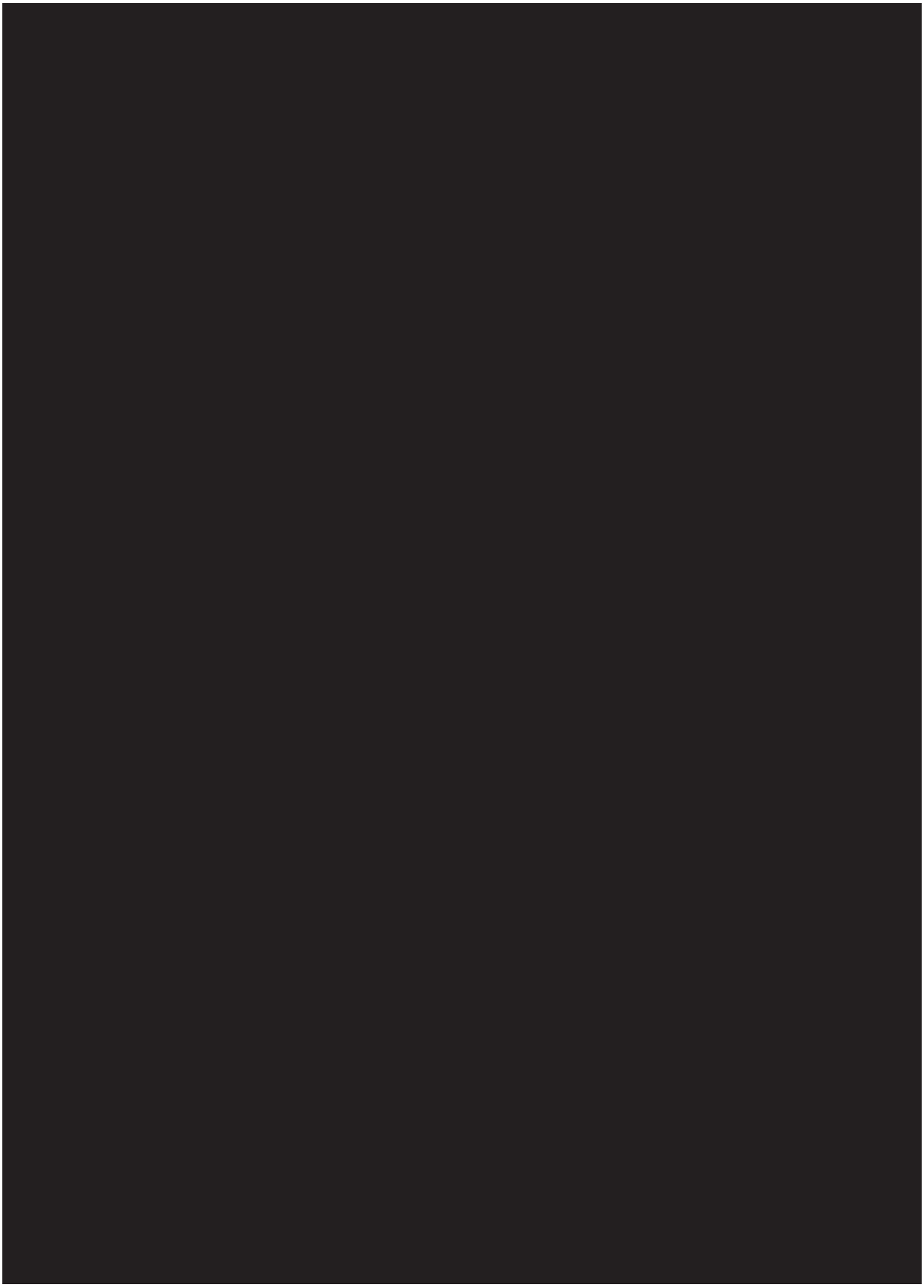












3.4 DESENVOLUPAMENT ANALÍTIC

3.4.1 Introducció

Un API és una molècula que té una activitat biològica específica en el tractament, cura i/o mitigació de malalties que afecten dia rere dia a la població humana.[116] Per assegurar la seva efectivitat, aquests compostos s'han d'administrar en les dosis adequades i assegurant-ne la seva qualitat.

Les tècniques analítiques tenen un paper molt important en el desenvolupament d'un nou fàrmac o una nova ruta sintètica, ja que permeten a entendre els mecanismes de reacció i/o formació d'impureses. També permeten controlar la puresa del API i avaluar l'estabilitat física i química del compost actiu al llarg del temps. Les guies ICH defineixen com realitzar un seguiment i control estricte de les impureses i impureses genotòxiques en el producte, aquestes últimes amb uns límits més restrictius degut a la seva elevada perillositat. [117]

De forma general, les principals característiques bàsiques (atributs) que es determinen en un API (de la classe d'APIs que MOEHS fabrica/desenvolupa) i algunes de les seves corresponents tècniques analítiques són:

- Aspecte / color (inspecció visual).
- Solubilitat.
- Identificació (espectroscòpia infraroja, cromatografia líquida o de gasos, rotació òptica, ressonància magnètica nuclear, massa exacta i/o anàlisi elemental).
- Impureses orgàniques (cromatografia líquida i/o de gasos).
- Valoració del principi actiu (en anglès: *assay*) (valoració potenciomètrica i/o cromatografia líquida o de gasos).
- Contingut d'aigua i dissolvents residuals (pèrdua de pes, valoració de tipus Karl-Fischer i/o cromatografia de gasos-espai de cap).
- Impureses elementals o impureses inorgàniques (cendres sulfúriques i/o espectroscòpia d'emissió atòmica).
- Anàlisi microbiològic.
- Granulometria o distribució de la mida de partícules (PSD).
- Forma i puresa polimòrfica (difracció de raig-X i/o DSC).

[116] Kumar, V.; Bansal, V.; Madhavan, A.; Kumar, M.; Sindhu, R.; Awasthi, M. K.; Binod, P.; Saran, S. *Bioengineered* **2022**, *13*, 4309.
[117] Siddiqui, M. R.; AlOthman, Z. A.; Rahman, N. *Arab. J. Chem.* **2017**, *10*, S1409.

D'aquests atributs, el més crític en termes de qualitat d'un producte, és la determinació d'impureses orgàniques. Les impureses orgàniques presents en un API poden tenir diversos orígens: poden formar-se durant el procés de fabricació, o bé durant l'emmagatzematge o transport del mateix. Per quantificar i avaluar aquestes impureses, s'han de desenvolupar i validar mètodes analítics que permetin dur a terme aquesta activitat sota els estàndards de qualitat. D'aquesta manera, es podrà assegurar que el principi actiu és de qualitat, i que el contingut d'impreses es troba dins dels valors acceptats per les autoritats reguladores.

L'objectiu principal en el desenvolupament d'un mètode analític és obtenir una metodologia qualificada per analitzar l'atribut o atributs d'un compost, assegurant la especificitat o selectivitat, exactitud i/o precisió dins del rang establert.[118] Una de les estratègies més comuns per al desenvolupament analític és l'ús diagrama de Ishikawa.[119]

Habitualment, la cromatografia líquida és la tècnica emprada per a determinar les impureses orgàniques. El mètode de substàncies relacionades (per quantificar les impureses orgàniques) sol ser el que requereix més hores de desenvolupament, donat que comporta conèixer en profunditat el producte i la seva ruta de síntesi. A més, s'han de tenir en compte tots els compostos que apareixen en cada estadi de les diferents etapes sintètiques, ja siguin intermedis, sub-productes o productes de degradació.

Així doncs, durant el desenvolupament sintètic, també caldrà dur a terme un desenvolupament analític avaluant les variacions de la ruta de síntesi per a la correcta identificació i quantificació tant del producte com de les seves potencials impureses. Inicialment, l'estabilitat fisico-química de la molècula indicarà si les impureses són de tipus sub-producte o tipus degradació. Les guies ICH es refereixen a aquest desenvolupament en Fase I com a "*stability indicating chromatographic method*".[120]

3.4.2 Mètode de *substàncies relacionades*

Les substàncies relacionades d'un fàrmac són les impureses orgàniques similars estructuralment al compost d'interès que es poden generar durant el procés d'obtenció o per degradació del mateix. És important identificar aquelles substàncies relacionades que estiguin per sobre dels límits permesos per tal de buscar l'estratègia per evitar-ne el creixement i/o controlar-les durant la síntesi i en posterior producció. Per tant, el

[118] https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q14_Document_Step2_Guideline_2022_0324.pdf [Accés, 29 de març 2024]
[119] Patel, K. G.; Patel, A. T.; Shah, P. A.; Gandhi, T. R. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ*. **2017**, *55*, 293.
[120] https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q14-analytical-procedure-development-step-2b_en.pdf [Accés, 1 de maig 2024]

mètode de substàncies relacionades haurà de ser capaç de detectar i quantificar correctament cada una d'elles.

Per facilitar el desenvolupament del mètode analític i identificar els analits implicats, es van realitzar les degradacions forçades del Relugolix comercial seguint les directrius de la guia ICH Q1A amb les recomanacions de l'Organització Mundial de la Salut.[121] Això va implicar estressar químicament l'API sota condicions àcides, alcalines, aquoses i oxidants, respectivament. Dels diferents casos estudiats es va detectar la formació de les següents impureses principals mitjançant un equip de cromatografia de líquids d'ultra-alta eficàcia (UHPLC) amb detector de masses (QDa, Waters Corporation, ***Figura 64***):

- Estrès químic àcid en dissolució: **RL-151.**
- Estrès químic bàsic en dissolució: **RL-148** i **RL-149.**
- Estrès químic hidrolític: **RL-148** i la *impuresa no identificada* amb un pes molecular 490 g / mol (INI-490).
- Estrès químic oxidatiu en dissolució: **RL-146.**

També es va tenir en compte **RL-9** degut a que és una impuresa de procés potencial en l'API i que apareix descrita en la bibliografia.[24]

[121] https://www.dgra.de/media/pdf/studium/masterthesis/master_janzen_h.pdf [Accés, 23 de novembre 2023].

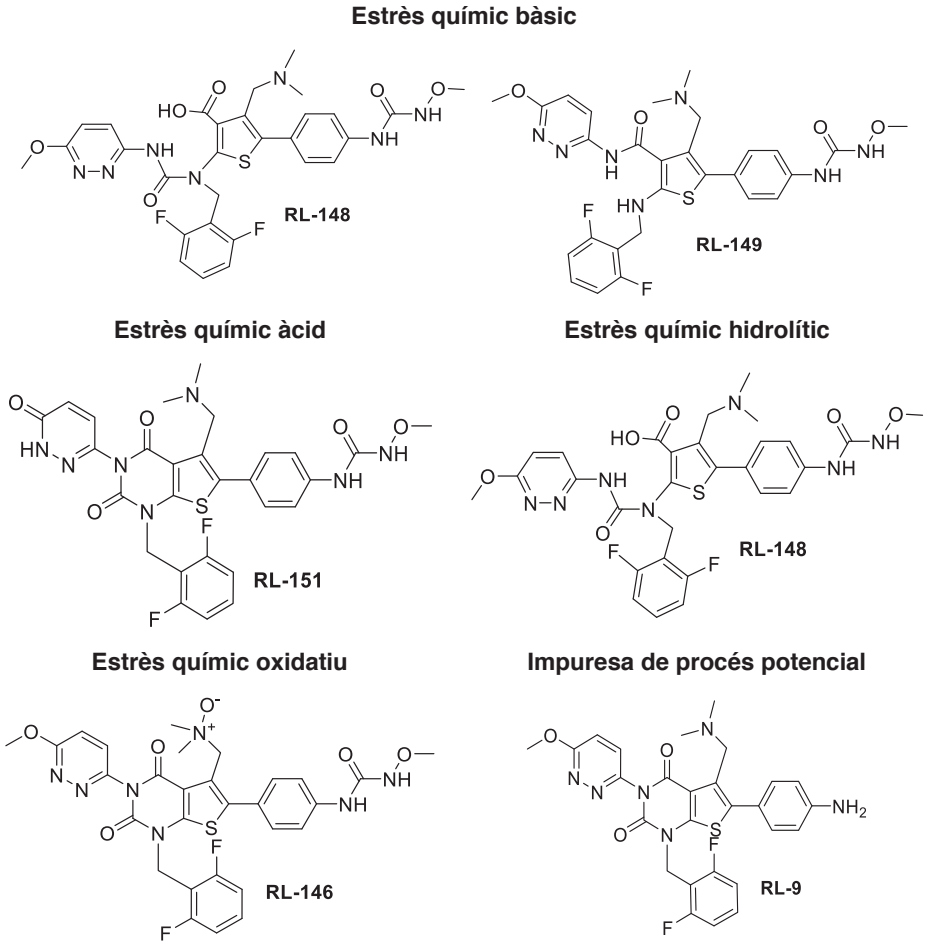


Figura 64: *Impureses a tenir en consideració durant el desenvolupament analític.*

Un cop identificats els analits d'interès, es va procedir a iniciar el desenvolupament analític del mètode. Per dur a terme l'activitat, es va disposar de l'equip de cromatografia d'ultra-alta eficàcia (UHPLC) amb un detector de díode-*array* (PDA). Aquest equip permet treballar amb dues columnes alhora i analitzar les mostres en tot el rang de l'espectre ultraviolat (UV).

Inicialment, es va analitzar les mostres degradades de Relugolix i **RL-9** amb detecció amb díode-*array*. Això va permetre enregistrar l'espectre ultraviolat-visible dels diferents compostos i definir la longitud d'ona de treball del mètode de cromatografia amb detecció UV. Tal i com es pot apreciar en la ***Figura 65***, entre les longituds d'ona de 210 i 230 nm, l'absorció és elevada, però en aquest rang de longituds d'ona absorbeixen altres compostos com dissolvents, reactius i contaminants que poden esdevenir interferents. Com a punt de partida, es va decidir treballar a 225 nm, per garantir la detecció de tots els analits. Tot i així, tant el Relugolix com les impureses potencials tenen un màxim d'absorció proper a 290 nm, de manera que en cas d'haver-hi interferències, es valorarà treballar a aquesta longitud d'ona.

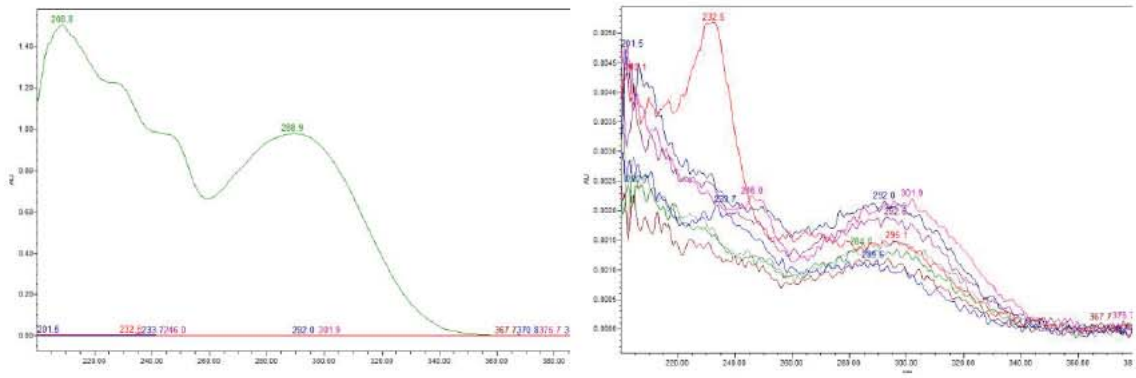


Figura 65: *Espectre de UV del Relugolix (esquerra) i de les impureses potencials de degradació i procés (dreta).*

Seguidament, en el desenvolupament analític del mètode de *substàncies relacionades*, es va realitzar un *screening* seqüencial basat en la metodologia *assaig-error*. Els paràmetres que solen influir més en la separació cromatogràfica en fase inversa, solen ser la composició i pH de la fase mòbil aquosa i el rebliment de la columna cromatogràfica.

Es van combinar cinc fases mòbils aquoses tampó de pH diferents (comprenent de pH àcid a bàsic) i dues columnes tipus C18 (Acquity UPLC ® BEH C18 i Acquity UPLC ® HSS T3 amb mida de partícula 1,7 µm, diàmetre intern 2,1 mm i longitud de columna 100 mm) que presenten una selectivitat lleugerament diferent (*Prova de Desenvolupament analític nº 1 a 10*, PoD 1 a PoD 10). D'aquesta manera es va aconseguir informació sobre l'efecte del pH en l'elució de l'API i les impureses orgàniques. Totes les proves es van fer amb els següents paràmetres fixats:

- Flux de treball de 0,3 mL / min.
- Longitud d'ona de treball de 225 nm.
- Volum d'injecció d'1 µL.
- Temperatura de la columna de 40 ºC.
- Gradient d'eluents, tal i com el que ve descrit en la ***Taula 95***.

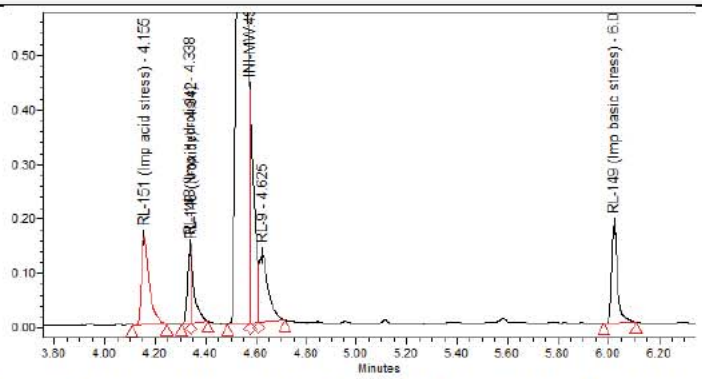
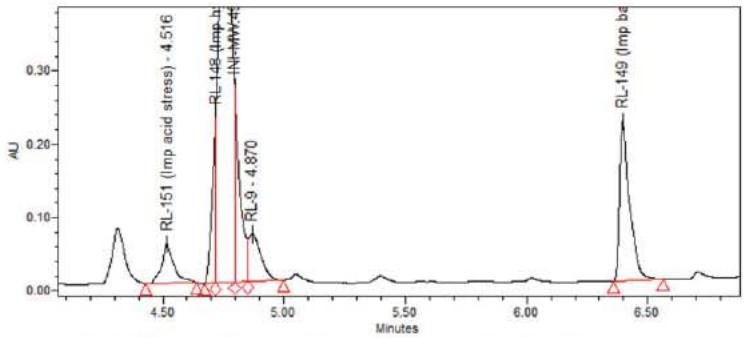
Taula 95: *Gradient emprat inicialment en el desenvolupament analític.*

t (min)	0	0,2	5	7,5	8	10
A (% Tampó de pH)	5	5	5	5	5	5
B (% ACN)	5	5	95	95	5	5
C (% H_2O)	90	90	0	0	90	90

Per cada un de les PoD, es van injectar cadascuna de les impureses i l'API per separat per la seva identificació (a la concentració de 0,5 mg / mL), així com una solució amb tots els analits per avaluar la capacitat de resolució entre ells.

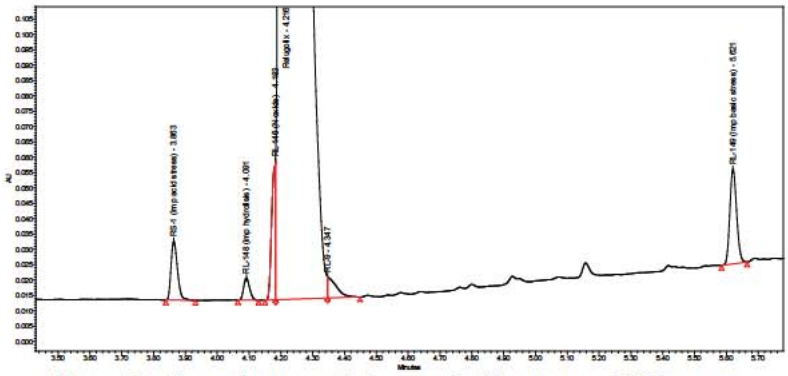
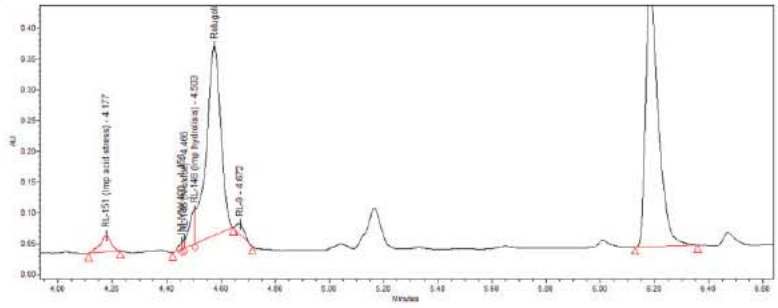
Com a punt de partida, es va utilitzar un tampó de pH amb força iònica 25 mM $AcNH_4$ i un pH = 5,0. Els resultats obtinguts amb cada columna cromatogràfica es mostren a la ***Taula 96***.

Taula 96: *Resultats obtinguts per la PoD 1 i PoD 2 amb fase mòbil tampó de pH a pH = 5,0.*

PoD	Columna cromatogràfica	Resultats i observacions
1	Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation)	 ***Figura 66:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 1. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Coelució entre **RL-148** i **RL-146**. • Coelució entre **RL**, **INI-490** i **RL-9**.
2	Acquity UPLC ® HSS T3 (Waters Corporation)	 ***Figura 67:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 2. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Coelució entre **RL-148**, **RL-146**, **RL**, **INI-490** i **RL-9**.

Com es pot veure amb el tampó de pH a pH = 5,0, els resultats obtinguts no van ser satisfactoris, així doncs es va optar per assajar un tampó de pH ajustat a un pH diferent com a fase mòbil aquosa (25 mM d'acetat d'amoni a pH = 4,0). Els resultats obtinguts es mostren a la ***Taula 97***.

Taula 97: *Resultats obtinguts per la PoD 3 i PoD 4 amb fase mòbil tampó de pH a pH = 4,0.*

PoD	Columna cromatogràfica	Resultats i observacions
3	Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation)	 ***Figura 68:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 3. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Millora de resolució entre **RL-148** i **RL-146**. • Coelució entre **RL-146** i **RL**. • Coelució entre **RL** i **RL-9**.
4	Acquity UPLC ® HSS T3 (Waters Corporation)	 ***Figura 69:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 4. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Coelució entre **RL-148**, **RL-146**, **RL**, **INI-490** i **RL-9**. Pitjors resolució a la obtinguda amb la mateixa columna a pH 5,0.

En aquest punt del desenvolupament analític, es va observar que la **INI-490** provenia de la degradació secundària de la impuresa de degradació **RL-146**. Degut a que l'API no se sotmetrà sota condicions oxidatives en condicions normals, es va deixar de tenir en compte l'elució de la **INI-490** en les següents etapes del desenvolupament analític.

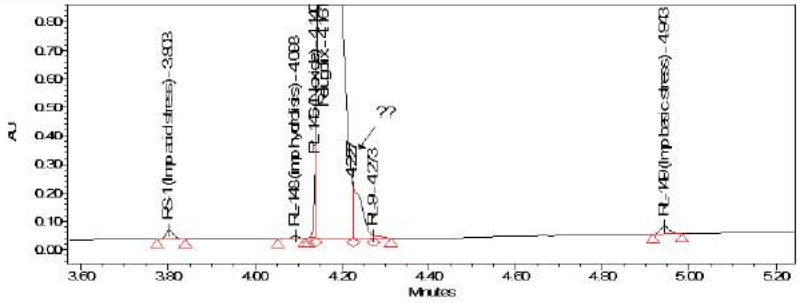
A banda dels problemes de resolució entre els pics dels analits principals, a les PoD 1 a PoD 4 es va observar també que la forma pics no era correcte. La forma dels pics cromatogràfics s'avalua amb l'anomenat factor de simetria (en anglès: *tailing factor*).

Aquest paràmetre es descriu a la farmacopea d'aplicació i contempla que si el factor de simetria és inferior a 1,0, el pic presenta front; si és igual a 1,0, el pic és simètric; i si és superior a 1,0, presenta cua. Tot i no tenir els valors de simetria reportats en els cromatogrames, es va observar que en cap de les PoD realitzades fins al moment, el factor de simetria era proper a 1,0.

Així doncs, seguint amb l'*screening* de pHs i fases mòbils aquoses, es va enfocar el desenvolupament també en la forma dels pics, ja que està relacionat directament amb la resolució que hi ha entre ells. En altres paraules, normalment, la resolució millora quan els pics són alts, simètrics i esvelts.

El següent tampó de pH que es va assajar va ser 25 mM de formiat d'amoni ($ForNH_4$) a pH = 3,0. Els resultats obtinguts en la PoD 5 i PoD 6 es mostra a la ***Taula 98***.

Taula 98: *Resultats obtinguts per la PoD 5 i PoD 6 amb fase mòbil tampó de pH a pH = 3,0.*

PoD	Columna cromatogràfica	Resultats i observacions
5	Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation)	 ***Figura 70:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 5. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. Bona simetria de pic en ambdós casos. • Bona resolució entre **RL-148** i **RL-146**. • Coelució entre **RL-146** i **RL**. • Coelució entre **RL** i **RL-9**. • Simetria dels pics dels pics coeluïts deficient.
6	Acquity UPLC ® HSS T3 (Waters Corporation)	• **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Coelució entre **RL-148**, **RL-146**, **RL** i **RL-9**. • Simetria de pic deficient.

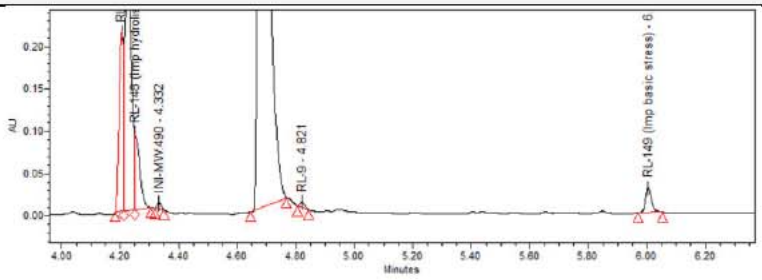
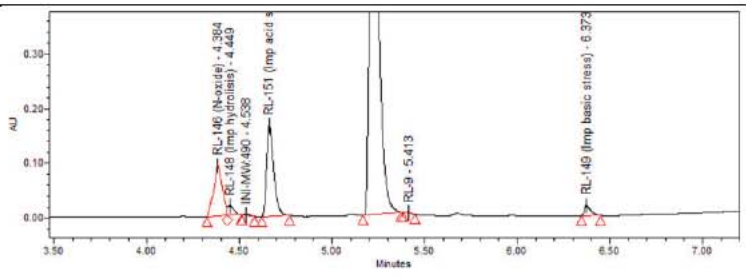
Per tal de tenir tot el rang de pH de treball estudiat, es va decidir assajar el comportament del sistema a pH = 2,0 utilitzant un solució al 0,1 % de H_3PO_4. Els resultats obtinguts es troben resumits a la ***Taula 99***.

Taula 99: *Resultats obtinguts per la PoD 7 i PoD 8 amb fase mòbil solució a pH = 2,0.*

PoD	Columna cromatogràfica	Resultats i observacions
7	Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation)	• **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. Bona simetria de pic en ambdós casos. • Coelució entre **RL-148** i **RL-146**. • Coelució entre **RL** i **RL-9**. • Simetria dels pics dels pics coeluïts deficient.
8	Acquity UPLC ® HSS T3 (Waters Corporation)	• **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Coelució entre **RL-146**, **RL** i **RL-9**. • Simetria dels pics deficient.

Amb l'objectiu de completar l'*screening* de pH amb ambdues columnes, es va estudiar la capacitat separativa amb el tampó de pH 25 mM $ForNH_4$ a pH = 8,8.

Taula 100: *Resultats obtinguts per la PoD 9 i PoD 10 amb fase mòbil tampó de pH a pH = 8,8.*

PoD	Columna cromatogràfica	Resultats i observacions
9	Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation)	 ***Figura 71:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 9. Cromatograma ampliat.* • **RL-149** elueix resolta de la resta d'analits. Bona simetria de pic. • Coelució entre **RL-148** i **RL-146**. • Resolució acceptable entre **RL** i **RL-9**. • Simetria dels pics acceptable.
10	Acquity UPLC ® HSS T3 (Waters Corporation)	 ***Figura 72:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 10. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Resolució entre **RL-148** i **RL-146** millorable. • Bona resolució entre **RL** i **RL-9** i bona simetria de pic.

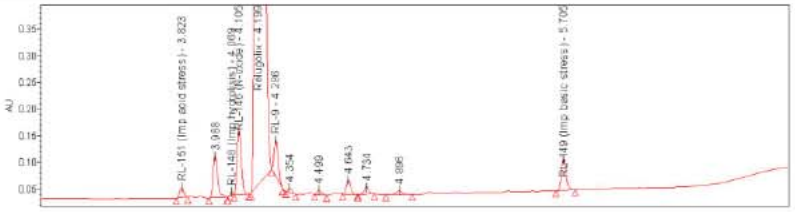
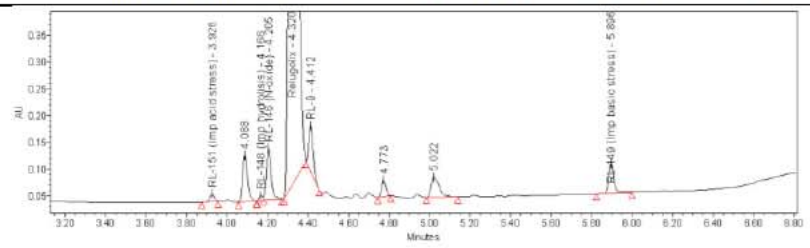
Les conclusions generals que es van extreure del *screening* de tampons de pH van ser les següents:

- En el rang de pH de 2 a 5 hi ha coelució de **RL** amb **RL-9** i diverses coelucions de **RL** amb altres impureses potencials.
- En general a pHs baixos, la forma dels pics és deficient, sent més amples i amb cua del que s'espera per la tècnica UHPLC.
- A pH bàsic hi ha bona resolució entre **RL-9** i **RL**. A més, la forma de pic corresponent a **RL** millora notablement, essent més alt i estret que a pHs àcids. Això implica millor selectivitat entre pics i millor resolució i sensibilitat del pic del producte **RL**.

Degut a que les primeres proves es van dur a terme amb mostres degradades de **RL,** per tal de tenir presents totes les impureses generades, va ser difícil controlar la seva concentració final perquè la degradació no es va aturar. Així doncs, es va repetir alguna de les proves amb noves mostres de degradació, per acabar de valorar la separació de les impureses. Seguidament es van provar alguns canvis de gradients i es va provar d'utilitzar una columna diferent (Acquity UPLC ® CSH C18; mida de partícula 1,7 µm, diàmetre intern 2,1 mm i longitud de columna 100 mm), per tal de corroborar els resultats obtinguts. Els resultats obtinguts per a la columna CSH C18 a pHs àcids van ser equivalents als HSS T3. No es van obtenir millores significatives en el mètode analític proposat.

Una estratègia per millorar la forma dels pics (és a dir que elueixin més alts i esvelts) és augmentar la força iònica del tampó de pH, per tant, es podria millorar la separació entre **RL** i **RL-9**. Tot i que ja es va observar que a pH bàsic (PoD 10, *¡Error! No se e ncuentra el origen de la referencia*.) s'obtenia millor separació entre **RL-9** i **RL**, es va provar d'augmentar la força iònica amb un tampó de pH = 4,5, tampó de pH que s'empra en el Mètode General 1-2 de l'equip UHPLC-UV-MS utilitzat en rutina pel Departament de Síntesi. Amb l'objectiu d'optimitzar els recursos del laboratori d'anàlisi al màxim, es va provar la fase mòbil 100 mM de $ForNH_4$ i pH = 4,5 amb la columna Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation) i la columna Acquity UPLC ® CSH C18 (Waters Corporation) (PoD 17 i PoD 18).

Taula 101: *Resultats obtinguts per la PoD 17 i PoD 18 amb fase mòbil tampó de pH a pH = 4,5.*

PoD	Columna cromatogràfica	Resultats i observacions
17	Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation)	 ***Figura 73:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 17. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **L-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Resolució insuficient entre **RL-148** i **RL-146**. • Resolució acceptable entre **RL** i **RL-9**. • Millorada simetria dels pics tant de l'API com de les impureses.
18	Acquity UPLC ® CSH C18 (Waters Corporation)	 ***Figura 74:*** *Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 18. Cromatograma ampliat.* • **RL-151** i **RL-149** elueixen resolts de la resta d'analits. • Resolució entre **RL-148** i **RL-146** insuficient. • Resolució millorable però acceptable entre **RL** i **RL-9**. • Millorada forma de pic tant per l'API com per les impureses. Pitjor simetria que la obtinguda amb la columna BEH C18.

Així doncs, es va decidir mantenir la columna BEH C18 com a columna de treball. Pel que fa la fase mòbil aquosa, es va establir com a requisit que fos un tampó de pH anomenat volàtil per tal que fos compatible amb detectors d'espectrometria de masses (MS). Aquests tampons de pH presenten una limitació en el rang de pH de treball; de pH 5,8 a 8,2, no hi ha cap tampó de pH compatible amb MS (***Taula 102***).

Taula 102: *Guia de selecció de columna i fase mòbil per UPLC, UHPLC HPLC de Waters.* [122]

Mobile-Phase Chemical	pK_a	Buffer Range	Formula	Volume or Mass Required for 10 mM Mobile-Phase Concentration (per 1 L)	pH Adjustment Acid/Base	MS Compatible?
Acetic Acid (glacial)	4.8	–	CH_3COOH	0.571 mL	–	✓
Ammonium Acetate pK_a 1	4.8	3.8-5.8	CH_3COONH_4	0.770 g	CH_3COOH or NH_4OH	✓
Ammonium Acetate pK_a 2	9.2	8.2-10.2	CH_3COONH_4	0.770 g	CH_3COOH or NH_4OH	✓
Ammonium Bicarbonate	9.2, 10.3	(8.2-11.3)	NH_4HCO_3	0.790 g	HCOOH or NH_4OH	✓
Ammonium Formate pK_a 1	3.8	2.8-4.8	NH_4COOH	0.640 g	HCOOH or NH_4OH	✓
Ammonium Formate pK_a 2	9.2	8.2-10.2	NH_4COOH	0.640 g	HCOOH or NH_4OH	✓
Ammonium Hydroxide	9.2	–	NH_4OH	0.675 mL	–	✓
Ammonium Phosphate, Dibasic	7.2, 9.2	(6.2-10.2)	$(NH_4)_2HPO_4$	1.32 g	H_3PO_4 or NH_4OH	×
Formic Acid	3.8	–	HCOOH	0.420 mL	–	✓
N-Methylpyrrolidine	10.3	–	$C_5H_{11}NO$	1.04 mL	–	✓
Phosphoric Acid	2.1	–	H_3PO_4	0.580 mL	–	×
Potassium Phosphate, Monobasic	2.1	(1.1-3.1)	KH_2PO_4	1.36 g	H_3PO_4 or KOH	×
Potassium Phosphate, Dibasic	7.2	(6.2-8.2)	K_2HPO_4	1.74 g	H_3PO_4 or KOH	×
Potassium Phosphate, Tribasic	12.7	(11.7-13.7)	K_3PO_4	2.12 g	H_3PO_4 or KOH	×
Pyrrolidine	11.3	–	C_4H_9N	0.833 mL	–	✓
Sodium Borate	9.1, 12.7, 13.8	(8.2-14)	$Na_2B_4O_7$	2.01 g	H_3BO_4 or NaOH	×
Sodium Citrate, Tribasic	3.1, 4.8, 6.4	(2.1-7.4)	$HOC(COONa)(CH_2COONa)_2$	2.58 g	Citric Acid or NaOH	×
Triethylamine (TEA)	11.01	–	$(CH_3CH_2)_3N$	1.39 mL	–	✓
Triethylammonium Acetate (TEAA) pK_a 1	4.76	3.8-5.8	$(CH_3CH_2)_3N:CH_3COONH_4$ (1:2)	0.695 mL TEA/0.571 mL Acetic Acid	TEA or CH_3COOH	✓
Triethylammonium Acetate (TEAA) pK_a 2	11.01	10.0-12.0	$(CH_3CH_2)_3N:CH_3COONH_4$ (2:1)	1.39 mL TEA/0.285 mL Acetic Acid	TEA or HCOOH	✓
Triethylammonium Formate (TEAF) pK_a 1	3.75	2.8-4.8	$(CH_3CH_2)_3N:NH_4COOH$ (1:2)	0.695 mL TEA/0.420 mL Formic Acid	TEA or HCOOH	✓
Triethylammonium Formate (TEAF) pK_a 2	11.01	10.0-12.0	$(CH_3CH_2)_3N:NH_4COOH$ (2:1)	1.39 mL TEA/0.210 mL Formic Acid	TEA or HCOOH	✓
Trifluoroacetic Acid (TFA)	0.3	–	CF_3COOH	0.743 mL	–	✓

Es va decidir estudiar el de pH entre 4 i 5,8 amb un tampó 25 mM $AcNH_4$. Els resultats a pH = 5,8 van presentar una resolució acceptable de les impureses, però calia millorar la separació entre **RL** i **RL-9**. S'ha demostrat experimentalment, que si la proporció de tampó de pH a la fase mòbil aquosa és constant durant tot el gradient de fases mòbils, les resolucions crítiques milloren notablement degut a que la fase mòbil aquosa (aigua amb tampó de pH constant) i la orgànica no són tant diferents en termes de força iònica.

Així doncs, amb el tampó de pH 25 mM $AcNH_4$ a pH = 5,8, la PoD 22 va consistir mantenir la proporció de tampó de pH constant durant tot el gradient (5%). També es fa fer una prova (PoD 23) amb un percentatge de tampó de pH a la fase mòbil aquosa més alt (10%), amb l'objectiu d'avaluar si amb la nova estratègia, la resolució crítica entre **RL** i **RL-9** millorava. Els resultats obtinguts es mostren a la ***Taula 103***.

[122] https://www.waters.com/content/dam/waters/en/library/wall-charts/2021/waters-wallchart-WatersUPLCUHPLCandHPLCColumnSelectionandMobilePhaseGuide-720001983.PDF [Accés, 29 de març 2024].

Taula 103: *Resultats obtinguts per la PoD 22 i PoD 23 amb proves de gradient de fase mòbil.*

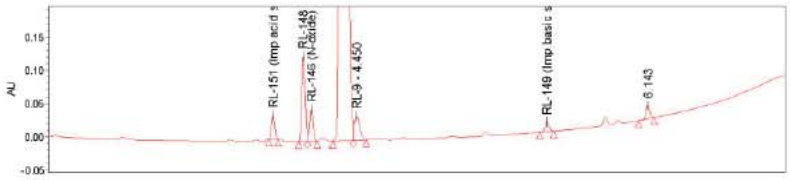
<table>
<tr><th>PoD</th><th>Gradient de fase m</th><th>Gradients de fase mòbil, resultats i observacions</th></tr>
<tr><td>22</td><td rowspan="2">Acquity UPLC ® BEH C18 (Waters Corporation)</td><td>Gradient de fase mòbil PoD 22:
<table>
<tr><th>t (min)</th><th>0</th><th>0,2</th><th>5</th><th>7,5</th><th>8</th><th>10</th></tr>
<tr><td>A (% Tampó de pH)</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td><td>5</td></tr>
<tr><td>B (% ACN)</td><td>5</td><td>5</td><td>95</td><td>95</td><td>5</td><td>5</td></tr>
<tr><td>C (% H_2O)</td><td>90</td><td>90</td><td>0</td><td>0</td><td>90</td><td>90</td></tr>
</table>
Resultats obtinguts:


Figura 75: Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 22. Cromatograma ampliat.

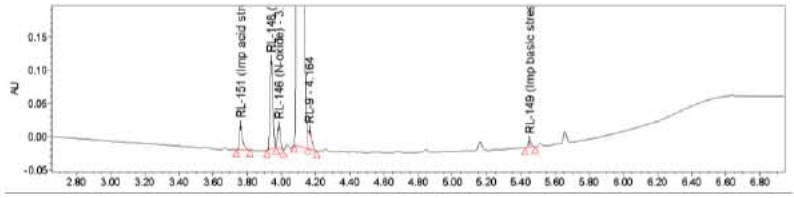
• RL-151 i L-149 elueixen resolts de la resta d'analits.
• Resolució acceptable entre RL-148 i RL-146.
• Resolució acceptable entre RL i RL-9.
• Millorada simetria dels pics tant de l'API com de les impureses.</td></tr>
<tr><td>23</td><td>Gradient de fase mòbil PoD 23:
<table>
<tr><th>t (min)</th><th>0</th><th>0,2</th><th>5</th><th>7,5</th><th>8</th><th>10</th></tr>
<tr><td>A (% Tampó de pH)</td><td>10</td><td>10</td><td>10</td><td>10</td><td>10</td><td>10</td></tr>
<tr><td>B (% ACN)</td><td>10</td><td>10</td><td>30</td><td>90</td><td>90</td><td>10</td></tr>
<tr><td>C (% H_2O)</td><td>80</td><td>80</td><td>60</td><td>0</td><td>0</td><td>80</td></tr>
</table>
Resultats obtinguts:


Figura 76: Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 23. Cromatograma ampliat.

• RL-151 i RL-149 elueixen resolts de la resta d'analits.
• Resolució entre RL-148 i RL-146 acceptable.
• Resolució insuficient entre RL i RL-9.
• Millorada forma de pic tant per l'API com per les impureses.</td></tr>
</table>

Una altra estratègia per separar **RL-9** de **RL**, i no canviar bruscament la selectivitat en la separació de les altres impureses, és introduir un percentatge baix de metanol com a eluent donat que té una força eluotròpica inferior a la de l'acetonitril. Es va utilitzar un gradient al 10 % de MeOH constant i aquest es va restar del percentatge total d'acetonitril que varia amb el temps (**Taula 104**). Es va observar com **RL-9** i les impureses d'hidròlisi eluïen sota el pic de **RL** (PoD 26). No va ser una estratègia viable.

Taula 104: Gradient del PoD 26.

t (min)	0	0,2	5	7,5	8	10
A (% Tampó de pH)	10	10	10	10	10	10
B (% ACN)	10	10	80	80	10	10
C (% H_2O)	70	70	0	0	70	70
D (% MeOH)	10	10	10	10	10	10

Es van provar també altres columnes C18 que poden tenir una lleugera selectivitat diferent, com la Acquity UPLC ® BEH Shield RP18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) i la Atlantis ® Premier BEH C18 AX (1,7 µm, 2,1 x 100 mm), però no van presentar cap millora en la separació entre **RL** i **RL-9**.

Una altra possibilitat és canviar la sal amb la que es prepara el tampó de pH. Fins aquell moment, s'havia desenvolupat el mètode analític utilitzant formiat i acetat d'amoni, així doncs es va provar d'assajar una fase mòbil amb bicarbonat d'amoni. En ser una sal inorgànica, presenta una força iònica diferent i això pot comportar una millora en la forma dels pics dels compostos. A més, una avantatge de les sals inorgàniques és que la seva longitud d'ona d'absorció (*cutoff*) és relativament baixa (propera a 200 nm). Això implica que no interfereix amb el senyal i no cal treballar amb un gradient de tres canals (ternari) per evitar les ondulacions de la línia base.[123] Treballant a una longitud d'ona propera o per sota del *cutoff* augmenta considerablement el soroll de la línia base donada l'absorbància del dissolvent o composició del tampó de pH i això pot incidir en la sensibilitat del mètode.

Com que s'havia comprovat experimentalment que a pH bàsic **RL-9** es resolia correctament respecte **RL**, es va explorar la selectivitat en un rang de pH = 6 - 7, tot i sabent que es treballava fora de la seva zona tamponada de la sal bicarbonat sòdic (pH = 8,2 – 11,3). Les dissolucions tamponades de pH mostren la seva major eficàcia a pH

[123] Buffers and Eluent Additives for HPLC Method Development (crawfordscientific.com) [Accés, 29 de març 2024].

± 1 del pKa del tampó.[123] Com més proper es troba el pH d'una solució al pKa del la sal, menor és la concentració necessària de sal per assegurar una efectiva resistència als canvis de pH del medi. D'aquesta forma, en cromatografia líquida amb detector de masses, les concentracions de sals aconsellades haurien de ser menors a 10 mM mentre que treballant amb detector UV les concentracions haurien de ser menors a 25 mM.

Es va provar un tampó de pH amb bicarbonat d'amoni ajustat a pH = 6,0 (PoD 31) i pH = 7,0 (PoD 32) amb àcid fòrmic diluït. Es va decidir dur a terme aquestes dues PoD amb la columna HSS T3 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) degut a que és una columna que sol mantenir la bona forma de pic a aquests rangs de treball. Es va seguir el gradient de fases mòbils següent:

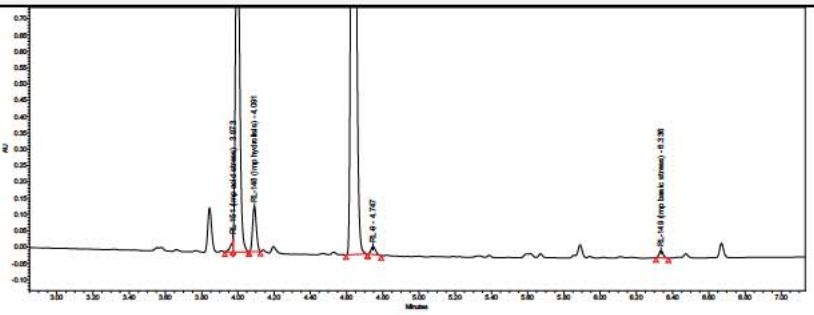
Taula 105: Gradient de les PoD 31 i PoD 32.

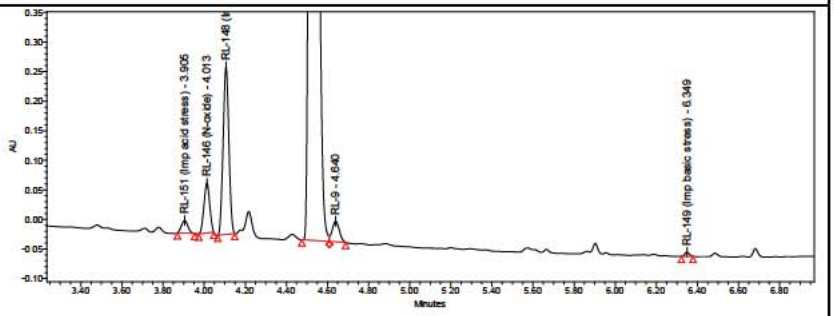
t (min)	0	0,2	5	7.5	8	10
A (% Tampó de pH)	80	80	10	10	80	80
B (% ACN)	20	20	90	90	20	20

Els resultats obtinguts per a ambdues columnes es troben a la ***Taula 106***.

Veient les millores en quant a la resolució entre els analits d'interès, es va decidir mantenir aquesta composició de fase mòbil i columna cromatogràfica i es van proposar millores ajustant el gradient de fase mòbil, abans de descartar el tampó a pH = 6,0. Tot i així, es va veure que no millorava la resolució entre els parell d'analits: **RL-151** i **RL-146**, i **RL** i **RL-9**.

Taula 106: *Resultats obtinguts amb fases mòbils a pH = 6,0 i pH = 7,0.*

<table>
<tr><th>PoD</th><th>Gradient de fase m</th><th>Resultats i observacions</th></tr>
<tr><td>31</td><td rowspan="2">Acquity UPLC ® HSS T3 (Waters Corporation)</td><td>
Figura 77: Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 31. Cromatograma ampliat.

• RL-151 i RL-146 presenten coelució.
• Molt bona resolució entre RL i RL-9.
• RL-149 elueix resolt i presenta bona simetria de pic.
• Millorada simetria dels pics tant de l'API com de les impureses.</td></tr>
<tr><td>32</td><td>
Figura 78: Cromatograma de la mescla d'impureses i API segons condicions PoD 32. Cromatograma ampliat.

• RL-149 elueix resolt de la resta d'analits.
• Resolució entre RL-151, RL-146 i RL-148 acceptable.
• Bona resolució entre RL i RL-9.
• Bona forma de pic tant per l'API com per les impureses.</td></tr>
</table>

En aquest punt del desenvolupament, amb l'ajut de la tècnica responsable del desenvolupament analític, es va decidir treballar en reduir el temps d'anàlisi de 10 a 8 minuts per injecció per reduir l'ocupabilitat dels equips per cada un dels projectes. Es va comprovar que aquesta reducció no afectava negativament a les resolucions crítiques.

Per altra banda, calia optimitzar la resolució entre **RL** i **RL-9**, per poder quantificar adequadament l'analit **RL-9** per sobre del 0,05 % (límit d'identificació establert a la guia ICH Q3A). Per tal d'assolir aquest objectiu, es va assajar una columna equivalent en

termes de rebliment, però amb més llargària (HSS T3 de 150 mm). La llargada de la columna està directament relacionada amb la retenció dels analits. Es va observar una millora en la resolució crítica estudiada.

Treballant amb la nova columna, es van assajar diverses fases mòbils amb diferent força iònica i es va comprovar que amb un tampó de pH de 10 mM de bicarbonat d'amoni ajustat a pH = 6,9, la resolució es mantenia (tot i la reducció de força iònica respecte a la assajada anteriorment).

Un cop definides la fase mòbil i columna cromatogràfica, es va comprovar que treballant a una longitud d'ona de 290 nm (màxim comú a l'API i impureses), la sensibilitat del mètode era adequada per als nivells de detecció desitjats, de manera que es va decidir definir la longitud d'ona de treball a 290 nm, ja que aquesta és específica i no presenta interferències amb altres compostos

Per últim, es va procedir a definir la preparativa de mostra. Donada la baixa solubilitat de **RL** i de tots els intermedis en ACN, es va decidir fer preparatives de mostra més diluïdes (concentració 0,25 mg / mL), evitant la formació impuresa **RL-148** i **RL-149**. Per tal de mantenir la resposta d'absorció en UV-Vis, es va augmentar el volum d'injecció a 2 µL.

A més, també es va detectar que hi havia *carry over* de **RL** en la columna. Per tal d'evitar aquest fenomen, es va incrementar el percentatge d'acetonitril al 95 % durant més minuts en el gradient.

Finalment, les condicions cromatogràfiques del mètode definitiu són les mostrades a la ***Taula 107*** presentant un cromatograma com el de la ***Figura 79.*** Es va aconseguir una simetria del pic de **RL** del 1,5, entrant dintre dels criteris d'acceptació del factor de simetria a MOEHS.

Taula 107: *Condicions cromatogràfiques del mètode de substàncies relacionades de Relugolix.*

Columna	HSS T3 (1,8 µm, 2,1 x 150 mm)							
Flux de treball	0,3 mL / min							
Volum d'injecció	2 µL							
Temperatura de columna	45 ºC							
Longitud d'ona	290 nm							
Fase mòbil	**Fase Mòbil A:** 10 mM bicarbonat d'amoni + 0,008 % àcid fòrmic pH = 6,9 **Fase Mòbil B :** Acetonitril							
Gradient		**t (min)**	**0**	**0,2**	**4**	**7,5**	**8**	**10**
		A (% Tampó de pH)	80	80	5	5	80	80
		B (% ACN)	20	20	95	95	20	20
Concentració mostra	0,25 mg / mL en ACN							

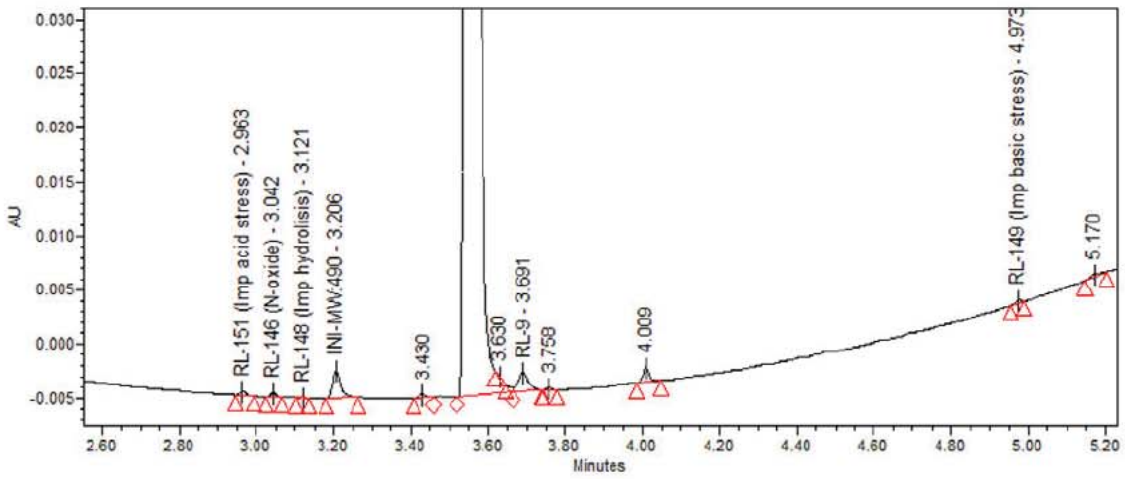


Figura 79: *Cromatograma de les condicions finals per l'anàlisi de les substàncies relacionades de Relugolix.*

Les impureses més rellevants del procés RoS B es van sintetitzar per tenir els corresponents patrons. En la ***Figura 80*** es mostren les impureses sintetitzades amb la seva puresa.

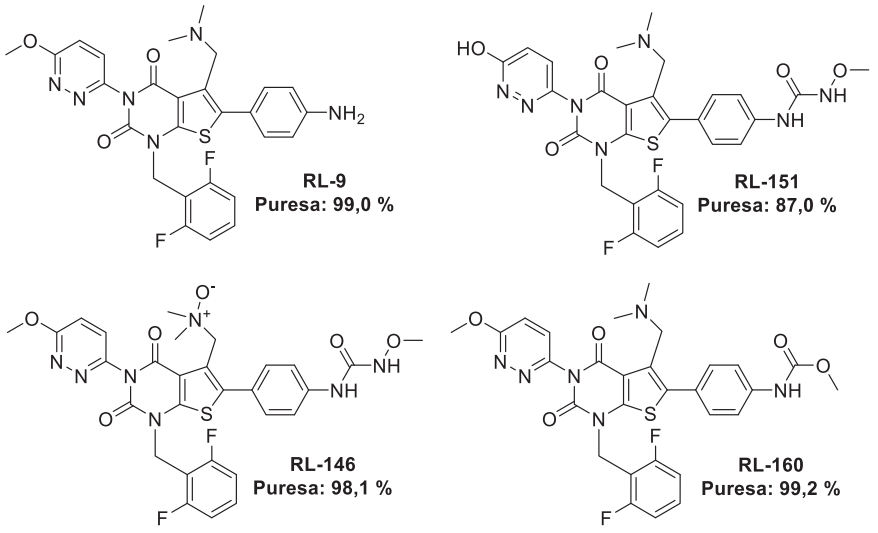


Figura 80: *Impureses sintetitzades.*

Durant el desenvolupament analític, a través de la degradació de l'API prèviament dissolt en un medi alcalí, també es van obtenir les impureses **RL-148** i **RL-149** (***Figura 64***). Malauradament, no es van aconseguir aïllar amb pureses acceptables.

3.4.3 Caracterització de l'API genèric

La correcta i completa caracterització de l'API obtingut és primordial per poder demostrar que la molècula obtinguda en el procés de RoS B és Relugolix. Per aquest motiu, amb el producte final obtingut en la RoS B es va dur a terme una elucidació estructural completa emprant com a mínim dues tècniques analítiques diferents amb formes de detecció de les propietats físico-químiques diferents.

3.4.3.1 Espectrometria de masses i anàlisi elemental

Utilitzant l'espectrometria de masses amb ionització d'electroesprai (ESI-MS) es va obtenir com a senyal principal un pic de: *m/z* = 624,1854 (***Figura 82***). Aquesta massa està correlacionada amb la fórmula empírica de $[C_{29}H_{28}F_2N_7O_5S]^+$ obtinguda en l'anàlisi elemental (***Figura 81***), que correspon a la fórmula molecular de Relugolix amb un error de 2,1 ppm (***Taula 108***).

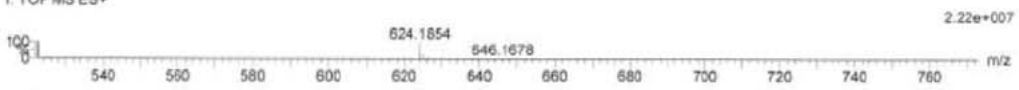
Taula 108: *Taula resum dels resultats d'espectroscòpia de masses i anàlisi elemental.*

Entrada	Massa teòrica (*m/z*)	Massa observada (*m/z*)	Formula molecular	Tipus d'ió	Error (ppm)
1	624,1841	624,1854	$[C_{29}H_{28}F_2N_7O_5S]^+$	$[MH]^+$	2,1

Elemental Composition Report **Page 1**

Single Mass Analysis
Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Element prediction: Off

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
88 formula(e) evaluated with 5 results within limits (up to 50 closest results for each mass)
Elements Used:
C: 28-32 H: 27-30 N: 4-8 O: 4-8 F: 0-3 S: 0-2
221005_ Relugolix batch 07ZF007 165 (1.546) Cm (100:183)
1: TOF MS ES+



Minimum:			-1.5		
Maximum:		5.0	10.0	50.0	
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula
624.1854	624.1841	1.3	2.1	18.5	C29 H28 N7 O5 F2 S
	624.1877	-2.3	-3.7	17.5	C28 H30 N7 O8 S
	624.1829	2.5	4.0	22.5	C32 H27 N7 O4 F S
	624.1892	-3.8	-6.1	18.5	C31 H29 N5 O4 F3 S
	624.1906	-5.2	-8.3	18.5	C30 H28 N5 O8 F2

Figura 81: *Anàlisi elemental de Relugolix.*

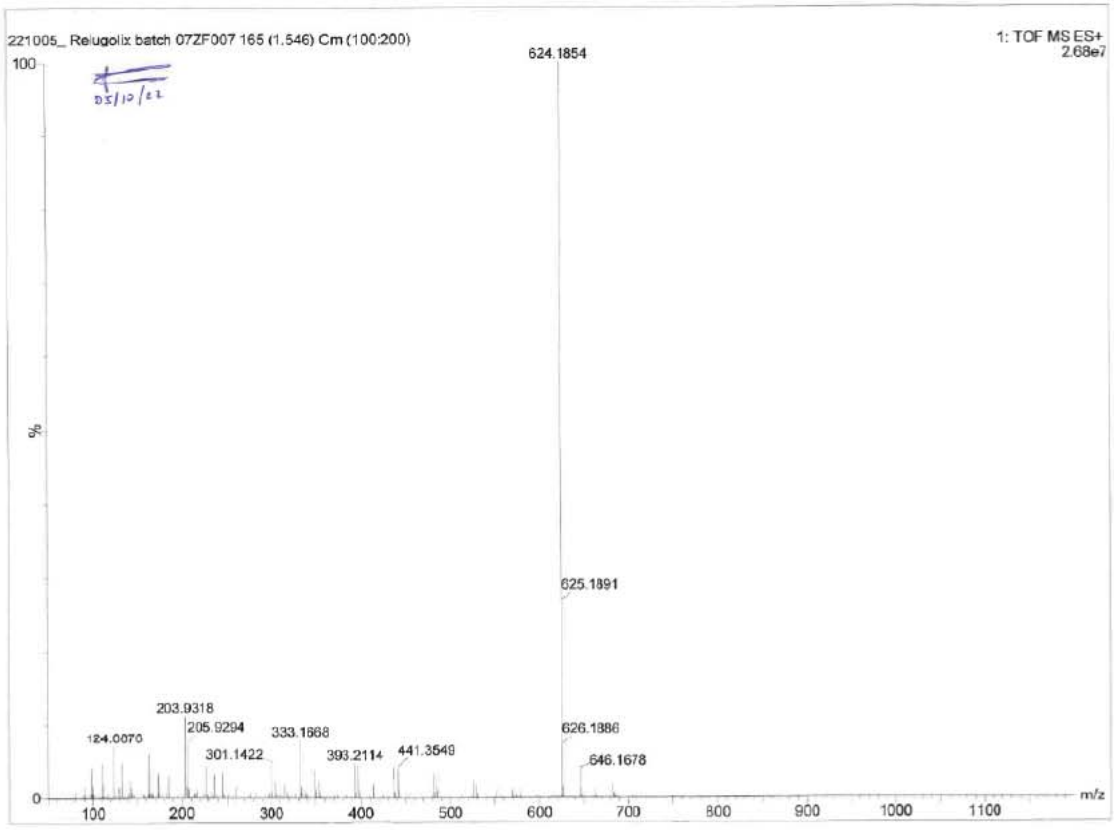


Figura 82: *Espectre de masses d'alta resolució pel Relugolix.*

3.4.3.2 Ressonància magnètica nuclear

L'elucidació estructural del Relugolix obtingut en la RoS B es va realitzar mitjançant la ressonància magnètica nuclear (**Figura 84** i **Figura 85**). L'assignació de la numeració del àtoms és arbitraria i s'especifica en la ***Figura 83***, obtenint l'assignació que es mostra a la ***Taula 109***. D'aquesta forma, es confirma l'estructura de Relugolix.

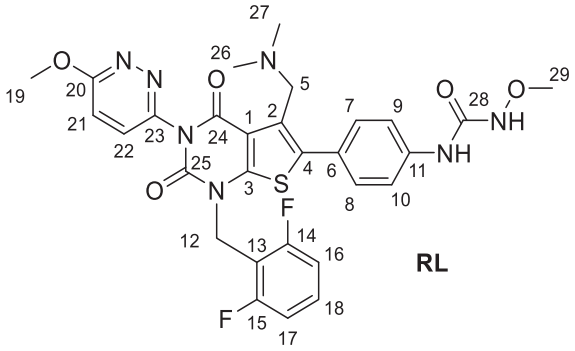


Figura 83: *Assignació arbitrària del àtoms de carboni del Relugolix en la elucidació per RMN.*

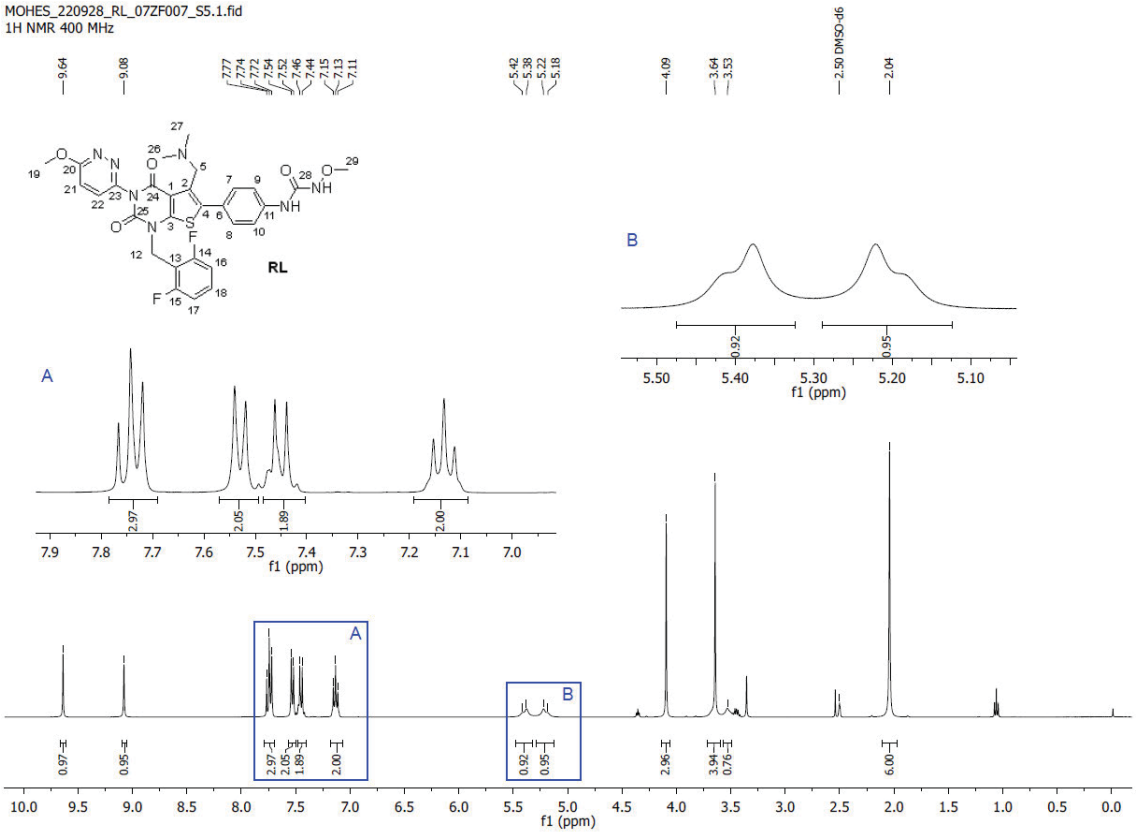


Figura 84: *Espectre de ^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de Relugolix.*

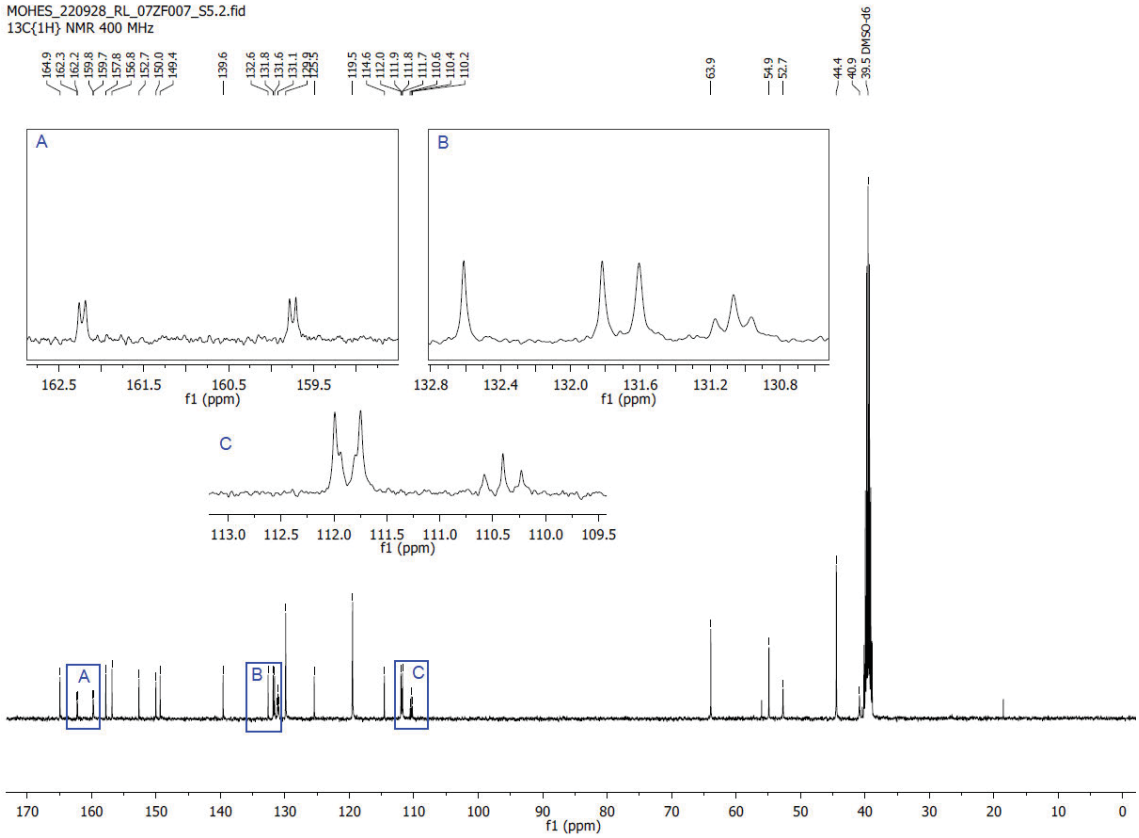


Figura 85: *Espectre de ^{13}C-RMN (100 MHz, DMSO-d_6) de Relugolix.*

Taula 109: *Assignació dels protons i carbonis de Relugolix.*

Àtom	^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6)		^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6)
	δ (ppm)	Número de H i multiplicitat	δ (ppm)[124]
1	-	-	114,6
2	-	-	131,8
3	-	-	149,4
4	-	-	132,6
5	3,53 i 3,64	H_a: 1 H (m) H_b:1 H (m)	52,7
6	-	-	125,5
7	7,53	2 H (d, $^3J_{7/8\text{-}9/10}$ = 9 Hz)	129,9
8			
9	7,73	2 H (d, $^3J_{9/10\text{-}7/8}$ = 9 Hz)	119,5
10			
11	-	-	139,6
12	5,20 i 5,40	H_{12a}: 1 H (d, $^2J_{12a\text{-}12b}$ = 16 Hz) H_{12b}: 1 H (d, $^2J_{12b\text{-}12a}$ = 16 Hz)	40,9
13	-	-	110,4 (t, $^2J_{13\text{-}F}$ = 18 Hz)
14	-	-	161,0 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 249 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 7 Hz)
15	-	-	
16	7,13	2 H (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ =$^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz)	111,9 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 5 Hz)
17			
18	7,46	1 H (m)	131,1 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 10 Hz)
19	4,09	3 H (s)	54,9
20			164,9
21	7,45	1 H (d, $^3J_{21\text{-}22}$ = 9 Hz)	119,6
22	7,75	1 H (d, $^3J_{22\text{-}21}$ = 9 Hz)	131,6
23	-	-	150,0
24	-	-	157,8
25	-	-	152,7
26	2,04	6 H (s)	44,4
27			
28	-	-	156,9
29	3,64	3 H (s)	63,9
NH	9,08	1 H (s)	-
NH	9,64	1 H (s)	-
Total:		**27 H**	**29 C**

d: doblet, **dd:** doblet de doblets, **m:** multiplet, **q:** quadruplet, **s:** singlet, **t:** triplet

Totes les dades espectroscòpiques concorden amb les descrites a la bibliografía.[124]

[124] Pulletikurthi, K. V. K. M.; Annapurna, N.; Doddipalla, R.; Vijay, R.; Rumalla, C. S.; Kaliyaperumal, M.; Rendedula, D.; Kavitapu, D. R. *Spectrosc. Lett.* **2022**, *55*, 128.

3.4.3.3 Espectroscòpia infraroja

L'espectroscòpia infraroja (IR) és una tècnica d'anàlisi complementària. Es pot comparar les bandes característiques en estat sòlid del Relugolix comercial amb les de l'obtingut segons la RoS B (***Figura 86***). Comparant els espectres d'IR obtinguts, es conclou com la molècula obtinguda en la RoS B és Relugolix.

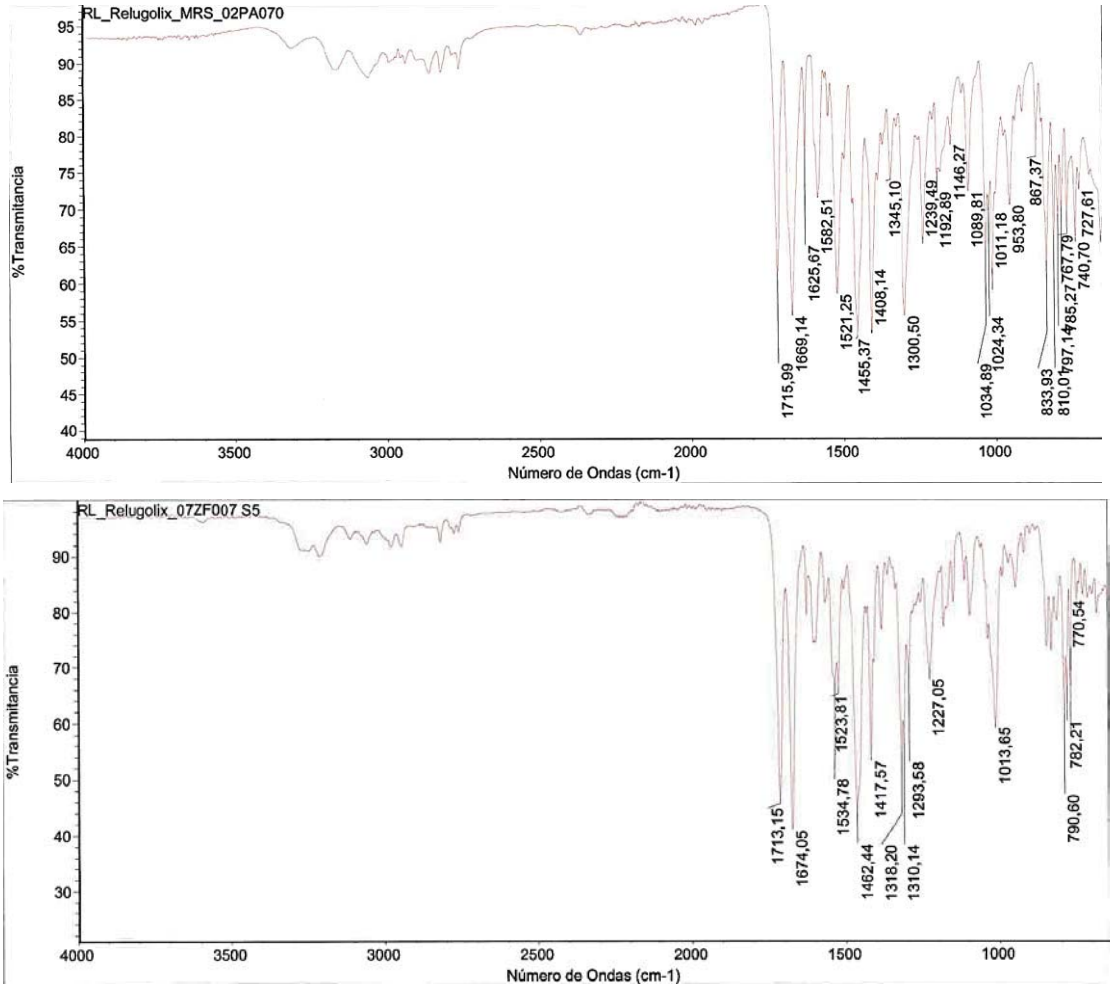


Figura 86: *Comparativa del espectre de IR de Relugolix comercial (02PA070, superior) amb Relugolix obtingut via RoS B (inferior).*

3.4.4 Especificacions de l'API genèric

Les especificacions d'un principi actiu són els criteris mínims d'acceptació de qualitat del producte. Aquests criteris s'apliquen de forma interna però també s'han de declarar a les autoritats. S'han de complir els requisits mínims fixats per la Organització Mundial de la Salut seguint les pautes establertes en les Guies ICH i farmacopees. Aquests són documents on es llisten diversos assajos analítics per l'API amb uns requisits mínims a complir, tot i que es poden variar, sempre i quan es justifiqui adequadament el motiu.

Pel cas del Relugolix obtingut via RoS B, les especificacions son les que es mostren en la ***Taula 110.***

Taula 110: *Especificacions pels lots de Relugolix.*

Entrada	Test	Especificació	Criteri
1	**Color:**	Blanc a groguenc	Intern[110] (Guies Farmacopea)
2	**Contingut d'aigua (Karl-Fischer):**	Màx. 0,5 %	Intern (Ph. Eur 2.5.12 / USP <921>)
3	**Substàncies relacionades (UHPLC):** · **RL-25** · **RL-9** · **RL-160** · Impuresa desconeguda majoritària · Impureses totals	 Màx. 0,15 % Màx. 0,15 % Màx. 0,15 % Màx. 0,10 % Màx. 1,0 %	ICH Q3A
5	***Assay* (UHPLC):**	98,0 – 102,0 %	Intern (Guies Farmacopea)
6	**Cendres sulfatades:**	Màx. 0,10 %	Intern (Ph.Eur 2.4.14 / USP <281>)
7	**Metalls (ICP-OES):** · Platí · Vanadi	 Màx. 10 ppm Màx. 10 ppm	ICH Q3D
8	**Dissolvents residuals (GC-HS):** · Etanol · DMSO · DCM · AcOH	 Màx. 5.000 ppm Màx. 5.000 ppm Màx. 600 ppm Màx. 5.000 ppm	ICH Q3C
9	**Polimorfisme:**	Forma anhidra	Intern (Comparativa amb el patró)
10	**Solubilitat**	Descriptiu	Intern (Eur.Ph. Capítol 5.11)
11	**Espectre IR**	Comparativa amb el patró	Intern (Ph.Eur. 2.2.24 / USP <197>)

Com a impureses inorgàniques s'entenen tant les impureses elementals (metalls pesats) com les impureses derivades de sals. Les primeres es determinaran per espectroscòpia d'emissió atòmica amb plasma d'acoblament inductiu (ICP-OES) i les segones mitjançant l'anàlisi de cendres sulfúriques. El contingut màxim de metalls pesats es determina seguint la guia ICH Q3D.[38]

D'altra banda, les impureses orgàniques seran: reactius de partida i intermedis (en la RoS B seria **RL-25**), sub-productes (en la RoS B seria **RL-9** i **RL-160**) i productes de degradació (no se'n declaren, però es consideraran com a impureses desconegudes). Aquestes es quantificaran per UHPLC i per cromatografia de gasos d'espai de cap (GC-HS). Per a les impureses conegudes s'acceptarà fins a un contingut de 0,15 % mentre que per les desconegudes només s'acceptarà un 0,10 %, segons la guia ICH Q3A.[38] Les impureses mutagèniques i el contingut de nitrosamines en el producte acabat estan en estudi i no es poden donar dades a dia d'avui.

Pel que fa als dissolvents residuals es determinarà el contingut màxim permès segons ICH Q3C.[38]

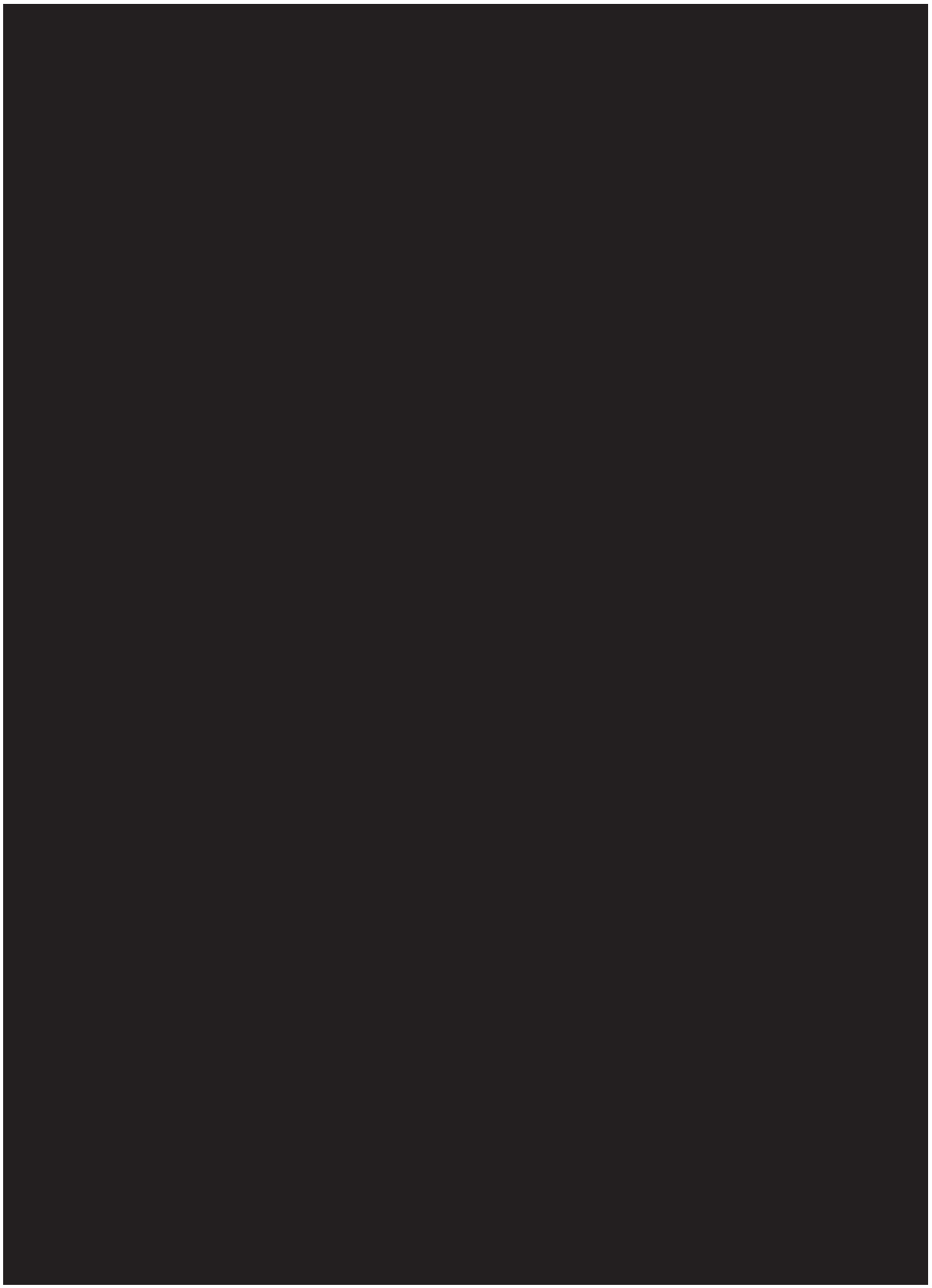
L'estudi de solubilitat va concloure que Relugolix és insoluble en H_2O (no és soluble en 1 mg / 10 mL), molt poc soluble en EtOH (1 mg / 10 mL), lleugerament soluble en acetona (10 mg / 10 mL) i fàcilment soluble en DMSO (100 mg / 1 mL).[125]

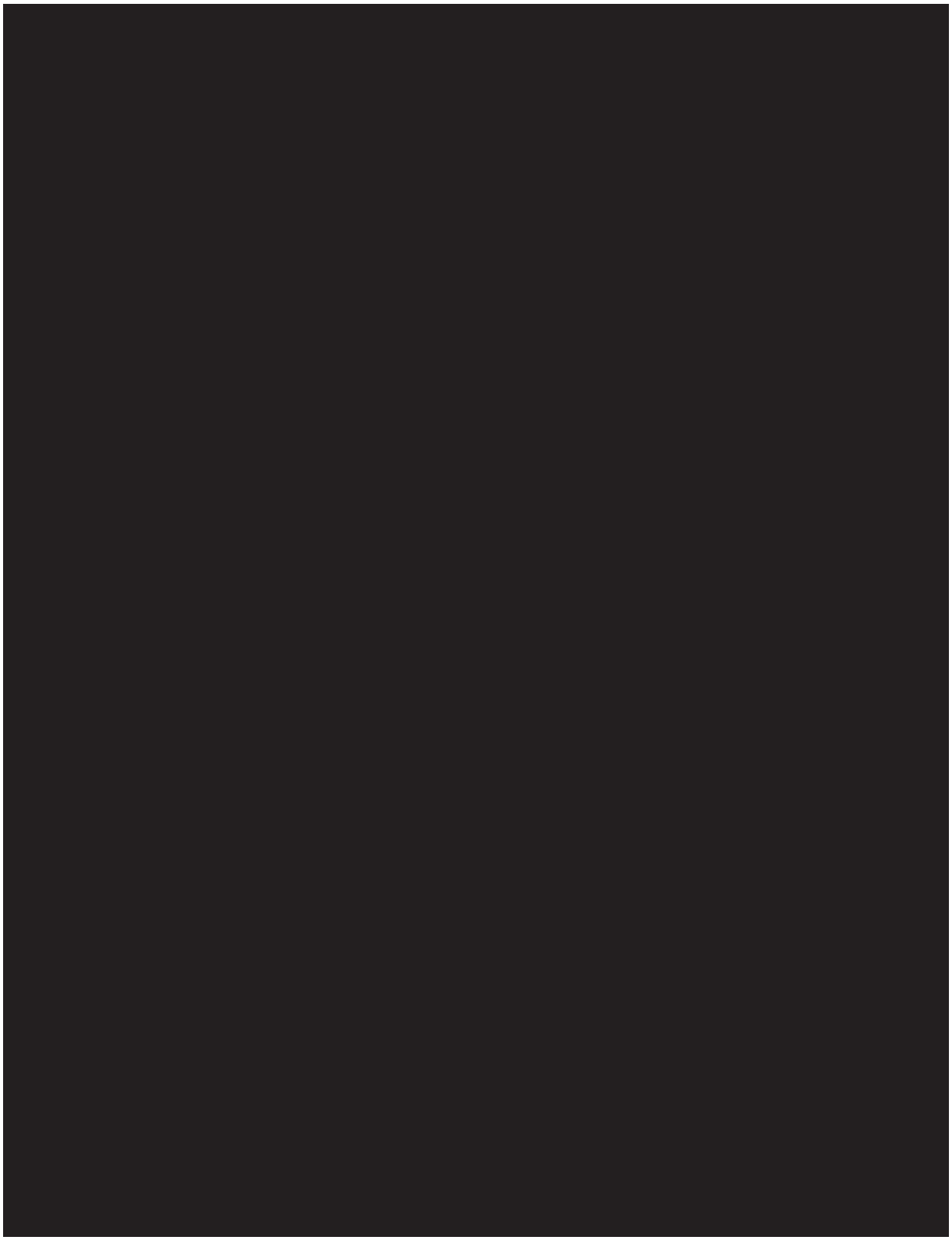
En la fabricació dels dos lots de Relugolix (lot 001-IBE i lot 002-IBE), es va comprovar que complien amb tots els requisits llistats en la ***Taula 110*** (***Taula 85*** i ***Taula 94***). Així queda assegurat que els lots d'API que se subministrarien a possibles clients, són d'elevada puresa i compleixen amb tots els criteris de seguretat i qualitat necessaris.

[redacted]

[125] Eur.Ph. Capítol 5.11.







CAPITOL 4

Conclusions

4 CONCLUSIONS

En aquesta Tesi Doctoral s'ha portat a terme un estudi exhaustiu de diferents rutes sintètiques per a l'obtenció de l'API Relugolix.

Es va iniciar el projecte amb el desenvolupament de diverses propostes de rutes sintètiques viables realitzant la seva avaluació de riscos (Fase 0). Seguidament, es va continuar amb la verificació de les rutes seleccionades, escollint les més prometedores (Fase I). Tot i que algunes estratègies en la Fase I no han estat viables, el seu estudi ha aportat coneixement de la naturalesa dels intermedis i dels inconvenients que presenten cada una de les etapes:

- En les RoS C i D es va comprovar com la reacció de Gewald per formar l'anell de tiofè és una reacció poc selectiva i no s'obté una puresa acceptable de **RL-20** i **RL-21**, respectivament.

- En l'Aproximació 1 de la RoS D es comprovar que no és factible portar a terme la bromació abans de la *N*-benzilació de **RL-36** perquè és una reacció poc selectiva formant-se una gran quantitat d'impureses.

- Pel que fa a l'Aproximació 2 de la RoS D, no va ser possible dibromar **RL-53** ni **RL-69**, formant-se quantitativament les impureses **RL-63** i **RL-75**, respectivament.

- L'Aproximació 3 de la RoS D va ser la més prometedora, però la possible interacció del grup dimetilamino de **RL-84** amb el catalitzador de pal·ladi fa inviable la reacció de Suzuki-Miyaura per aïllar **RL**. De cara a un futur, és necessari l'aprofundiment en l'estudi d'aquesta etapa per formar amb èxit l'enllaç C-C utilitzant la reacció de Suzuki-Miyaura entre els dos intermedis.

- En la RoS B.1 no va ser possible aïllar els carbamats d'interès amb pureses superiors del 56 %, per tal d'evitar passar per **RL-25**.

La RoS B ha demostrat ser una ruta sintètica viable per a la fabricació de **RL**. S'ha obtingut un producte de qualitat i puresa elevada, d'acord amb els estàndards de qualitat de la indústria farmacèutica, i amb una forma polimòrfica no infringent.

Després d'un procés d'optimització de la RoS B i una constant retroalimentació de coneixement de la RoS B entre les Fases II i III, es van fabricar dos lots conformes a escala de KiloLab, demostrant que és un procés robust i escalable. [redacted]

A més, s'ha desenvolupat un mètode analític per a les *substàncies relacionades* del producte acabat, adequat per a la quantificació de l'API i per a la quantificació de les

impureses principals del procés i de les impureses derivades de l'estrès de l'API. Els dos lots fabricats fins a data d'avui són conformes en els estudis d'estabilitat (accelerades i llarg termini), demostrant que, amb l'empaquetament actual , es continua tenint un API de qualitat, segur i competitiu en el mercat dels APIs genèrics.

CAPITOL 5

Part experimental

5 PART EXPERIMENTAL

5.1 MÈTODES GENERALS

Els reactius i dissolvents van ser adquirits a subministradors comercials (Sigma-Aldrich, Merck, Scharlau, PanReac AppliChem) i van ser utilitzats sense cap purificació ni assecat addicional. Els dissolvents emprats en cromatografia líquida i de gasos són de qualitat HPLC tant per a la preparació de les mostres com per realitzar les anàlisis corresponents.

5.2 INSTRUMENTS I METODOLOGIA EMPRADA

5.2.1 Espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear (RMN)

Els espectres de ^{1}H RMN, ^{13}C RMN, ^{13}C DEPT-135, HSQC i COSY van ser enregistrats en un espectròmetre Bruker Avance III (400 MHz). 25-30 mg del compost desitjat van ser dissolts en 0,75 mL de $CDCl_3$ (grau de deuteració del 99,8%), CD_3OD (grau de deuteració del 99,8%) o DMSO-d_6 (grau de deuteració del 99,9%).

5.2.2 Cromatografia de líquids

Les mostres van ser dissoltes en ACN i en alguns casos amb petites quantitats de H_2O o del dissolvent de reacció, quan s'observava poca solubilitat en l'ACN pur. S'han utilitzat diversos mètodes al llarg de la tesi, tant per a la millora i optimització del mètode general com per analitzar un intermedi en concret de la RoS B.

Mètode 1: UHPLC-UV-MS (Mètode General)

Equip	Waters ACQUITY UHPLC H-Class
Detectors	Detector UV-Vis (Waters ACQUITY UHPLC PDA) Detector MS QDa (Waters ACQUITY QDa)
Columna	BEH C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm)
Flux	0,3 mL / min
Volum d'injecció	1 µL
Temperatura de columna	40 ºC
Longitud d'ona	225 nm
Fase mòbil	**Fase Mòbil A:** 25 mM acetat d'amoni pH = 5,0 **Fase Mòbil B :** Acetonitril **Fase Mòbil C:** H_2O
Gradient	

Temps (min)	0	0,2	5	7,5	8	10
% Eluent A	5	5	5	5	5	5
% Eluent B	5	5	95	95	5	5
% Eluent C	90	90	0	0	90	90

Concentració mostra	0,50 mg / mL en ACN*

**En alguns casos amb petites quantitats de H_2O o del dissolvent de reacció.*

Mètode 2: UHPLC-UV-MS (Mètode General)

Equip	Waters ACQUITY UHPLC H-Class
Detectors	Detector UV-Vis (Waters ACQUITY UHPLC PDA) Detector MS QDa (Waters ACQUITY QDa)
Columna	BEH C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm)
Flux	0,5 mL / min
Volum d'injecció	1 µL
Temperatura de columna	45 ºC
Longitud d'ona	225 nm
Fase mòbil	**Fase Mòbil A:** 50 mM formiat d'amoni pH = 4,8 **Fase Mòbil B :** Acetonitril **Fase Mòbil C:** H_2O
Gradient	

Temps (min)	0	0,2	4	6,5	7	8
% Eluent A	5	5	5	5	5	5
% Eluent B	5	5	95	95	5	5
% Eluent C	90	90	0	0	90	90

Concentració mostra	0,50 mg / mL en ACN*

**En alguns casos amb petites quantitats de H_2O o del dissolvent de reacció.*

Mètode 3: UHPLC-UV-MS (RL-24)

Equip	Waters ACQUITY UHPLC H-Class
Detectors	Detector UV-Vis (Waters ACQUITY UHPLC PDA) Detector MS QDa (Waters ACQUITY QDa)
Columna	HSS T3 (1,7 µm, 2,1 x 150 mm)
Flux	0,5 mL / min
Volum d'injecció	2 µL
Temperatura de columna	45 ºC
Longitud d'ona	260 nm
Fase mòbil	**Fase Mòbil A:** 10 mM bicarbonat d'amoni pH = 6,9 ajustat amb àcid fòrmic **Fase Mòbil B :** Acetonitril
Gradient	

Temps (min)	0	0,2	6	8,5	9	10
% Eluent A	90	90	5	5	90	90
% Eluent B	10	10	95	95	10	10

Concentració mostra	0,25 mg / mL en ACN

Mètode 4: UHPLC-UV-MS (RL-25)

Equip	Waters ACQUITY UHPLC H-Class
Detectors	Detector UV-Vis (Waters ACQUITY UHPLC PDA) Detector MS QDa (Waters ACQUITY QDa)
Columna	HSS T3 (1,7 µm, 2,1 x 150 mm)
Flux	0,5 mL / min
Volum d'injecció	2 µL
Temperatura de columna	45 ºC
Longitud d'ona	260 nm
Fase mòbil	**Fase Mòbil A:** 10 mM bicarbonat d'amoni pH = 5,0 ajustat amb àcid fòrmic **Fase Mòbil B :** Acetonitril
Gradient	

Temps (min)	0	0,2	4	6,5	7	8
% Eluent A	80	80	5	5	80	80
% Eluent B	20	20	95	95	20	20

Concentració mostra	0,25 mg / mL en ACN

Mètode 5: UHPLC-UV-MS (RL)

<table>
<tr><td>Equip</td><td>Waters ACQUITY UHPLC H-Class</td></tr>
<tr><td>Detectors</td><td>Detector UV-Vis (Waters ACQUITY UHPLC PDA)
Detector MS QDa (Waters ACQUITY QDa)</td></tr>
<tr><td>Columna</td><td>HSS T3 (1,7 µm, 2,1 x 150 mm)</td></tr>
<tr><td>Flux</td><td>0,3 mL / min</td></tr>
<tr><td>Volum d'injecció</td><td>2 µL</td></tr>
<tr><td>Temperatura de columna</td><td>45 ºC</td></tr>
<tr><td>Longitud d'ona</td><td>290 nm</td></tr>
<tr><td>Fase mòbil</td><td>Fase Mòbil A: 10 mM bicarbonat d'amoni pH = 6,9 ajustat amb àcid fòrmic
Fase Mòbil B : Acetonitril</td></tr>
<tr><td>Gradient</td><td>
<table>
<tr><th>Temps (min)</th><th>0</th><th>0,2</th><th>4</th><th>7,5</th><th>8</th><th>10</th></tr>
<tr><td>% Eluent A</td><td>80</td><td>80</td><td>5</td><td>5</td><td>80</td><td>80</td></tr>
<tr><td>% Eluent B</td><td>20</td><td>20</td><td>95</td><td>95</td><td>20</td><td>20</td></tr>
</table>
</td></tr>
<tr><td>Concentració mostra</td><td>0,25 mg / mL en ACN</td></tr>
</table>

5.2.3 Cromatografia de gasos

Mètode 1: GC-FID (RL-10, RL-13)

Equip	Perkin-Elmer GC Clarus® 690
Detectors	Detector FID (PerkinElmer)
Columna	RTx-5 (1 µm, 30 m x 0,32 mm ID)
Fase mòbil	He
Flux	30 mL / min
Split ratio	1 : 30
Volum d'injecció	1 µL
Temperatura d'injector	150 ºC
Tipus liner	3 mm ID
Temperatura detector	250 ºC
Gradient de temperatures	**Rampa** / **Temperatura** / **Temps** - / 40 ºC / 0 **25 ºC / min** / 200 ºC / 7
Temps d'anàlisi	14 min
Concentració mostra	5 mg / mL en ACN

Mètode 2: GC-FID (Dissolvents residuals)

Equip	Agilent® 8890 GC amb sistema d'espai de cap
Detectors	Detector FID (Agilent)
Columna	RTx-1301 (3 µm, 30 m x 0,53 mm ID)
Fase mòbil	He
Flux de treball	30 mL / min
Split ratio	1:3
Volum d'injecció	1 mL
Temperatura d'injector	150 ºC
Tipus liner	3 mm ID
Temperatura detector	240 ºC
Gradient de temperatures	**Rampa** / **Temperatura** / **Temps** - / 40 ºC / 2 **20 ºC / min** / 200 ºC / 3
Temps d'anàlisi	15 min
Dissolució referència	3000 ppm (EtOH, DMSO, AcOH) 350 ppm (DCM)

5.2.4 Difracció de Raigs-X

Es col·loquen uns pocs mil·ligrams de la mostra amb una espàtula en una placa de silici, tot assegurant la uniformitat del sòlid, ja sigui amb l'ajuda d'una espàtula plana, un vidre esmerilat o afegint unes gotes d'un dissolvent volàtil on la mostra no és soluble (MeOH, EtOH, Et_2O, AcOEt) i es col·loca dins d'un difractòmetre Bruker D2 Phaser. S'enregistra entre 2 Theta: 0 º a 40 º.

5.2.5 Espectroscòpia infraroja (IR) (procediment *Ph. Eur. 2.2.24*)

Es col·loquen uns pocs mil·ligrams de la mostra amb una espàtula en un espectròmetre Nicolet iS5 FT-IR, de forma que cobreixi tot el diamant de l'equip amb accessori ATR. S'enregistra l'espectre entre 4000 i 650 cm^{-1}. Les bandes de la mostra han de coincidir en posició i intensitat relativa a les del espectre IR del patró del producte, si n'hi ha.

5.2.6 Contingut d'aigua per Karl-Fischer (procediment *Ph. Eur. 2.5.12*)

S'afegeix metanol PA en el recipient de valoració d'un valorador Mettler Toledo V-30 Karl-Fischer fins a cobrir l'elèctrode. S'afegeix HYDRANAL™ Composite 5 fins a la neutralització del dissolvent. A continuació, ràpidament, s'afegeixen 0,1 g o 1 mL (pes o volum del producte) al recipient de valoració i s'agita durant 1 minut. A continuació, es fa la valoració amb HYDRANAL™ Composite 5 (amb una concentració coneguda de mg d'aigua / mL → **c**) fins arribar al punt final (**V** en mL).

Percentatge d'aigua: **$\% H_2O = V * c * 100 / \text{pes del producte}$**

5.2.7 Anàlisi de contingut de metalls

Es va determinar el contingut de platí i vanadi de les mostres finals de Relugolix per espectroscòpia d'emissió atòmica òptica amb plasma d'acoblament inductiu (ICP-OES) via digestió àcida humida amb un equip Agilent 5110 VDV ICP-OES. Les especificacions indiquen un contingut màxim de 10 ppm. Es duu a terme una recta de calibratge de patrons de concentracions entre 0,05 i 0,5 µg / mL de Pt i V i emprant itri com a patró intern. Es prepararà la mostra problema seguint el procediment de digestió descrit a continuació. Les concentracions de la recta de calibratge corresponen a concentracions entre 5 i 50 ppm respecte la concentració de la mostra.

Mètode ICP-OES:

Equip	Agilent ® 5110 VDV ICP-OES
Introducció mostra	Agilent ® SPS 4
Replicats	3
Flux nebulitzador	0,7 L / min
Flux plasma	12 L / min
Longitud d'ona:	
• Itri (patró intern)	371,029 nm
• Platí (analit)	214,424 nm
• Vanadi (analit)	292,401 nm
Calibració	lineal
Mode de visualització	axial

Dissolució problema (per duplicat):

1) En tub Falcon de polipropilè de 15 mL, pesar exactament 0,1 ± 0,01 g de la mostra a analitzar i afegir 1,0 mL de d'aigua, 3,0 mL d'àcid nítric 65 % i 1,0 mL de d'àcid clorhídric 37 %. Tapar i agitar en un vòrtex amb cura fins la dissolució de la mostra.

2) Destapar i deixar dins de la vitrina durant 16 h per la seva completa digestió amb els àcids (desprèn vapors de CO_2 i NO_x).

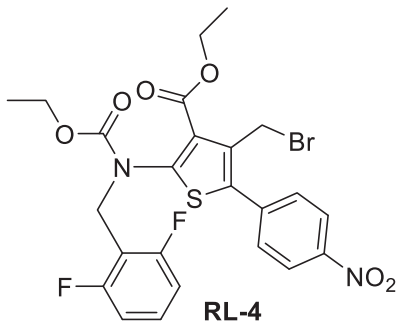
3) En el mateix tub Falcon enrasar fins la marca dels 10 mL amb aigua, tapar i agitar per homogeneïtzar. Analitzar per ICP-OES.

5.3 PREPARACIÓ DELS INTERMEDIS SINTÈTICS

Només es descriuen els millors resultats i condicions. Això implica que només es descriuen les reaccions amb pureses cromatogràfiques iguals o superiors al 75 %, i en diversos intents d'una mateixa etapa, on només es canvien les condicions (equivalents de reactius, temperatura, ordre d'addició, temps), només la millor prova s'ha considerat. Les descripcions experimentals s'ha dividit per RoS i, si es repeteixen, els intermedis, només es descriuen la primera vegada que apareixen. S'ha mantingut la numeració interna de l'empresa per numerar i referenciar els compostos per tal d'evitar errors de referència i transcripció. La numeració utilitzada per descriure els senyals de protó i de carboni en els espectres de RMN és arbitrària i no correspon a la de la nomenclatura IUPAC dels compostos. Es mostra la numeració sobre la molècula que es dibuixa a cada espectre de ^{1}H RMN.

5.3.1 PoC patent EP2900675B1 (Takeda)

*Síntesi de 4-(bromometil)-2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonilamino]-5-(4-nitrofenil)tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-4**).*



RL-4

2-[(2,6-difluorobenzil)etoxicarbonilamino]-4-metil-5-(4-nitrofenil)tiofen-3-carboxilat d'etil, **RL-1** (200 g; 396 mmol; 1 eq.) es col·loca en un matràs de 3 boques de 3 L amb agitació mecànica i se li afegeix AcOEt (1600 mL; 8 Vol) i TFT (160 mL; 0,8 Vol). S'agita a 20-25 ºC i a la dissolució resultant, se li carrega progressivament NBS (158,8 g; 892 mmol; 2,25 eq. molar) i AIBN (22,8 g; 139 mmol, 0,35 eq). La suspensió resultant s'escalfa a 65-70 °C i es deixa a aquesta temperatura un mínim de 90 minuts. Un cop es confirma el consum complet de **RL-1**, es refreda la dissolució groga a 20-25 ºC. La fase orgànica es renta amb 2 x 800 mL d'aigua (2 x 4 Vol) i la fase d'acetat d'etil resultant, es concentra a pressió reduïda fins aproximadament a 3,6 Vol totals. Se li afegeixen 540 mL d'etanol absolut (2,7 Vol) i es concentra a pressió reduïda fins aproximadament a 3,6 Vol totals. Es torna a repetir el procediment un cop més. A la suspensió resultant, se li afegeixen 320 mL de *n*-heptà (1,6 Vol) a 25 ± 5 ºC durant 45 min amb un embut d'addició. Es realitza una segona addició de 240 mL de *n*-heptà (1,2 Vol) durant 30 min amb un embut d'addició. Un cop finalitzada l'addició, la suspensió groga es refreda a 0-5 ºC i s'agita durant 1 hora. S'aïlla el sòlid per filtració i es renta amb 320 mL d'etanol absolut / *n*-heptà (relació 1 : 2, 1,6 Vol). El sòlid resultant s'asseca a l'estufa de buit a 45 °C durant 16 h, obtenint-se 174,5 g de **RL-4** com a sòlid groc amb una puresa cromatogràfica del 91,5 % (Rendiment: 75 %).

UHPLC: R_t= 5,7 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 583,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}4})}$]$^+$, calc: 583,0}; 585,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}4})}$+2]$^+$, calc: 584,0}; **^{1}H RMN:** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ (ppm) 1,10 (m, 3 H, H-22), 1,23 (t, $^3J_{19\text{-}20}$ = 7 Hz, 3 H, H-19), 4,11 (m, 2 H, H-23), 4,19 (q, $^3J_{20\text{-}19}$ = 7 Hz, 2 H, H-20), 4,76 (s, 2 H, H-5), 4,92 (s, 2 H, H-12), 7,08 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2H, H-16, H-17), 7,44 (tt, $^3J_{18\text{-}16/17}$ = $^3J_{18\text{-}F}$ = 8 Hz 1 H, H-18), 7,77 (d, $^3J_{7/8\text{-}9/10}$ = 9 Hz, 2 H, H-7, H-8), 8,37 (d, $^3J_{9/10\text{-}7/8}$ = 9 Hz, 2 H, H-9, H-10); **^{13}C RMN:** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ (ppm) 13,7 (C-19), 14,2 (C-22), 26,3 (C-5), 42,3 (C-12), 61,0 (C-20), 62,3 (C-23), 111,6 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 10 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 5 Hz, C-16, C-17), 111,7 (C-1), 124,4 (C-9, C-10), 130,1 (C-7, C-8), 131,1 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 11 Hz, C-18), 133,4 (C-4), 136,8 (C-2), 137,7 (C-3), 147,4 (C-11), 149,1 (C-6), 153,8 C-24), 161,1 (C-21), 161,3 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 248 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 8 Hz, C-14, C-15).

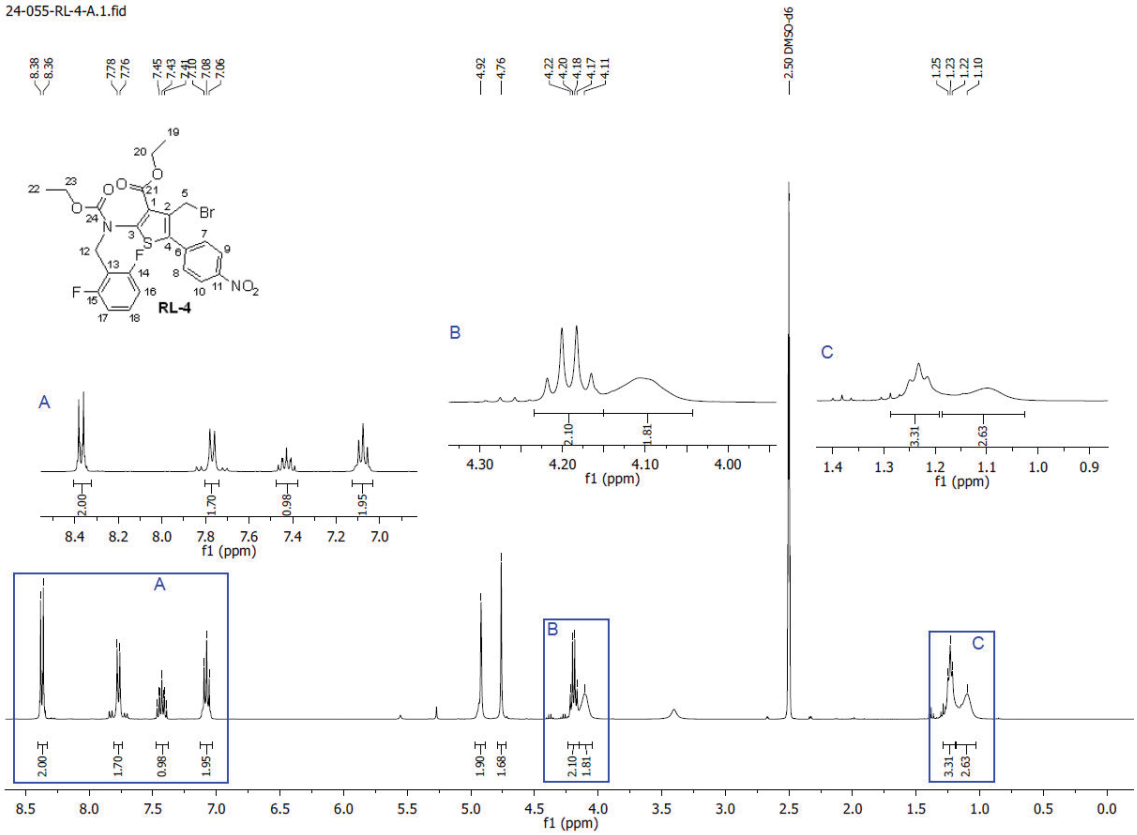


Figura 87: *Espectre ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-4****.*

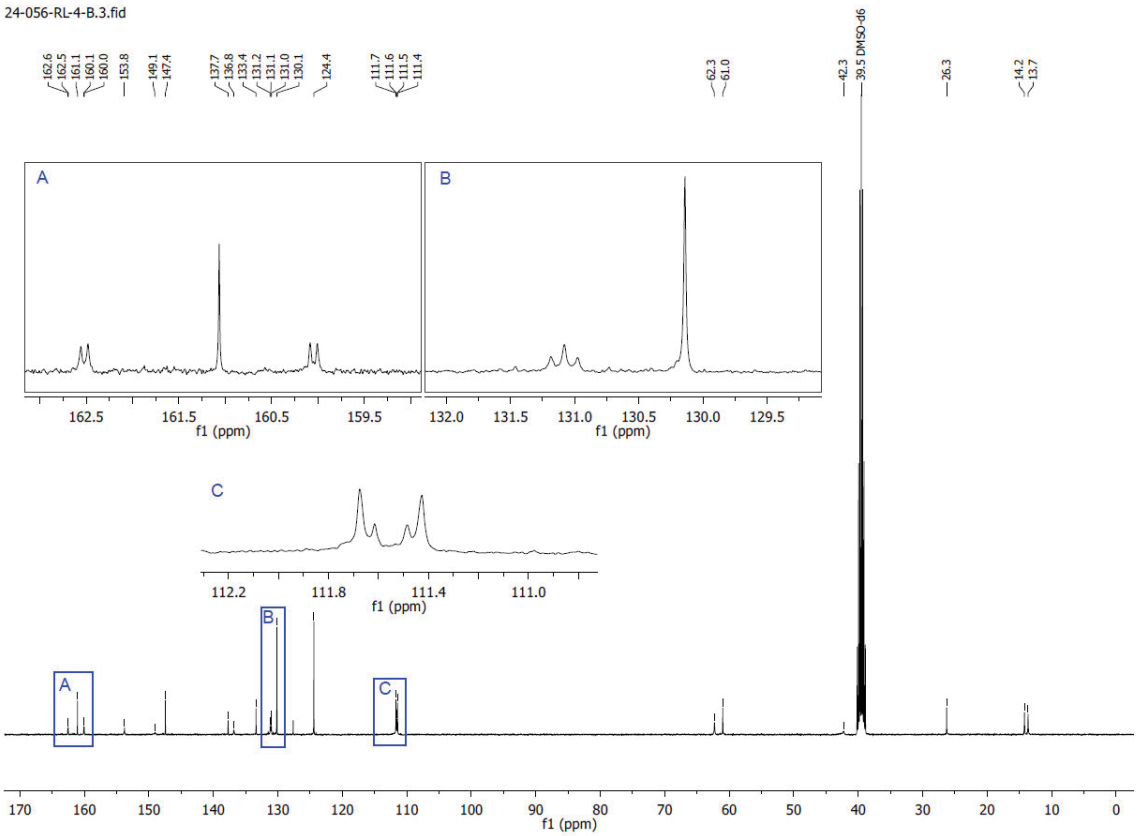
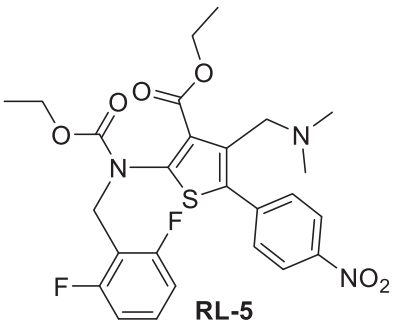


Figura 88: *Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-4****.*

*Síntesi de 2-[(2,6-difluorobenzil)etoxicarbonilamino]-4-dimetilaminometil- 5-(4-nitrofenil)tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-5**).*



RL-5

En un matràs de 3 boques de 3 L amb agitació mecànica s'addiciona clorhidrat de dimetilamina (38,1 g; 467 mmol; 1,5 eq.) i DMF (990 mL; 5,5 Vol). Seguidament, s'addiciona TEA (81,2 g, 802 mmol, 2,6 eq.) i la mescla s'agita a 20-25 °C durant 30 min. Es refreda a 0-5 °C, per afegir en diverses porcions **RL-4** (180 g, 309 mmol; 1eq.). El recipient utilitzat per pesar **RL-4** es renta amb DMF (90 mL). Seguidament, la mescla de reacció s'agita a 10-15 °C durant 1-2 hores i a la suspensió resultant se li carrega etanol absolut (360 mL) a 20-30 °C. La suspensió ve escalfada a 40-45 °C i un cop s'arriba a la temperatura, se li afegeix aigua (450 mL) de forma gradual. La suspensió es manté a 40-45 ºC durant 1 h, es refreda a 20-25 ºC i s'agita durant 1 h més. El sòlid s'aïlla per filtració i es renta amb etanol / aigua (relació 4 : 1; 270 mL; 1,5 Vol). El sòlid resultant s'asseca a l'estufa de buit a 50 °C durant 16 h, obtenint-se 147,5 g de **RL-5** com a sòlid groc amb una puresa cromatogràfica del 99,5 % (Rendiment: 87 %).

UHPLC: R_t= 4,6 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 548,4 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}5})}$+H]$^+$, calc: 548,2}; **^{1}H RMN:** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ (ppm) 1,09 (m, 3 H, H-22), 1,21 (t, $^3J_{19\text{-}20}$ = 7 Hz, 3 H, H-19), 1,95 (s, 6 H, H-25, H-26), 3,46 (s, 2 H, H-5), 4,08 (m, 2 H, H-23), 4,12 (q, $^3J_{19\text{-}20}$ = 7 Hz, 2 H, H-20), 4,94 (s, 2 H, H-12), 7,07 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-F}}$ = 8 Hz, 2 H, H-16, H-17), 7,43 (tt, $^3J_{18\text{-}16/17}$ = $^3J_{18\text{-F}}$ = 8 Hz 1 H, H-18), 7,72 (d, $^3J_{7/8\text{-}9/10}$ = 9 Hz, 2 H, H-7, H-8), 8,29 (d, $^3J_{9/10\text{-}7/8}$ = 9 Hz, 2 H, H-9, H-10); **^{13}C RMN:** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ (ppm) 13,8 (C-19), 14,2 (C-22), 42,1 (C-12), 44,2 (C-25, C-26), 54,2 (C-5), 60,6 (C-20), 62,2 (C-23), 111,5 (dd, $^2J_{16/17\text{-F}}$ = 19 Hz, $^4J_{16/17\text{-F}}$ = 6 Hz, C-16, C-17), 111,9 (C-1), 113,2 (C-13), 124,0 (C-9, C-10), 130,6 (C-7, C-8), 130,9 (C-1), 131,0 (C-2), 131,1 (t, $^3J_{18\text{-F}}$ = 5 Hz, C-18), 135,6 (C-4), 138,9 (C-3), 145,3 (C-11), 147,0 (C-6), 153,9 (C-24), 161,4 (dd, $^1J_{14/15\text{-F}}$ = 247 Hz, $^3J_{14/15\text{-F}}$ = 8 Hz, C-14, C-15), 162,3 (C-21).

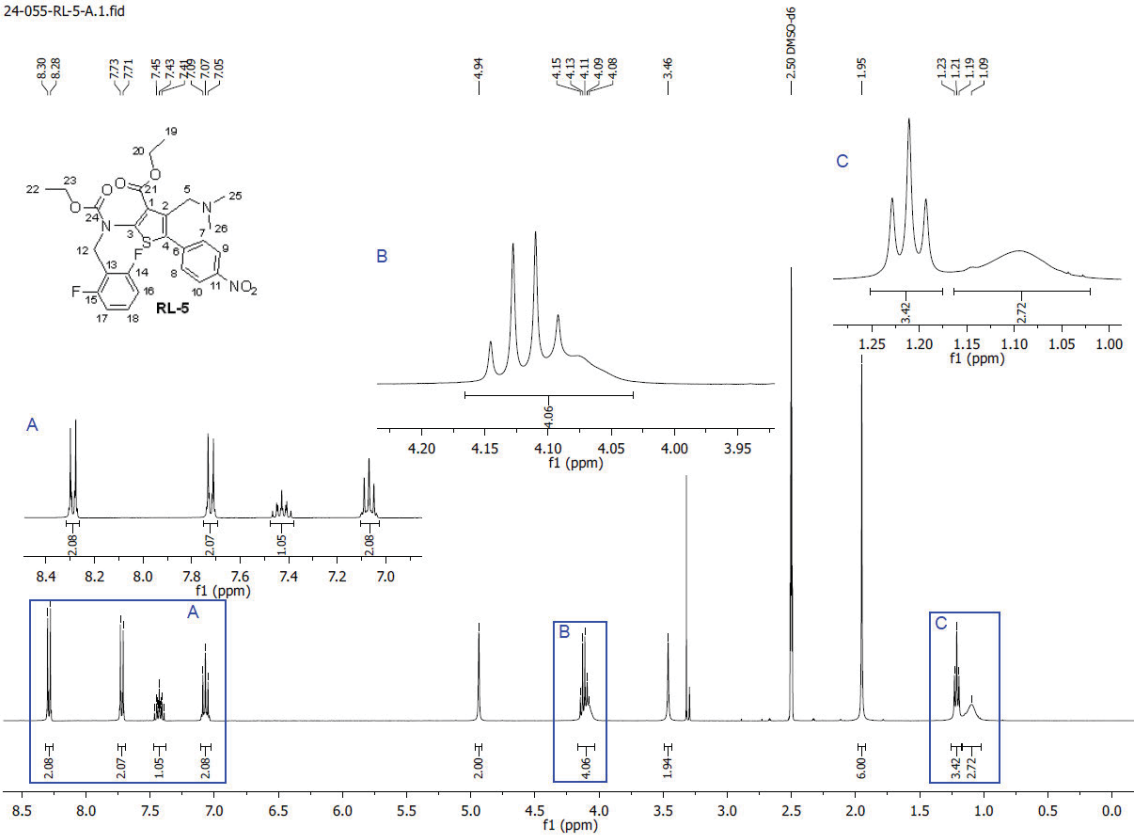


Figura 89: *Espectre ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-5****.*

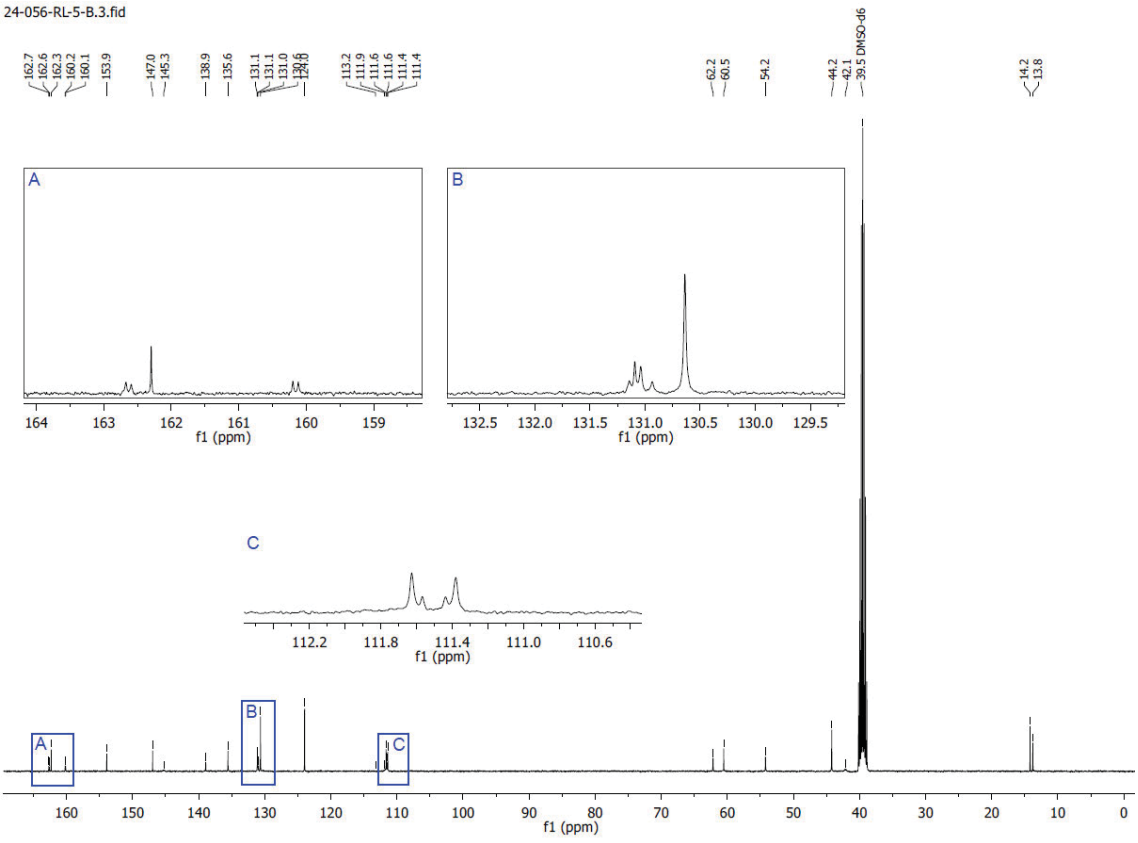
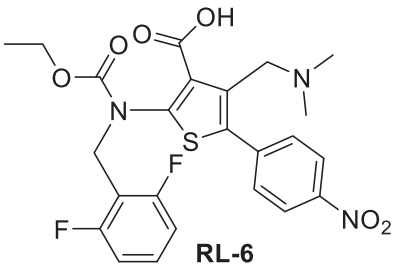


Figura 90: *Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-5****.*

*Síntesi de l'àcid 2-[(2,6-difluorobenzil)etoxicarbonilamino] – 4 – dimetilamino metil-5-(4-nitrofenil)tiofen-3-carboxílic (**RL-6**).*



RL-6

En un matràs de 3 boques de 3 L amb agitació mecànica es col·loca **RL-5** (139g; 255 mmol; 1 eq.) en una mescla d'etanol absolut (1251 mL; 9 Vol) i aigua (362 mL; 2,6 Vol) a 25 ºC. A continuació, s'addiciona una dissolució aquosa de KOH 50 % (42,5 g; 378 mmol; 1,5 eq.) i la mescla resultant s'agita durant 5 h a 55-60 ºC. Un cop s'esgota **RL-5**, la reacció es refreda a 20-25 ºC i s'ajusta el pH a 6 – 7 amb HCl 2 N. La mescla es concentra a pressió reduïda a 50 ºC a aproximadament 3,5 Vol i se li afegeix etanol absolut (70 mL; 0,5 Vol) i AcOEt (70 mL; 0,5 Vol) a 40-45 °C. Al cap d'una estona, se li carrega aigua (834 mL; 6 Vol) a 40-45 ºC i es deixa agitant durant 1 h. Es refreda la mescla a 20-25 ºC i es manté aquesta temperatura un mínim de 3 h. El sòlid s'aïlla per filtració i es renta amb etanol / aigua (relació 1 : 9; 417 mL; 3 Vol) i AcOEt a 0 ºC (417 mL; 3 Vol). El sòlid resultant s'asseca a l'estufa de buit a 50 °C durant 16 h, obtenint-se 115,0 g de **RL-6** com a sòlid groc amb una puresa cromatogràfica del 98,0 % (Rendiment: 88 %).

UHPLC: R_t= 4,1 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 520,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}6})}$+H]$^+$, calc: 520,1}; 518,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}6})}$-H]$^-$, calc: 519,1}; **^{1}H RMN:** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ (ppm) 1,08 (t, $^3J_{20\text{-}21}$ = 7 Hz, 3 H, H-20), 2,43 (s, 6 H, H-23, H-24), 4,01 (s, 2 H, H-5), 4,03 (q, $^3J_{21\text{-}20}$ = 7 Hz, 2 H, H-21), 4,91 (s, 2 H, H-12), 7,05 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2H, H-16, H-17), 7,40 (tt, $^3J_{18\text{-}16/17}$ = $^3J_{18\text{-}F}$ = 8 Hz, H-18), 7,56 (d, $^3J_{7/8\text{-}9/10}$ = 9 Hz, 2 H, H-7, H-8), 8,29 (d, $^3J_{9/10\text{-}7/8}$ = 9 Hz, 2 H, H-9, H-10); **^{13}C RMN:** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ (ppm) 14,3 (C-20), 40,2 (C-23, C-24), 41,4 (C-12), 53,3 (C-5), 61,7 (C-21), 93,5 (C-1), 111,4 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, C-16, C-17), 112,3 (t, $^2J_{13\text{-}F}$ = 17 Hz, C-13), 124,1 (C-9, C-10), 128,4 (C-2), 130,7 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 10 Hz, C-18), 131,08 (C-7, C-8), 136, 3 (C-4), 146,0 (C-3), 146,1 (C-6), 147,3 (C-11), 154,5 (C-22), 161,4 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 245 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 7 Hz, C-14, C-15), 164,0 (C-19).

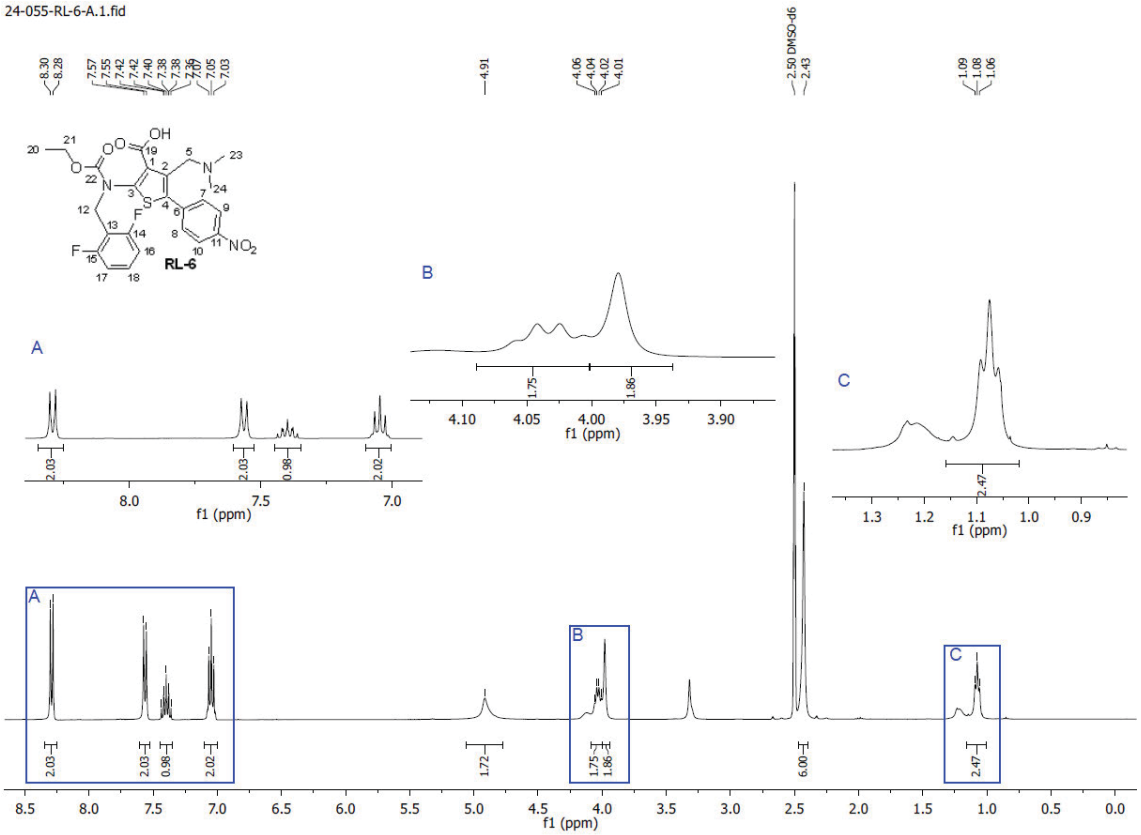


Figura 91: *Espectre ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-6****.*

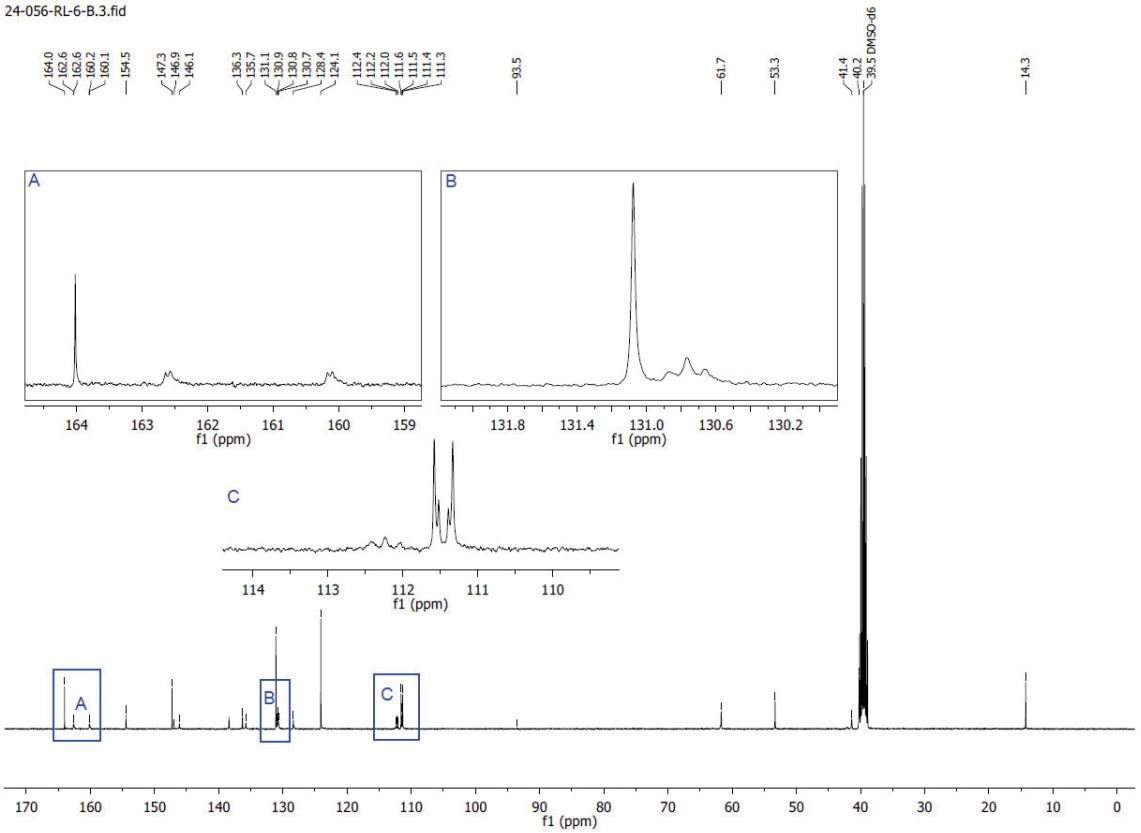
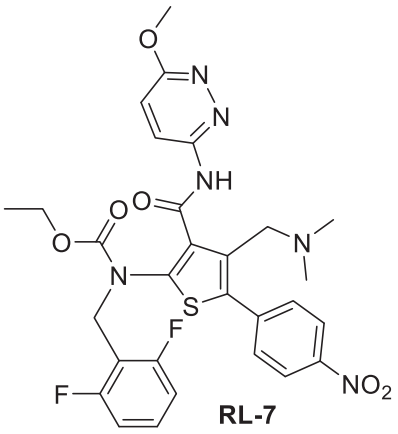


Figura 92: *Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-6****.*

*Síntesi de (2,6-difluorobenzil)-[4-dimetilaminometil-3-(6-metoxipiridazina-3-ilcarbamoil)-5-(4-nitrofenil)tiofen-2-il]carbamat d'etil (**RL-7**).*



RL-7

En un matràs de 3 boques de 3 L amb agitació mecànica es col·loca **RL-6** (112,0 g; 207 mmol; 1 eq.), **RL-2** (31,1 g; 249 mmol; 1,2 eq.) en DMAc, (504 mL; 4,5 Vol). Seguidament, se li carrega la DIPEA (53,6 g; 415 mmol; 2,0 eq.) a 20-25 °C amb T3P® 50% en AcOEt (189,4 g; 301 mmol; 1,5 eq.). La mescla resultant s'agita a 55-60 ºC durant 1 h i un cop es confirma la conversió total, es refreda a 20-25 ºC. Amb un embut d'addició s'afegeix aigua lentament (840 mL; 7,5 Vol), mantenint els 20-25 ºC. Acabada l'addició, s'ajusta el pH a 7,5 – 8,5 amb NaOH 8 M. El sòlid resultant s'aïlla per filtració, es renta amb MeOH (448 mL; 4 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 45 °C durant 16 h, obtenint-se 128,5 g de **RL-7** com a sòlid groc amb una puresa cromatogràfica del 98,0 % (Rendiment: 98 %).

UHPLC: R_t= 5,4 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 625,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}7})}$-H]$^-$, calc: 626,2}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,17 (m, 3 H, H-25), 2,20 (s, 6 H, H-28, H-29), 3,51 (s, 2 H, H-5), 4,10 (s, 3 H, H-19), 4,27 (m, 2 H, H-26), 5,02 (s, 2 H, H-12), 6,74 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-16, H-17), 6,99 (d, $^3J_{21\text{-}22}$ = 10 Hz, 1 H, H-21), 7,13 (m, 1 H, H-18), 7,48 (d, $^3J_{7/8\text{-}9/10}$ = 9 Hz, 2 H, H-7, H-8), 8,28-8,30 (d, $^3J_{9/10\text{-}7/8}$ = 9 Hz, 2 H, H-9, H-10), 8,54 (d, $^3J_{22\text{-}21}$ = 10 Hz, 1 H, H-22); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,6 (C-25), 42,2 (C-12), 43,6 (C-28, C-29), 54,4 (C-5), 54,8 (C-19), 62,8 (C-26), 102,2 (C-1), 111,3 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 25 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 6 Hz, C-16, C-17), 112,3 (C- 13), 118,8 (C-21), 123,9 (C-6), 124,0 (C-9, C-10), 130,3 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 10 Hz, C-18), 131,0 (C-22), 131,5 (C-7, C-8), 133,8 C-2), 137,0 (C-4), 147,9 (C-11), 148,4 (C-23), 153,2 (C-3), 155,3 (C-27), 161,8 (C-20), 162.3 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 260 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 10 Hz, C-14, C-15), 162,7 (C-24).

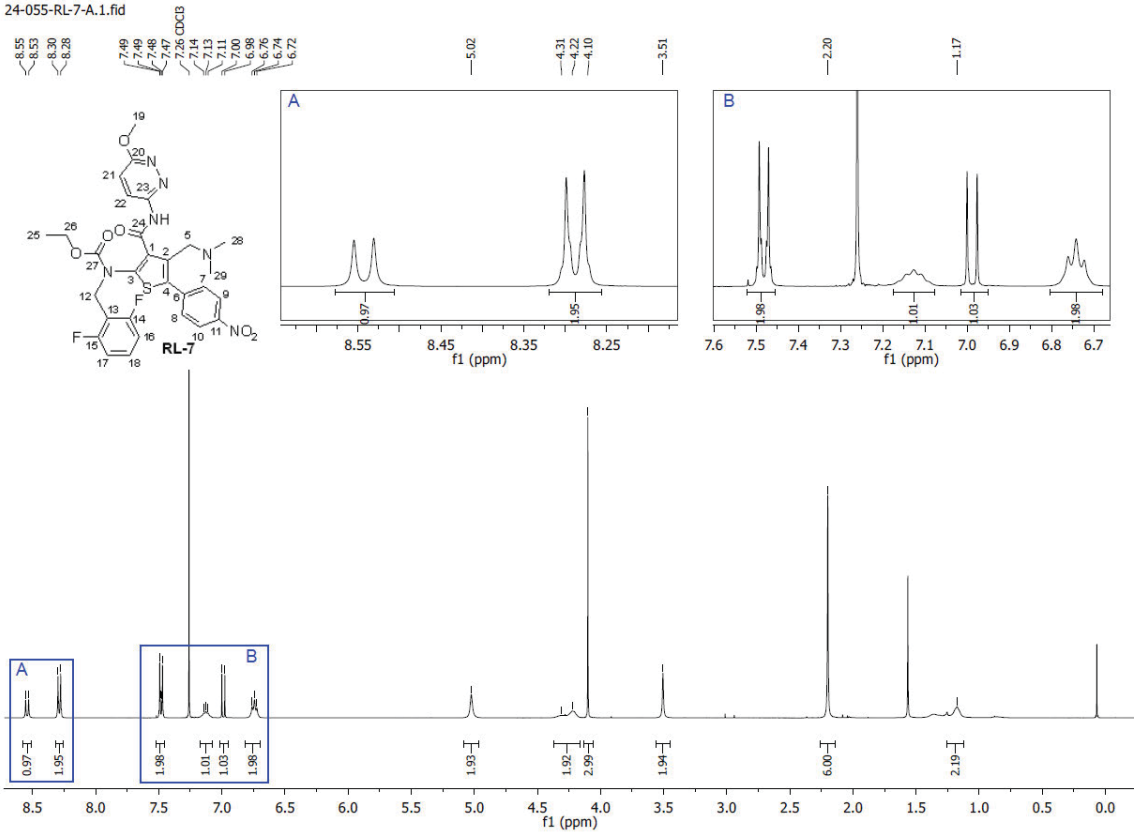


Figura 93: *Espectre ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-7****.*

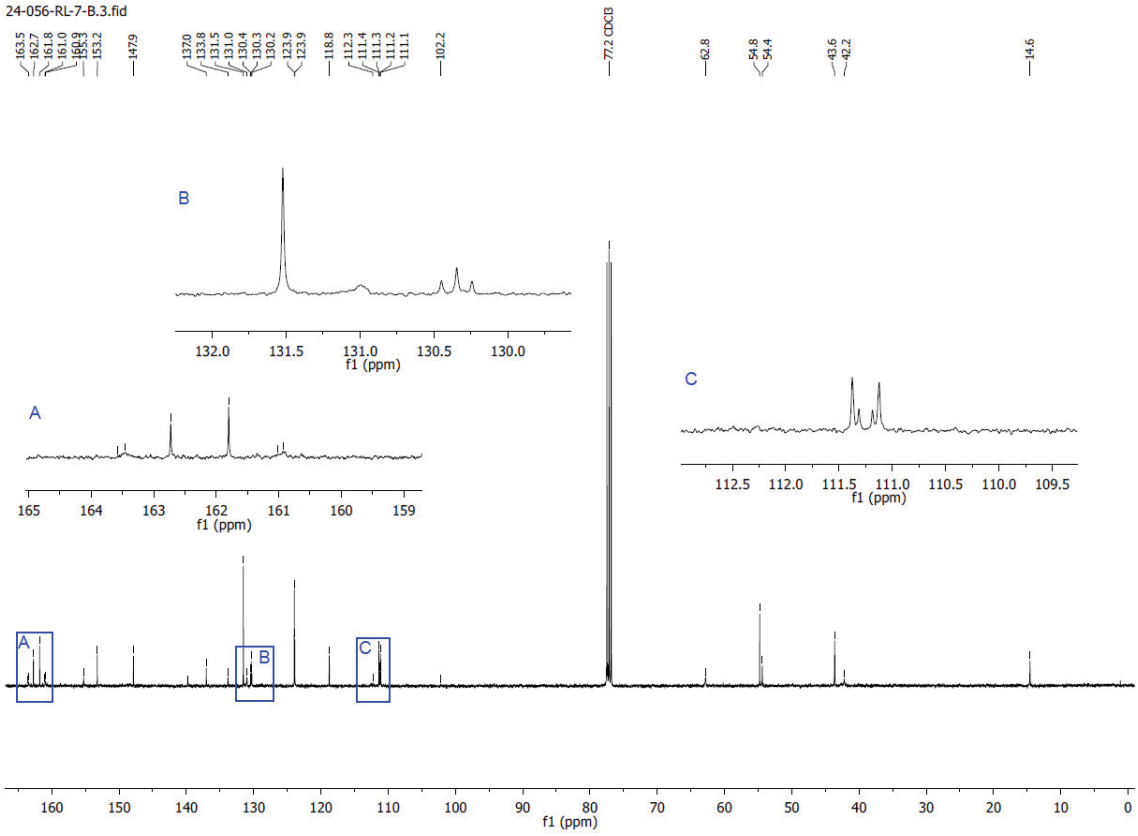
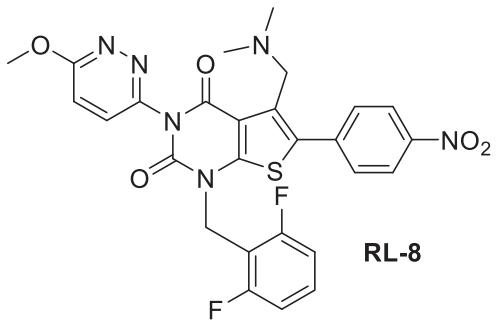


Figura 94: *Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-7****.*

*Síntesi de 1-(2,6-difluorobenzil)-5-dimetilaminometil-3-(6- metoxipiridazina-3-il)-6-(4-nitrofenil)tien[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)- diona (**RL-8**).*



RL-8

En un matràs de 3 boques de 3 L amb agitació mecànica es col·loca **RL-7** (66,0 g; 102 mmol; 1 eq.) amb MeOH (1650 mL; 25 vol) i THF (113 mL; 1,7 Vol). A la mescla resultant se li carrega MeONa 30% en MeOH (4,4 g; 20 mmol; 0,25 eq.) i s'agita durant 1 h a 60-65 ºC. Es refreda a 20-25 ºC i amb un embut d'addició se li afegeix gradualment HCl 37 % (20,5 mL, 245 mmol; 2,4 eq.). S'agita durant 20 min i se li carrega IPA (660 mL). Es deixa agitant durant 30min i durant 1 h a 0-5 ºC. El sòlid resultant s'aïlla per filtració, es renta amb MeOH / IPA a 0 ºC (relació 1 : 1; 198 mL; 3 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 60 °C durant 16 h. S'obtenen 64,5 g de **RL-8** com a sòlid groc amb una puresa cromatogràfica del 98,9 % (Rendiment: 99 %).

UHPLC: R_t= 4,0 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 579,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}8})}$-H]$^-$, calc: 580,1}; **^{1}H RMN:** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ (ppm) 2,59 (s, 6 H, H-26, H-27), 4,10 (s, 3 H, H-19), 4,46 (s, 2 H, H-5), 5,25 (d, $^2J_{12a\text{-}12b}$ = 14 Hz, 1 H, H-12a), 5,48 (d, $^2J_{12b\text{-}12a}$ = 14 Hz, 1 H, H-12b), 7,18 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-16, H-17), 7,49 (m, 1 H, H-18), 7,51 (d, $^3J_{21\text{-}20}$ = 9 Hz, 1 H, H-21), 7,85 (m, 3 H, H-7, H-8, H-22), 8,39 (d, $^3J_{9/10\text{-}7/8}$ = 9 Hz, 2 H, H-9, H-10);**^{13}C RMN:** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ (ppm) 41,2 (C-12), 42,32 (C-26 o C-27), 42,51 (C-26 o C-27), 51,9 (C-5), 55,0 (C-19), 110,0 (t, $^2J_{13\text{-}F}$ = 18 Hz, C-13), 112,0 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 19 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 5 Hz, C-16, C-17), 114,1 (C-1), 119,7 (C-21), 124,4 (C-9, C-10), 125,3 (C-6), 131,6 (C7, C-8), 131,4 (t, $^2J_{13\text{-}F}$ = 10 Hz, C-18), 131,6 (C-2), 133,7 (C-22), 136,4 (C-4), 147,7 (C-11), 149,0 (C-3), 149,4 (C-23), 154,1 (C-25), 158,7 (C-24), 161,0 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 249 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 8 Hz, C-14, C-15), 165,1 (C-20).

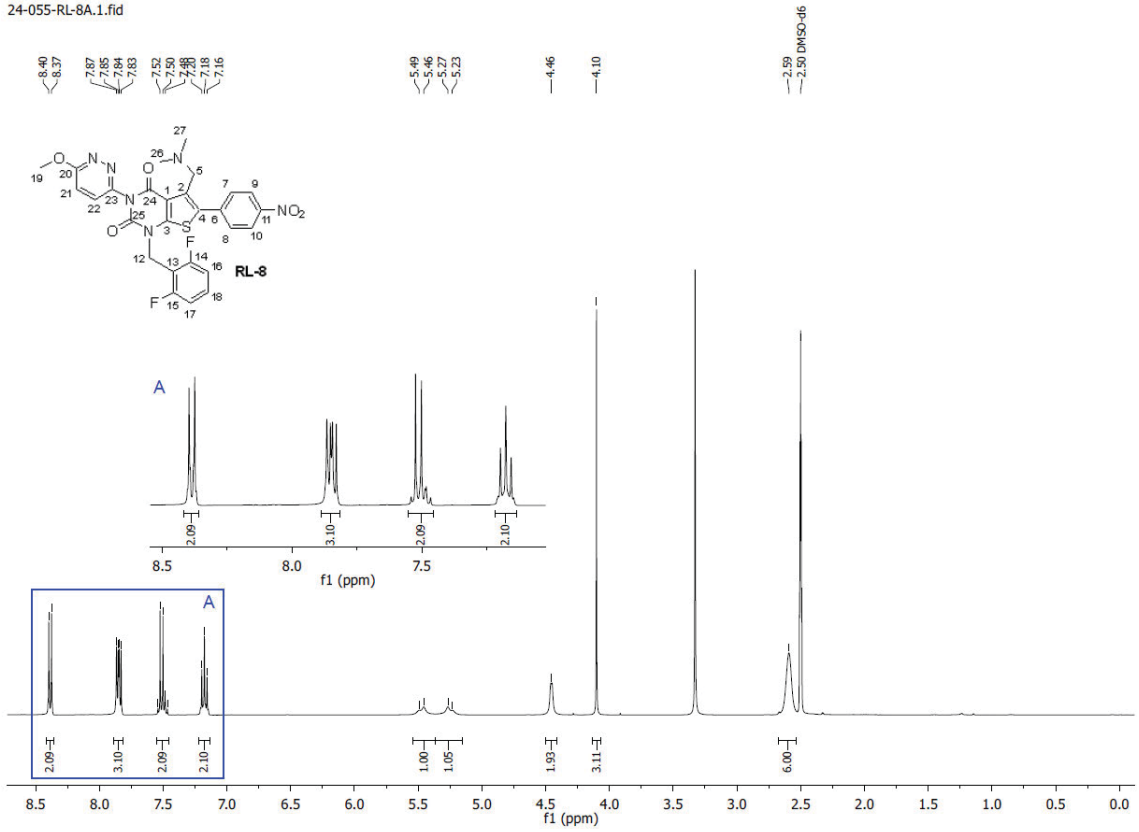


Figura 95: *Espectre ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-8****.*

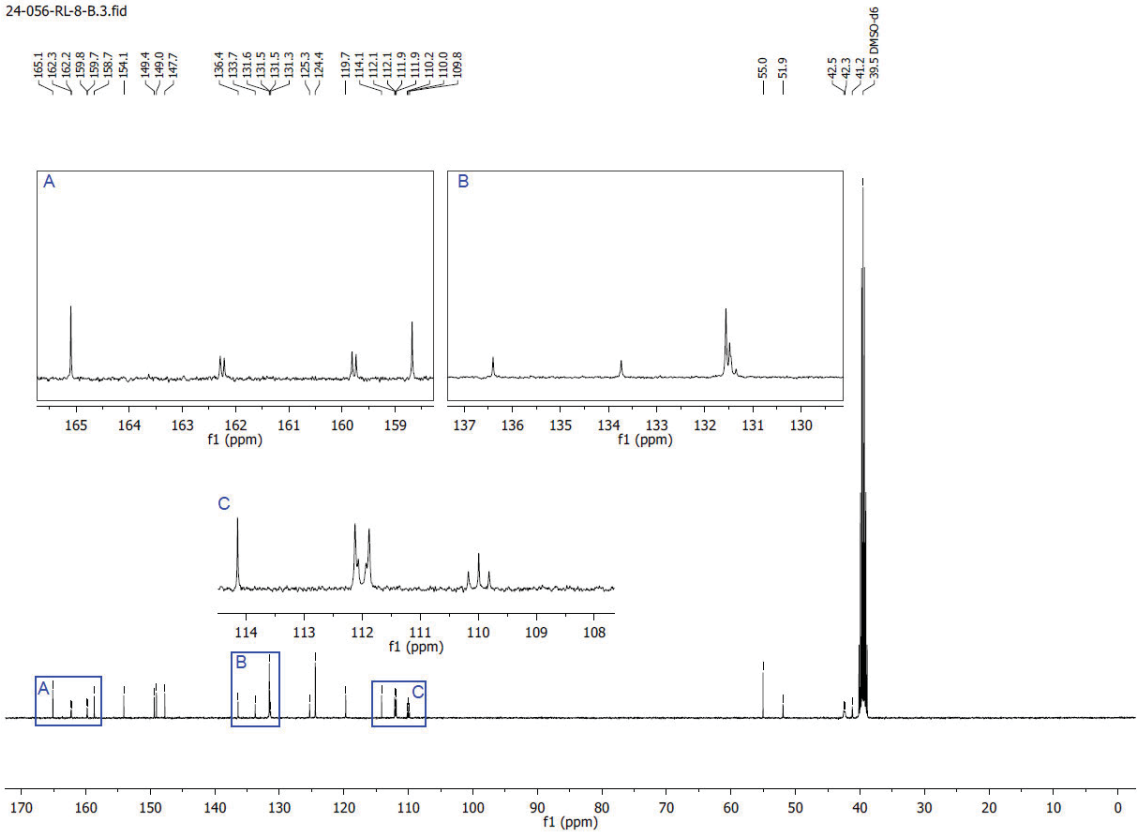
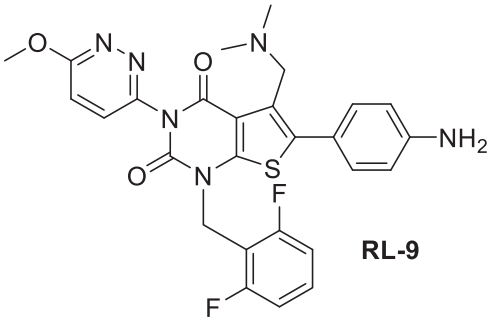


Figura 96: *Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-8****.*

*Síntesi de 6-(4-aminofenil)-1-(2,6-difluorobenzil)-5-dimetilaminometil-3- (6-metoxipiridazina-3-il)tien[2,3-d]pirimidin-2,4(1H,3H)-diona (**RL-9**).*



RL-9

En un reactor d'hidrogenació de 2 L Büchi es carrega **RL-8** (66 g; 107 mmol; 1 eq.), MeOH (528 mL; 8 Vol), HCl 37% (8,43 g; 86 mmol; 0,8 eq.) i Pd/C 5 % (13,2 g; 20 % en pes). Es realitzen 3 cicles de buit-N_2 i 2 de buit-H_2. La suspensió resultant s'agita a 20-25 ºC durant 16 h a 3-4 bar d'H_2 a 1500 rpm. El pH de la mescla s'ajusta a 6,5 amb TEA, es carrega carbó actiu 4S (3,3 g; 5 % en pes) i la mescla s'agita durant 30 min a 20-25 ºC. Es filtra el catalitzador i el carbó actiu a través de terres diatomees i es renta el filtre amb MeOH (135 mL; 2 Vol). El filtrat s'escalfa a 40-45 ºC, s'ajusta el pH a 8-8,5 amb TEA i s'agita durant 45 min. Es refreda a 0-5 ºC i s'agita durant com a mínim 3 h. El sòlid resultant s'aïlla per filtració, es renta amb MeOH (132 mL; 2 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 45 °C durant 16 h. S'obtenen 39,5 g de **RL-9** com a sòlid blanc trencat amb una puresa cromatogràfica del 89,7 % (Rendiment: 67 %).

UHPLC: R_t= 4,7 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 551,4 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}9})}$+H]$^+$, calc: 551,2}; **^{1}H RMN:** (DMSO-d_6, 400 MHz) δ (ppm) 2,03 (s, 6 H, H-26, H-27), 3,47 (m, 1 H, H-5), 3,60 (m, 1 H, H-5), 4,09 (s, 3 H, H-19), 5,18 (d, $^2J_{12a\text{-}12b}$ = 15 Hz, 1 H, H-12a), 5,39 (d, $^2J_{12b\text{-}12a}$ = 15 Hz, 1 H, H-12b), 5,44 (s, 2 H, NH anilina), 6,62 (d, $^3J_{9/10\text{-}7/8}$ = 9 Hz, 2 H, H-9, H-10), 7,14 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-16, H-17); 7,25 (d, $^3J_{7/8\text{-}9/10}$ = 9 Hz, 2 H, H-7, H-8), 7,45 (d, $^3J_{21\text{-}22}$ = 9 Hz, 1 H, H-21), 7,47 (m, 1 H, H-18), 7,74 (d, $^3J_{22\text{-}21}$ = 9 Hz, 1 H, H-22); **^{13}C RMN:** (DMSO-d_6, 100 MHz) δ (ppm) 40,9 (C-12), 44,9 (C-26, C-27), 52,8 (C-5), 54,9 (C-19), 110,5 (t, $^2J_{13\text{-}F}$ = 18 Hz, C-13), 111,9 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 5 Hz, C-16, C-17), 113,8 (C-9, C-10), 114,5 (C-1), 118,3 (C-2), 119,5 (C-21), 130,2 (C-6), 130,5 (C-7, C-8), 131,1 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 11 Hz, C-18), 131,7 (C-22), 134,3 (C-4), 149,3 (C-11), 149,34 (C-3), 150,1 (C-23), 151,8 (C-25), 157,8 (C-24), 161,0 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 249 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 8 Hz, C-14, C-15), 164,9 (C-20).

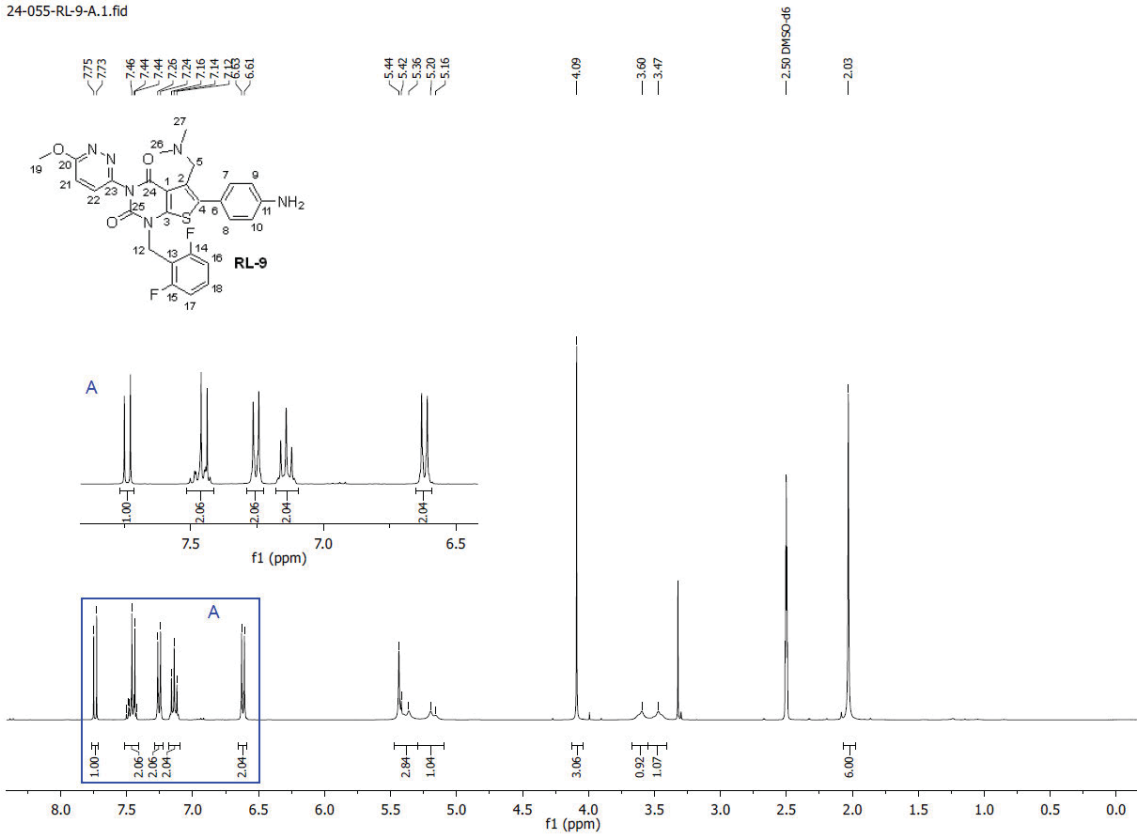


Figura 97: *Espectre ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-9****.*

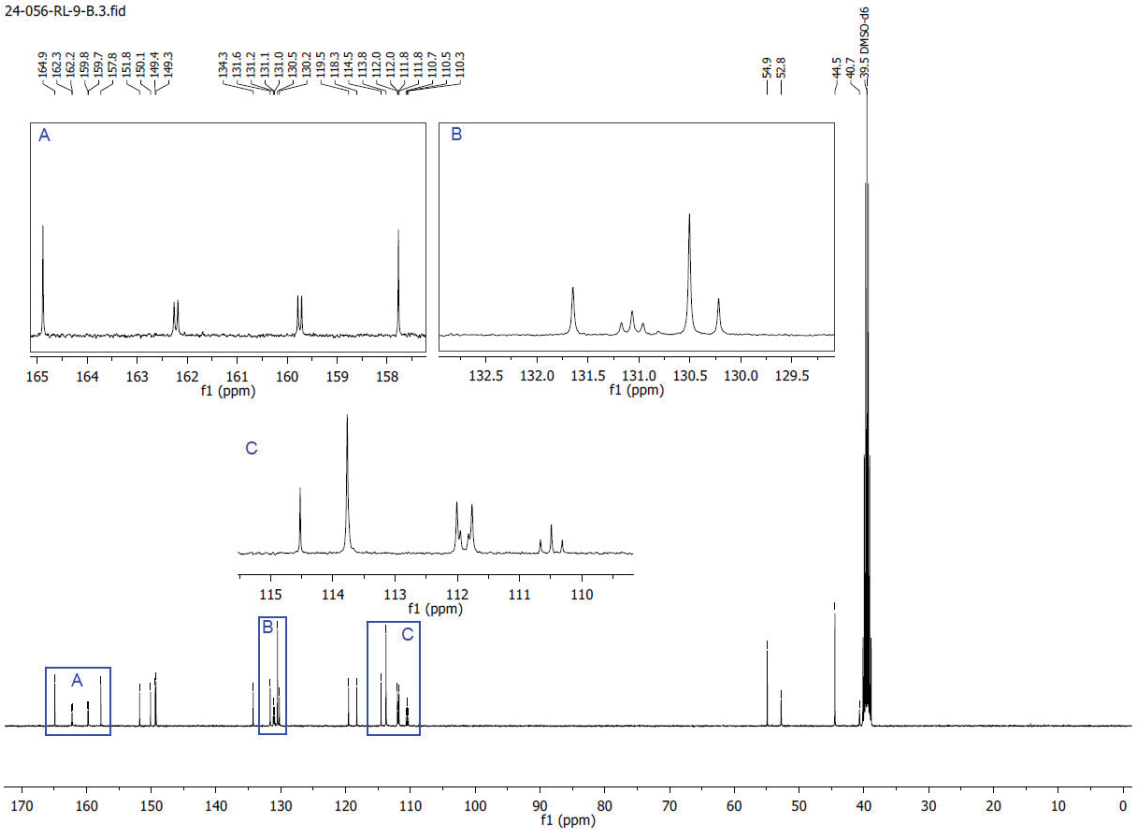
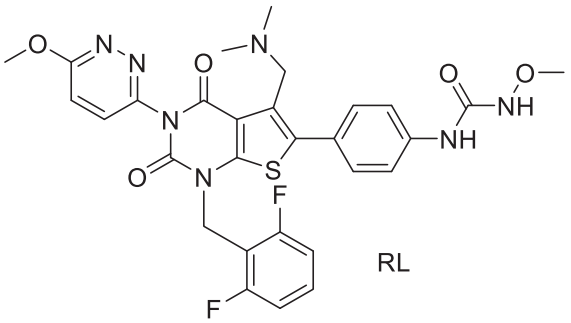


Figura 98: *Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) de* ***RL-9****.*

*Síntesi de 1-{4-[1-(2,6-difluorobenzil)-5-dimetilaminometil-3-(6-metoxi piridazina-3-il)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotien[2,3-d]pirimidin-6-il]fenil} -3-metoxiurea (**RL**).*



RL

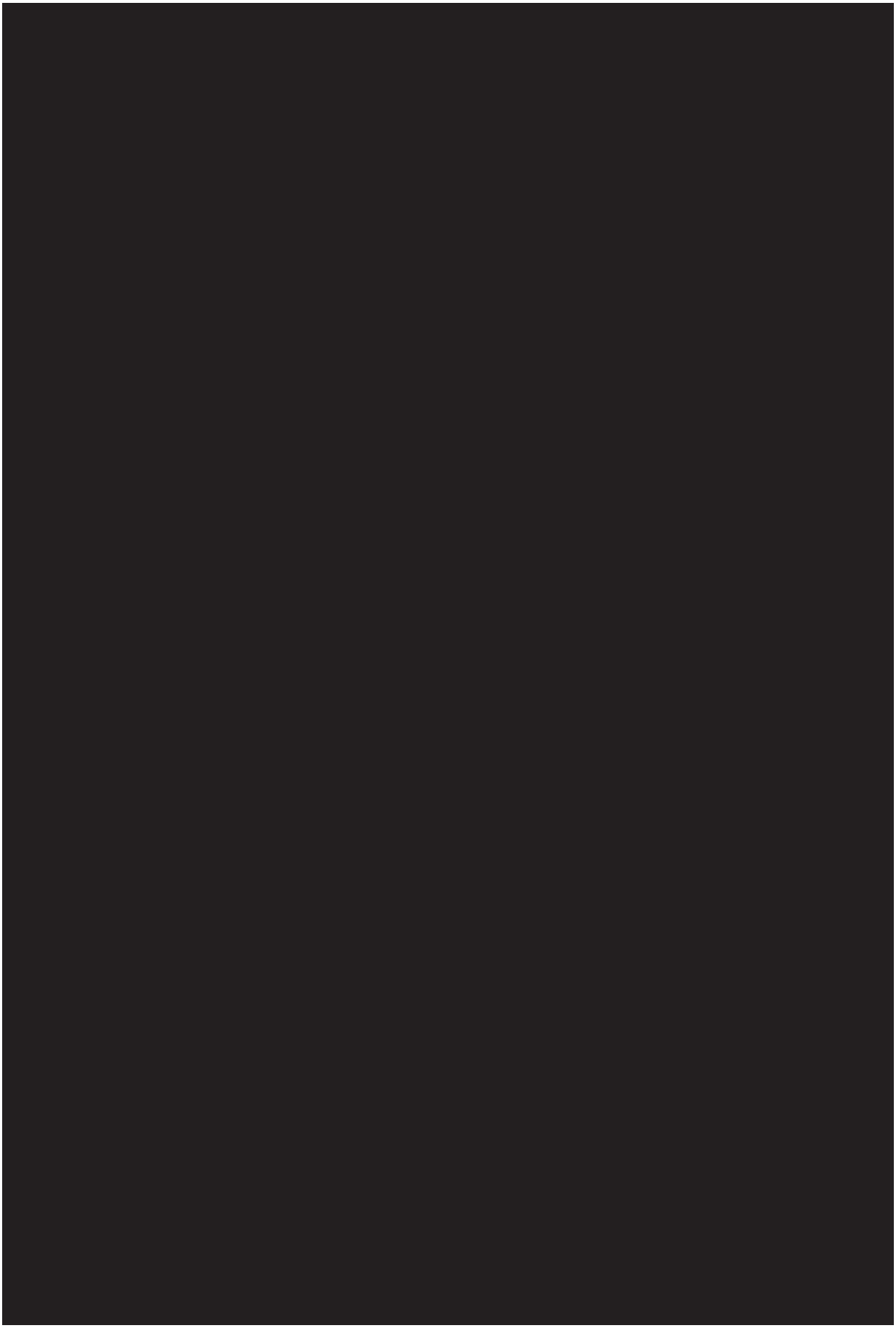
En un matràs de 3 boques de 250 mL amb agitació mecànica es col·loca CDI (2,5 g; 15 mmol; 1,7 eq.) amb ACN (15 mL; 6 Vol). Se li addiciona TEA (0,8 g; 8 mmol; 0,85 eq.) i es refreda la mescla a 0-5 ºC. S'addiciona en diverses porcions clorhidrat de metoxiamina (1,45 g; 17 mmol; 1,91 eq.) assegurant que la temperatura de la mescla sigui ≤5 °C. El recipient de pesada emprat es renta amb ACN (2,5 mL; 1 Vol). La suspensió s'agita a 20-25 ºC i un cop es comprova la completa dissolució, es carrega **RL-9** (5,0 g; 9 mmol; 1eq.) en diverses porcions. El recipient de pesada es torna a rentar amb ACN (2,5 mL; 1 Vol). La mescla resultant s'agita durant 16 h a 55-60 ºC. Un cop es confirma conversió completa, se li afegeix TEA (1,18 g; 12 mmol; 1,28 eq.). Seguidament, es carrega gradualment aigua (20 mL; 8 Vol) a 45-50 °C i es manté l'agitació durant 1 h. Es torna a addicionar aigua (50 mL; 20 Vol) de forma gradual i un cop acabada l'addició es refreda a 20-25 ºC i s'agita durant 1 h. El producte s'aïlla per filtració i es renta amb aigua / ACN (relació 4 : 1; 10 mL; 5 Vol). El sòlid resultant s'asseca a l'estufa de buit a 45 °C durant 5 h, obtenint-se **RL** en la forma hemihidratada. Es dissol amb 2,3 Vol de DMSO a 40-45 ºC i un cop es comprova la completa dissolució se li afegeixen 2,3 Vol d'etanol absolut. La dissolució resultant es filtra, es reescalfa a 40-45 ºC i se li addicionen 13,4 Vol d'etanol absolut de forma progressiva. Acabada l'addició es refreda a 20-25 ºC i es deixa agitar durant 16 h. El producte s'aïlla per filtració i rentat amb 2 Vol d'etanol absolut. El sòlid resultant s'asseca a l'estufa de buit a 50 °C durant 16 h, obtenint-se 4,13 g de **RL** com a sòlid blanc amb una puresa cromatogràfica del 98,4 % (Rendiment: 82 %).

UHPLC: R_t= 4,6 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 551,4 {($[M_{(\mathbf{RL})}+H]^+$, calc: 551,2}; **Difracció de raigs-X:** 2Theta: 6,4 º; 7,0 º; 7,5 º; 9,4 º; 10,2 º; 12,1 º; 12,9 º; 16,6 º; 18,0 º; 19,3 º; 20,3 º; 21,1 º; 23,1 º; 24,0 º; 26,3 º; 27,4 º (Forma R1).[105]

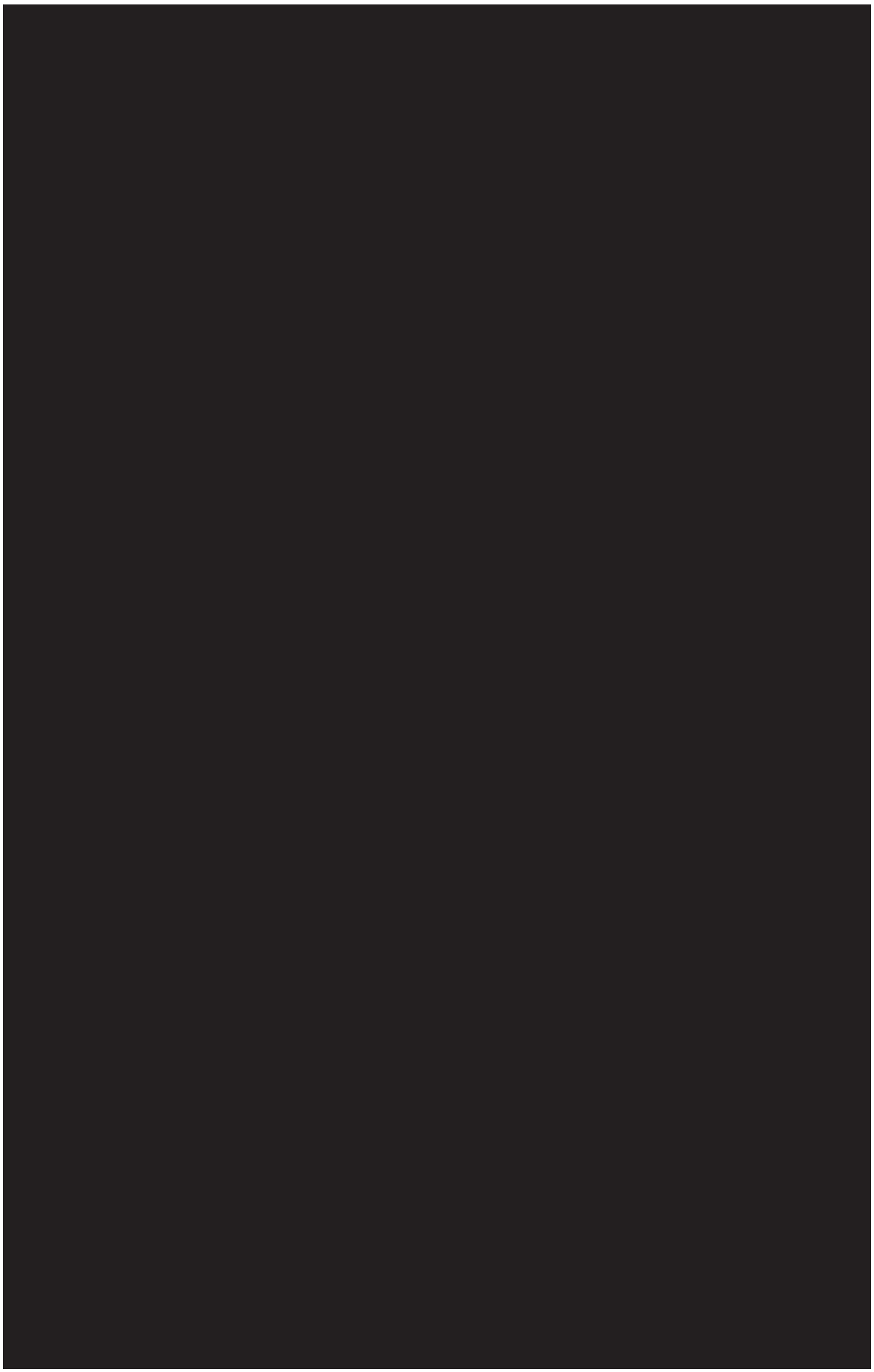






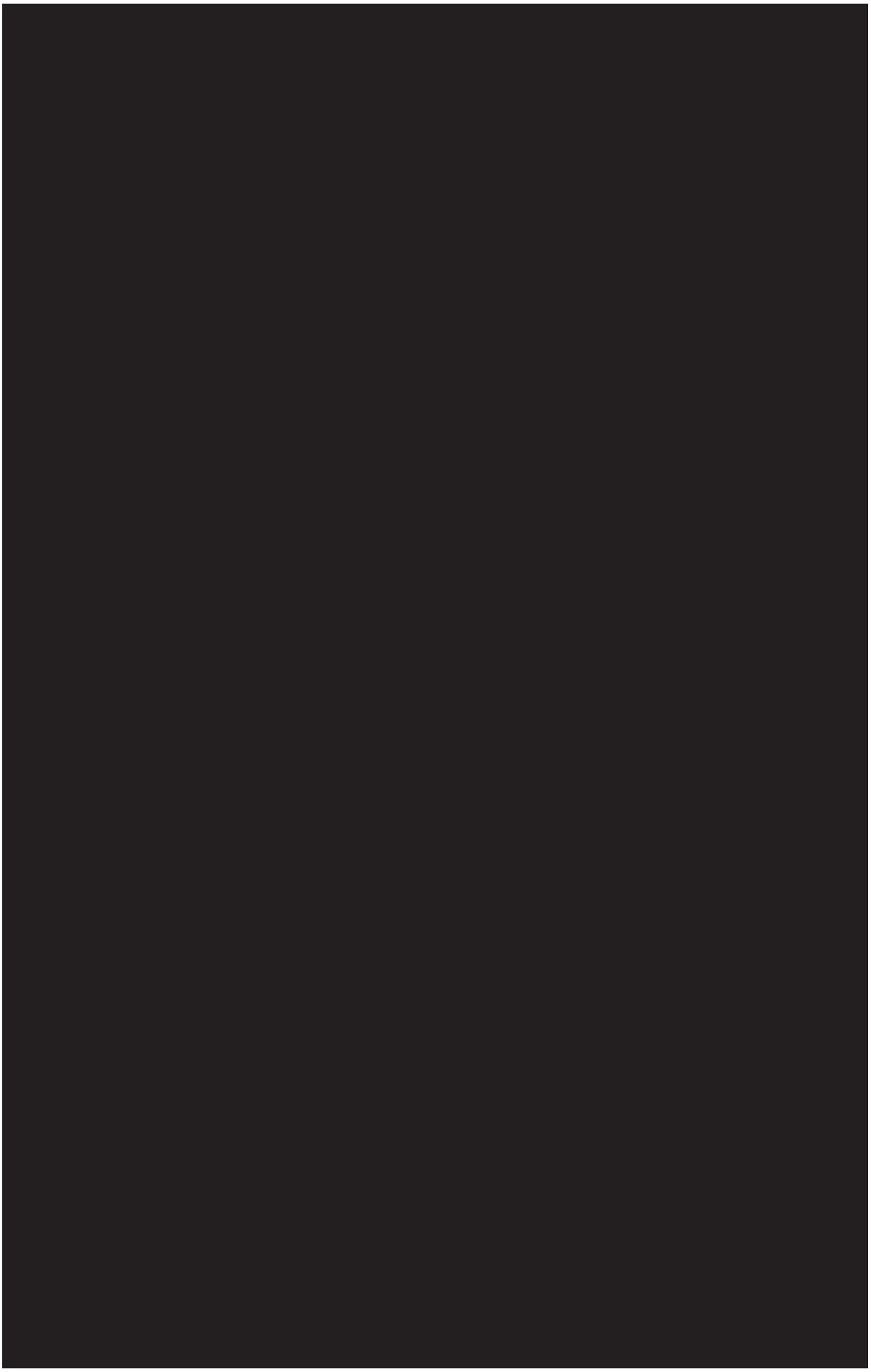






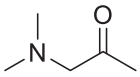






5.3.3 RoS C

*Síntesi de 1-(dimetilamino)propan-2-ona (**RL-13**).*



RL-13

En un matràs de 3 boques de 250 mL amb agitació mecànica s'addiciona dimetilamina 2 M en THF (46,4 mL; 93 mmol; 2,10 eq.) i THF anhidre (22 mL; 5 Vol). Seguidament, a temperatura ambient s'addiciona progressivament cloroacetona (3,70 mL, 44 mmol; 1 eq.) i s'agita durant 16 h. La suspensió es filtra i es concentra a sequedat, donant lloc a un oli marró. S'obtenen 2,52 g de **RL-13** amb una puresa cromatogràfica del 99,5 % (Rendiment: 54 %).

GC-FID: R_t= 7,2 min (Mètode 1); **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 250 MHz) δ (ppm) 2,13 (s, 3 H, H-1), 2,28 (s, 6 H, H-4, H-5), 3,14 (s, 2 H, H-3).

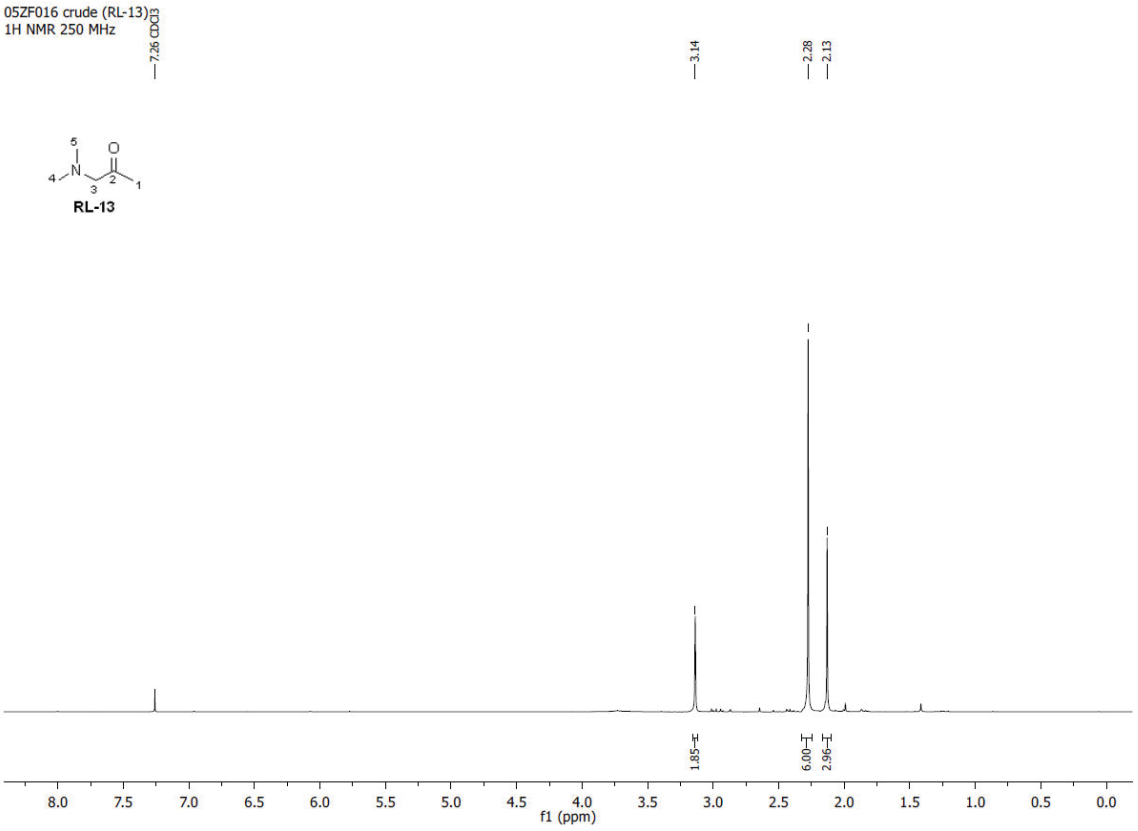
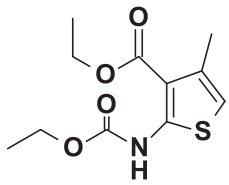


***Figura 105:** Espectre ^{1}H RMN (250 MHz, $CDCl_3$) de **RL-13**.*

5.3.4 RoS D

*Síntesi de 2-(etoxicarbonilamino)-4-metil-tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-36**).*



RL-36

En un matràs de 3 boques de 500 mL amb agitació mecànica s'afegeix 2-amino-4-metil-tiofen-3-carboxilat d'etil, **RL-23** (50,0 g; 270 mmol; 1 eq.) i toluè (400 mL; 8 Vol). A la dissolució resultant s'addiciona gradualment cloroformiat d'etil (51,6 mL; 540 mmol; 2 eq.) i s'escalfa a reflux durant 2 h. Es refreda temperatura ambient i es concentra a sequedat fent arrossegaments amb Et_2O (2 x 150 mL), donant lloc a 71,18 g d'un sòlid taronja. Se li afegeix etanol absolut (50 mL; 1 Vol) i s'agita durant 30 min a 55-60 ºC. Es deixa refredar a 20-25 ºC i es deixa agitar durant 2 h. El sòlid resultant s'aïlla per filtració, es renta amb etanol absolut (2 x 20mL; 2 x 0,4 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 40 °C durant 16 h. S'obtenen 61,7 g de **RL-36** com a sòlid color beix amb una puresa cromatogràfica del 100,0 % (Rendiment: 89 %).

UHPLC: R_t= 6,3 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 257,9 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}36})}+H]^+$, calc: 258,1}; 256,1 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}36})}-H]^-$, calc: 256,1}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,33 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 1,38 (t, $^3J_{11\text{-}10}$ = 7 Hz, 3 H, H-11), 2,34 (d, $^4J_{6\text{-}7}$ = 1 Hz, 3 H, H-6), 4,28 (q, $^3J_{2\text{-}1}$ = 7 Hz, 2 H, H-2), 4,34 (q, $^3J_{10\text{-}11}$ = 7 Hz, 2 H, H-10), 6,32 (s, 1 H, H-7), 10,53 (s, 1 H, NH); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,4 (C-11), 14,6 (C-1), 18,2 (C-6), 60,6 (C-10), 62,4 (C-2), 111,3 (C-4), 111,5 (C-7), 135,3 (C-5), 152,4 (C-8), 153,3 (C-9), 166,4 (C-3).

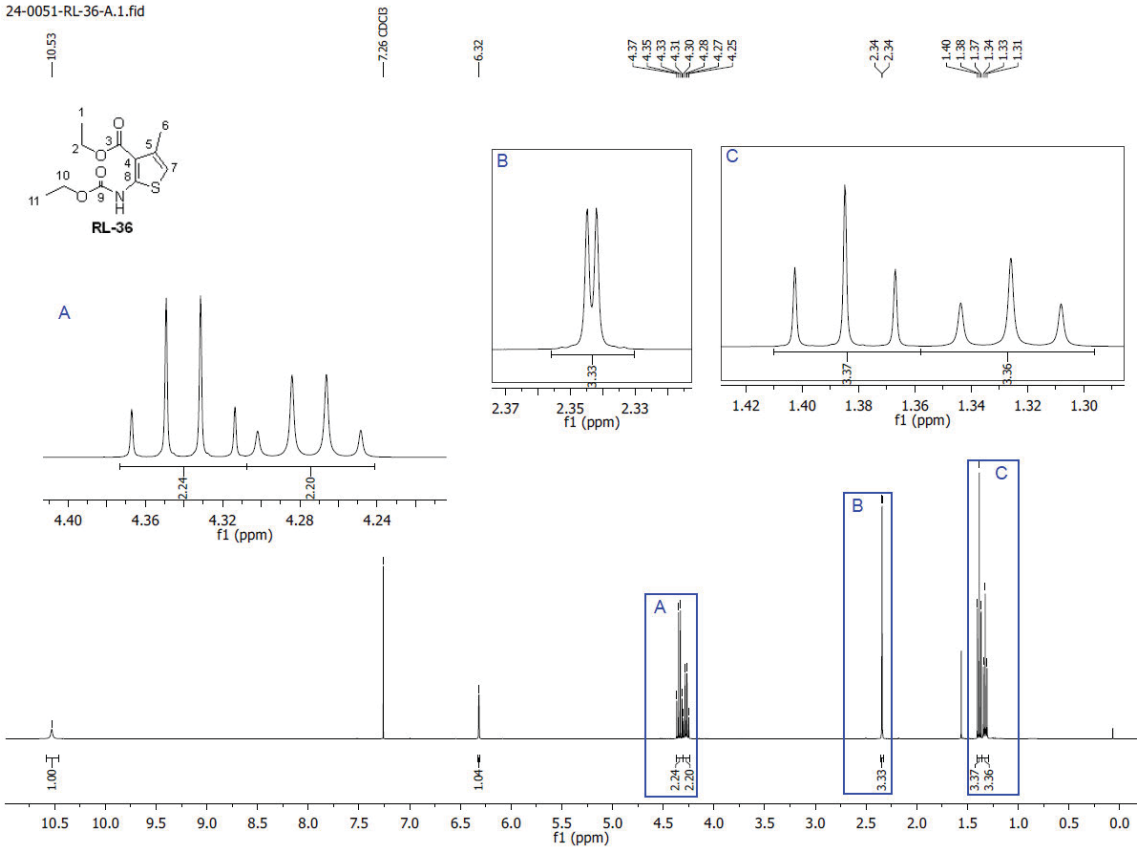


***Figura 106**: Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de **RL-36**.*

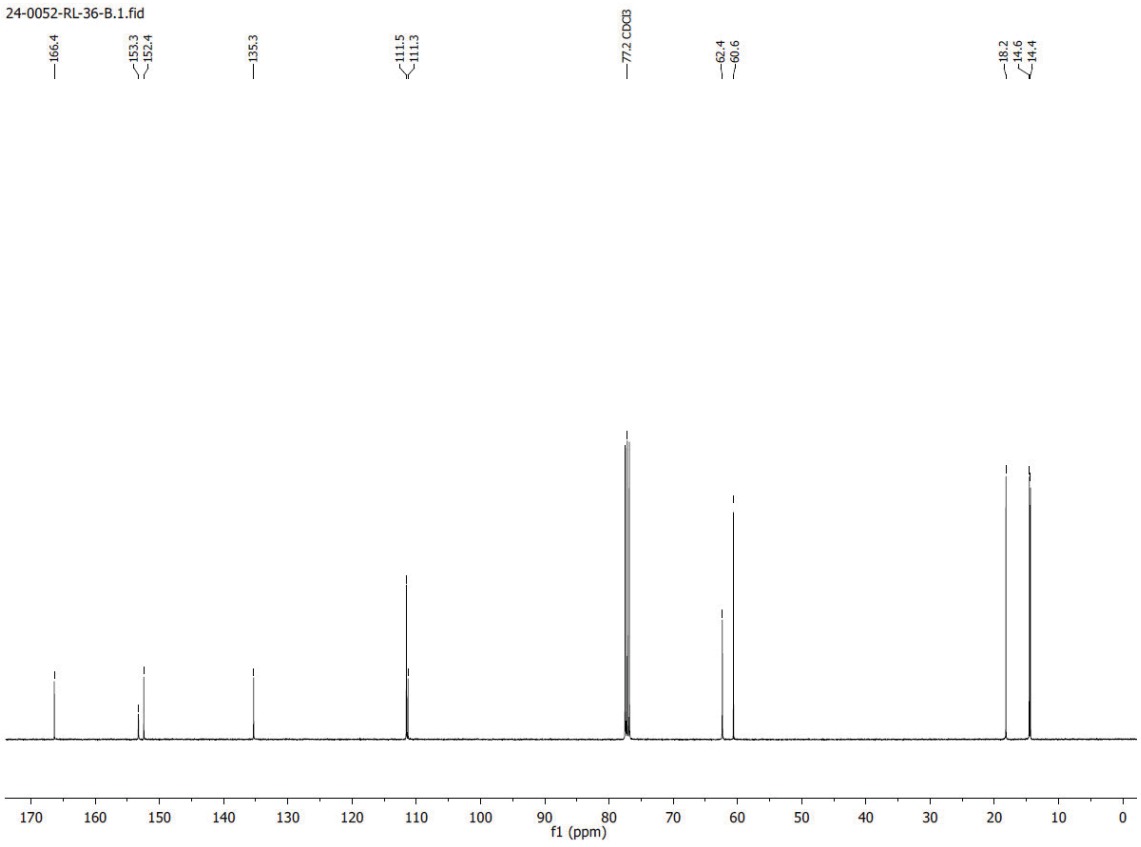
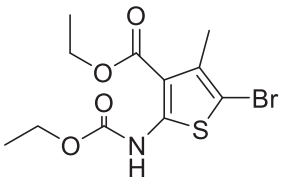


***Figura 107:** Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de **RL-36**.*

*Síntesi de 5-bromo-2-(etoxicarbonilamino)-4-metil-tiofen-3-carboxilat (**RL-37 B**).*



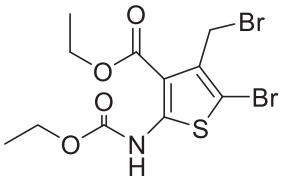
RL-37 B

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-36** (2,0 g; 8 mmol; 1 eq.), NBS (1,4 g; 8 mmol; 1 eq.), AIBN (0,1 g; 1 mmol; 0,1 eq.) i AcOEt (16 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 20-25 ºC durant 2 h. S'afegeix aigua (50 mL; 25 vol) per aturar la reacció i s'agita durant 15 min. Se li addiciona més AcOEt (34 mL; 17 Vol). La fase orgànica es renta amb aigua (2 x 50 mL; 2 x 25 Vol), es decanta la fase d'acetat, es concentra a sequedat fent arrossegaments amb DCM (2 x 50 mL; 2 x 25 Vol), obtenint-se un oli marró. S'obtenen 2,2 g de **RL-37** amb una puresa cromatogràfica del 98,2 % (Rendiment: 99 %).

Alternativament, emprant les mateixes condicions i quantitats però sense utilitzar AIBN, s'obtenen 2,4 g de **RL-37** amb una puresa cromatogràfica del 99,4 % (Rendiment: 99 %).

UHPLC: R_t= 6,8 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 336,1 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}37})}]^+$, calc: 336,0}; 338,1 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}37})}+2]^+$, calc: 338,0}; 334,0 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}37})}]^-$, calc: 334,0}; 336,0 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}37})}+2]^-$, calc: 336,0}.

*Síntesi de 5-bromo-4-(bromometil)-2-(etoxicarbonilamino)tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-38**).*



RL-38

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-36** (2 g; 8 mmol; 1 eq.), NBS (2,8 g; 16 mmol; 2 eq.), AIBN (0,1 g; 1 mmol; 0,1 eq.) i AcOEt (120 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 35-40 ºC durant 16 h. El sòlid resultant s'aïlla per filtració, es renta amb AcOEt (2 x 10mL; 2 x5 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 40 °C durant 2 h. Se li afegeix AcOEt (6 mL; 3 Vol) i s'escalfa a 65-70 ºC durant 10 min fins a dissolució completa. Es refreda la dissolució a 20-25 ºC i s'agita durant 3 h. El sòlid resultant s'aïlla per filtració, es renta amb AcOEt (2 x 1,5 mL; 2 x 0,75 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 40 °C durant 16 h. S'obtenen 2,9 g de **RL-38** com a sòlid color taronja amb una puresa cromatogràfica del 99,5 % (Rendiment: 91 %).

UHPLC: R_t= 7,0 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 413,7 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}38})}$]$^+$, calc: 413,9}; 415,7 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}38})}$+2]$^+$, calc: 415,9}; 417,8 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}38})}$+4]$^+$, calc: 417,9}; 411,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}38})}$]$^-$, calc: 411,9}; 413,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}38})}$+2]$^-$, calc: 413,9}; 416,0 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}38})}$+4]$^-$, calc: 415,9}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,33 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 1,45 (t, $^3J_{11\text{-}10}$ = 7 Hz, 3 H, H-11), 4,29 (q, $^3J_{2\text{-}1}$ = 7 Hz, 2 H, H-2), 4,41 (q, $^3J_{10\text{-}11}$ = 7 Hz, 2 H, H-10), 4,72 (s, 2 H, H-6), 10,61 (s, 1 H, NH); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,2 (C-11), 14,5 (C-1), 26,8 (C-6), 61,5 (C-10), 63,0 (C-2), 106,9 (C-7), 109,0 (C-4), 133,2 (C-5), 152,5 (C-8), 153,4 (C-9), 164,5 (C-3).

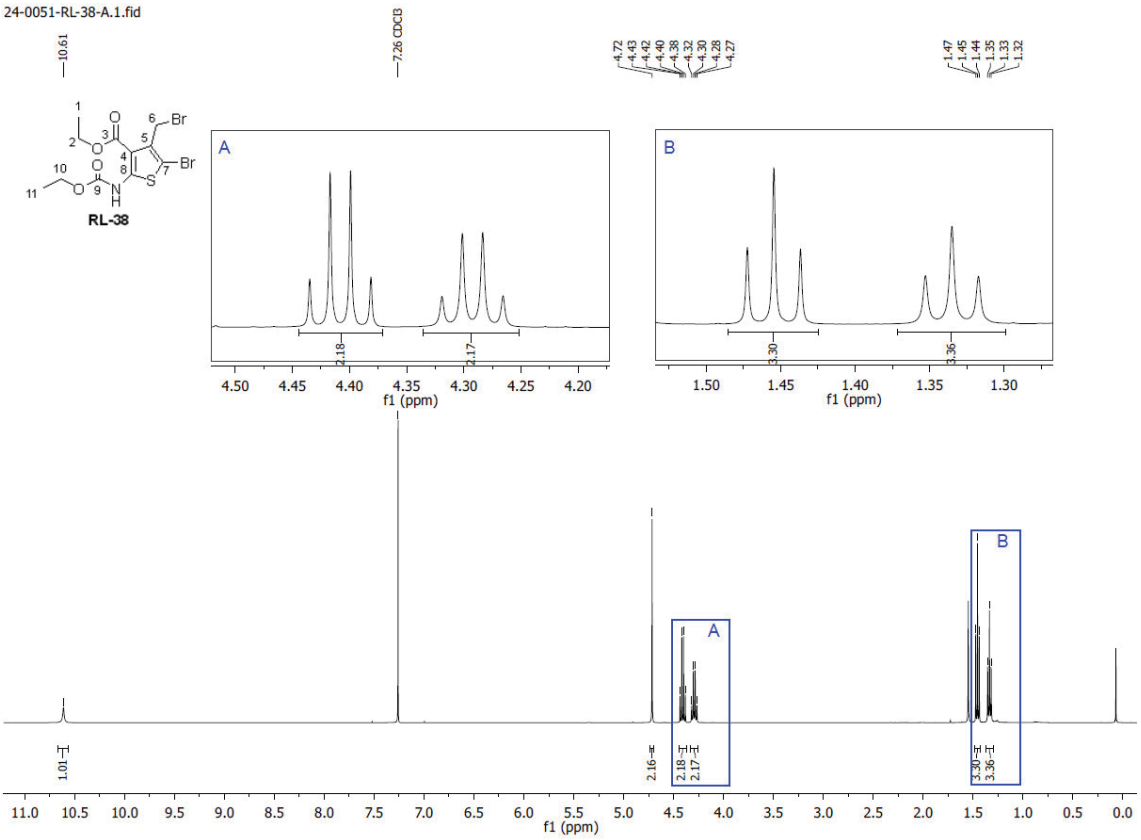


Figura 108: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-38****.*

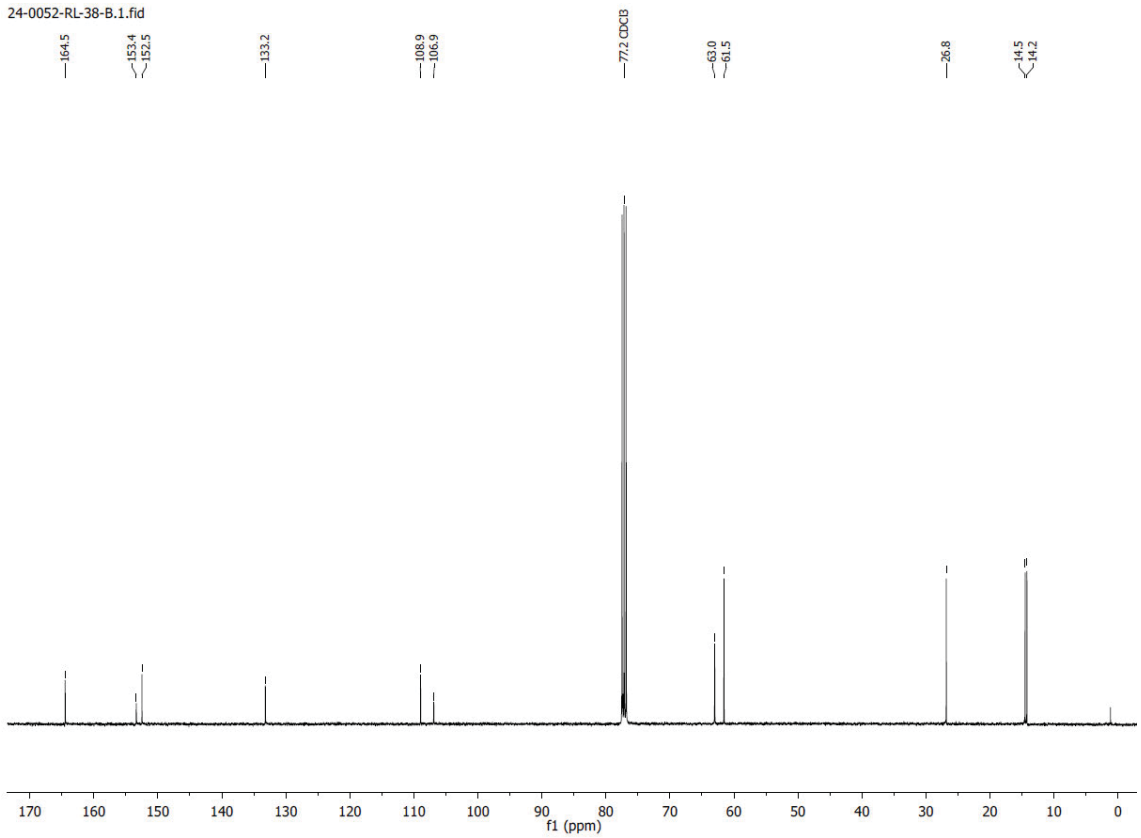
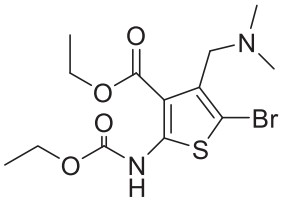


Figura 109: *Espectre ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-38****.*

*Síntesi de 5-bromo-4-[(dimetilamino)metil]-2-(etoxicarbonilamino)tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-39**).*



RL-39

En un matràs de 3 boques de 500 mL amb agitació mecànica s'addiciona dimetilamina 2 M en THF (98 mL; 196 mmol; 3,50 eq.). Seguidament, a temperatura ambient s'addiciona progressivament **RL-38** (23,4 g; 56 mmol; 1 eq.) dissolt en THF anhidre (117 mL; 5 Vol) i s'agita durant 2 h. La suspensió es filtra i es concentra a sequedat, donant lloc a un oli marró. Aquest es dissol en DCM (50 mL; 2,1 Vol) i es renta amb aigua (2 x 50 mL; 2 x 2,1 Vol). La fase orgànica resultant es concentra a sequedat, donant 17,9 g de **RL-39** com a sòlid beix amb una puresa cromatogràfica del 99,0 % (Rendiment: 84 %).

UHPLC: R_t= 4,6 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 379,3 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}39})}]^+$, calc: 379,0}; 381,3 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}39})}+2]^+$, calc: 381,0}; 377,2 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}39})}]^-$, calc: 377,0}; 379,1 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}39})}+2]^-$, calc: 379,0}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,33 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 1,41 (t, $^3J_{11\text{-}10}$ = 7 Hz, 3 H, H-11), 2,25 (s, 6 H, H-12, H-13), 3,56 (s, 2 H, H-6), 4,28 (q, $^3J_{2\text{-}1}$ = 7 Hz, 2 H, H-2), 4,37 (q, $^3J_{10\text{-}11}$ = 7 Hz, 2 H, H-10), 10,59 (s, 1 H, NH); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,4 (C-11), 14,5 (C-1), 45,6 (C-12, C-13), 56,1 (C-6), 61,2 (C-10), 62,8 (C-2), 105,1 (C-7), 110,6 (C-4), 134,3 (C-5), 151,8 (C-8), 153,4 (C-9), 165,2 (C-3).

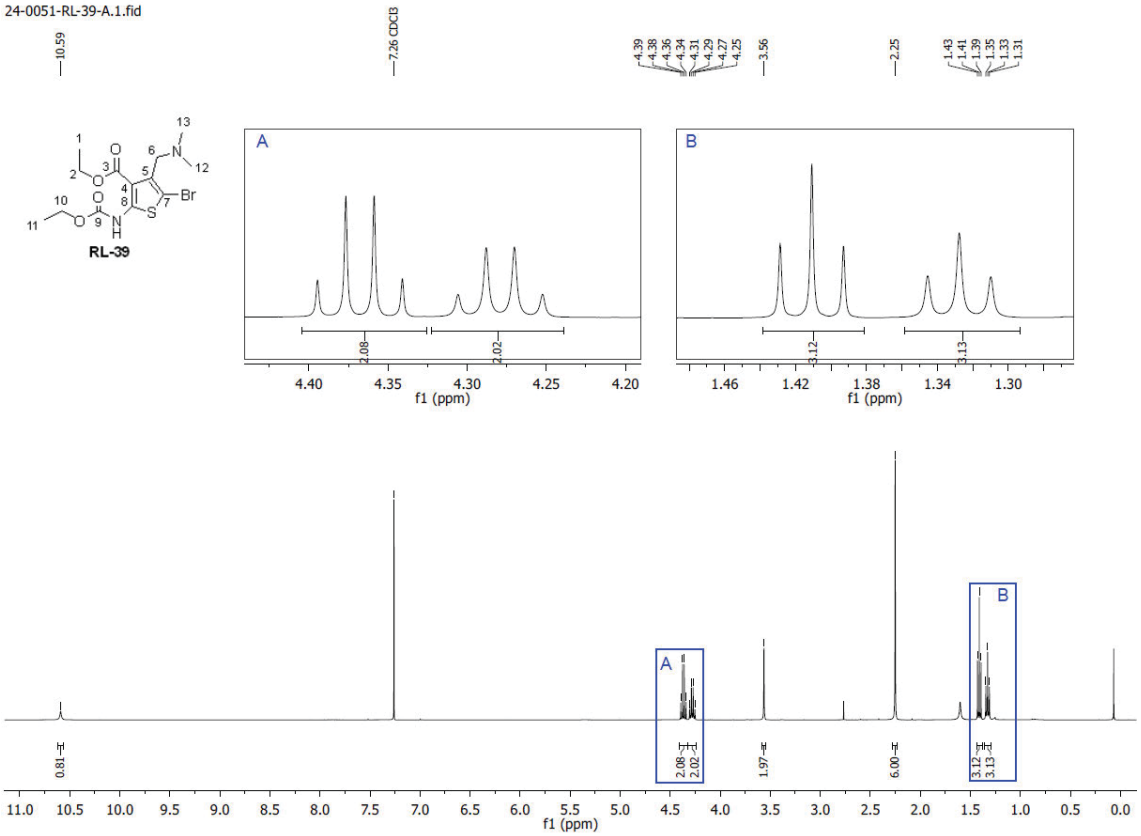


Figura 110: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-39****.*

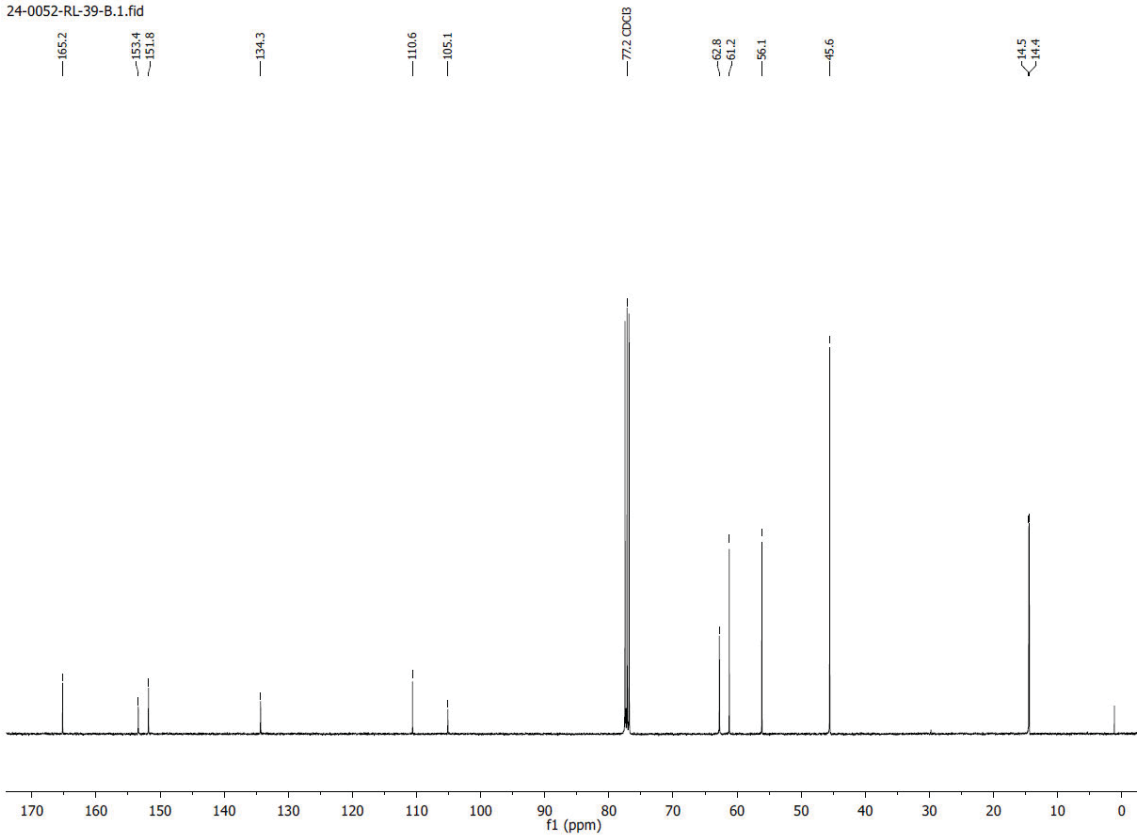
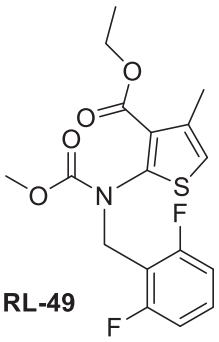


Figura 111: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-39****.*

*Síntesi de 2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonil-amino]-4-metil-tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-49**).*



RL-49

En un matràs de 3 boques de 1 L amb agitació mecànica s'afegeix **RL-36** (100 g; 389 mmol; 1 eq.), K_2CO_3 (107;4 g; 777 mmol; 2 eq.) i DMAc (300 mL; 3 Vol), agitant la mescla a 20-25 ºC durant 15 min. S'afegeix **RL-3** (89,4 g; 428 mmol; 1,1 eq.) dissolt en ACN (143 mL; 1,4 Vol). La mescla resultant s'agita 4 h a 85-90 ºC i es refreda a 20-25 ºC. S'extreu el producte amb AcOEt (500 mL; 5 Vol) i es renta la fase orgànica amb aigua (500 mL; 5 Vol). Se separen la fase aquosa i la interfase, i s'extreuen amb AcO*i*Pr (100 mL; 1 Vol). Les fases orgàniques resultants s'uneixen, es renten amb aigua (400 mL i 250 mL; 4 Vol i 2,5 Vol) i es concentren a sequedat. S'obtenen 133,8 g de **RL-49** com a oli groc amb una puresa cromatogràfica del 92,4 % (Rendiment: superior al 100 %). No es purifica.

UHPLC: R_t= 6,1 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 384,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}49})}$+H]$^+$, calc: 384,1}; 382,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}49})}$-H]$^-$, calc: 382,1}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,14 (t, $^3J_{11\text{-}10}$ = 7 Hz, 3 H, H-11), 1,31 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 2,35 (d, 3 H, H-6), 4,14 (m, 2 H, H-10), 4,22 (q, $^3J_{2\text{-}1}$ = 7 Hz, 2 H, H-2), 4,94 (s, 2 H, H-12), 6,67 (s, 1 H, H-7), 6,82 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-16, H-17), 7,22 (m, 1 H, H-18) ; **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,2 (C-1), 14,6 (C-11), 17,6 (C-6), 42,4 (C-12), 60,6 (C-2), 62,4 (C-10), 111,3 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 6 Hz, C-16, C-17), 112,5 (t, $^2J_{13\text{-}F}$ = 18 Hz, C-13), 119,1 (C-4), 127,4 (C-7), 130,0 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 10 Hz, H-18), 137,9 (C-5), 148,8 (C-8), 155,3 (C-9), 162,1 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 250 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 8 Hz, C-14, C-15), 162,6 (C-3).

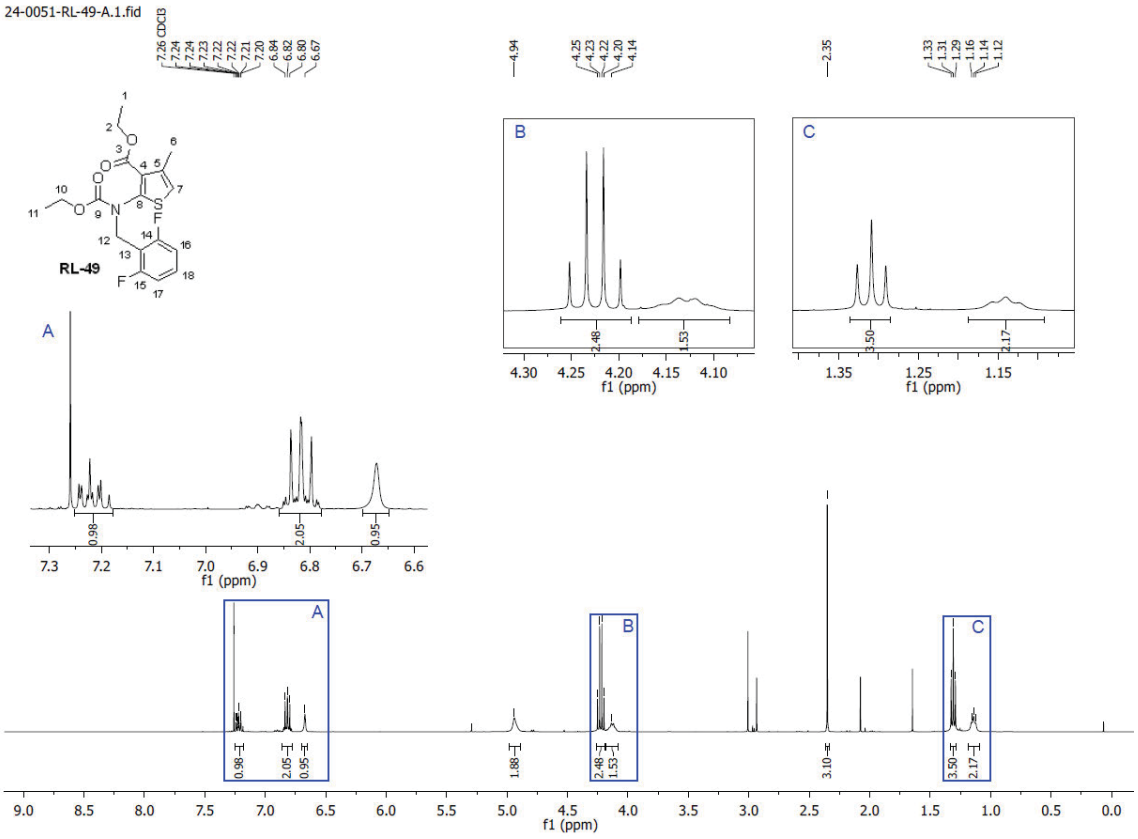


Figura 112: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-49****.*

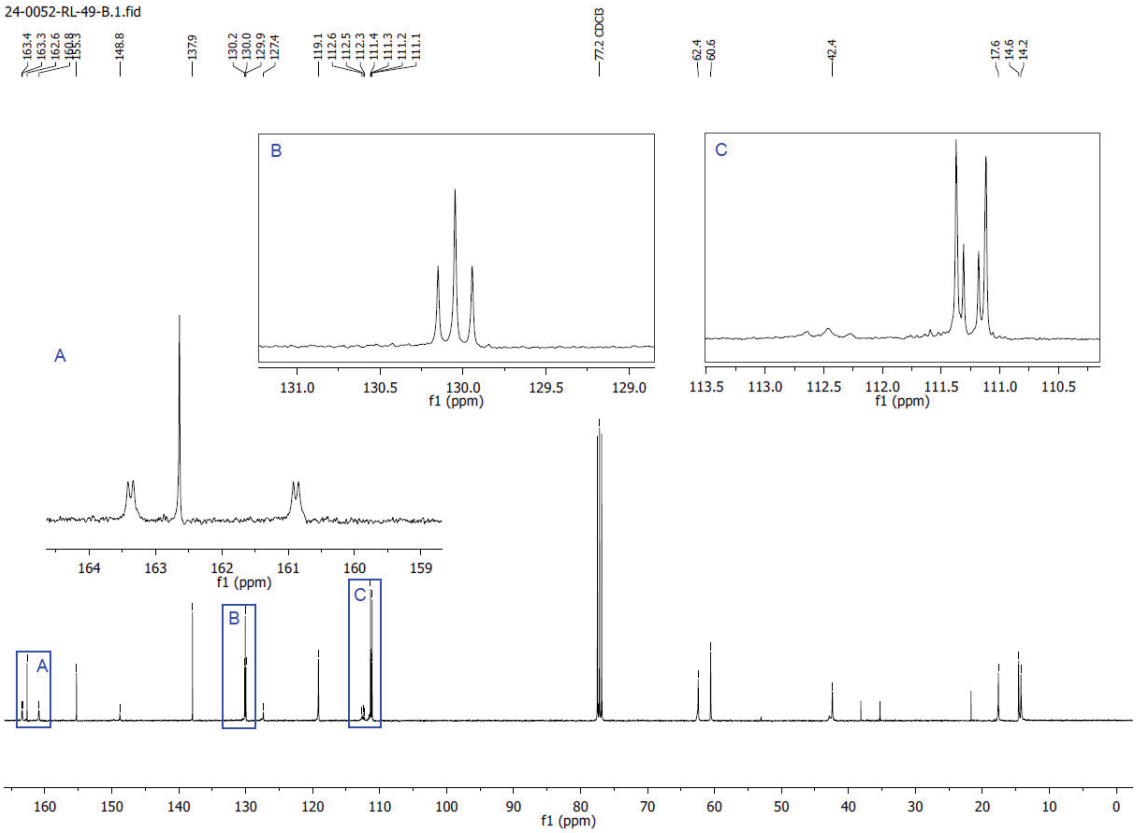
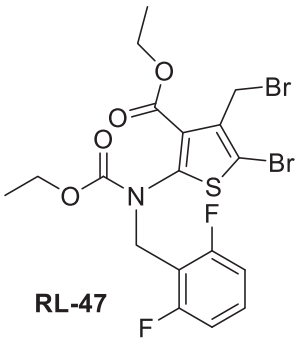


Figura 113: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-49****.*

*Síntesi de 5-bromo-4-(bromometil)-2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonil-amino]tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-47**).*



RL-47

En un matràs de 3 boques de 500 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-49** (50 g; 130 mmol; 1 eq.), NBS (92,8 g; 522 mmol; 4 eq.), AIBN (2,1 g; 13 mmol; 0,1 eq.) i AcOEt (250 mL; 5 Vol). La mescla resultant s'agita a 45-50 ºC durant 16 h. La mescla es refreda a 20-25 ºC i s'aboca sobre aigua (500 mL; 10 Vol), afegint a continuació AcOEt (250 mL; 5 Vol). S'agita 15 min i se separen les fases. La fase orgànica es renta amb aigua (2 x 500 mL; 2 x 10 Vol) i es concentra a sequedat donant lloc a un oli marró. Aquest es dissol en DCM (200 mL; 4 Vol), es renta amb tiosulfat de sodi 10 % (200 mL; 4 Vol) i aigua (3 x 200 mL; 3 x 4 Vol), per eliminar bé les traces de sofre. La fase orgànica resultant es concentra a sequedat, obtenint-se 68,6 g de **RL-47** com a oli marró amb una puresa cromatogràfica del 89,9 % (Rendiment: 97 %).

UHPLC: R_t= 6,7 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 539,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}47})}$]$^+$, calc: 539,9}; 541,5 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}47})}$+2]$^+$, calc: 541,9}; 543,7 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}47})}$+4]$^+$, calc: 543,9}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,16 (m, 3 H, H-11), 1,34 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 4,15 (m, 2 H, H-10), 4,28 (q, $^3J_{2\text{-}1}$ = 7 Hz, 2 H, H-2), 4,74 (s, 2 H, H-6), 4,91 (s, 2 H, H-12), 6,86 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-16, H-17), 7,27 (m, 1 H, H-18); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,1 (C-1), 14,5 (C-11), 25,3 (C-6), 42,4 (C-12), 61,5 (C-2), 62,9 (C-10), 111,4 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 6 Hz, 2 H, H-16, H-17), 112,8 (C-4), 119,2 (C-13), 126,9 (C-7), 130,5 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 10 Hz, C-18), 136,5 (C-5), 149,4 (C-8), 154,7 (C-9), 162,0 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 250 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 7 Hz, C-14, C-15), 161,0 (C-3).

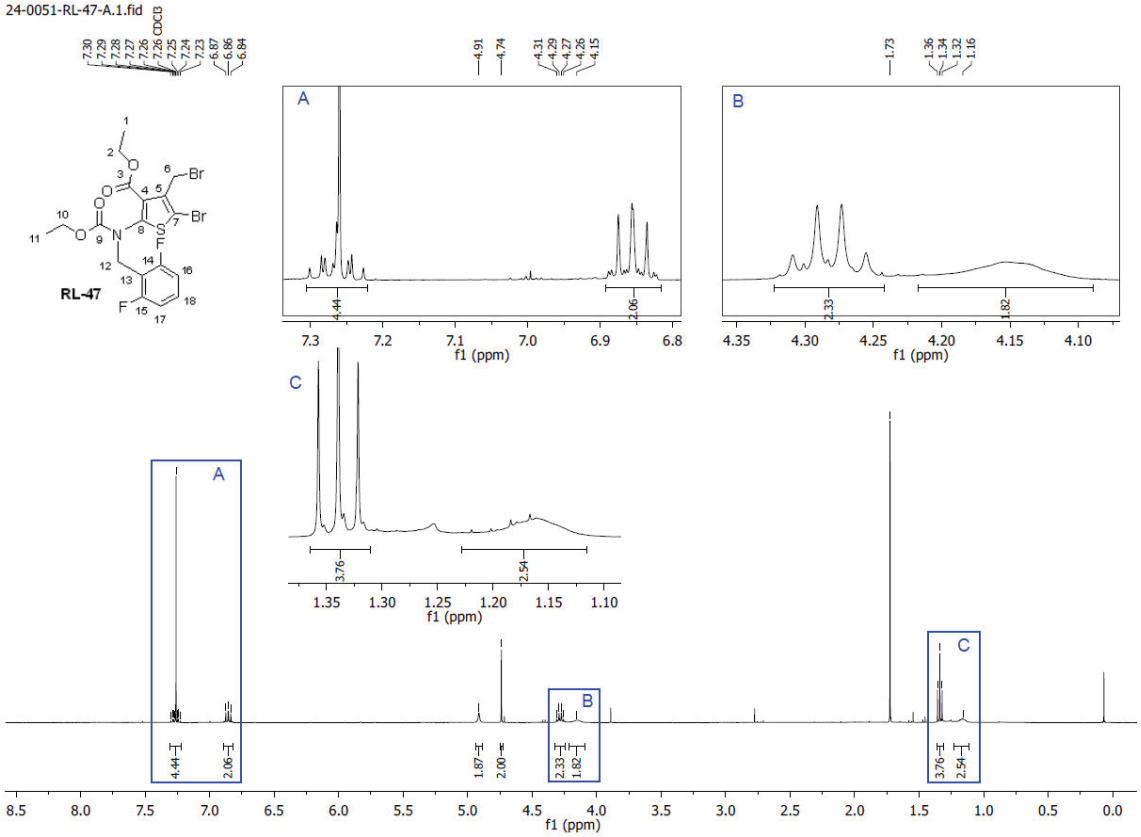


Figura 114: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-47****.*

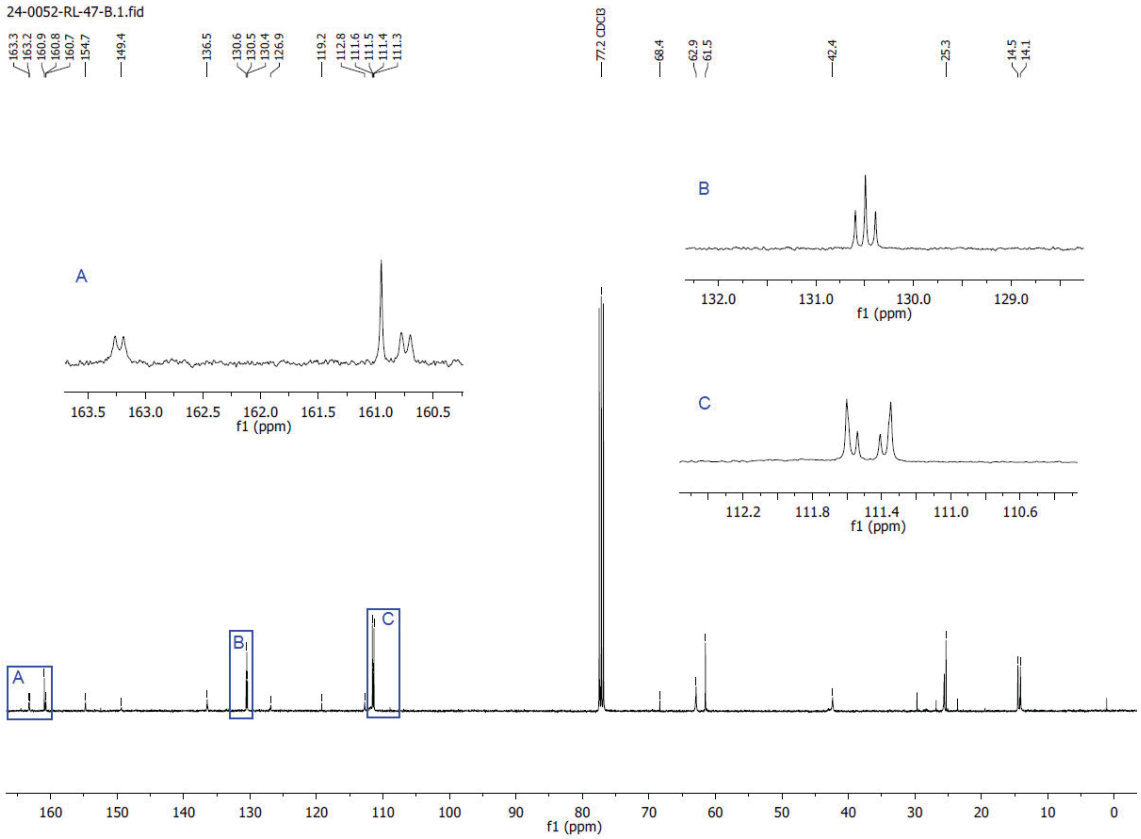
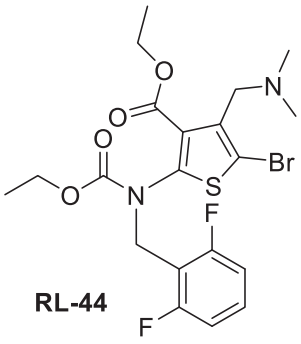


Figura 115: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-47****.*

*Síntesi de 5-bromo-2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonil-amino]-4-[(dimetil amino)metil]tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-44**).*



RL-44

En un matràs de 3 boques de 1 L amb agitació mecànica s'addiciona dimetilamina 2 M en THF (210,8 mL; 422 mmol; 3,50 eq.). Seguidament, a temperatura ambient s'addiciona progressivament **RL-47** (68,6 g; 121 mmol; 1 eq.) dissolt en THF anhidre (344 mL; 5 Vol) i s'agita durant 16 h. La suspensió es filtra i es concentra a sequedat, donant lloc a un oli marró. S'aïllen 66,4 g de **RL-44** amb una puresa cromatogràfica del 85,8 % (Rendiment: superior al 100 %).

UHPLC: R_t= 6,7 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 505,0 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}44})}$]$^+$, calc: 505,1}; 506,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}44})}$+2]$^+$, calc: 507,1}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,14 (m, 3 H, H-11), 1,29 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 2,23 (s, 6 H, H-12, H-13), 3,63 (s, 2 H, H-6), 4,14 (m, 2 H, H-10), 4,22 (q, $^3J_{2\text{-}1}$ = 7 Hz, 2 H, H-2), 4,92 (s, 2 H, H-14), 6,83 (dd, $^3J_{18/19\text{-}20}$ = $^3J_{18/19\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-18, H-19), 7,25 (m, 1 H, H-20); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,1 (C-1), 14,5 (C-11), 42,4 (C-14), 44,9 (C-12, C-13), 55,4 (C-6), 61,2 (C-2), 62,8 (C-10), 111,5 (C-4), 111,4 (dd, $^2J_{18/19\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{18/19\text{-}F}$ = 6 Hz, C-18, C-19), 119,2 (C-15), 129,3 (C-7), 130,3 (t, $^3J_{20\text{-}F}$ = 10 Hz, C-20), 136,8 (C-5), 147,1 (C-8), 154,9 (C-9), 162,0 (C-3), 162,1 (dd, $^1J_{16/17\text{-}F}$ = 250 Hz, $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, C-16, C-17).

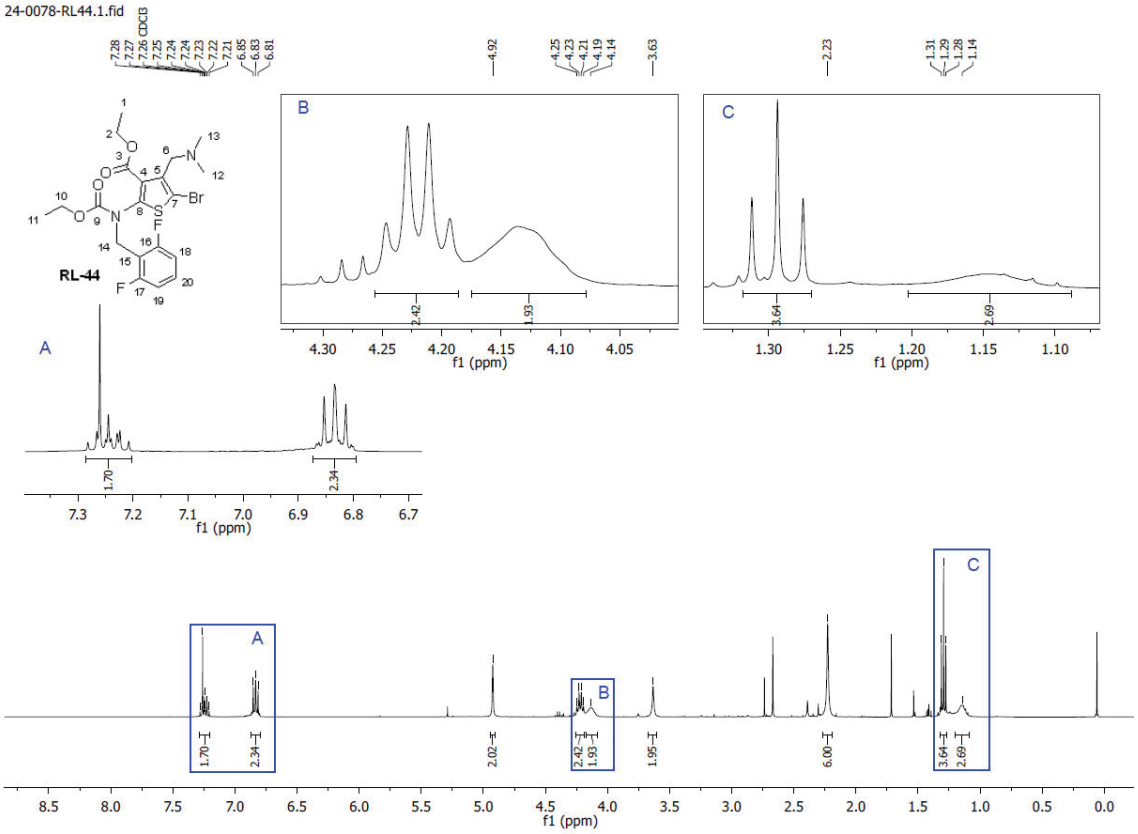


Figura 116: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-44****.*

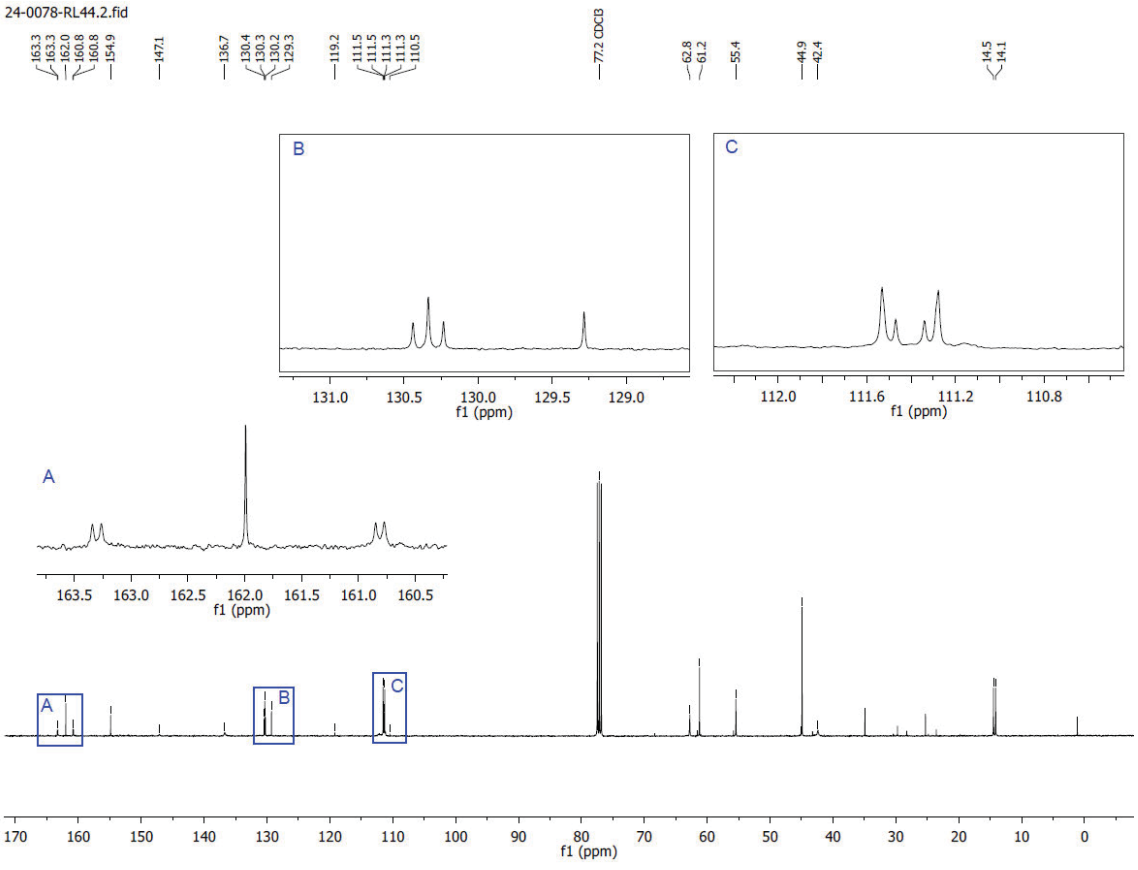
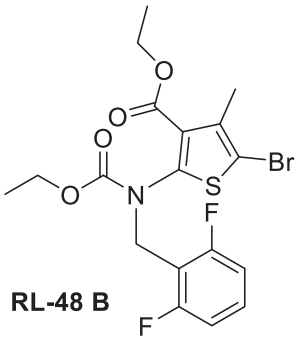


Figura 117: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-44****.*

*Síntesi de 5-bromo-2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonil-amino]-4-metil-tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-48 B**).*

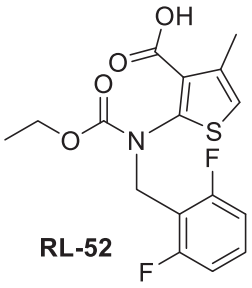


RL-48 B

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-49** (1,0 g; 2 mmol; 1 eq.), NBS (0,4 g; 2 mmol; 1 eq.), AIBN (40 mg; 0,2 mmol; 0,1 eq.) i AcOEt (8 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 20-25 ºC durant 4 h. S'afegeix aigua (15 mL; 15 vol) per aturar la reacció i s'agita durant 15 min. S'addiciona més AcOEt (10 mL; 10 Vol). La fase orgànica es renta amb aigua (2 x 20 mL; 2 x 20 Vol), es decanta la fase d'acetat, es concentra a sequedat fent arrossegaments amb DCM (2 x 50 mL; 2 x 50 Vol), obtenint-se un oli groc. S'obtenen 1,1 g de **RL-48** amb una puresa cromatogràfica del 96,9 % (Rendiment: 97 %).

UHPLC: R_t= 6,5 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 462,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}48\ B})}$]$^+$, calc: 462,0}; 464,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}48\ B})}$+2]$^+$, calc: 464,0}.

*Síntesi de l'àcid 2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonil-amino]-4-metil-tiofen-3-carboxílic (**RL-52**).*

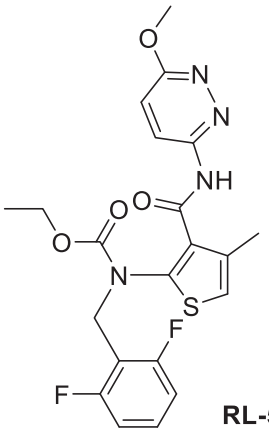


RL-52

En un matràs de 3 boques de 1 L amb agitació mecànica s'afegeix **RL-49** (50 g; 130 mmol; 1 eq.) en una mescla d'etanol absolut (450 mL; 9 Vol) i aigua (130 mL; 2,6 Vol) a 25 ºC. A continuació, s'addiciona una dissolució aquosa de KOH 50 % (22 g; 196 mmol; 1,5 eq.) i la mescla resultant s'agita durant 6 h a 55-60 ºC. Un cop s'esgota **RL-49**, la reacció es refreda a 20-25 ºC i s'ajusta el pH a 9,0 amb HCl 2 N. La mescla es concentra a pressió reduïda a 50 ºC per eliminar l'etanol del medi. S'afegeix aigua (100 mL, 2 Vol) i es renta la fase aquosa amb AcO^{i}Pr (2 x 100 mL; 2 x 2 Vol) per eliminar impureses no acídiques. S'ajusta el pH a 4-4,1 amb HCl 2 N i s'extreu el producte amb AcO^{i}Pr (2 x 100 mL; 2 x 2 Vol). Les fases orgàniques s'uneixen, es renten amb aigua (100 mL; 2 Vol), es concentren a sequedat i es fa un arrossegament amb DCM (100mL; 2 Vol), obtenint-se un oli marró. Se li afegeix ciclohexà (500 mL; 10 Vol) i s'agita 10 min a reflux. Es refreda a 20-25 ºC i s'agita durant 1 h. El sòlid s'aïlla per filtració, es renta amb ciclohexà (25 mL; 0,5 Vol) i s'asseca l'estufa de buit a 40 °C durant 5 h, obtenint-se 39,4 g de **RL-52** com a sòlid gris-violeta amb una puresa cromatogràfica del 97,1 % (Rendiment: 85 %).

UHPLC: R_t= 4,8 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 356,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}52})}$+H]$^+$, calc: 355,1}; 354,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}52})}$-H]$^-$, calc: 355,1}.

*Síntesi de N-[(2,6-difluorofenil)metil]-N-[3-[(6-metoxipiridazin-3-il)carbamoil]-4-metil-2-tienil]carbamat d'etil (**RL-53**).*



RL-53

En un matràs de 3 boques de 500 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-52** (36 g; 101 mmol; 1 eq.) en ACN (180 mL; 5 Vol). S'afegeix Oxyme Pure ® (14,4 g; 101 mmol; 1 eq.) en ACN (2 x 2 mL; 0,05 Vol). A continuació, s'afegeix DIC (17,2 mL; 111 mmol, 1,1 eq.), mantenint la temperatura a 20-25 ºC. S'agita durant 1 h a 25-30 ºC i un cop confirmat el consum de **RL-52**, s'afegeix **RL-2** (25,4 g; 203 mmol; 2 eq.) agitant a 40-45 ºC durant 16 h. Es refreda a 20-25 ºC i es concentra a sequedat donant lloc a un oli marró. S'afegeix DCM (150 mL; 4,2 Vol) i la suspensió es filtra a través de terres diatomees per separar el subproducte d'urea. El filtre es renta amb DCM (3 x 10 mL; 2 x 0,3 Vol) i les fases orgàniques resultants s'uneixen en un matràs de 3 boques de 500 mL amb agitació mecànica. S'afegeix aigua (200 mL; 5,6 Vol) i s'ajusta a pH 2 amb HCl 2 N. Les fases se separen, la fase orgànica es renta amb aigua (2 x 100 mL; 2 x 2,8 Vol) i es concentra a sequedat, aïllant un oli marró. .S'afegeix AcO^{i}Pr (36 mL; 1 Vol) i s'agita 10 min a 75-80 ºC. Es refreda a 20-25 ºC i s'agita durant 16 h. El sòlid s'aïlla per filtració, es renta amb AcO^{i}Pr a 0 ºC (2 x 18 mL; 2 x 0,5 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 50 °C durant 2 h, obtenint-se 28,0 g de **RL-53** com a sòlid marró amb una puresa cromatogràfica del 99,5 % (Rendiment: 60 %).

UHPLC: R_t= 5,7 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 463,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}53})}$+H]$^+$, calc: 463,1}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,76 (t, $^3J_{14\text{-}13}$ = 7 Hz, 3 H, H-14), 2,66 (s, 3 H, H-9), 4,53 (s, 3 H, H-1), 4,83 (q, $^3J_{13\text{-}14}$ = 7 Hz, 2 H, H-13), 5,38 (s, 2 H, H-15), 7,17 (dd, $^3J_{19/20\text{-}21}$ = $^3J_{19/20\text{-F}}$ = 8 Hz, 2 H, H-19, H-20), 7,26 (s, 1 H, H-10), 7,43 (d, $^3J_{3\text{-}4}$ = 10 Hz, 1 H, H-3), 7,65 (m, 1 H, H-21), 8,67 (d, $^3J_{4\text{-}3}$ = 10 Hz, 1 H, H-4), 9,57 (pic ample, 1 H, NH); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,6 (C-14), 16,0 (C-9), 43,3 (C-15), 54,8 (C-1), 63,9 (H-13), 111,4 (dd, $^2J_{19/20\text{-F}}$ = 20 Hz, $^4J_{19/20\text{-F}}$ = 6 Hz, C-19, C-20), 111,7 (C-7), 111,9 (C-16), 120,5 (C-10), 118,8 (C-3), 122,6 (C-4), 130,5 (t, $^3J_{21\text{-F}}$ = 10 Hz, C-21), 136,3 (C-8), 142,6 (C-5), 151,4 (C-11), 157,0 (C-12), 161,8 (C-2), 161,9 (dd, $^1J_{17/18\text{-F}}$ = 250 Hz, $^3J_{17/18\text{-F}}$ = 8 Hz, C-17, C-18), 163,0 (C-6).

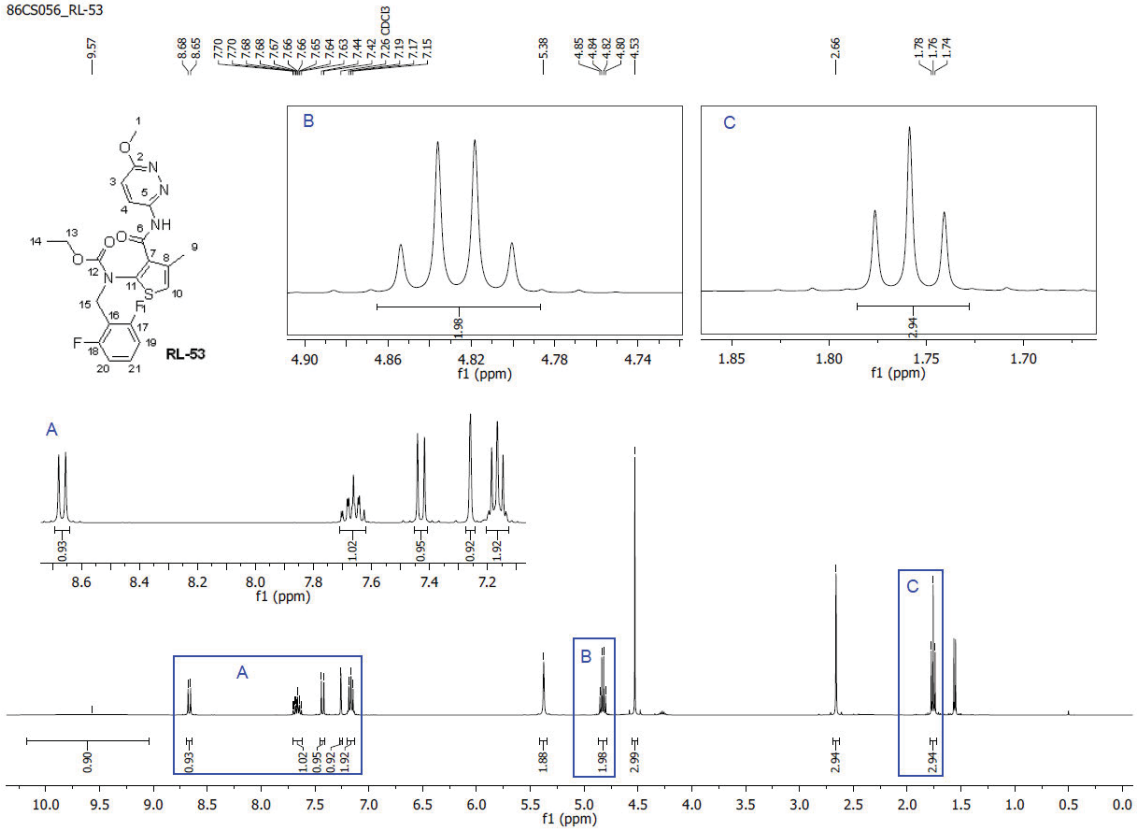


Figura 118: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-53****.*

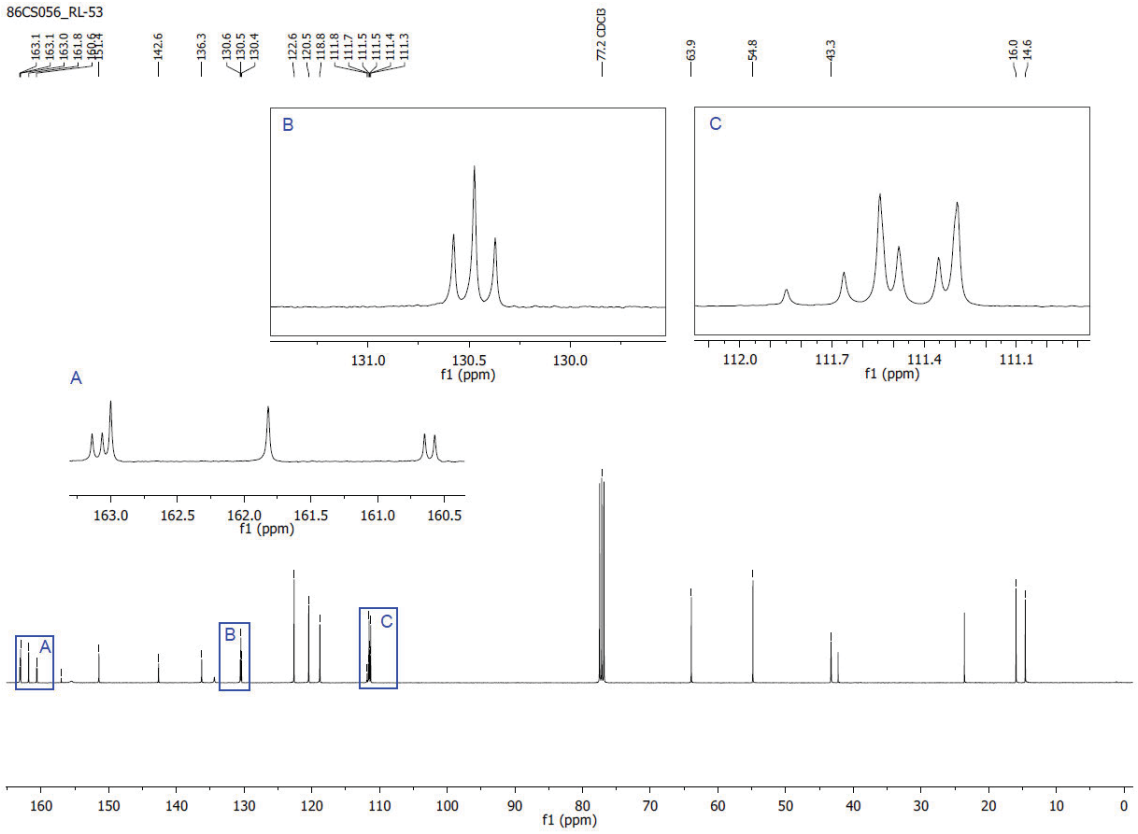
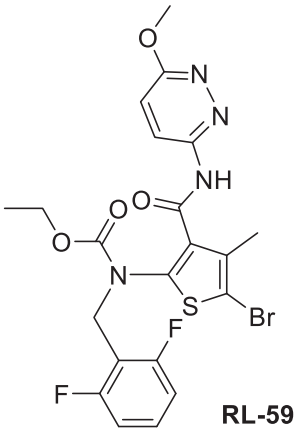


Figura 119: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-53****.*

*Síntesi de N-[5-bromo-3-[(6-metoxipiridazin-3-il)carbamoil]-4-metil-2-tienil]-N-[(2,6-difluorofenil)metil]carbamat d'etil (**RL-59 B**).*



RL-59 B

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-53** (5 g; 11 mmol; 1 eq.), NBS (2,0 g; 11 mmol; 1 eq.), AIBN (0,2 g; 1 mmol; 0,1 eq.) i AcOEt (40 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 0-5 ºC durant 1 h. S'afegeix aigua (50 mL; 10 Vol) per aturar la reacció i s'agita durant 15 min. S'addiciona més AcOEt (25 mL; 5 Vol) i la suspensió s'agita a 40-45 ºC durant 10 min abans de filtrar-se. El sòlid resultant es renta amb aigua (2 x 25 mL; 2 x 5 Vol), AcOEt (2 x 25 mL; 2 x 5 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 50 °C durant 16 h, obtenint-se 5,3 g de **RL-59 B** com a sòlid blanc trencat amb una puresa cromatogràfica del 94,5 % (Rendiment: 91 %).

UHPLC: R_t= 6,2 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 541,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}59\ B})}$]$^+$, calc: 541}; 543,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}59\ B})}$+2]$^+$, calc: 543,0}; 339,1 {([$M_{(RL\text{-}59\ B)}$]$^-$, calc: 539,0}; 541,1 {([$M_{(RL\text{-}59\ B)}$+2]$^-$, calc: 541,0}; **^{1}H RMN**: ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,35 (t, $^3J_{14\text{-}13}$ = 7 Hz, 3 H, H-14), 2,19 (s, 3 H, H-9), 4,12 (s, 3 H, H-1), 4,41 (q, $^3J_{13\text{-}14}$ = 7 Hz, 2 H, H-13), 4,93 (s, 2 H, H-15), 6,77 (dd, $^3J_{19/20\text{-}21}$ = $^3J_{19/20\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-19, H-20), 7,02 (d, $^3J_{3\text{-}4}$ = 10 Hz, 1 H, H-3), 7,27 (m, 1 H, H-21), 8,24 (d, $^3J_{4\text{-}3}$ = 10 Hz, 1 H, H-4), 9,15 (pic ample, 1 H, NH); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,6 (C-14), 14,8 (C-9), 43,2 (C-15), 54,9 (C-1), 64,2 (C-13), 109,5 (C-10), 111,2 (C-7), 111,4 (C-16), 111,6 (dd, $^2J_{19/20\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{19/20\text{-}F}$ = 6 Hz, C-19, C-20), 119,0 (C-3), 122,6 (C-4), 130,57-130,77 (t, $^3J_{21\text{-}F}$ = 10 Hz, C-21), 135,6 (C-8), 141,5 (C-5), 151,2 (C-11), 157,4 (C-12), 160,9 (C-2), 161,8 (dd, $^1J_{17/18\text{-}F}$ = 250 Hz, $^3J_{17/18\text{-}F}$ = 8 Hz, C-17, C-18), 163,1 (C-6).

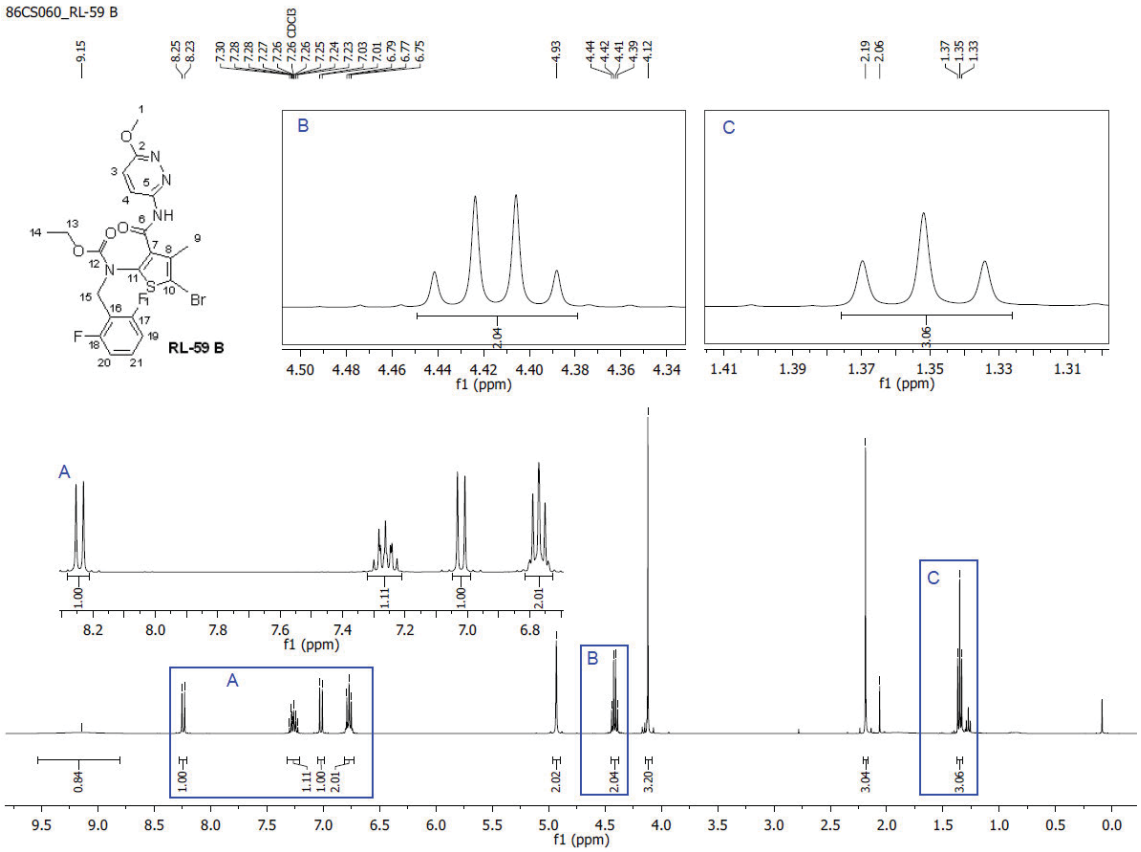


Figura 120: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-59 B****.*

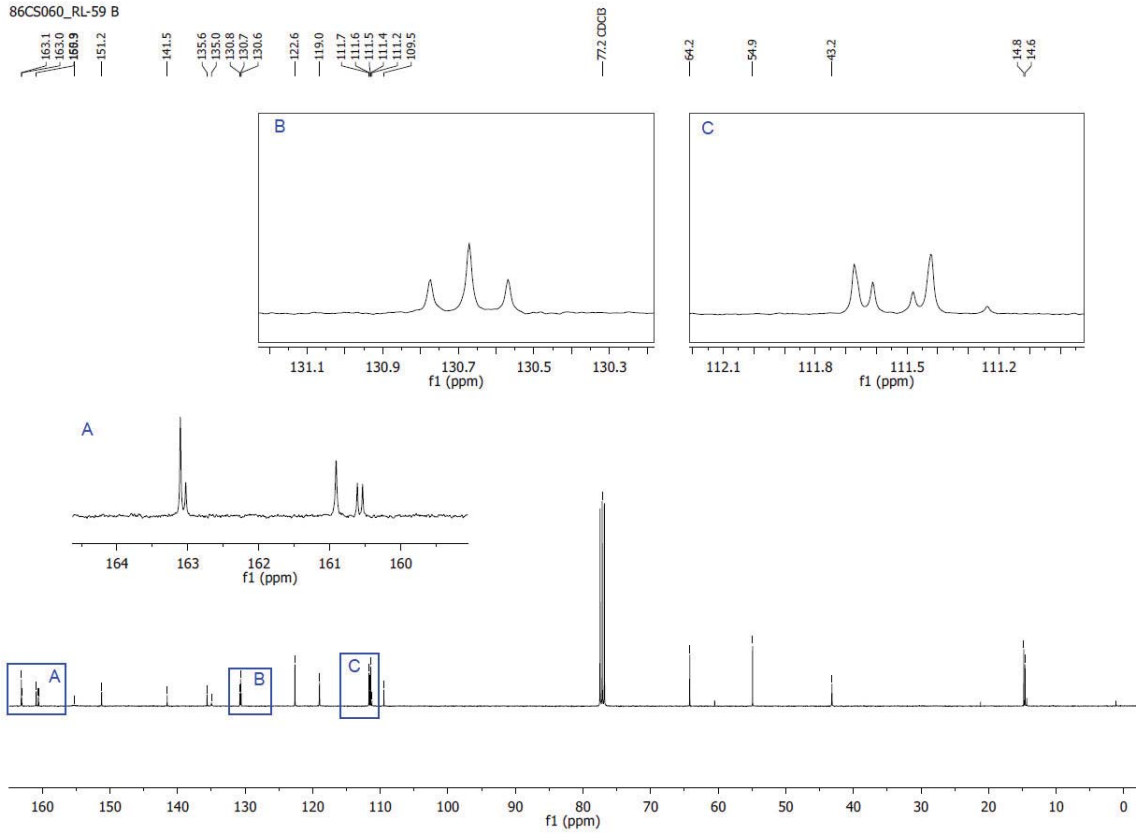
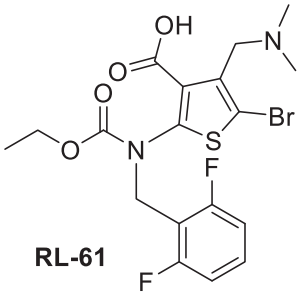


Figura 121: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-59 B****.*

*Síntesi de l'àcid 5-bromo-2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonil-amino]-4-[(dimetilamino)metil]tiofen-3-carboxílic (**RL-61**).*



RL-61

En un matràs de 3 boques de 1 L amb agitació mecànica s'afegeix **RL-44** (60,5 g; 120 mmol; 1 eq.) i una mescla d'etanol absolut (545 mL; 9 Vol) i aigua (158 mL; 2,6 Vol) a 20-25 ºC. A continuació, s'addiciona una dissolució aquosa de KOH 50 % (20,1 g; 179 mmol; 1,5 eq.) i la mescla resultant s'agita durant 3 h a 60-65 ºC. Un cop s'esgota **RL-44**, la reacció es refreda a 20-25 ºC i s'ajusta el pH a 9,6 amb HCl 2 N. La mescla es concentra a pressió reduïda a 50 ºC per eliminar l'etanol del medi. Se li afegeix AcO^{i}Pr (200 mL; 3,3 Vol), se separen les fases i la fase aquosa es reextreu amb AcO^{i}Pr (200 mL; 3,3 Vol). Les fases orgàniques resultants es descarten i la fase aquosa es dilueix amb aigua (100 mL; 1,7 vol), s'ajusta el pH a 4-4,1 amb HCl 2 N i s'extreu el producte amb AcO^{i}Pr (2 x 150mL; 2 x 2,5 Vol). Les fases orgàniques s'uneixen, es renten amb aigua (120 mL; 2 Vol), es concentren a sequedat i es fa un arrossegament amb DCM (150 mL; 2,5 Vol), obtenint-se un sòlid marró. Se li afegeix IPA (484 mL; 8 Vol) i s'agita 10 min a reflux. Es refreda a 20-25 ºC i s'agita durant 16 h. El sòlid s'aïlla per filtració, es renta amb IPA (3 x 30 mL; 2 x 0,5 Vol) i s'asseca l'estufa de buit a 50 °C durant 6 h, obtenint-se 42,9 g de **RL-61** com a sòlid beix amb una puresa cromatogràfica del 99,7 % (Rendiment: 75 %).

UHPLC: R_t= 4,5 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 477,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}61})}$]$^+$, calc: 477,0}; 479,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}61})}$+2]$^+$, calc: 479,0}; 475,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}61})}$]$^-$, calc: 475,0}; 477,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}61})}$+2]$^-$, calc: 477,0}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,16 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 2,49 (s, 6 H, H-9, H-10), 3,78 (s, 2 H, H-6), 4,20 (m, 2 H, H-2), 5,03 (s, 2 H, H-12), 6,82 (dd, $^3J_{16/17\text{-}18}$ = $^3J_{16/17\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-16, H-17), 7,24 (m, 1 H, H-18); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,5 (C-1), 41,8 (C-12), 42,1 (C-9, C-10), 56,0 (C-6), 62,7 (C-2), 111,3 (dd, $^2J_{16/17\text{-}F}$ = 19 Hz, $^4J_{16/17\text{-}F}$ = 6 Hz, C-16, C-17), 111,7 (C-4), 112,7 (C-13), 130,1 (t, $^3J_{18\text{-}F}$ = 9 Hz, C-18), 130,4 (C-7), 132,2 (C-5), 149,0 (C-8), 154,9 (C-3), 162,1 (dd, $^1J_{14/15\text{-}F}$ = 246 Hz, $^3J_{14/15\text{-}F}$ = 8 Hz, C-14, C-15), 163,6 (C-11).

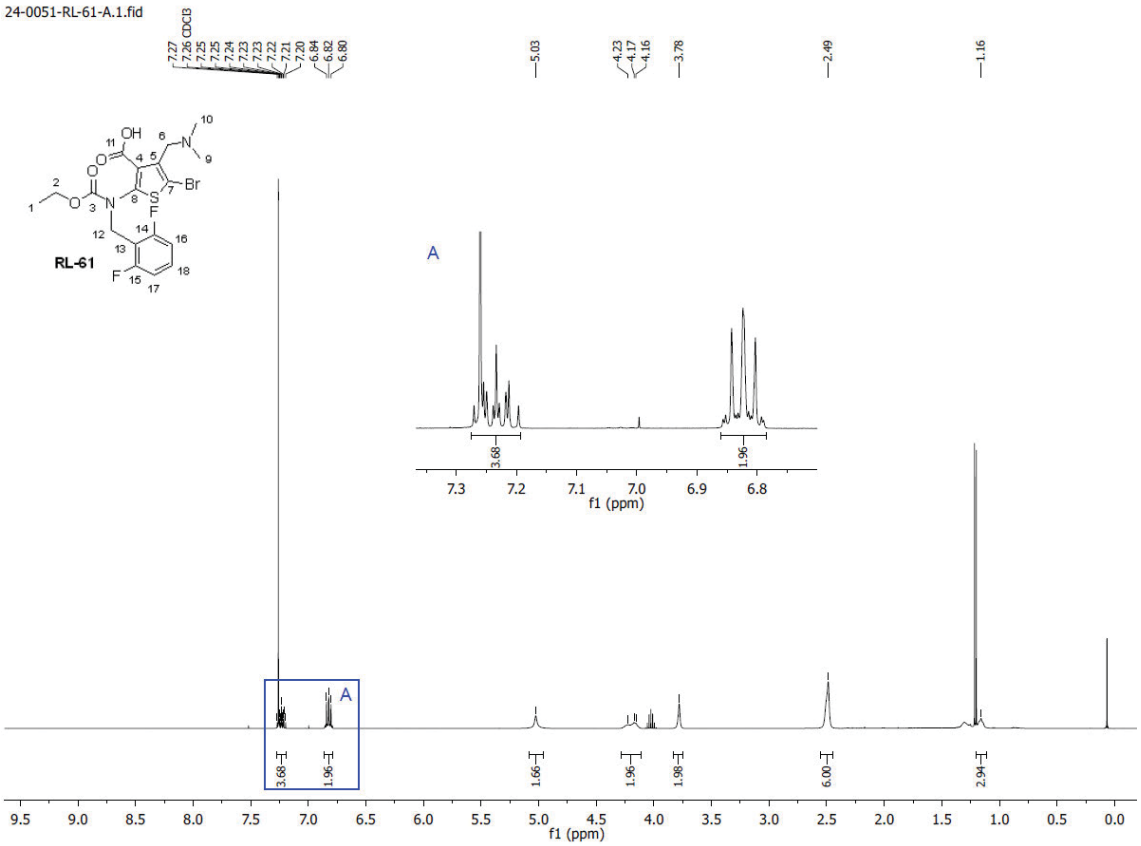


Figura 122: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-61****.*

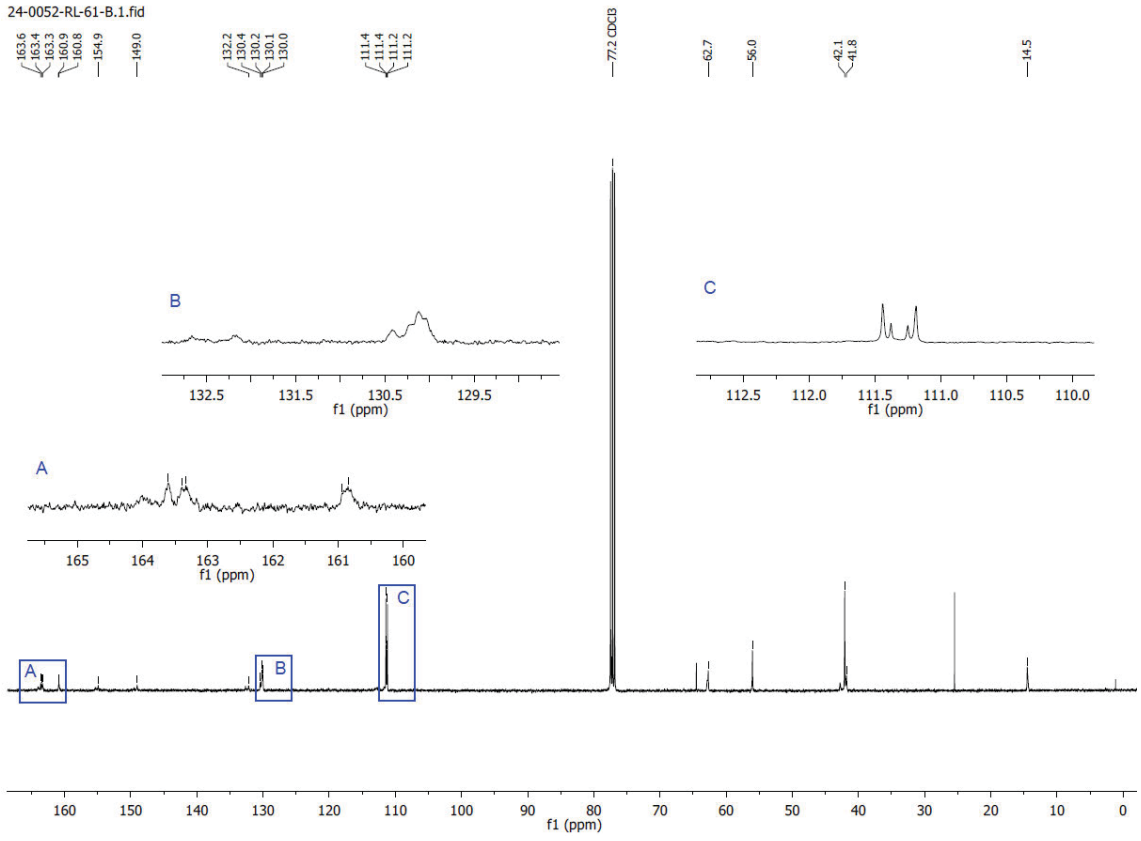
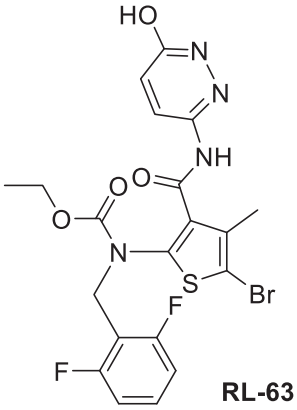


Figura 123: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-61****.*

*Síntesi de N-[5-bromo-3-[(6-metoxipiridazin-3-il)carbamoil]-2-tienil]-N-[(2,6-difluorofenil)metil]carbamat d'etil (**RL-63**).*

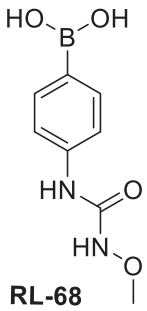


RL-63

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-53** (1,3 g; 3 mmol; 1 eq.), NBS (0,6 g; 3 mmol; 1,25 eq.), AIBN (40 mg; 0,3 mmol; 0,1 eq.) i AcOEt (11 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 40-45 ºC durant 1 h. S'addiciona NBS (0,6 g; 3 mmol; 1,25 eq.) i AIBN (40 mg; 0,3 mmol; 0,1 eq.) i s'agita a 40-45 ºC durant 16 h. Es refreda a 20-25 ºC, se li afegeix aigua (10 mL; 10 Vol) i s'agita durant 15 min. La fase orgànica resultant es concentra a sequedat, obtenint-se 1,8 g de **RL-63** com a oli marró amb una puresa cromatogràfica del 82,8 % (Rendiment: > 100 %). No es purifica.

UHPLC: R_t= 5,3 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 527,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}63})}$]$^+$, calc: 527,0}; 529,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}63})}$+2]$^+$, calc: 529,0}; 425,0 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}63})}$]$^-$, calc: 525,0}; 527,0 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}63})}$+2]$^-$, calc: 527,0}.

*Síntesi de l'àcid [4-(metoxicarbamoilamino)fenil]borònic (**RL-68**).*



RL-68

En un matràs de 500 mL amb agitació mecànica s'afegeix CDI (15,9 g; 98 mmol; 1,7 eq.) en ACN (96 mL; 6 Vol). S'addiciona TEA (5,0 g; 49 mol; 0,4 eq.) i es refreda la mescla a 0-5 ºC. S'addiciona en diverses porcions clorhidrat de metoxiamina (9,2 g; 110 mol; 1,12 eq.) assegurant que la temperatura de la mescla sigui ≤ 15 °C. La suspensió s'agita a 20-25 ºC durant 30 min fins dissolució perfecte. Es carrega el clorhidrat de l'àcid (4-aminofenill)borònic, **RL-67·HCl** (10,0 g; 58 mol; 1 eq.) en diverses porcions. La mescla resultant s'agita durant un mínim de 1 h a 50-55 ºC. Un cop es confirma conversió completa, es refreda a 20-25 ºC i es concentra a sequedat, obtenint-se un oli grisenc. S'afegeix aigua (40 mL; 4 Vol) i s'agita durant 16 h. El producte s'aïlla per filtració i es renta amb aigua (3 x 20 mL; 3 x 2 Vol), AcO^{i}Pr (2 x 10 mL; 2 x 1 Vol) i IPA (2 x 10 mL; 2 x 1 Vol). El sòlid resultant s'asseca a l'estufa de buit a 45 °C durant 16 h. S'obtenen 7,5 g de **RL-68** com a sòlid blanc trencat amb una puresa cromatogràfica del 99,0 % (Rendiment: 62 %).

UHPLC: R_t= 2,6 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 211,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}68})}$+H]$^+$, calc: 211,1}; 209,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}68})}$-H]$^-$, calc: 209,1}; **^{1}H RMN:** (MeOD, 400 MHz) δ (ppm) 3,73

(s, 3H, H-5), 7,49 (m, 2 H, H-1, H-2), 7,64 (m, 2 H, H-3, H-4); **^{13}C RMN:** (MeOD, 100 MHz) δ (ppm) 64,8 (C-5), 120,3 (C-3, C-4), 135,6 (C-1, C-2), 140,9 (C-8), 141,4 (C-7), 159,8 (C-6).

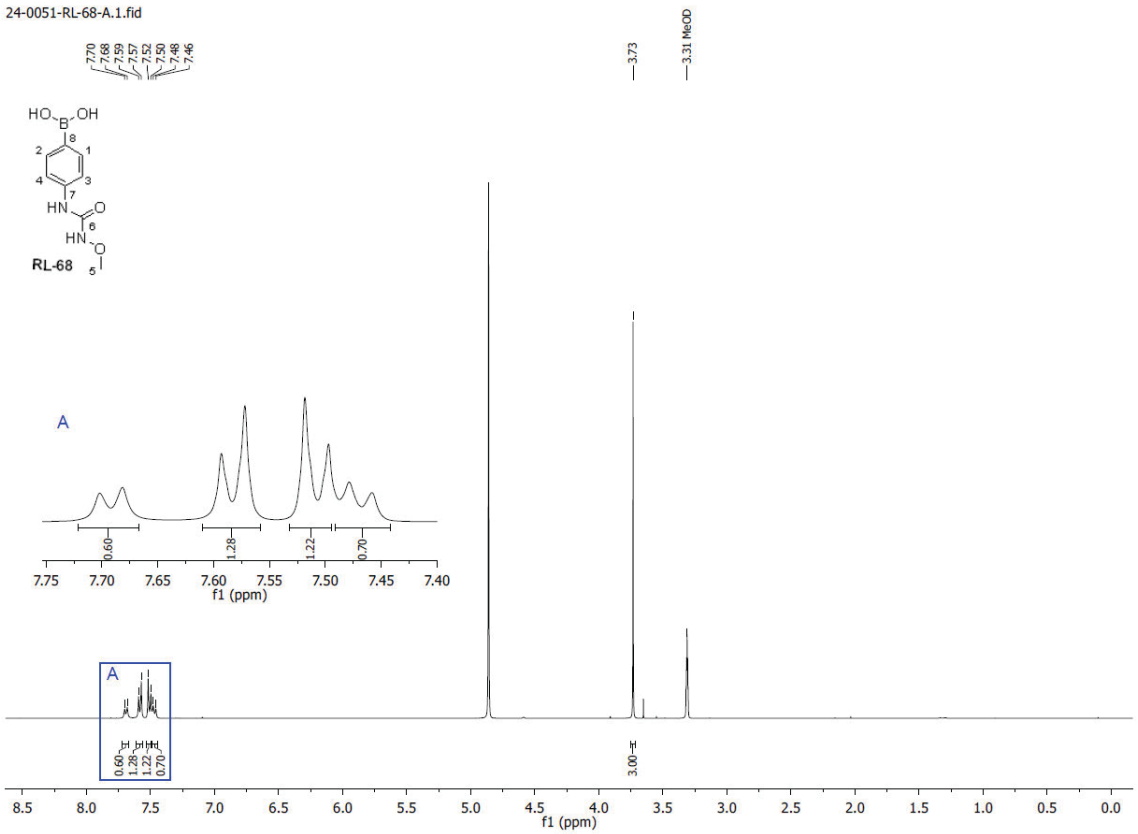


Figura 124: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, MeOD) de* ***RL-68****.*

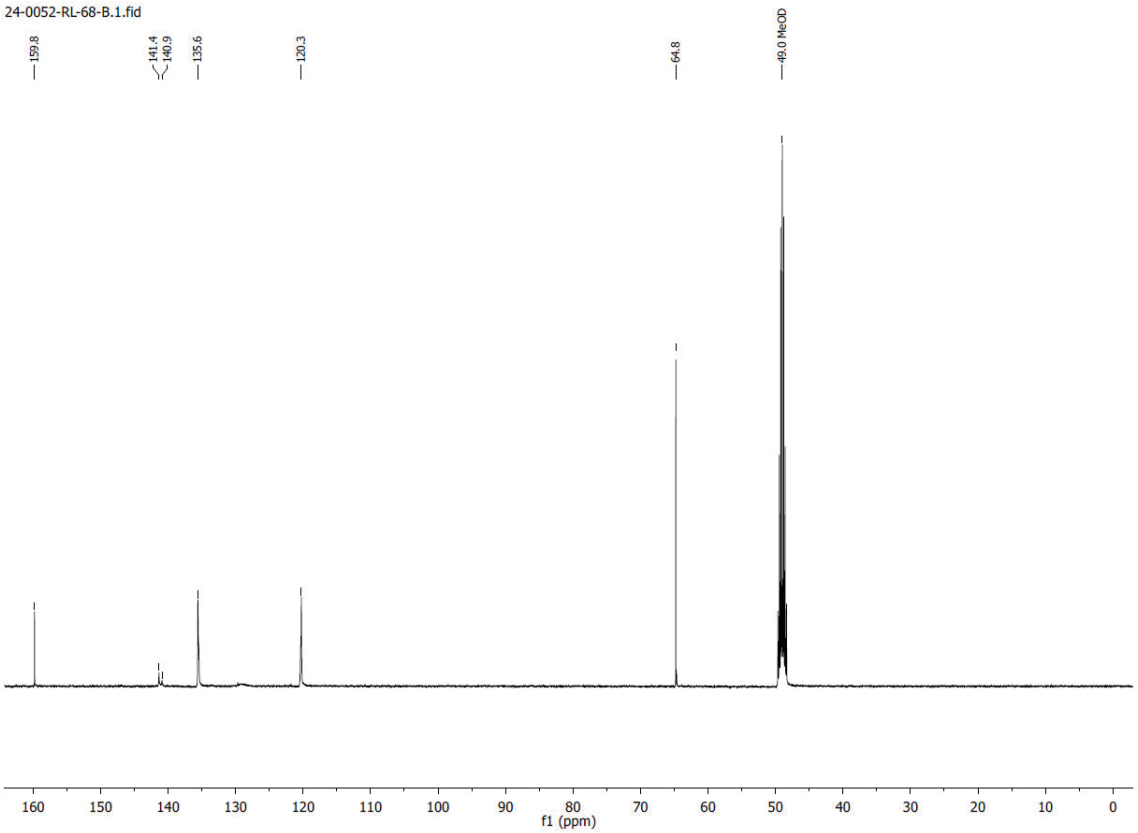
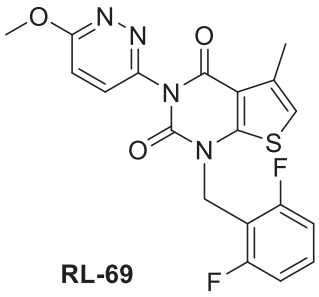


Figura 125: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, MeOD) de* ***RL-68****.*

*Síntesi de 1-[(2,6-difluorofenil)metil]-3-(6-metoxipiridazin-3-il)-5-metil-tien[2,3-d]pirimidin-2,4-diona (**RL-69**).*



RL-69

Procés *one-pot* a partir de **RL-52** (1,7 g; 5 mmol; 1 eq.) per a la formació de **RL-53** seguint l'estratègia Oxyme Pure ® / DIC / 2 eq. **RL-2** (veure descripció de síntesi de **RL-53**). Un cop format **RL-53**, s'afegeix DBU (0,4 mL; 3 mmol; 0,5 eq.) al medi de reacció i s'agita 4 h a reflux. Es refreda a 20-25 ºC, es concentra a sequedat donant lloc a un oli marró. Se li afegeix AcO^{i}Pr (17 mL, 10 Vol), s'agita a 75-80 ºC durant 10 min i es deixa refredar a 20-25 ºC. S'agita durant 2 h i s'aïlla el sòlid per filtració. El producte es renta amb AcO^{i}Pr (2 x 8,5 mL, 2 x 0,5 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 50 °C durant 6 h, obtenint-se 1,4 g **RL-69** com a sòlid marró amb una puresa cromatogràfica del 95,6 %. Les aigües mares es concentren, es dissolen en DCM (30 mL) i es renten amb HCl 2 N (30 mL) seguit de $NaHCO_3$ 8 % (30 mL) i aigua (30 mL). A continuació es concentra la fase orgànica a sequedat donant lloc a un sòlid marró fosc. S'aïllen 0,6 g de **RL-69** amb un puresa cromatogràfica del 98,7 %. Amb els dos sòlids s'obté **RL-69** amb un puresa cromatogràfica final del 96,5 % (Rendiment: 100 %).

UHPLC: R_t= 5,2 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 417,0 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}69})}$+H]$^+$, calc: 417,1}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 2,45 (d, $^4J_{9\text{-}11}$ = 1 Hz, 3 H, H-9), 4,18 (s, 3 H, H-1), 5,32 (s, 2 H, H-13), 6,48 (q, $^4J_{11\text{-}9}$ = 1 Hz, 1 H, H-11), 6,91 (dd, $^3J_{17/18\text{-}19}$ = $^3J_{17/18\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-17, H-18), 7,12 (d, $^3J_{3\text{-}4}$ = 9 Hz, 1 H, H-3), 7,31 (m, 1 H, H-19), 7,37 (d, $^3J_{4\text{-}3}$ = 9 Hz, 1 H, H-4); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 16,3 (C-9), 40,4 (t, $^3J_{13\text{-}F}$ = 4 Hz, C-13), 55,4 (C-1), 110,1 (t, $^2J_{14\text{-}F}$ = 17 Hz, C-14), 111,8 (C-11), 111,9 (dd, $^2J_{17/18\text{-}F}$ = 20 Hz, $^4J_{17/18\text{-}F}$ = 6 Hz, C-17, C-18), 114,7 (C-7), 119,4 (C-3), 130,6 (C-4), 130,7 (t, $^3J_{19\text{-}F}$ = 11 Hz, C-19), 137,4 (C-8), 149,5 (C-5), 150,4 (C-10), 154,0 (C-12), 158,7 (C-2), 161,7 (dd, $^1J_{15/16\text{-}F}$ = 251 Hz, $^3J_{15/16\text{-}F}$ = 7 Hz, C-15, C-16), 165,2 (C-6).

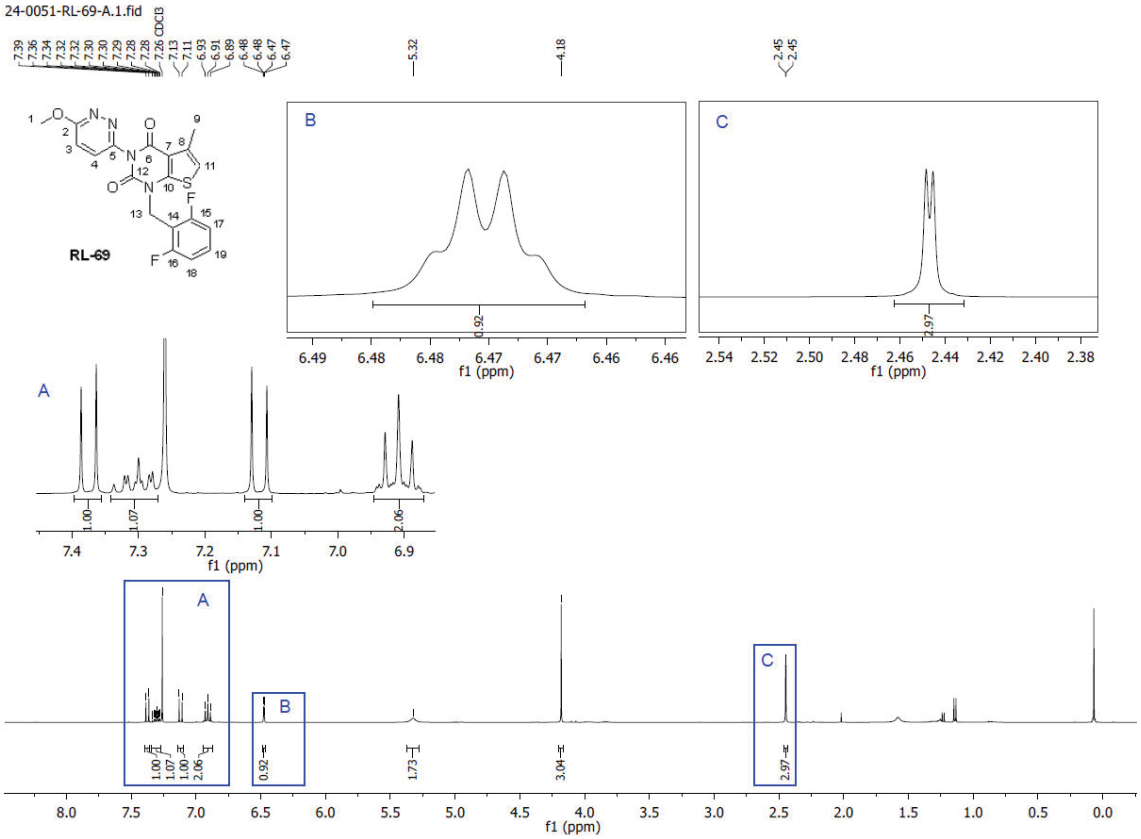


Figura 126: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-69****.*

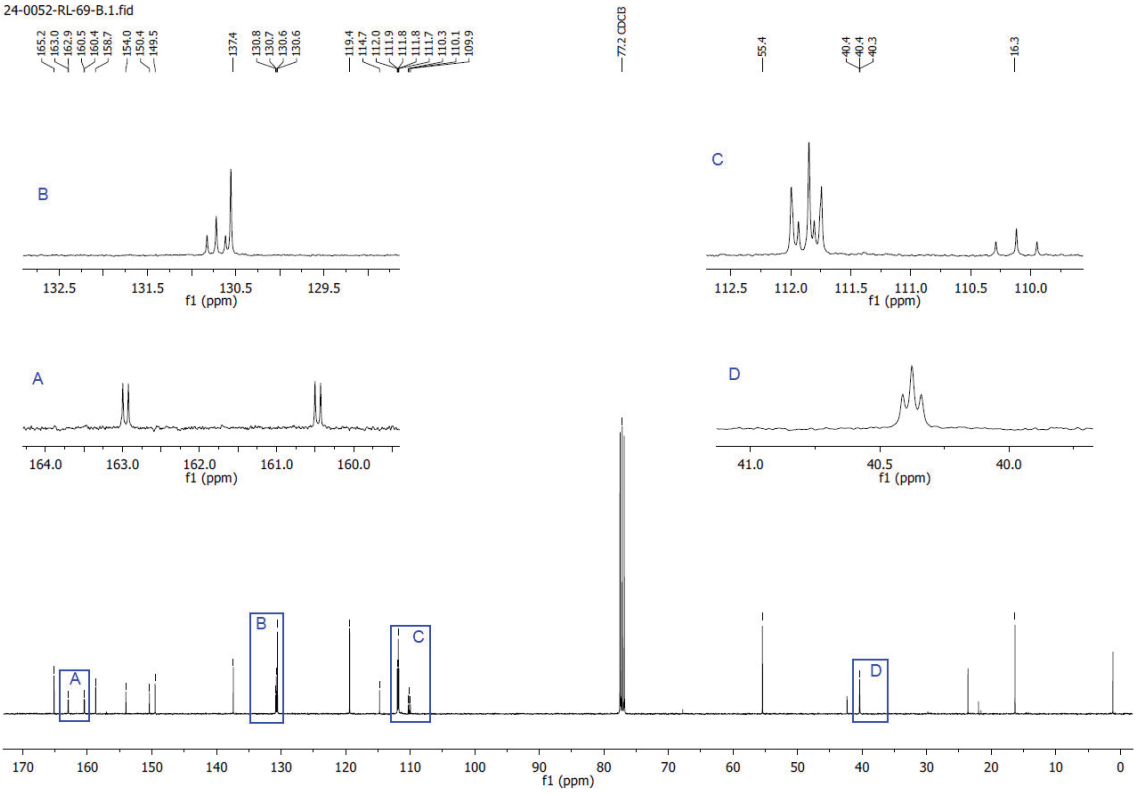
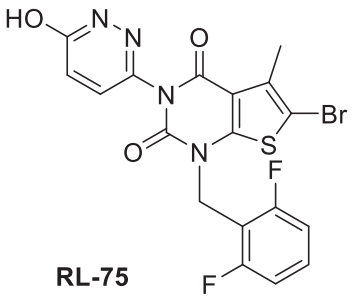


Figura 127: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-69****.*

*Síntesi de 6-bromo-1-[(2,6-difluorofenil)metil]-3-(6-metoxipiridazin-3-il)tien[2,3-d]pirimidin-2,4-diona (**RL-75**).*

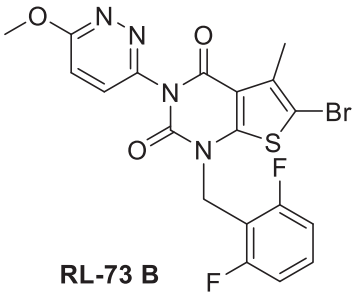


RL-75

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-73 B** (0,7 g; 1 mmol; 1 eq.), NBS (0,3 g; 1 mmol; 1,25 eq.), AIBN (20 mg; 0,1 mmol; 0,1 eq.) i THF (6 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 40-45 ºC durant 6 h. Es refreda a 20-25 ºC i es concentra a sequedat, obtenint-se un oli marró. Es dissol amb DCM (20 mL; 28,7 Vol) i es renta amb aigua (2 x 20 mL; 2 x 28,7 Vol). La fase orgànica resultant es concentra a sequedat, obtenint-se 0,8 g de **RL-75** com a oli marró amb una puresa cromatogràfica del 90,2 % (Rendiment: > 100 %). No es purifica.

UHPLC: R_t= 5,3 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 480,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}75})}$]$^+$, calc: 481,0}; 482,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}75})}$+2]$^+$, calc: 483,0}; 479,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}75})}$]$^-$, calc: 479,0}; 481,1 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}75})}$+2]$^-$, calc: 481,0}.

*Síntesi de 6-bromo-1-[(2,6-difluorofenil)metil]-3-(6-metoxipiridazin-3-il)-5-metil-tien[2,3-d]pirimidin-2,4-diona (**RL-73 B**).*



RL-73 B

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-69** (0,6 g; 2 mmol; 1 eq.), NBS (0,3 g; 2 mmol; 1 eq.), AIBN (20 mg; 0,1 mmol; 0,1 eq.) i DCM (5 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 0-5 ºC durant 2 h. S'afegeix aigua (20 mL; 33 vol) per aturar la reacció i s'agita durant 15 min. Se li addiciona més DCM (arribant als 50 mL totals) i es renta amb aigua (2 x 50 mL). Es decanta la fase orgànica i es concentra a sequedat fent arrossegaments amb DCM (2 x 50 mL), obtenint-se un sòlid marró. S'obtenen 0,7 g de **RL-73 B** amb una puresa cromatogràfica del 98,5 % (Rendiment: 92 %).

UHPLC: R_t= 5,8 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 494,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}73\ B})}$]$^+$, calc: 495,0}; 496,9 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}73\ B})}$+2]$^+$, calc: 497,0}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 2,40 (s, 3 H, H-9), 4,18 (s, 3 H, H-1), 5,27 (s, 2 H, H-13), 6,93 (dd, $^3J_{17/18\text{-}19}$ = $^3J_{17/18\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-17, H-18), 7,13 (d, $^3J_{3\text{-}4}$ = 9 Hz, 1 H, H-3), 7,33 (m, 1 H, H-19), 7,37 (d, $^3J_{4\text{-}3}$ = 9 Hz, 1 H, H-4); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 15,0 (C-9), 40,4 (t, $^3J_{13\text{-}F}$ = 4 Hz, C-13),

55,5 (C-1), 101,7 (C-11), 109,6 (t, $^{2}J_{14\text{-}F}$ = 17 Hz, C-14), 112,1 (dd, $^{2}J_{17/18\text{-}F}$ = 20 Hz, $^{4}J_{17/18\text{-}F}$ = 6 Hz, C-17, C-18), 114,3 (C-7), 119,5 (C-3), 130,5 (C-4), 130,1 (t, $^{3}J_{19\text{-}F}$ = 11 Hz, C-19), 136,4 (C-8),149,3 (C-5), 150,0 (C-10), 153,1 (C-12), 157,8 (C-2), 161,7 (dd, $^{1}J_{15/16\text{-}F}$ = 251 Hz, $^{3}J_{15/16\text{-}F}$ = 7 Hz, C-15, C-16), 165,3 (C-6).

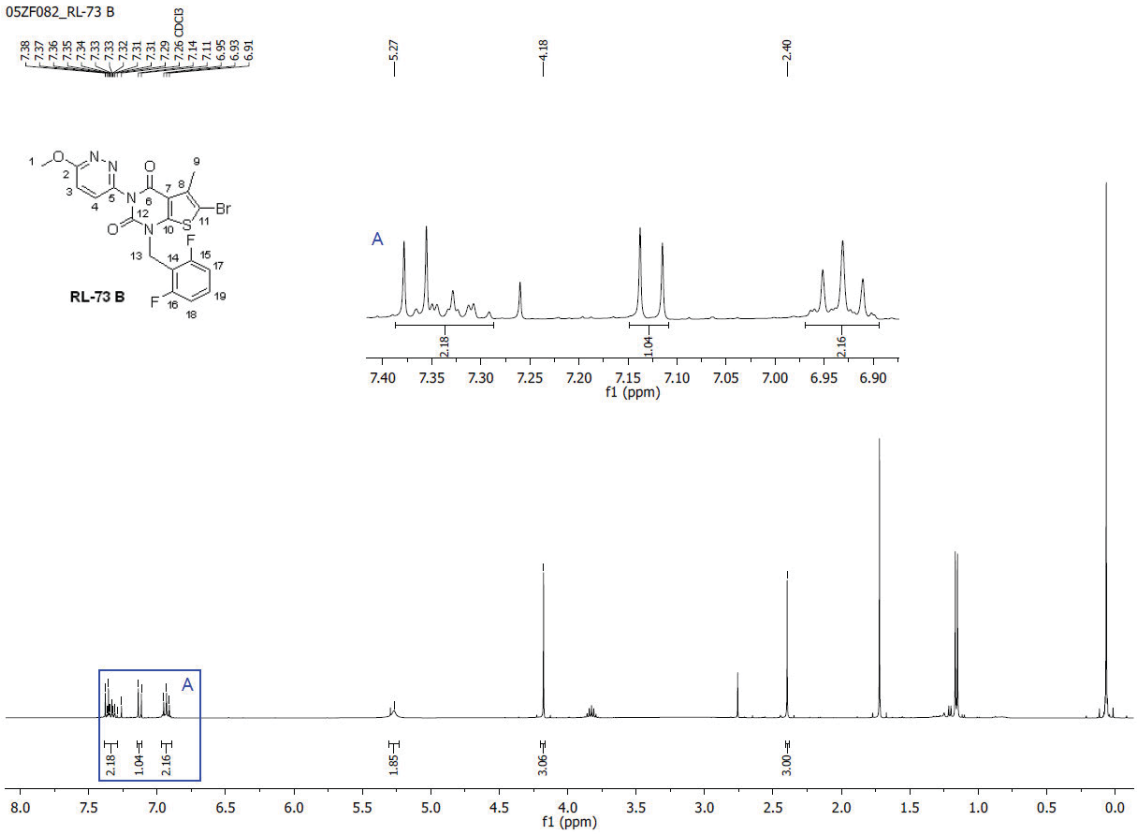


Figura 128: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-73 B****.*

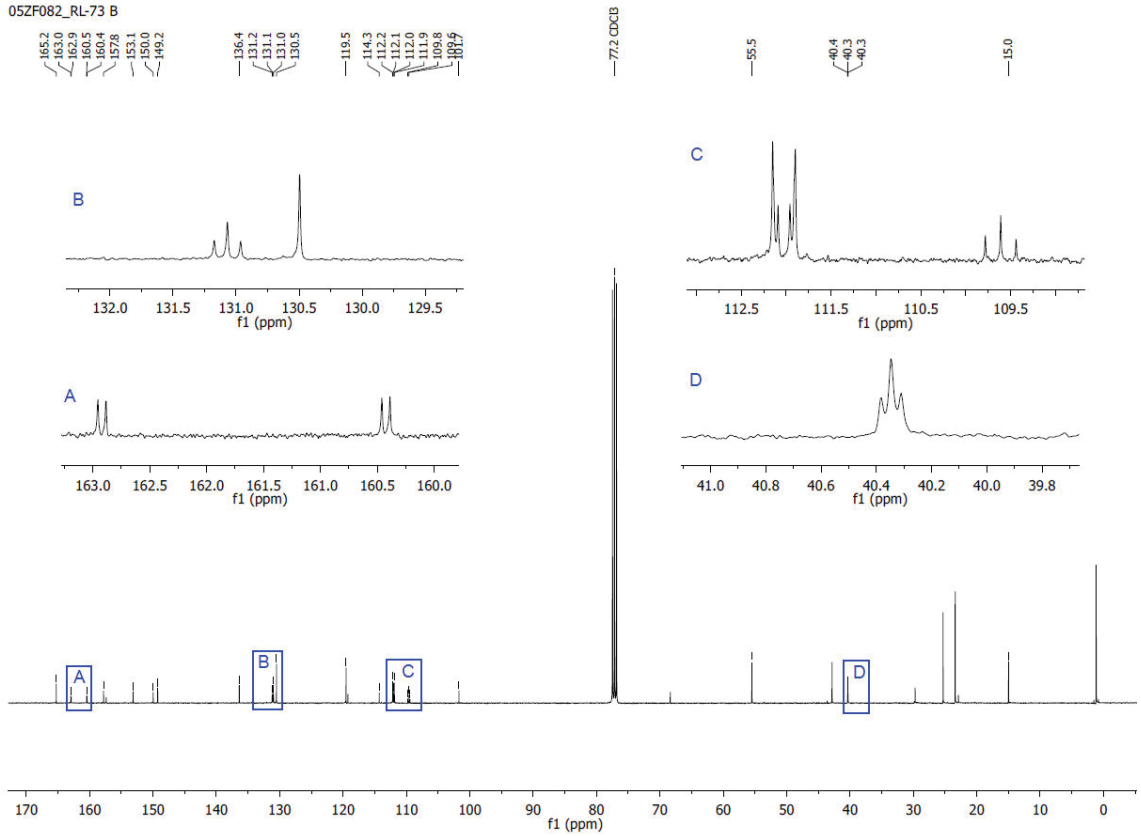
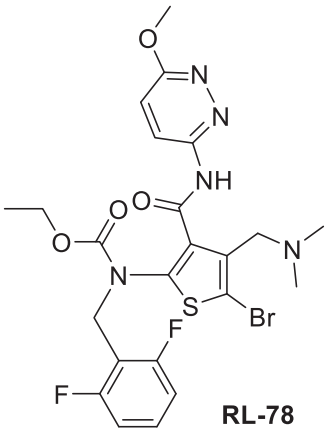


Figura 129: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-73 B****.*

*Síntesi de N-[5-bromo-4-[(dimetilamino)metil]-3-[(6-metoxipiridazin-3-il)carbamoil]-2-tienil]-N-[(2,6-difluorofenil)metil]carbamat d'etil (**RL-78**).*



RL-78

En un matràs de 3 boques de 500 mL amb agitació mecànica se li afegeix **RL-61** (11,5 g; 24 mmol; 1 eq.) i DCM anhidre (115 mL; 10 Vol). Es refreda la suspensió a -35-40 ºC amb un equip Haake. S'afegeix TEA de forma gradual (20,1 mL; 144 mmol; 2 eq.) quedant una dissolució perfecte. Seguidament s'afegeix $SOCl_2$ (2,6 mL; 36 mmol; 1,5 eq.), mantenint la temperatura < 30 ºC i s'agita durant 1 h. S'addiciona en diverses porcions **RL-2** (4,5 g; 36 mmol; 1,5 eq.) dissolt en DCM anhidre (40 mL; 3,5 Vol) durant 2 h i es manté a -35-40 ºC durant 16 h. S'escalfa a 20-25 ºC, s'addiciona DCM fins als 250 mL (21,7 Vol) i es renta amb NH_4Cl 10% (2 x 250 mL; 21,7 Vol), $NaHCO_3$ 8% (2 x 250 mL; 21,7 Vol) i aigua (2 x 250 mL; 21,7 Vol). La fase orgànica resultant es concentra a sequedat, es fan arrossegaments amb DCM (2 x 115 mL; 10 Vol), obtenint-se un sòlid marró. S'obtenen 13,5 g de **RL-78** amb una puresa cromatogràfica del 94,3 % (Rendiment: 96 %). No es purifica.

UHPLC: R_t= 6,2 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 584,3 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}78})}]^+$, calc: 584,1}; 586,2 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}78})}+2]^+$, calc: 586,1}; 582,1 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}78})}]^-$, calc: 582,1}; 584,1 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}78})}+2]^-$, calc: 584,1}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,15 (m, 3 H, H-14), 2,38 (s, 6 H, H-10, H-11), 3,54 (s, 2 H, H-9), 4,10 (s, 3 H, H-1), 4,18 (m, 2 H, H-15), 4,96 (s, 2 H, H-17), 6,74 (dd, $^3J_{21/22\text{-}23} = {}^3J_{21/22\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-21, H-22), 6,97 (d, $^3J_{3\text{-}4}$ = 10 Hz, 1 H, H-3), 7,13 (m, 1 H, H-23), 8,51 (d, $^3J_{4\text{-}3}$ = 10 Hz, 1 H, H-4); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,6 (C-14), 41,9 (C-17), 43,6 (C-10, C-11), 54,8 (C-1), 55,8 (C-9), 62,8 (C-15), 111,3 (dd, $^2J_{21/22\text{-}F}$ = 19 Hz, $^4J_{21/22\text{-}F}$ = 6 Hz, C-21, C-22), 111,8 (C-18), 112,1 (C-7), 118,7 (C-3), 123,9 (C-4), 130,4 (t, $^3J_{23\text{-}F}$ = 10 Hz, C.23), 132,7 (C-12), 132,9 (C-8), 147,9 (C-5), 153,2 (C-13), 155,2 (C-16), 161,1 (C-2), 162,2 (dd, $^1J_{19/20\text{-}F}$ = 250 Hz, $^3J_{19/20\text{-}F}$ = 7 Hz, C-19, C-20), 162,7 (C-6).

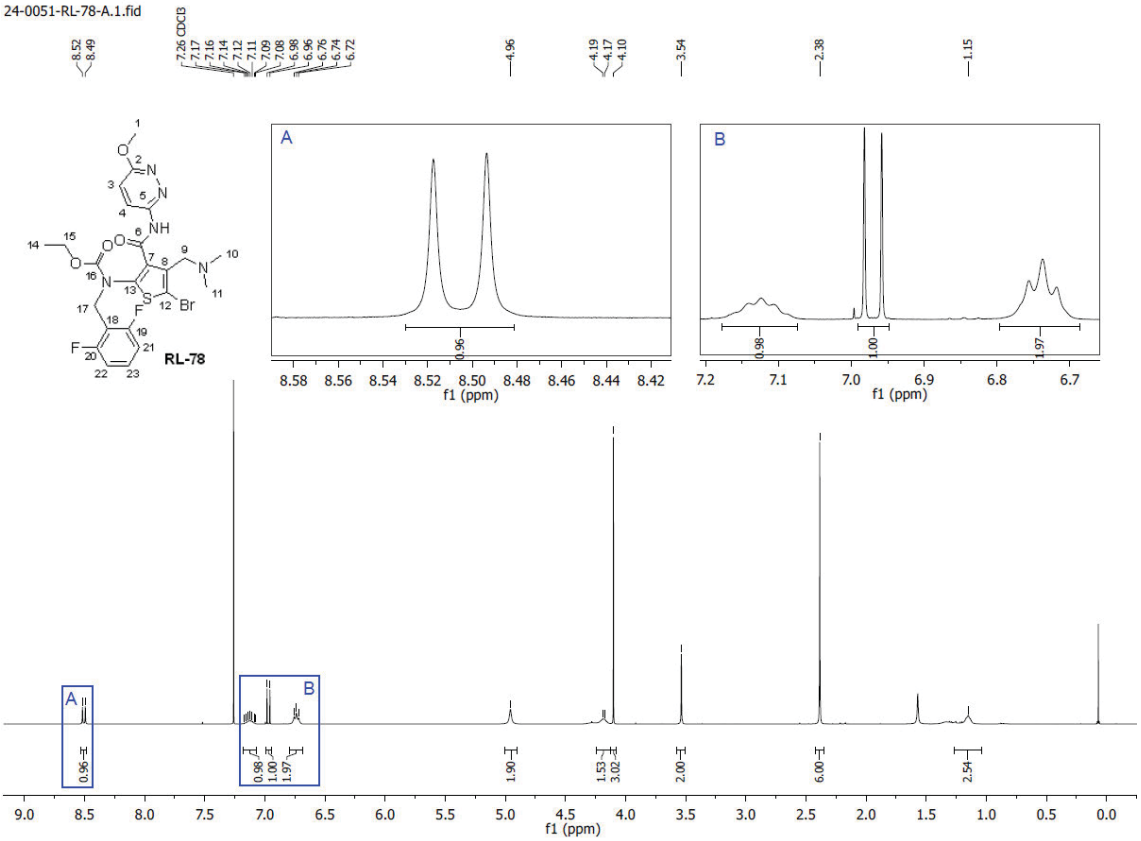


Figura 130: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-78****.*

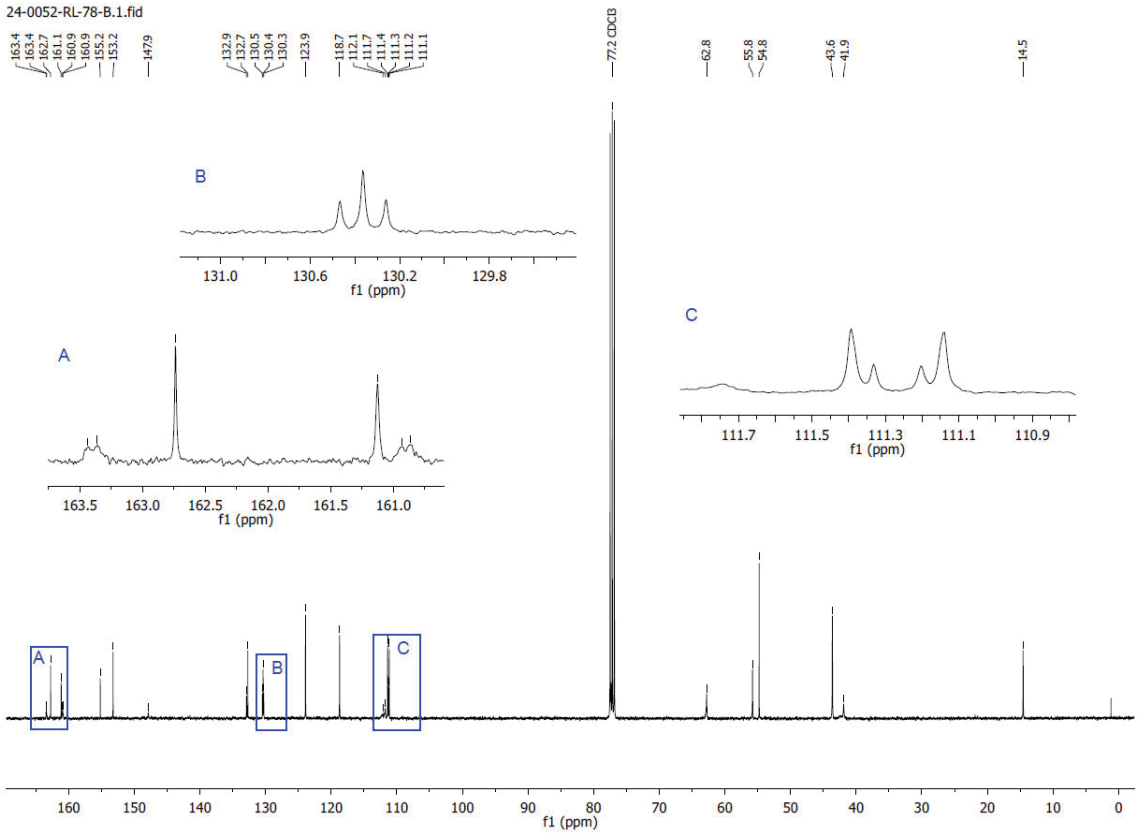
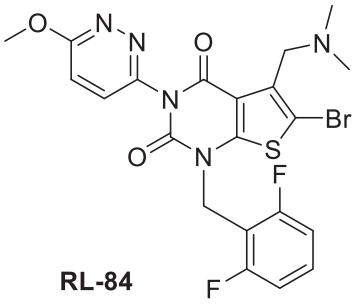


Figura 131: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-78****.*

*Síntesi de 6-bromo-1-[(2,6-difluorofenil)metil]-5-[(dimetilamino)metil]-3-(6-metoxi piridazin-3-il)tien[2,3-d]pirimidin-2,4-diona (**RL-84**).*



RL-84

En un matràs de 3 boques de 500 mL se suspèn **RL-78** (13,5 g; 22 mmol; 1 eq.) en ACN (136 mL; 10 Vol). A la mescla resultant s'hi afegeix MeONa 30 % en MeOH (0,8 g; 4 mmol; 0,25 eq.) a 0-5 ºC i s'agita durant 2 h. S'escalfa a 20-25 ºC i es concentra a sequedat donant lloc a un oli marró. Es dissol amb AcO^{i}Pr (250 mL; 18,5 Vol), es renta amb $NaHCO_3$ 8% (2 x 250 mL; 2 x 18,5 Vol), aigua (3 x 250 mL; 3 x 18,5 Vol) i es concentra a sequedat, fent un arrossegament amb DCM (2 x 100 mL; 2 x 0,75 Vol). S'aïllen 10,2 g de **RL-84** com un sòlid vermellós amb una puresa cromatogràfica del 97,2 % (Rendiment: 86 %). No es purifica.

UHPLC: R_t= 4,1 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 538,2 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}84})}]^+$, calc: 538,0}; 540,2 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}84})}+2]^+$, calc: 540,0}; **^{1}H RMN:** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 2,31 (s, 6 H, H-10, H-11), 3,42 (m, 1 H, H-9a), 3,81 (m, 1 H, H-9b), 4,16 (s, 3 H, H-1), 5,19 (m, 1 H, H-15a), 5,35 (m, 1 H, H-15b), 6,92 (dd, $^3J_{19/20\text{-}21}$ = $^3J_{19/20\text{-}F}$ = 8 Hz, 2 H, H-19, H-20), 7,10 (d, $^3J_{3\text{-}4}$ = 10 Hz, 1 H, H-3), 7,32 (m, 1 H, H-21), 7,41 (d, d, $^3J_{4\text{-}3}$ = 10 Hz, 1 H, H-4); **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 40,2 (C-15), 45,8 (C-10, C-11), 54,7 (C-9), 55,4 (C-1), 105,1 (C-12), 109,5 (t, $^2J_{16\text{-}F}$ = 17 Hz, C-16), 112,0 (dd, $^2J_{19/20\text{-}F}$ = 15 Hz, $^4J_{19/20}$ = 5 Hz, C-19, C-20), 114,3 (C-7), 119,4 (C-3), 130,6 (C-4), 131,1 (t, $^3J_{21\text{-}F}$ = 11 Hz, C-21), 136,9 (C-8), 149,3 (C-5), 149,9 (C-13), 153,5 (C-14), 157,1 (C-2), 161,6 (dd, $^1J_{17/18\text{-}F}$ = 251 Hz, $^3J_{17/18\text{-}F}$ = 7 Hz, C-17, C-18), 165,2 (C-6).

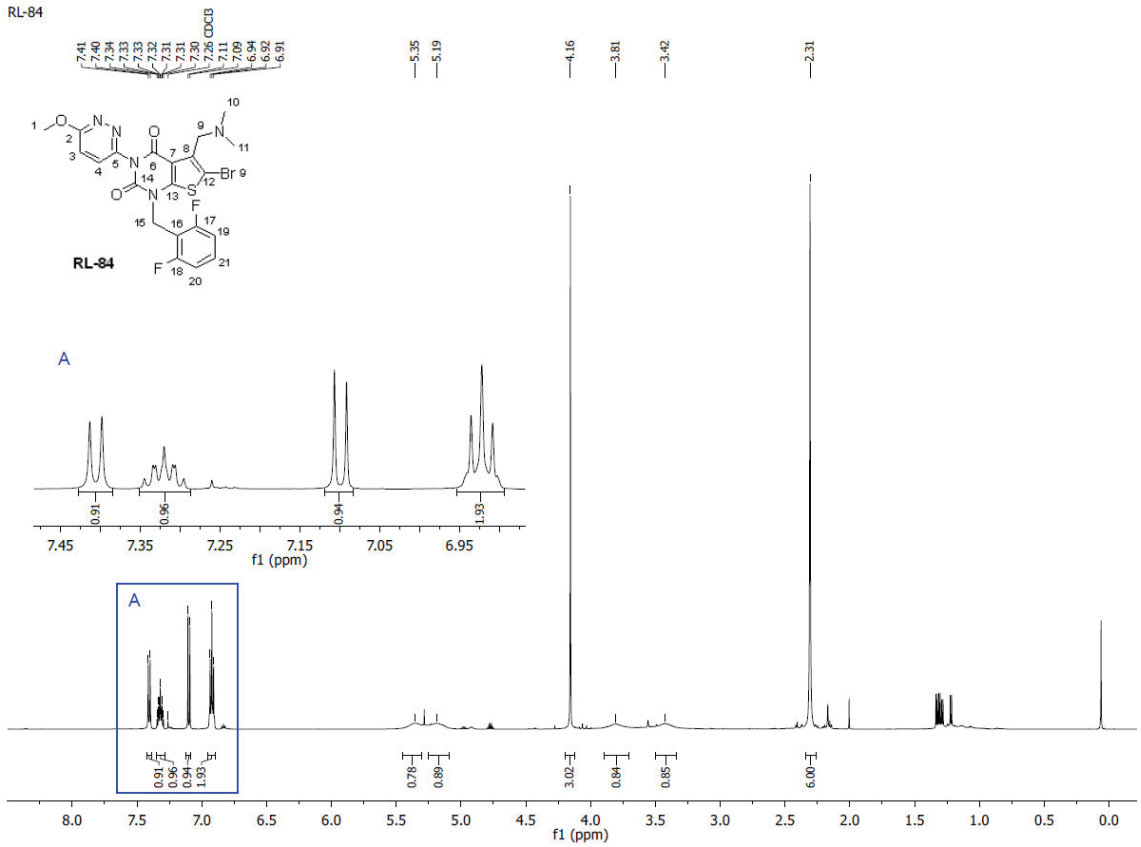


Figura 132: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-84****.*

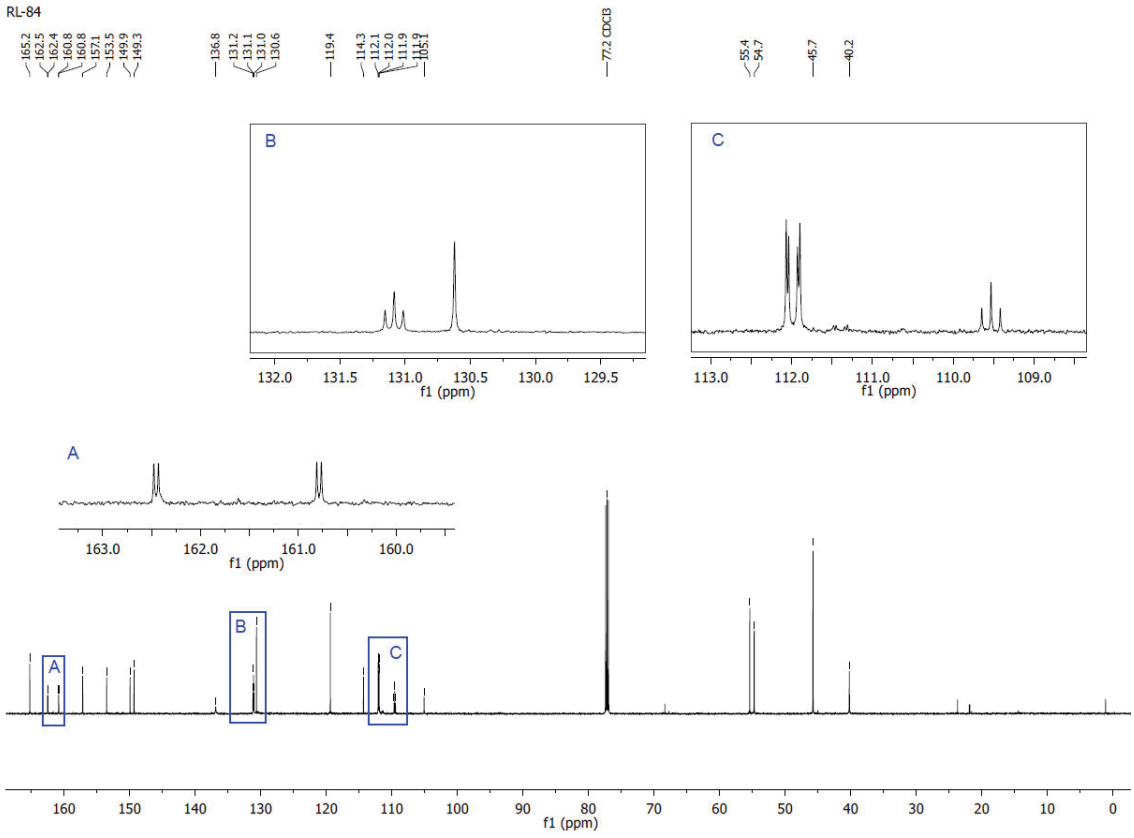
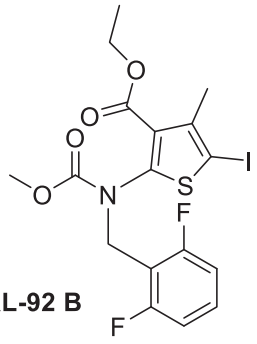


Figura 133: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-84****.*

*Síntesi de 2-[(2,6-difluorofenil)metil-etoxicarbonil-amino]-5-iodo-4-metil-tiofen-3-carboxilat d'etil (**RL-92 B**).*

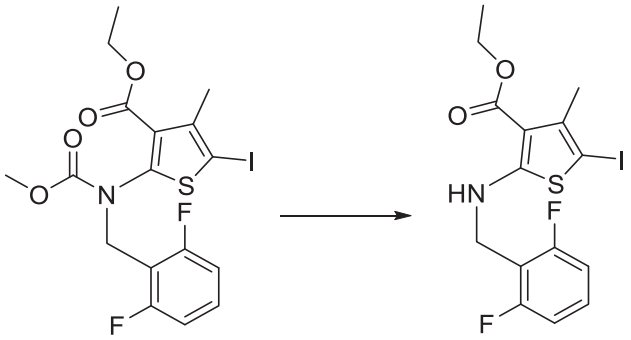


RL-92 B

En un matràs de 3 boques de 100 mL amb agitació mecànica s'afegeix **RL-49** (2 g; 5 mmol; 1 eq.), NIS (4,9 g; 22 mmol; 4,5 eq.), AIBN (0,1 g; 0,5 mmol; 0,1 eq.) i AcOEt (16 mL; 8 Vol). La mescla resultant s'agita a 45-50 ºC durant 16 h. La mescla es refreda a 20-25 ºC i s'atura abocant la mescla sobre tiosulfat de sodi 10 % (50 mL; 25 Vol) i s'agita durant 15 min. La fase orgànica es renta amb aigua (3 x 50 mL; 3 x 25 Vol), per eliminar bé les traces de sofre. La fase orgànica resultant es concentra a sequedat, obtenint-se 2,6 g de **RL-92 B** com a oli marró amb una puresa cromatogràfica del 95,2 % (Rendiment: 97 %).

UHPLC: R_t= 6,5 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 510,2 {([$M_{(\textbf{RL-92 B})}$+H]$^+$, calc: 510,0}.

Degradació del carbamat amb el temps, anàlisi per RMN posterior a la seva síntesi:



RL-92 B **RL-92 C**

^{1}H RMN: ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 1,22 (t, $^3J_{1\text{-}2}$ = 7 Hz, 3 H, H-1), 2,37 (s, 3 H, H-6), 4,20 (q, $^3J_{2\text{-}1}$ = 7 Hz, 2 H, H-2), 4,96 (s, 2 H, H-9), 6,85 (dd, $^3J_{13/14\text{-}15}$ = $^3J_{13/14\text{-F}}$ = 8 Hz, 2 H, H-13, H-14), 7,26 (m, 1 H, H-15).; **^{13}C RMN:** ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm) 14,5 (C-1), 19,8 (C-6), 42,6 (C-9), 62,9 (C-2), 75,0 (C-7), 111,5 (dd, $^2J_{13/14\text{-F}}$ = 20 Hz, $^4J_{13/14\text{-F}}$ = 6 Hz, C-13, C-14), 112,2 (t, $^2J_{10\text{-F}}$ = 19 Hz, C-10), 119,5 (C-4), 126,5 (C-5), 130,4 (t, $^3J_{15\text{-F}}$ = 10 Hz, C-15), 142,1 (C-8), 162,1 (dd, $^1J_{11/12\text{-F}}$ = 251 Hz, $^3J_{11/12\text{-F}}$ = 8 Hz, C-11, C-12), 166,0 (C-3).

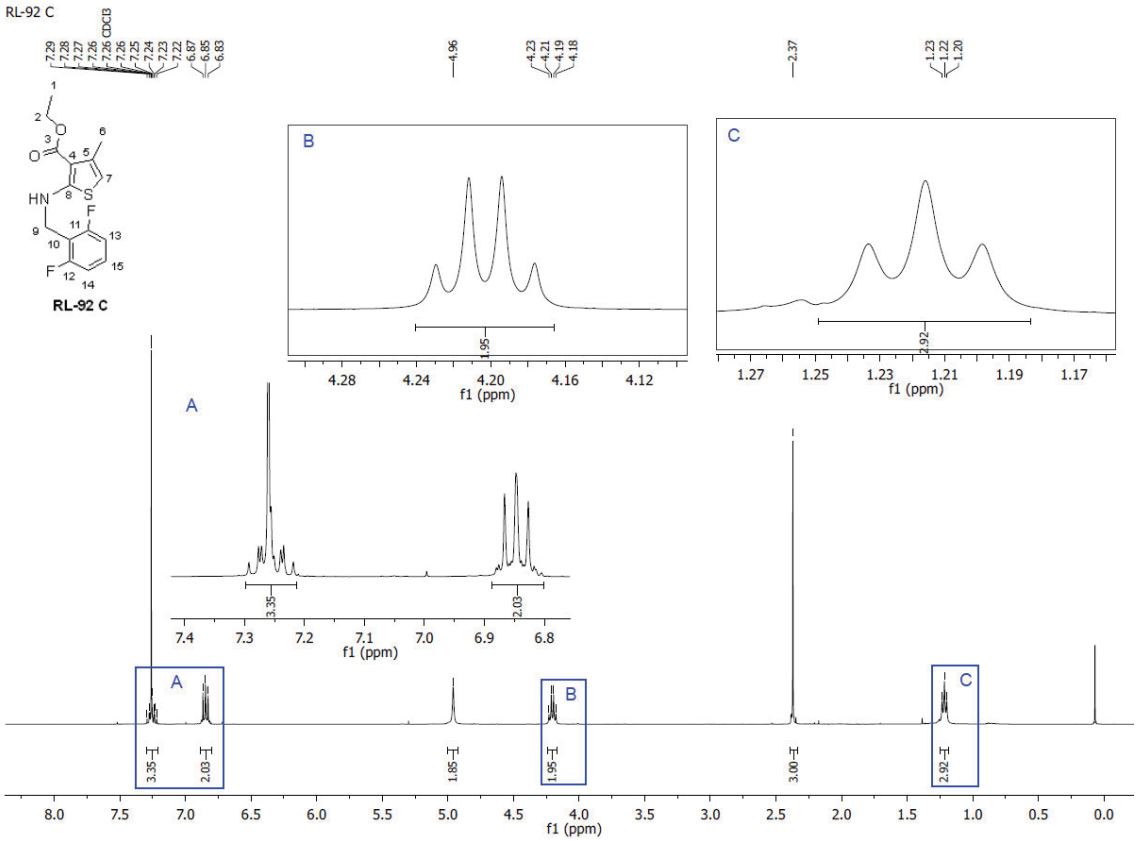


Figura 134: *Espectre de ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-92 C****.*

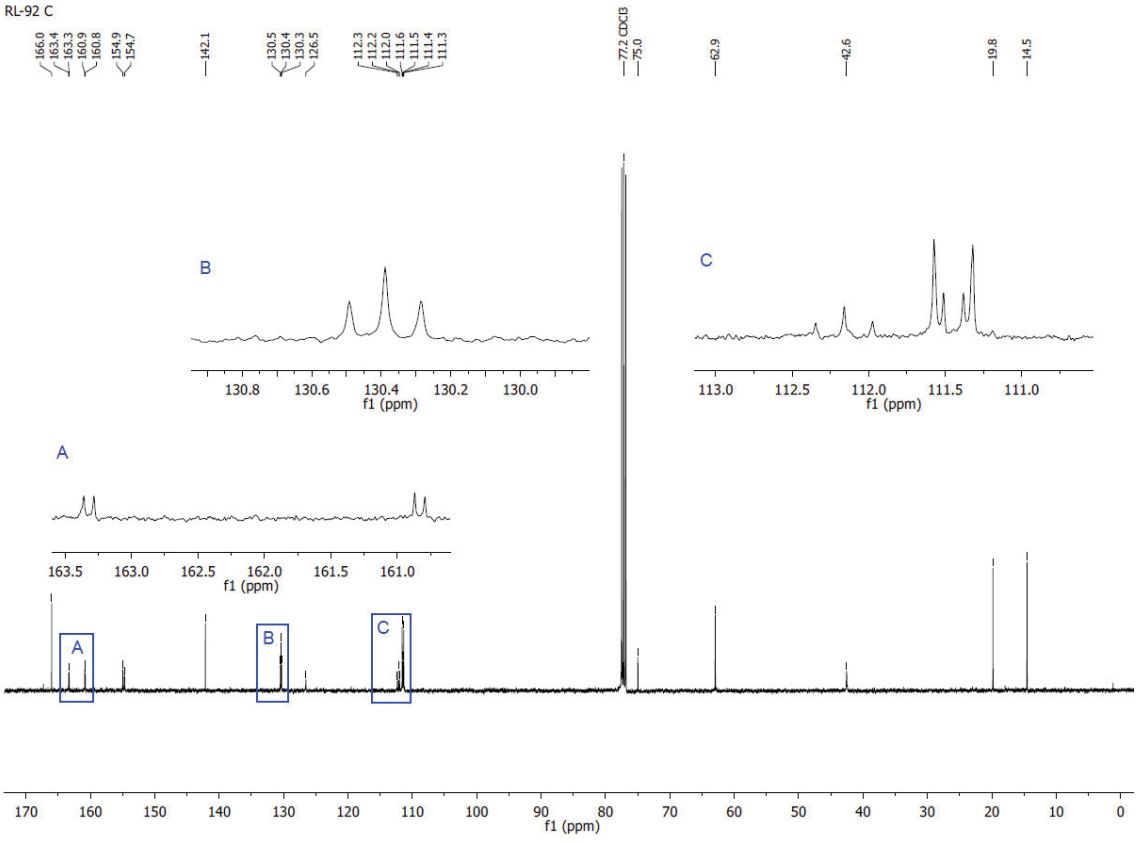
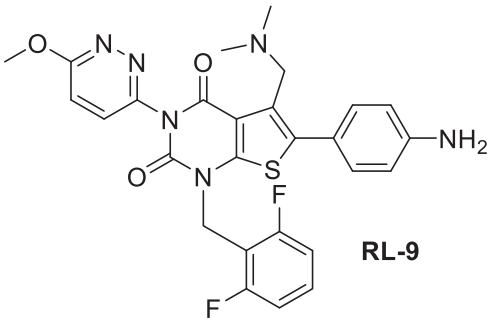


Figura 135: *Espectre de ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) de* ***RL-92 C****.*

5.3.5 Síntesi d'impureses

*Síntesi de 6-(4-aminofenil)-1-(2,6-difluorobenzil)-5-dimetilaminometil-3-(6-metoxipiridazin-3-il)tienio[2,3-d]pirimidin-2,4(1H,3H)-diona (**RL-9**).*



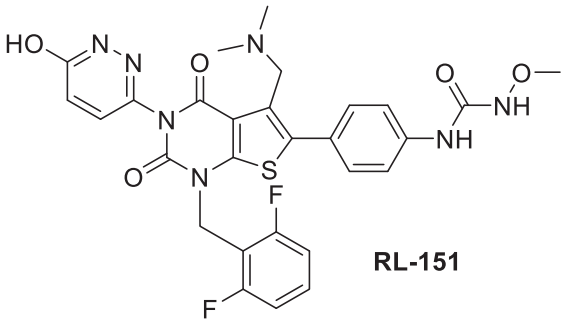
RL-9

En un matràs de 3 boques de 500 mL s'afegeix **RL-24** (40,7 g; 67 mmol; 1 eq.) en MeOH (326 mL; 8 Vol). A la mescla resultant s'addiciona MeONa 30 % en MeOH (7,2 g; 34 mmol; 0,50 eq.). S'escalfa a 40-45 ºC i s'agita durant 16 h. Es refreda a 20-25 ºC i el sòlid resultant s'aïlla per filtració. Es renta amb MeOH a 0 ºC (2 x 40mL; 2 x 1 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 45 °C durant 16 h. S'obtenen 28,1 g de **RL-9** com a sòlid groc amb una puresa cromatogràfica del 99,0 % (Rendiment: 76 %).

UHPLC: R_t= 3,1 min (Mètode General 2); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 551,3 {($[M_{(\mathbf{RL\text{-}9})}+H]^+$, calc: 551,2}.

*Síntesi de 1-[4-[1-[(2,6-difluorofenil)metil]-5-[(dimetilamino)metil]-2,4-dioxo-3-(6-oxo-1H-piridazin-3-il)tien[2,3-d]pirimidin-6-il]fenil]-3-metoxi-urea (**RL-151**).*

*Síntesi descrita a la patent EP2900675B1 (Takeda), referenciada com **RS-1**.*[24]



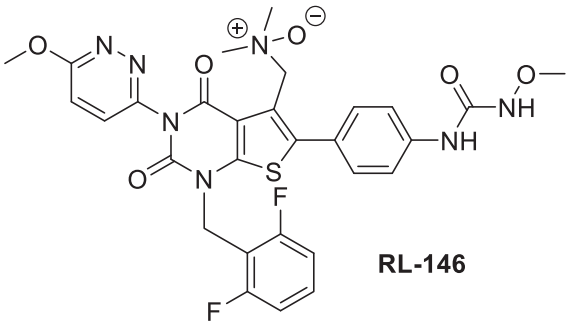
RL-151

En un matràs de 3 boques de 100mL s'addiciona **RL** (2,0 g; 3 mmol; 1 eq.) amb DMSO (6 mL; 3 Vol). S'addiciona HCl 37 % (3,2 mL; 13 mmol; 4 eq.) i s'agita a 80-85 ºC 2 h. Es refreda a 20-25 ºC i s'addiciona gradualment $NaHCO_3$ 8 % (6,2 mL; 13 mmol; 4 eq.) per neutralitzar l'àcid. Se li afegeix aigua (12 mL; 6 Vol) i s'ajusta a pH 8 amb Na_2CO_3 20 %. El sòlid resultant s'aïlla per filtració, es renta amb aigua (3 x 50 mL; 3x25 Vol) i s'asseca a l'estufa de buit a 45 °C durant 16 h. S'obtenen 1,5 g de **RL-151** com a sòlid blanc amb una puresa cromatogràfica del 87,0 %, amb un contingut del 5,8 % de **RL** (Rendiment: 76 %). No es purifica, impuresa no prioritària.

UHPLC: R_t= 3,9 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 610,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}151})}$+H]$^+$, calc: 610,2}; 608,3 {([$M_{(RL\text{-}151)}$-H]$^-$, calc: 608,2}.

*Síntesi de l'òxid de 1-[1-[(2,6-difluorofenil)metil]-6-[4-(metoxicarbamoilamino)fenil]-3-(6-metoxipiridazin-3-il)-2,4-dioxo-tien[2,3-d]pirimidin-5-il]-N,N-dimetil-metanamina (**RL-146**).*

*Síntesi seguint les condicions provades durant el desenvolupament analític en vials de UHPLC. S'utilitzen elevats volums d'ACN per assegurar la dissolució de **RL**.*

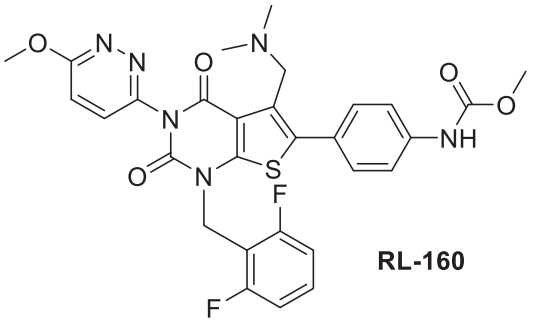


RL-146

En un matràs de 3 boques de 100 mL es dissol **RL** (1,0 g; 2 mmol; 1 eq.) amb ACN (250 mL; 250 Vol). S'addiciona H_2O_2 33 % (20 mL) i s'agita a 20-25 ºC durant 16 h. Es concentra a sequedat, s'extreu amb DCM (150 mL; 150 Vol), es decanta i es concentra a sequedat de nou, fent varis arrossegaments amb DCM (2 x 50 mL). S'obtenen 2 g **de RL-146** com un oli marró amb una puresa cromatogràfica del 98,1 % (Rendiment: superior al 100 %). No es purifica, impuresa no prioritària.

UHPLC: R_t= 4,1 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 640,2 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}146})}$+H]$^+$, calc: 640,2}.

*Síntesi de N-[4-[1-[(2,6-difluorofenil)metil]-5-[(dimetilamino)metil]-3-(6-metoxipiridazin -3-il)-2,4-dioxo-tien[2,3-d]pirimidin-6-il]fenil]carbamat de metil (**RL-160**).*



RL-160

En un baló de 50 mL amb agitació magnètica es dissol el cloroformiat de metil (50 mg; 0,5 mmol; 1,2 eq.) en DCM anhidre (25 mL; 100 Vol). Se li addiciona piridina (60 mg; 0,7 mmol; 1,3 eq.) i, posteriorment, gradualment **RL-9** (0,3 g; 0,5 mmol; 1 eq.) dissolt en DCM anhidre (6,3 mL; 25 Vol).

S'agita durant 72 h a 20-25 ºC. Es realitza una segona addició de cloroformiat de metil (50 mg; 0,5 mmol; 1,2 eq.) i s'agita durant 3 h més. Es concentra al rotavapor donant lloc a un oli groc, que es dissol en DCM (25 mL; 100 Vol), es renta amb HCl 2 N (2x25 mL) i aigua (25 mL; 100 Vol). La fase orgànica resultant es concentra a sequedat, fent un arrossegament amb DCM (25 mL; 100 Vol), tot aïllant-se 0,15 g de **RL-160** amb una puresa cromatogràfica del 96,2 % (Rendiment: 54 %).

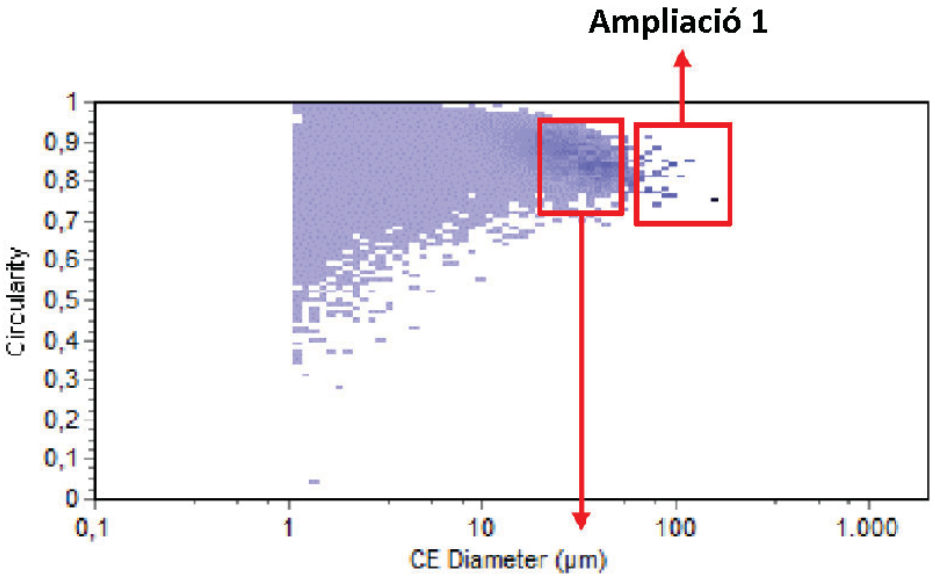
UHPLC: R_t= 3,1 min (Mètode General 1); **ESI-MS-QDa:** (*m/z*) = 609,3 {([$M_{(\mathbf{RL\text{-}160})}$+H]$^+$, calc: 609,2}.

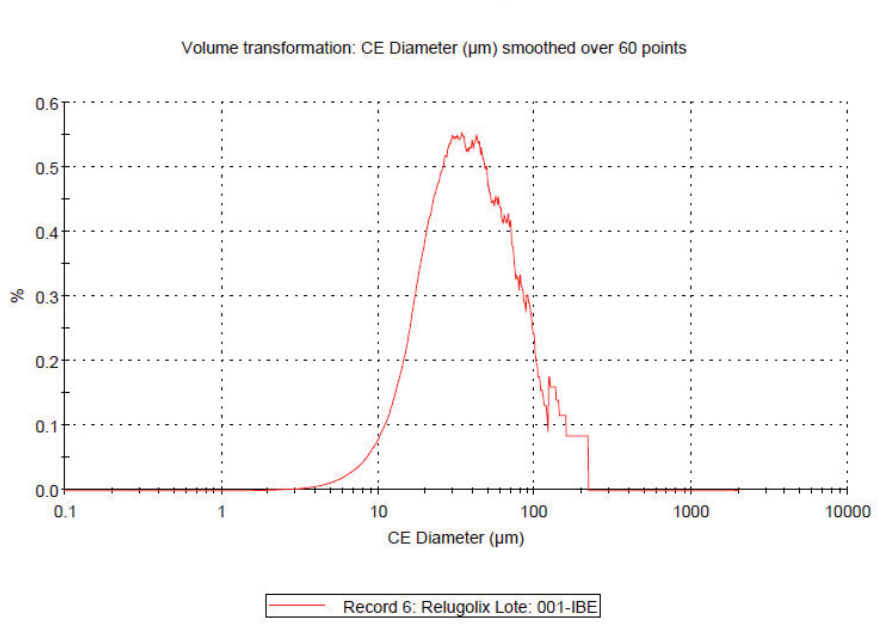
ANNEXOS

ANNEXOS

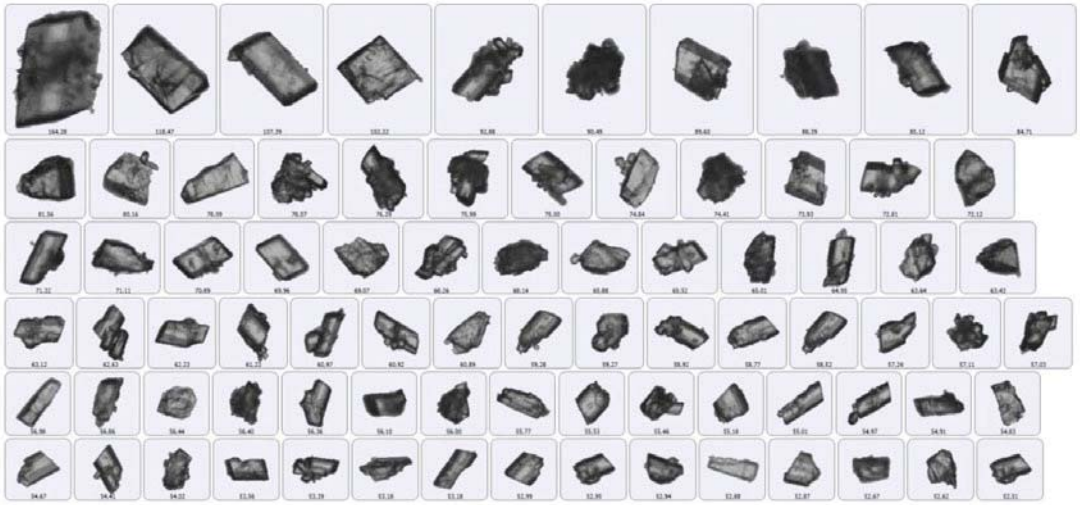
Mida de partícula

Distribució de la freqüència de partícules segons mida pel lot 001-IBE.





Ampliació 1



Ampliació 2

