

PROCESOS PARA LA PREPARACIÓN DE ALFA-HIDROXIÉSTERES MEDIANTE REACCIONES DE ACOPLAMIENTO DE GRIGNARD Y TIOLACIÓN

SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 [0001] Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Internacional n.º PCT/CN2019/120393 presentada el 22 de noviembre de 2019, que se incorpora por referencia en este documento en su totalidad para cualquier propósito.

CAMPO DE LA INVENCION

- 10 [0002] La presente divulgación proporciona procesos para preparar un alfa-hidroxiéster mediante la adición de un reactivo vinílico de Grignard a un éster de oxalato y la tiolación del doble enlace resultante. También se proporcionan alfa-hidroxiésteres e intermedios sintéticos preparados de acuerdo con los procesos divulgados en el presente documento, composiciones que comprenden los alfa-hidroxiésteres y métodos para usar las composiciones.

15

ANTECEDENTES

- [0003] Los análogos de alfa-hidroxiéster de aminoácidos naturales son útiles como suplementos dietéticos y en el estudio de procesos enzimáticos y función de proteínas. La síntesis de dichos ésteres suele emplear la esterificación de Fischer catalizada por ácido del ácido correspondiente y un alcohol en presencia de un ácido fuerte como H_2SO_4 o resina de intercambio catiónico Amberlyst®, hidrólisis mediada por ácido del nitrilo correspondiente en presencia de un ácido fuerte, o procesos mediados por enzimas. Sin embargo, los enfoques catalizados por ácido conducen a la degradación del material de partida y del producto y a la contaminación del producto con componentes diméricos y oligoméricos. Dichos métodos suelen proporcionar bajos rendimientos y se necesitan técnicas de purificación complejas para aislar el compuesto objetivo de los productos secundarios poliméricos. Los enfoques enzimáticos requieren reactivos caros y sensibles y condiciones de reacción especiales.

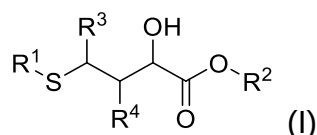
- 25 [0004] Un alfa-hidroxiéster de particular importancia es el 2-hidroxi-4-(metiltio)butanoato de isopropilo (HMBi). HMBi es el éster isopropílico del análogo hidroxilo de metionina, ácido 2-hidroxi-4-(metiltio)butanoico (HMBA). HMBi se usa para ayudar a complementar la metionina en rumiantes, incluidas las vacas. Los niveles adecuados de metionina en las vacas lecheras
- 30

ayudan a mantener los niveles deseados de síntesis de proteínas de la leche y, a su vez, los niveles deseados de producción de leche. Sin embargo, el contenido de metionina en la alimentación animal es muy insuficiente y se ha convertido en un factor limitante importante en la dieta de la vaca lechera. HMBi es un derivado químico de la metionina que se difunde fácil y rápidamente a través de la pared del rumen, evitando la degradación por parte de los microbios ruminales. Una vez que el HMBi atraviesa la pared del rumen, se metaboliza en el hígado y queda disponible para la síntesis de proteínas de la leche en las vacas lecheras.

[0005] Existe la necesidad de procesos adicionales para sintetizar alfa-hidroxiésteres, tales como HMBi, que empleen reactivos no tóxicos y económicos y condiciones de reacción suaves, y que proporcionen los ésteres del producto con alto rendimiento y pureza.

COMPENDIO

[0006] En un aspecto, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (I):



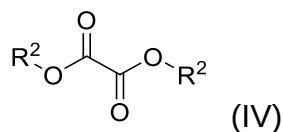
donde

R¹ es alquilo C₁₋₄ y

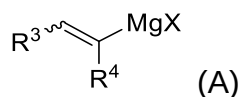
R² es alquilo C₁₋₈ o cicloalquilo C₄₋₇ y

cada uno de R³ y R⁴ se elige independientemente entre H, metilo y etilo;

que comprende acoplar un compuesto de Fórmula (IV):

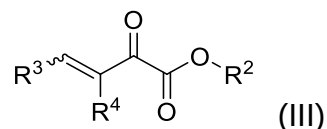


con un reactivo vinílico de Grignard de Fórmula (A):



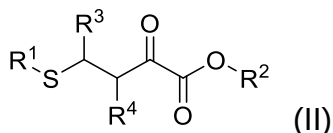
donde X es Br o Cl;

para formar un compuesto de Fórmula (III)



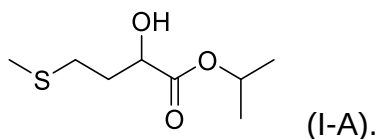
y convertir el compuesto de Fórmula (III) en el compuesto de Fórmula (I).

[0007] En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (I), que comprende reducir un compuesto de Fórmula (II):

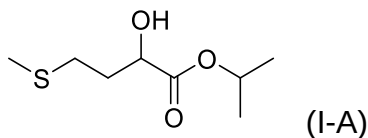


con un agente reductor para formar el compuesto de Fórmula (I).

[0008] En algunos aspectos, el compuesto de Fórmula (I) es el compuesto de fórmula (I-A):



[0009] En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (I-A):

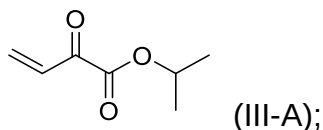


que comprende:

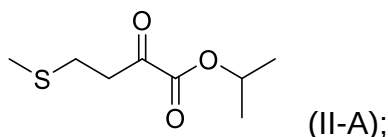
esterificar ácido oxálico con isopropanol para formar oxalato de diisopropilo;

acoplar oxalato de diisopropilo con bromuro de vinilmagnesio para formar un compuesto de

Fórmula (III-A):



tiolar el compuesto de Fórmula (III-A) con CH₃SH para formar un compuesto de Fórmula (II-A):



y reducir el compuesto de Fórmula (II-A) para formar el compuesto de Fórmula (I-A).

[0010] En otro aspecto, la divulgación se refiere a un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) preparado como en cualquiera de los métodos descritos en el presente documento.

[0011] En otro aspecto, la divulgación se refiere a 2-oxobut-3-enoato de isopropilo.

5 [0012] En otro aspecto, la divulgación se refiere a una composición de alimento para animales que comprende el compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) como se describe en el presente documento. En algunos aspectos, el alimento para animales es un alimento para vacas, tal como un alimento para vacas lecheras.

10 [0013] En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para suministrar metionina biodisponible a una vaca lechera que comprende administrarle a la vaca un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) o una composición de alimento para animales como se describe en el presente documento. En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para suministrar al menos aproximadamente 50 % de metionina biodisponible a una vaca lechera que comprende administrarle a la vaca un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) o una composición de alimento para animales como se describe en el presente documento. En otro

15 aspecto, la divulgación se refiere a un método para mejorar la leche obtenida de una vaca lechera que comprende suministrarle a la vaca un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) o una composición de alimento para animales como se describe en el presente documento.

20 [0014] En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para mejorar la condición de una vaca que comprende suministrarle a la vaca un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) o una composición de alimento para animales como se describe en el presente documento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0015] La **Figura 1A** es un espectro de ^{13}C NMR de oxalato de diisopropilo, como se describe en el Ejemplo 1.

25 [0016] La **Figura 1B** es un espectro de ^1H NMR de oxalato de diisopropilo, como se describe en el Ejemplo 1.

[0017] La **Figura 2A** es un espectro de ^{13}C NMR del éster isopropílico del ácido 2-oxo-4-metiltiobutanoico, como se describe en el Ejemplo 3.

30 [0018] La **Figura 2B** es un espectro de ^1H NMR del éster isopropílico del ácido 2-oxo-4-metiltiobutanoico, como se describe en el Ejemplo 3.

[0019] La **Figura 3A** es un espectro de ^{13}C NMR del éster isopropílico 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico (HMBi), como se describe en el Ejemplo 5.

[0020] La **Figura 3B** es un espectro de ^1H NMR del éster isopropílico 2-oxo-4-metiltiobutanoico (HMBi), como se describe en el Ejemplo 5.

5

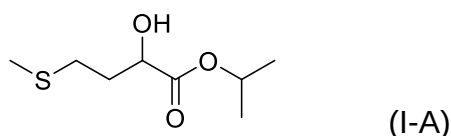
DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0021] A menos que se indique lo contrario, los términos de esta divulgación tienen su significado simple y ordinario tal como se entiende en la técnica pertinente. Los siguientes términos utilizados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones se definen para los fines de esta divulgación y tienen los siguientes significados.

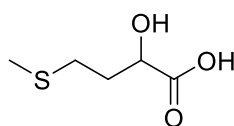
10

[0022] Como se usa en el presente documento, los términos "2-hidroxi-4-(metiltio)butanoato de isopropilo", "HMBi" y "éster isopropílico del ácido 2-hidroxi-4-(metiltio)butanoico" se refieren a un compuesto de la siguiente estructura (Fórmula (I)), donde R^1 es metilo y R^2 es isopropilo, que se muestra a continuación como Fórmula (I-A)).

15



[0023] Como se usa en el presente documento, los términos "2-hidroxi-4-(metiltio)butanoato", "ácido 2-hidroxi-4-(metiltio)butanoico" y "HMBA" se refieren a un compuesto de la siguiente estructura.



[0024] Los compuestos descritos en el presente documento pueden existir en forma racémica, como un solo enantiómero o como una mezcla de enantiómeros. Así, por ejemplo, HMBi se refiere a HMBi racémico (o "DL-HMBi"), o a D-HMBi o L-HMBi, o una mezcla de estos.

20

25

[0025] Los compuestos descritos en este documento también pueden existir en forma de sal. Debe entenderse que las fórmulas químicas que se muestran en este documento incluyen las estructuras que se muestran, así como sus formas de sal. Por ejemplo, cuando un compuesto incluye un ácido carboxílico, la fórmula también abarca formas de sal de la base conjugada (carboxilato), como sales de sodio, potasio, magnesio o calcio. Cuando un compuesto incluye

un grupo indol o imidazol, la fórmula también incluye la sal de sus ácidos conjugados, como las sales de HCl.

[0026] "Alquilo" significa un radical hidrocarburo monovalente saturado lineal de uno a ocho átomos de carbono (por ejemplo, uno a seis átomos de carbono, uno a cuatro átomos de carbono o uno a tres átomos de carbono) o un radical hidrocarburo monovalente saturado ramificado de tres a ocho átomos de carbono (por ejemplo, tres a seis átomos de carbono, tres a cuatro átomos de carbono o tres átomos de carbono), por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo (incluidas todas las formas isoméricas) y similares.

[0027] "Cicloalquilo" significa un radical hidrocarbonado monovalente saturado cíclico de tres a diez átomos de carbono, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo y similares.

[0028] "Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia descrito posteriormente puede ocurrir pero no es necesario que ocurra y que la descripción incluye casos en los que ocurre el evento o circunstancia y casos en los que no ocurre. Por ejemplo, un grupo alquilo "opcionalmente sustituido con -OH" significa que el -OH puede estar presente, pero no necesariamente, y la descripción incluye situaciones en las que el grupo alquilo está sustituido con un grupo -OH y situaciones en las que el grupo alquilo no está sustituido con un grupo -OH.

[0029] El término "solvente de reacción" se refiere a un líquido orgánico que se utiliza para transportar reactivos disueltos. En algunas realizaciones, uno de los reactivos de la reacción sirve como reactivo y como solvente de reacción. En otras realizaciones, los reactivos se diluyen en un solvente de reacción diferente.

[0030] El término "catalizador ácido" se refiere a un ácido añadido a una reacción en una cantidad inferior a la estequiométrica que sirve para catalizar la reacción. Un catalizador ácido puede ser un ácido de Bronsted (como un ácido con un pKa inferior a 7, como HCl, H₂SO₄, KHSO₄, ácido acético y similares) o un ácido de Lewis (como ácido borónico). En algunas realizaciones, el ácido se genera in situ, por ejemplo, por reacción de cloruro de acetilo o TMSCl con agua o un alcohol.

[0031] El término "concentración" se refiere a la cantidad de soluto en un solvente. En el presente documento, las concentraciones pueden representarse por % en peso o por molaridad (M) o normalidad (N).

[0032] El término "heptano" o "n-heptano" se refiere a n-heptano puro o n-heptano en una mezcla con otros isómeros C7 (p. ej., al menos un 90 % de n-heptano y al menos un 95 % de isómeros C7 totales).

[0033] El término "temperatura de reflujo" o "reflujo" se refiere a la temperatura a la que hierve un solvente de reacción; normalmente, se utiliza un condensador para enfriar el vapor de solvente y condensarlo de nuevo en el recipiente de reacción. La temperatura precisa a la que un solvente determinado alcanza el reflujo puede variar según los factores ambientales.

[0034] El término "aproximadamente" se refiere a un valor numérico, incluidos, por ejemplo, números enteros, fracciones y porcentajes, ya sea que se indique explícitamente o no. El término aproximadamente generalmente se refiere a un rango de valores numéricos (p. ej., +/- 5-10 % del rango indicado) que un experto en la técnica consideraría equivalente al valor indicado (p. ej., que tienen la misma función o resultado). Cuando términos como al menos y aproximadamente preceden a una lista de valores numéricos o rangos, los términos modifican todos los valores o rangos proporcionados en la lista. En algunos casos, el término aproximadamente puede incluir valores numéricos que se redondean.

[0035] Los términos "extraer" o "extracción" se refieren a un proceso de partición de un material entre una fase orgánica y una fase acuosa. En algunos aspectos, la extracción se realiza en una mezcla de reacción o en un residuo concentrado de una mezcla de reacción. Un "extracto" es la fase orgánica una vez separada de la fase acuosa. Como se usa en este documento, la extracción no abarca los métodos de purificación realizados en un producto de reacción bruto, como la destilación simple, la destilación al vacío, la destilación azeotrópica, la destilación fraccionada, la destilación continua, la cromatografía ultrarrápida, la HPLC o la recristalización.

[0036] Como se usa en el presente documento, "purificación" o "purificar" se refiere a un método para aislar el producto de una reacción después de completar la reacción. Los métodos de purificación incluye la destilación simple, la destilación al vacío, la destilación azeotrópica, la destilación fraccionada, la destilación continua, la cromatografía ultrarrápida, la HPLC o la recristalización.

[0037] El término "sustancialmente", por ejemplo, "sustancialmente en forma monomérica" se refiere a la pureza de un compuesto de Fórmula (I) en relación con los análogos diméricos y/o oligoméricos.

[0038] Como se usa en este documento, el término "dímero" o "compuesto dimérico" se refiere a un compuesto donde dos moléculas de una estructura de monómero dada, o una molécula de cada una de dos estructuras de monómero diferentes, se condensan en una sola molécula. Como se usa en este documento, los términos "oligómero" o "compuesto oligomérico" se refieren a un compuesto donde más de dos moléculas de una estructura de monómero dada, o más de dos moléculas de al menos dos estructuras de monómero diferentes, se condensan en una sola estructura polimérica. HMBi puede formar oligómeros homogéneos u oligómeros heterogéneos de HMBi (que comprenden al menos una unidad de monómero de HMBi).

[0039] El término "pureza" o la expresión de un porcentaje de compuesto (p. ej., x % de HMBi) se refiere a la pureza de un compuesto en una muestra, determinada en peso, por análisis GC y/o por análisis HPLC. En algunos aspectos, la pureza en peso se determina mediante análisis GC o HPLC con detección UV.

[0040] El término "pureza en peso" se refiere a la pureza de un compuesto en una muestra con respecto a otros componentes de la muestra, donde la relación entre la masa del compuesto y la masa de la muestra se expresa como un porcentaje.

[0041] El término "pureza" con referencia a la cromatografía de gases (GC) o pureza HPLC significa la pureza calculada (expresada en %) del área del pico para el compuesto de interés en relación con la suma de todas las áreas del pico en el cromatograma. En algunos aspectos, la pureza se determina mediante HPLC con detección UV.

[0042] En algunos aspectos, la pureza es la pureza requerida según las normas de comercialización de un producto regulado. En el caso de HMBi, por ejemplo, el compuesto comprende 0,5 % de agua o menos (por ejemplo, según lo determinado por análisis de Karl-Fischer). (Véase el Reglamento de Ejecución (UE) n.º 469/2013 de la Comisión, de 22 de mayo de 2013).

[0043] Los términos "bruto", "producto bruto" y "compuesto bruto" se refieren a la muestra de un compuesto obtenido de una mezcla de reacción después de la concentración de la mezcla de reacción y/o la extracción de la mezcla de reacción en un solvente orgánico y la concentración del extracto orgánico.

[0044] El término "composición de alimento para animales" se refiere a un producto adecuado para su uso en nutrición animal. En algunos aspectos, la composición de alimento para animales es un alimento para animales (p. ej., alimento o agua potable que comprende el suplemento) y

en algunos aspectos, la composición de alimento para animales es un aditivo para alimentos. El aditivo para alimentos es adecuado para mezclar con alimentos para animales o con agua potable.

[0045] El término "vehículo" se refiere a un vehículo adecuado para un aditivo para alimento para animales. Los vehículos adecuados incluyen agua (para un aditivo alimentario líquido o sólido) o sílice (para un aditivo alimentario sólido). En algunos aspectos, el vehículo es sílice (dióxido de silicio). En algunos aspectos, el aditivo para alimentos comprende el compuesto y sílice en una relación de 3:2.

[0046] En algunos aspectos, un alimento para animales comprende un alimento granulado rico en proteínas (p. ej., a base de cacahuetes, harina de colza y/o harina de soja) suplementado con 2,5 % o 1 % de HMBi en peso. En algunos aspectos, un alimento para animales comprende aproximadamente 45 % y aproximadamente 50 % de cereal (maíz, cebada, trigo y/o subproductos de trigo), complementado con 0,5 % o 3,0 % de HMBi en peso. En algunos aspectos, un alimento para animales comprende un alimento en harina con melaza o un alimento granulado, cada uno suplementado con 2,5 % o 1 % de HMBi en peso.

[0047] El término "administrar" se refiere a proporcionar el suplemento al animal objetivo. La administración se puede realizar por vía oral, por ejemplo, mediante la ingestión de alimentos o agua potable que comprende el compuesto, o mediante inyección u otro modo de administración.

[0048] Como se usa en este documento, "mejorar la leche" se refiere a una mejora en la calidad y/o cantidad de leche producida por una vaca tratada o un grupo de vacas tratadas en comparación con la producida por contrapartes no tratadas. Las mejoras en la leche incluyen, por ejemplo, un mayor contenido de proteína en la leche (p. ej., aumento de proteínas alfa, beta y/o kappa), mayor contenido de grasa en la leche y/o mayor volumen de leche producida.

[0049] Como se usa en el presente documento, "mejorar el estado de una vaca" se refiere a una mejora en una medida de salud de la vaca tratada o grupo de vacas tratadas en comparación con la medida de salud en contrapartes no tratadas. La mejora del estado de una vaca puede referirse, por ejemplo, a un aumento en alguna característica con respecto al animal no tratado; por ejemplo, aumento de peso.

[0050] Como se usa en el presente documento, una "mejora en la fertilidad" incluye, por ejemplo, acortar el intervalo entre el parto y la reproducción y/o aumentar el porcentaje de fertilización durante la inseminación.

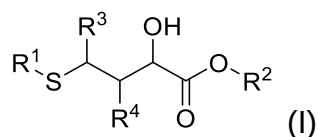
[0051] Como se usa en el presente documento, una "mejora en la función hepática" incluye, por ejemplo, reducción en problemas metabólicos, mejora en niveles de lipoproteínas de muy baja densidad, reducción en cetosis sanguínea y/o reducción en la incidencia de esteatosis hepática.

[0052] Como se usa en el presente documento, "aumento de energía" se refiere, por ejemplo, a la estimulación de los procesos de fermentación en el rumen, lo que da como resultado un aumento de materia orgánica digerible y, por lo tanto, más energía para el animal.

Procesos sintéticos

[0053] La divulgación se refiere a métodos para preparar un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) y/o un intermedio a través de una o más de las siguientes reacciones: a) esterificación de cloruro de oxalilo o ácido oxálico con R^2 -OH para formar un diéster de oxalato; b) acoplamiento del diéster de oxalato con un reactivo de alquenilo de Grignard para formar un alfa-cetoéster sustituido con alquenilo (un éster de 2-oxobut-3-enoato); c) tiolación del alfa-cetoéster sustituido con alquenilo para formar un éster de 4-alciltio-2-oxo-butanoato; y d) reducción del éster de 4-alciltio-2-oxo-butanoato para formar el compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A). El ácido oxálico puede usarse como, por ejemplo, ácido oxálico o dihidrato de ácido oxálico.

[0054] En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (I):



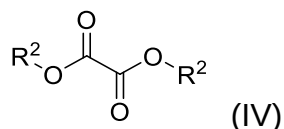
donde

R^1 es alquilo C_{1-4} y

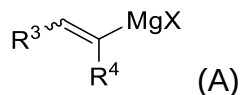
R^2 es alquilo C_{1-8} o cicloalquilo C_{4-7} y

cada uno de R^3 y R^4 se elige independientemente entre H, metilo y etilo;

que comprende acoplar un compuesto de Fórmula (IV):

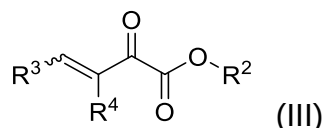


con un reactivo vinílico de Grignard de Fórmula (A):



donde X es Br o Cl;

- 5 para formar un compuesto de Fórmula (III)



y convertir el compuesto de Fórmula (III) en el compuesto de Fórmula (I).

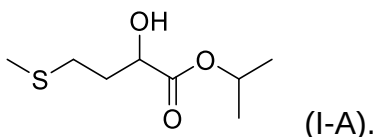
- 10 **[0055]** En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (III) que comprende acoplar un compuesto de fórmula (IV) con un reactivo vinílico de Grignard de fórmula (A).

[0056] En algunas realizaciones, R^1 es metilo.

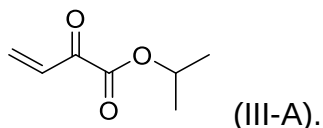
[0057] En algunas realizaciones, cada R^2 se elige entre metilo, etilo e isopropilo. En algunas realizaciones, cada R^2 es isopropilo.

[0058] En algunas realizaciones, R^3 y R^4 son cada uno H.

- 15 **[0059]** En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es el compuesto de fórmula (I-A):



[0060] En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (III) es el compuesto de Fórmula (III-A):



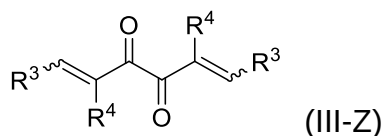
- 20 **[0061]** En algunas realizaciones, el reactivo vinílico de Grignard de fórmula (A) es vinil-MgCl. En algunas realizaciones, X es Cl. En algunas realizaciones, el acoplamiento de Grignard se realiza en presencia de un aditivo de sal, como LiCl o ZnCl_2 . En algunas realizaciones, el aditivo de sal es LiCl.

[0062] En algunas realizaciones, el acoplamiento comprende mezclar el compuesto de Fórmula (I) con de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 2,0, o de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,75, o de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1,5, o de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 1,75, o de aproximadamente 1,4 a aproximadamente 1,6, o aproximadamente 1,5 equivalentes molares del reactivo vinílico de Grignard de Fórmula (A).

[0063] En algunas realizaciones, el acoplamiento se realiza a una temperatura que varía de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 10 °C, de aproximadamente -80 °C a aproximadamente -70 °C, de aproximadamente -50 °C a aproximadamente 10 °C, de aproximadamente -40 °C a aproximadamente 5 °C, de aproximadamente -50 °C a aproximadamente -20 °C, de aproximadamente -30 °C a aproximadamente -20 °C, o a una temperatura de aproximadamente -78 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C. En algunas realizaciones, el acoplamiento comprende mezclar el compuesto de Fórmula (I) en MTBE con aproximadamente 1,5 equivalentes molares del reactivo vinílico de Grignard de Fórmula (A) a una temperatura de aproximadamente -50 °C a aproximadamente -20 °C, de aproximadamente -30 °C a aproximadamente -20 °C. En algunas realizaciones, el reactivo vinílico de Grignard se agrega al compuesto de Fórmula (IV) lentamente y/o en porciones.

[0064] En algunas realizaciones, el acoplamiento se realiza en un solvente aprótico. En algunas realizaciones, el solvente aprótico es un éter, como MTBE, THF o Et₂O, opcionalmente mezclado con un solvente no polar como heptano o hexanos. En algunas realizaciones, el solvente aprótico es MTBE o THF, opcionalmente mezclado con heptano. En algunas realizaciones, la concentración de la reacción de acoplamiento es de aproximadamente 0,25 M a aproximadamente 1,3 M (moles del compuesto de Fórmula (IV) por litro de solvente de reacción), o de aproximadamente 0,4 M a aproximadamente 1,1 M, o de aproximadamente 0,4 M a aproximadamente 0,5 M, o de aproximadamente 0,9 M a aproximadamente 1,0 M, o aproximadamente 0,5 M, o aproximadamente 1 M.

[0065] En algunas realizaciones, el acoplamiento produce una mezcla del compuesto de Fórmula (III) y un compuesto de Fórmula (III-Z):



en una relación de (III):(III-Z) de al menos 5:1, o al menos 6:1, o al menos 7:1, o al menos 8:1, o al menos 9:1, o al menos 10:1, o al menos 15:1, o al menos 20:1.

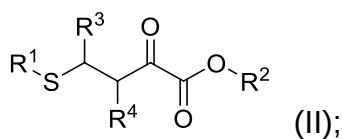
[0066] En algunas modalidades, convertir el compuesto de Fórmula (III) en el compuesto de Fórmula (I) comprende:

- 5 tiolar el compuesto de Fórmula (III) con un reactivo de tiolación de Fórmula (B) o de Fórmula (C):



donde M^+ es un catión metálico;

para formar un compuesto de Fórmula (II)



10

y reducir el compuesto de Fórmula (II) para formar el compuesto de Fórmula (I).

[0067] En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (II) que comprende tiolar un compuesto de fórmula (III) con un reactivo de tiolación de Fórmula (B) o de Fórmula (C).

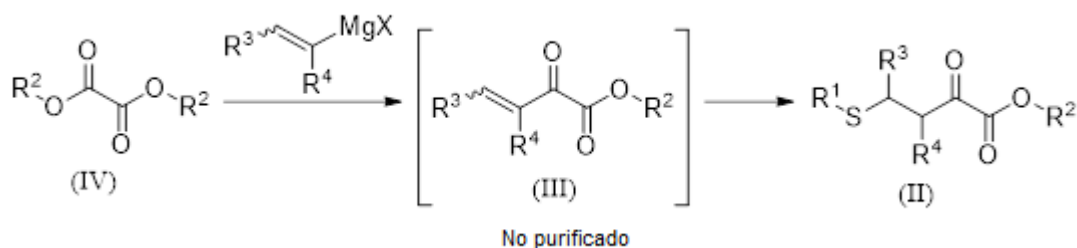
- 15 **[0068]** En algunas realizaciones, la tiolación se realiza con el reactivo de Fórmula (B) en presencia de un aditivo. En algunas realizaciones, el aditivo es una base de amina, como trietilamina, dietilamina, pentilamina o hexilamina, una fosfina como dimetilfenilfosfina (DMPP) o tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), una sal básica como NaHCO_3 o Na_2CO_3 , un ácido de Lewis tal como triflato de escandio (III), o cloruro de cerio (III) anhidro, un complejo de carbeno N-heterocíclico (NHC) (p. ej., un complejo Au-NHC). En algunas realizaciones, el aditivo es
- 20 trietilamina.

- [0069]** En algunas realizaciones, el método comprende además generar el reactivo de tiolación de Fórmula (B) a partir del reactivo de tiolación de Fórmula (C). En algunas realizaciones, la generación se realiza en presencia de un catalizador ácido. En algunas realizaciones, el
- 25 catalizador ácido es ácido acético, ácido p-toluenosulfónico o H_2SO_4 . En algunas realizaciones, la tiolación se realiza a una temperatura que varía de aproximadamente -40°C a aproximadamente 10°C , o de aproximadamente -35°C a aproximadamente 5°C , o de aproximadamente -30°C a aproximadamente -20°C , o a aproximadamente 0°C .

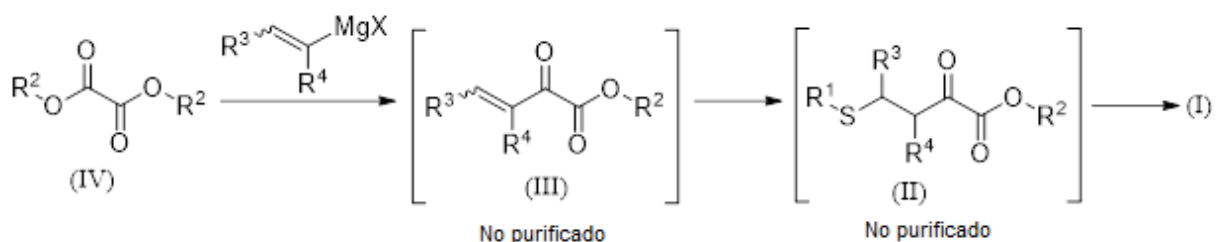
[0070] En algunas realizaciones, el agente de tiolación es de Fórmula (C) y la tiolación se realiza a una temperatura que varía de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 35 °C, o de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 35 °C.

[0071] En algunas realizaciones, M^+ es Na^+ o K^+ .

- 5 [0072] En algunas realizaciones, el acoplamiento comprende extraer el compuesto de Fórmula (III) en un solvente orgánico, para formar un extracto de Fórmula (III), y la tiolación comprende añadir el reactivo de tiolación al extracto de Fórmula (III). De esta manera, la reacción de tiolación se realiza sin purificar el intermedio de Fórmula (III) de la reacción de acoplamiento antes de la reacción de tiolación. En algunas realizaciones, el procedimiento es como se muestra a continuación.
- 10



- [0073] En algunas realizaciones, la reducción del compuesto de Fórmula (II) se realiza en presencia de un agente reductor elegido entre $NaBH_4$, $LiBH_4$ y $Al(O-iPr)_3/iPrOH$. En algunas realizaciones, el agente reductor es $NaBH_4$. En algunas realizaciones, la tiolación comprende
- 15 extraer el compuesto de Fórmula (II) en un solvente orgánico, para formar un extracto de Fórmula (II), y la reducción comprende añadir el agente reductor al extracto de Fórmula (II). De esta manera, la reducción se realiza sin purificar el compuesto de Fórmula (II) antes de la reducción. En algunas realizaciones, el acoplamiento comprende extraer el compuesto de Fórmula (III) en un solvente orgánico, para formar un extracto de Fórmula (III), la tiolación
- 20 comprende añadir el reactivo de tiolación al extracto de Fórmula (III) y extraer el compuesto de Fórmula (II) en un solvente orgánico para formar un extracto de Fórmula (II) y la reducción comprende añadir el agente reductor al extracto de Fórmula (II). De esta manera, el acoplamiento, la tiolación y la reducción se realizan sin purificar los intermedios de Fórmula (II) y Fórmula (III), como se muestra en el siguiente esquema.



[0074] En algunas realizaciones, la reducción se realiza con NaBH₄ o LiBH₄:

(a) en un solvente alcohólico como metanol, etanol o isopropanol; y/o

(b) usando de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 1,0 equivalente molar de agente reductor y/o

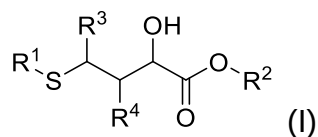
(c) a una temperatura en el intervalo de aproximadamente -10 °C a aproximadamente 30 °C, o a aproximadamente 0 °C.

[0075] En algunas realizaciones, la reducción se realiza con Al(O-*i*Pr)₃/*i*PrOH a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 90 °C, o a aproximadamente 80 °C.

[0076] En algunas realizaciones, el método comprende además esterificar cloruro de oxalilo con R²-OH para formar el compuesto de Fórmula (IV). En algunas realizaciones, la esterificación se realiza en presencia de al menos una base de amina, como N,N-dimetilpiridina, piridina o trietilamina. En algunas realizaciones, la esterificación se realiza a una temperatura que varía de aproximadamente -5 °C a aproximadamente 30 °C.

[0077] En algunas realizaciones, el método comprende además esterificar ácido oxálico con R²-OH en presencia de un catalizador ácido y un desecante opcional, como eliminación azeotrópica de agua, tamices moleculares o una combinación de estos, para formar el compuesto de Fórmula (IV). En algunas realizaciones, el catalizador ácido se elige entre p-TsOH;H₂SO₄; un catalizador de resina de ácido sulfónico macroporoso tal como Amberlyst®-15, Dowex® o M32; un silicoaluminato; ácido fosfórico; ácido borónico; cloruro de acetilo; y un ácido con un pKa menor que 3. En algunas realizaciones, el catalizador ácido es p-TsOH o H₂SO₄. En algunas realizaciones, el catalizador ácido es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 equivalentes molares, o aproximadamente 0,025 a aproximadamente 0,05 equivalentes molares, de p-TsOH, o aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes molares, o aproximadamente 2 equivalentes molares, de H₂SO₄. En algunas realizaciones, la esterificación

se realiza a la temperatura de reflujo del solvente de reacción. En algunas realizaciones, la esterificación se realiza en un solvente de reacción elegido entre tolueno, CHCl_3 , e isopropanol. **[0078]** En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (I):



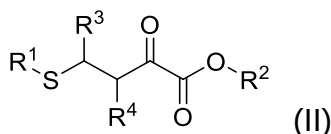
donde

R^1 es alquilo C_{1-4} y

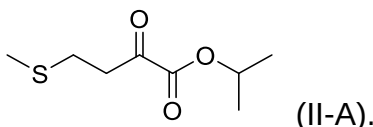
R^2 es alquilo C_{1-8} o cicloalquilo C_{4-7} y

cada uno de R^3 y R^4 se elige independientemente entre H, metilo y etilo;

que comprende reducir un compuesto de Fórmula (II):



con un agente reductor para formar el compuesto de Fórmula (I). En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es el compuesto de Fórmula (I-A). En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es el compuesto de Fórmula (II-A).



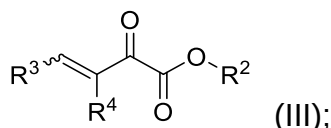
[0079] En algunas realizaciones, la reducción del compuesto de Fórmula (II) se realiza en presencia de un agente reductor elegido entre NaBH_4 , LiBH_4 y $\text{Al}(\text{O-iPr})_3/\text{iPrOH}$. En algunas realizaciones, el agente reductor es NaBH_4 .

[0080] En algunas realizaciones, la reducción se realiza con NaBH_4 o LiBH_4 :

- (a) en un solvente alcohólico como metanol, etanol o isopropanol; y/o
- (b) usando de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 1,0 equivalente molar de agente reductor y/o
- (c) a una temperatura en el intervalo de aproximadamente -10°C a aproximadamente 30°C , o a aproximadamente 0°C .

[0081] En algunas realizaciones, la reducción se realiza con $\text{Al}(\text{O-iPr})_3/\text{iPrOH}$ a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 90 °C, o a aproximadamente 80 °C.

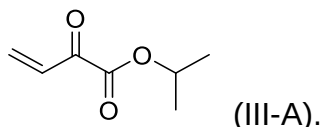
[0082] En algunas realizaciones, el método comprende además tiolar un compuesto de Fórmula (III):



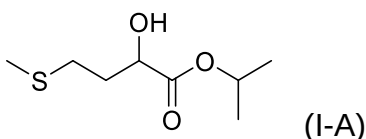
donde cada uno de R^3 y R^4 se elige independientemente entre H, metilo y etilo; con un reactivo de tiolación de Fórmula (B) o Fórmula (C):



donde M^+ es un catión metálico; para formar el compuesto de Fórmula (II). En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es el compuesto de Fórmula (II-A) y el compuesto de Fórmula (III) es el compuesto de Fórmula (III-A):



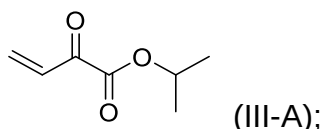
[0083] En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un método para preparar un compuesto de Fórmula (I-A):



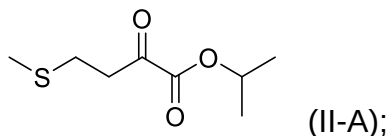
que comprende:

esterificar ácido oxálico con isopropanol para formar oxalato de diisopropilo;

acoplar oxalato de diisopropilo con bromuro de vinilmagnesio para formar un compuesto de Fórmula (III-A):



tiolar el compuesto de Fórmula (III-A) con CH_3SH para formar un compuesto de Fórmula (II-A):



y reducir el compuesto de Fórmula (II-A) para formar el compuesto de Fórmula (I-A).

[0084] En algunas realizaciones, el método descrito en el presente documento proporciona el compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) con una pureza de al menos aproximadamente 95 % por GC, HPLC o en peso. En algunas realizaciones, los métodos proporcionan un compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) que tiene una pureza en peso, por GC y/o HPLC de al menos aproximadamente 95 %, o al menos aproximadamente 96 %, o al menos aproximadamente 97 %, o al menos aproximadamente 98 %, donde el compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) no ha sido purificado o ha sido purificado solo por destilación fraccionada. En algunas realizaciones, los métodos proporcionan un compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) que está sustancialmente en forma monomérica, o que comprende menos de aproximadamente 5 % en peso, o menos de aproximadamente 3 % en peso, de compuestos diméricos y/u oligoméricos, donde el compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) no ha sido purificado o ha sido purificado únicamente por destilación fraccionada.

Productos compuestos

[0085] En algunas realizaciones, la reacción proporciona un compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) que tiene una pureza en peso (y/o por GC o por HPLC) de al menos aproximadamente 80 %, o al menos aproximadamente 90 %, o al menos aproximadamente 95 %, o al menos aproximadamente 96 %, o al menos aproximadamente 97 %, o al menos aproximadamente 98 %, donde el compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) no ha sido purificado o ha sido purificado solo por destilación fraccionada. En algunas realizaciones, la reacción proporciona un compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) que está sustancialmente en forma monomérica, o que comprende menos de 5 % en peso, o menos de 3 % en peso, de compuestos diméricos y/u oligoméricos, donde el compuesto bruto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) no ha sido purificado o ha sido purificado únicamente por destilación fraccionada.

[0086] En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) preparado como en un método descrito en este documento. En algunas

realizaciones, la divulgación se refiere a un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A), donde el compuesto tiene una pureza en peso (y/o por GC o por HPLC) de al menos aproximadamente 80 %, o al menos aproximadamente 90 %, o al menos aproximadamente 95 %, o al menos aproximadamente 96 %, o al menos aproximadamente 97 %, o al menos aproximadamente 98 %, y el compuesto no ha sido purificado o ha sido purificado solo por destilación fraccionada. En algunas realizaciones, el compuesto está sustancialmente en forma monomérica, o se mezcla con menos de aproximadamente 5 %, o menos de aproximadamente 3 % en peso, de compuestos diméricos y/u oligoméricos.

[0087] En algunas realizaciones, el producto HMBi (Fórmula (I-A)) tiene una o más de las siguientes especificaciones: (a) al menos aproximadamente 95 % en peso o por análisis HPLC de contenido de monómero HMBi y pureza química y (b) contenido de agua de menos de aproximadamente 0,5 % por análisis de Karl Fischer; (c) pH inferior a aproximadamente 6,0 (medido a una concentración del 1 % en agua).

[0088] También se divulga en el presente documento un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) preparado por cualquiera de los métodos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, hay un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A), donde el compuesto tiene una pureza en peso (y/o por GC o por HPLC) de al menos aproximadamente 95 %, o al menos aproximadamente 96 %, o al menos aproximadamente 97 %, o al menos aproximadamente 98 % y el compuesto es un compuesto bruto, no ha sido purificado y/o ha sido purificado solo por destilación fraccionada. En algunas realizaciones, el compuesto es el compuesto de Fórmula (I), donde R^1 es $-CH_2CH_2-S-CH_3$ y R^2 es isopropilo, o el compuesto es el compuesto de Fórmula (I-A). En algunas realizaciones, el compuesto está sustancialmente en forma monomérica, o se mezcla con menos de aproximadamente 5 %, o menos de aproximadamente 3 % en peso, de compuestos diméricos y/u oligoméricos.

Composiciones y usos de alimentos para animales

[0089] En algunos aspectos, la presente divulgación se refiere a una composición de alimento para animales que comprende el compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (I-A) como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición de alimento para animales es adecuada para administrar a rumiantes, tales como ganado vacuno, vacas, ovejas, antílopes, ciervos, jirafas, bovinos (p. ej., bisontes, búfalos o yaks), cabras y/o gacelas. En algunas

realizaciones, la composición de alimento para animales es una composición de alimento para vacas, como una composición de alimento para vacas lecheras o un aditivo para alimentos para vacas, como alimento para vacas lecheras. En algunas realizaciones, la composición de alimento para animales es una composición de alimento para vacas lecheras.

5 **[0090]** En algunas realizaciones, la composición de alimento para animales es un alimento para animales o un aditivo para alimento para animales. En algunas realizaciones, el aditivo para alimento para animales está en forma líquida o sólida, donde la forma líquida comprende el compuesto y opcionalmente un vehículo líquido, y la forma sólida comprende el compuesto mezclado con un vehículo sólido, opcionalmente donde el vehículo sólido es sílice (dióxido de silicio), opcionalmente donde la relación del compuesto al vehículo sólido es de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 1:5, o es de 3:2. En algunas realizaciones, la composición del alimento es un aditivo alimentario líquido o un aditivo alimentario sólido. En algunas realizaciones, la composición de alimento para animales es un aditivo para agua potable. En algunas realizaciones, el aditivo alimentario líquido o el aditivo para agua potable
10 tiene un pH que oscila entre aproximadamente 4,0 y aproximadamente 7,5.

[0091] En algunas realizaciones de la composición de alimento para animales, R^1 es $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$ y R^2 es isopropilo. En algunas realizaciones, el compuesto es el compuesto de Fórmula (I-A).

[0092] En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un método para suministrar metionina biodisponible a una vaca lechera que comprende administrarle a la vaca el compuesto o composición de alimento para animales como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la administración comprende alimentar a la vaca con una composición de alimento que contiene el compuesto. En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para suministrar al menos aproximadamente 50 % de metionina biodisponible a una vaca lechera que comprende administrarle a la vaca un compuesto o composición de alimento para animales como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la divulgación se refiere a un método para mejorar la leche obtenida de una vaca lechera, que comprende suministrarle a la vaca el compuesto o composición de alimento para animales como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la mejora en la leche
20 comprende un mayor contenido de proteína en la leche. En algunas realizaciones, la mejora en la leche comprende un mayor contenido de grasa en la leche. En algunas realizaciones, la
25
30

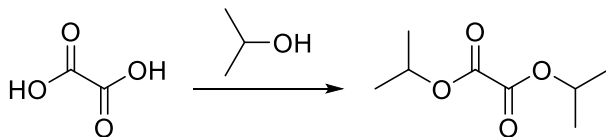
divulgación se refiere a un método para mejorar el estado de una vaca que comprende suministrarle a la vaca el compuesto o composición de alimento para animales como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la mejora en el estado de la vaca comprende una fertilidad mejorada. En algunas realizaciones, la mejora en el estado de la vaca comprende una función hepática mejorada. En algunas realizaciones, la mejora en el estado de la vaca comprende un aumento de energía.

[0093] En algunos aspectos, cualquiera de las reacciones descritas en el presente documento puede realizarse usando un aparato de flujo continuo.

EJEMPLOS

[0094] Equipo. Todos los experimentos a escala de mmol se llevaron a cabo utilizando un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml o 250 ml con agitador magnético, un embudo de goteo y un termómetro. El matraz de reacción estaba equipado con un condensador y un termómetro para controlar la temperatura de reacción. Para las reacciones realizadas a reflujo, la mezcla de reacción se calentó utilizando un baño de aceite de silicio. Para experimentos a temperaturas por debajo de la temperatura ambiente, se usó un baño de nitrógeno líquido o un baño de mezcla de sal/hielo. Todos los experimentos a escala de kg se llevaron a cabo usando un reactor encamisado de 5 l. La concentración y/o purificación de los intermedios y productos brutos se llevaron a cabo usando una unidad de destilación al vacío a escala de laboratorio, un evaporador rotatorio, o cromatografía en columna, o como se especifica de otro modo en los siguientes ejemplos.

[0095] Ejemplo 1. Síntesis de oxalato de diisopropilo a partir de ácido oxálico



[0096] Se añadió ácido oxálico (1 kg, 11,1 mol) a alcohol isopropílico (1700 ml) con agitación en un reactor de laboratorio de 5 l. Se formó una solución transparente. Posteriormente, se añadió lentamente a la solución monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico (47,67 g, 2,5 % en moles) en 200 ml de tolueno. La mezcla de reacción se calentó y se agitó a reflujo durante 24 h. El agua

generada se eliminó continuamente mediante azeótropo con una trampa Dean-Stark para completar la reacción. La mezcla de reacción se enfrió, se neutralizó con 500 ml de solución sat. ac. de NaHCO_3 , y se repartió entre 400 ml (2x) de tolueno y 1 L (2x) de agua. Las fases orgánicas combinadas se secaron con 1 L de solución sat. ac. de NaCl . La fase orgánica se separó y el solvente se eliminó al vacío. El material bruto se purificó por destilación a alto vacío con calentamiento para obtener 1740 g (90 %) de oxalato de diisopropilo como un aceite incoloro. ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 157,96, 71,44, 21,63 (Figura 1A); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5,13 (hept, $J = 6,3$ Hz, 2 H), 1,33 (d, $J = 6,2$ Hz, 12 H) (Figura 1B).

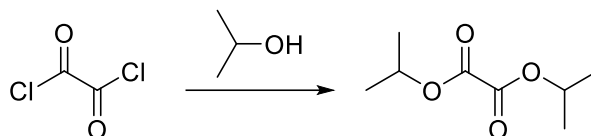
[0097] Se investigaron otras condiciones de reacción adecuadas, como se muestra en la Tabla 1, usando ácido oxálico dihidratado (entradas 1-5) o ácido oxálico (entradas 6-7) como material de partida. A la mezcla de reacción, se añadieron tamices moleculares de 4 Å (1-2 g por 5 g de material de partida) para eliminar el agua adicional durante la reacción. El tratamiento incluyó diluir la mezcla de reacción con acetato de etilo, neutralizar a pH 7 con solución sat. ac. de NaHCO_3 , separando las capas, lavando el extracto orgánico con solución sat. ac. de NaHCO_3 y NaCl sat. ac., y concentrando para proporcionar un residuo bruto.

Tabla 1.

Entrada	Concentración (g ácido oxálico/ml iPrOH)	Otro solvente (volumen)	Aditivo	Rendimiento
1	5 g/12 ml	CHCl_3 (40 ml)	H_2SO_4 conc. (2,0 eq.)	68 %
2	50 g/65 ml	Tolueno (400 ml)	Ninguno	47 %
3	50 g/65 ml	Tolueno (400 ml)	p-TsOH (0,05 eq.)	61 %
4	50 g/65 ml	Ninguno	H_2SO_4 conc. (2,0 eq.)	51 %
5	50 g/65 ml	Ninguno	p-TsOH (0,05 eq.)	69 %
6	50 g/100 ml	Tolueno (400 ml)	p-TsOH (0,05 eq.)	90 %

7	25 g/50 ml	Tolueno (200 ml)	Ninguno	79 %
---	------------	------------------	---------	------

[0098] Ejemplo 2. Síntesis de oxalato de diisopropilo a partir de cloruro de oxalilo



[0099] A una muestra a 0 °C de alcohol isopropílico (3 l) en un reactor de laboratorio revestido de vidrio de 5 l se le añadió cloruro de oxalilo (1019 g) lentamente en porciones con agitación mientras se mantenía la temperatura entre 0 y 5 °C. Una vez completada la adición, la mezcla de reacción se dejó calentar gradualmente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 12 h. La mezcla se concentró por evaporación rotatoria y alto vacío para obtener el producto crudo. El producto bruto se diluyó con diclorometano (1000 ml) y se lavó con NaHCO₃ sat. ac. (3 x 500 ml) para proporcionar un extracto orgánico. Los dos primeros lavados acuosos se extrajeron de nuevo con diclorometano (1 l cada uno) para proporcionar dos extractos orgánicos adicionales. Los tres extractos orgánicos se secaron con NaCl sat. ac. (3 x 500 ml), se combinaron, concentraron y purificaron por destilación para obtener oxalato de diisopropilo con un rendimiento del 86 %. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5,13 (hept, J = 6,3 Hz, 2 H), 1,33 (d, J = 6,2 Hz, 12 H).

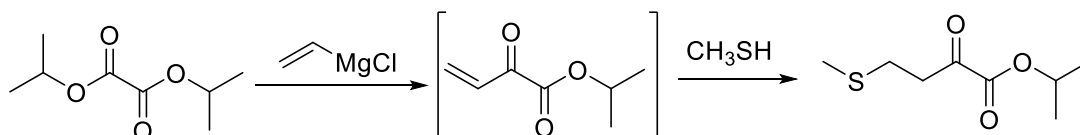
[0100] Se investigaron otras condiciones de reacción adecuadas, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2.

Entrada	Concentración (g cloruro de oxalilo/ml iPrOH)	Aditivo	Condiciones de procesamiento	Rendimiento
1	7,6 g/30 ml	Ninguno	Concentrado al vacío	92 %
2	3,8 g/4,6 ml	4,7 g de piridina, 183 mg de DMAP	Cromatografía en columna	54 %

3	25,4 g/100 ml	Ninguno	Extracción con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NaHCO}_3$; concentración al vacío	85 %
4	100 g/300 ml	Ninguno	Concentrado al vacío	81 %
5	1019 g/3000 ml	Ninguno	Purificado por destilación	86 %

[0101] Ejemplo 3. Síntesis del éster isopropílico del ácido 2-oxo-4-metilbutanoico (experimentos a pequeña escala)



- 5 **[0102]** Paso 1, Reacción de Grignard. Una mezcla de oxalato de diisopropilo (1,4 g, 8 mmol, 1,0 eq.), 16 ml de solvente (MTBE, mezcla de MTBE/heptano o THF) y 2 eq. de LiCl (cuando se usó, 0,68 g, 16 mmol) se enfrió hasta la temperatura de prueba (como se muestra en la Tabla 3) en un baño de nitrógeno líquido o en un baño de sal. Se añadió lentamente una solución de cloruro de vinilmagnesio (1,6 M en THF) y la mezcla resultante se agitó hasta que se consumió
- 10 el material de partida (ver Tabla 3). La reacción se inactivó mediante lavado con NH_4Cl sat. ac. (2 x 100 ml). El producto se extrajo con EtOAc (2x 100 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El rendimiento de éster isopropílico del ácido 2-oxo-3-butenico se determinó mediante GC/MS. El extracto se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación.

Tabla 3.

Entrada	VinilMgCl (equiv.); Solvente	Temperatura; Tiempo de reacción	Aditivo	Conversión	Rendimiento
1	1,0; THF	-78 °C; 4 horas	Ninguno	68 %	58 %
2	1,0; THF	-20 °C; 4 horas	Ninguno	50 %	38 %
3	1,0; THF	0 °C; 2 horas	Ninguno	44 %	21 %
4	1,0; MTBE	-78 °C; 1 hora	Ninguno	73 %	61 %

5	1,0; MTBE/heptano	-78 °C; 1 hora	Ninguno	73 %	62 %
6	1,5; THF	-78 °C; 2 horas	Ninguno	96 %	71 %
7	1,5; THF*	-78 °C; 2 horas	Ninguno	83 %	56 %
8	1,5; MTBE	-78 °C; 30 minutos	Ninguno	100 %	80 %
9	1,5; MTBE	-78 °C; 1 hora	LiCl	100 %	85 %
10	1,0; THF	-78 °C; 1 hora	LiCl	71 %	59 %
11	1,5; THF	-78 °C; 1 hora	LiCl	100 %	80 %
12	1,5; MTBE	-30 a -20 °C; 30 minutos	Ninguno	100 %	72 %
13	1,5; THF	-30 a -20 °C; 30 minutos	Ninguno	100 %	78 %
14	1,5; MTBE	-30 a -20 °C; 1 hora	Ninguno	ND	ND
15	1,5; MTBE	-30 a -20 °C; 15 minutos	Ninguno	ND	ND

* Oxalato de diisopropilo agregado al reactivo de Grignard en este ejemplo.

ND = no determinado.

[0103] Paso 2, reacción de tiolación.

[0104] Procedimiento 1: Se generó gas de CH₃SH tratando CH₃SNa al 20 % p/v en agua con un catalizador ácido (AcOH (12 mmol) o TsOH (12 mmol)) entre -30 y -20 °C, o con H₂SO₄ (2 equiv. en relación con CH₃SNa) a 50 °C) durante 15 a 30 min como se muestra en la Tabla 4. El CH₃SH resultante se burbujeó en una solución agitada a 0 °C de MTBE (20 ml) que contiene trietilamina (0,1 ml). El CH₃SH resultante en MTBE se añadió al producto bruto en MTBE del Paso 1, Tabla 3, Entrada 14, a 0 °C, o de -30 a -20 °C, y la mezcla de reacción se agitó durante 15 a 30 min, como se indica en la Tabla 4. La reacción se inactivó con HCl 2 M, se extrajo con acetato de etilo, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. A continuación, el material bruto se usó para el siguiente paso de reacción.

[0105] En las Entradas 1-5 de la Tabla 4, se usaron ácido acético o ácido p-toluenosulfónico para generar gas CH_3SH . En las Entradas 1-3, el rendimiento es el rendimiento aislado después de la cromatografía en columna. En las Entradas 4-5, el rendimiento es el rendimiento aislado después de la destilación del producto. En las Entradas 6-9, el gas CH_3SH se generó al calentar 20 % de CH_3SNa en agua y H_2SO_4 a 50 °C.

Tabla 4.

Entrada	Ácido	Temperatura; Tiempo de reacción	Rendimiento (2 pasos)
1	ácido p-toluenosulfónico	0 °C; 30 min	27 %
2	ácido p-toluenosulfónico	-30 a -20 °C; 15 minutos	46 %
3	ácido acético	-30 a -20 °C; 15 minutos	38 %
4	ácido p-toluenosulfónico	-30 a -20 °C; 15 minutos	49 %
5	ácido acético	-30 a -20 °C; 15 minutos	44 %
6	H_2SO_4	-30 a -20 °C; 15 minutos	20 %
7	H_2SO_4	-30 a -20 °C; 15 minutos	19 %
8	H_2SO_4	-30 a -20 °C; 15 minutos	54 %
9	H_2SO_4	-30 a -20 °C; 15 minutos	63 %

[0106] Procedimiento 2: Al producto bruto del Paso 1, Tabla 3, Entrada 11, en THF a -78 °C, se le añadió CH_3SNa al 20 % ac. p/v (1eq.) y H_2SO_4 (2 eq.). La mezcla de reacción se dejó que alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La reacción se inactivó con HCl 2 M, se extrajo con acetato de etilo (2x 50 ml), se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró. A

continuación, el material bruto se usó para el siguiente paso de reacción. El producto se aisló para proporcionar el producto con un rendimiento del 33 %. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5,12 (hept, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 3,13 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 2,76 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 2,11 (s, 3 H), 1,33 (d, $J = 6,3$ Hz, 6 H).

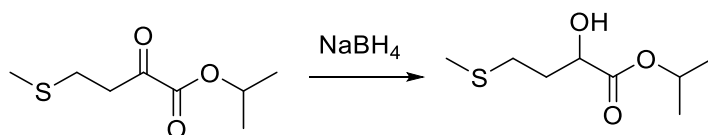
- 5 **[0107]** Procedimiento 3, reactor de flujo continuo: Alternativamente, se carga una mezcla de éster isopropílico del ácido 2-oxo-3-butenico y 10 ml de trietilamina en un reactor a través de una bomba con un caudal controlado. La salida se conecta además a una entrada de un mezclador en Y, donde otra entrada se carga con gas MeSH (con un flujo de control). Luego, los dos componentes se mezclan y se agitan más dentro de un reactor por lotes mientras se
10 mantiene la temperatura de reacción a 0 °C. Una vez que el control de GC indica que la reacción se completó, se agrega HCl 1 N y la mezcla se procesa como se describe anteriormente.

Ejemplo 4. Síntesis del éster isopropílico del ácido 2-oxo-4-metiltiobutanoico (síntesis a escala en kilogramos)

- 15 **[0108]** Paso 1, Reacción de Grignard. A una solución agitada de -30 a -20 °C de oxalato de diisopropilo (1,7 kg, 10 mol) en MTBE anhidro (3,4 l) en un reactor de laboratorio de 20 l se añadió gota a gota cloruro de vinilmagnesio (1,6 M en THF, 7 l) sobre un periodo de 1 h, manteniendo la temperatura entre -30 °C y -20 °C. Una vez que la cromatografía de gases indicó que se había completado la adición de vinilo, la reacción se inactivó mediante la adición de 1 l
20 de solución sat. ac. de NH_4Cl a temperatura ambiente. La fase orgánica se separó y se lavó con 500 ml de agua y la fase acuosa se volvió a extraer con 400 ml de MTBE. Los extractos de MTBE se combinaron para proporcionar éster isopropílico del ácido 2-oxo-3-butenico con una conversión superior al 90 %, que se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación ni destilación adicional.
- 25 **[0109]** Paso 2, tiolación. El extracto de MTBE del Paso 1 se enfrió a 0 °C en el reactor y se trató con trietilamina (10 ml). El gas MeSH se generó in situ al hacer reaccionar una solución de CH_3SNa (1,0 eq.; 20 % en agua) con H_2SO_4 (2 equiv.) a 50 °C, durante 30 min. El gas CH_3SH resultante se burbujeó en la solución de reacción agitada a 0 °C y se continuó agitando a 0 °C. Cuando el control por GC indicó la conversión del intermedio en éster isopropílico del ácido 2-
30 oxo-4-metiltiobutanoico, se añadió HCl 1 N (780 ml) al reactor para inactivar la reacción. La capa orgánica se separó de la fase acuosa, se lavó con 500 ml de agua y la fase acuosa se

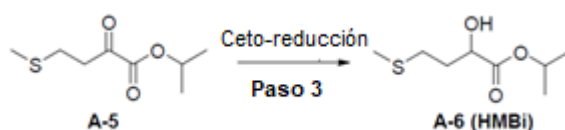
extrajo con 650 ml (2x) de MTBE. Los extractos orgánicos combinados se concentraron por evaporación al vacío y el producto se purificó por destilación al vacío para obtener 1021 g (55 %) de éster isopropílico del ácido 2-oxo-4-metiltiobutanoico como un aceite incoloro. ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 193,21, 160,25, 70,95, 39,33, 27,32, 21,63, 15,74 (Figura 2A); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5,12 (hept, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 3,13 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 2,76 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 2,11 (s, 3 H), 1,33 (d, $J = 6,3$ Hz, 6 H) (Figura 2B).

[0110] Ejemplo 5: Síntesis de éster isopropílico de 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico (HMBi)



[0111] A una solución de 0 a 5 °C de éster isopropílico del ácido 2-oxo-4-metiltiobutanoico (1 kg, 5,25 mol) en metanol (2 l) en un reactor de 5 l se añadió NaBH_4 (99 g, 2,6 mol) en porciones. La reacción resultante se mantuvo entre 0 y 5 °C y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se lavó con NH_4Cl sat. ac. (500 ml). La fase orgánica se separó, el solvente se eliminó por destilación al vacío y el producto bruto se purificó por destilación para dar HMBi (859 g, 85 % de rendimiento, 97 % de éster monomérico) como un aceite amarillo pálido. ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 174,52, 69,85, 69,34, 33,76, 29,69, 21,87, 21,83, 15,60. (Figura 3A); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5,08 (hept, $J = 6,3$ Hz, 1 H), 4,24 (dd, $J = 7,9, 3,8$ Hz, 1 H), 2,97 (br, 1 H), 2,67-2,55 (m, 2 H), 2,10-2,01 (m, 4 H), 1,93-1,84 (m, 1 H), 1,27 (d, $J = 1,9$ Hz, 3 H), 1,26 (d, $J = 2,2$ Hz, 3 H) (Figura 3B).

[0112] Alternativa para la síntesis de éster isopropílico de 2-hidroxi-4-(metiltio)butanoico (HMBi) a partir de éster isopropílico de 2-oxo-4-metiltiobutanoico (OMBi):



[0113] Se seleccionaron varios reactivos y condiciones, incluidos NaBH_4 , hidrogenación catalizada por metales de transición y ceto-reducción para la preparación de HMBi a partir de éster isopropílico del ácido 2-oxo-4-metiltiobutanoico. Se probaron varias temperaturas de reacción, tiempos, reactivos y solventes. Se determinaron la conversión del producto y el

rendimiento del producto aislado de cada conjunto de condiciones y los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5.

Entrada	Condiciones	Rendimiento
1	NaBH ₄ (1 eq.), EtOH, 0 °C, 1 h	30 %
2	NaBH ₄ (0,25 eq.), EtOH, 0 °C, 1 h	72 %
3	5 mol% Pd (Pd/C), H ₂ (1 atm), <i>i</i> -PrOH, 25 °C, 1 h	no se produjo ninguna reacción
4	5 mol% Pd (Pd/C), H ₂ (1 atm), tolueno, 25 °C, 1 h	no se produjo ninguna reacción
5	5 mol% Pd (Pd/C), H ₂ (1 atm), MTBE, 50 °C, 1 h	no se produjo ninguna reacción
6	5 mol% Pd (Pd/C), H ₂ (1 atm), THF, 50 °C, 1 h	no se produjo ninguna reacción
7	2,5 mol% [Ru(<i>p</i> -cimen) Cl ₂] ₂ , H ₂ (1 atm), <i>i</i> -PrOH, 75 °C, 1 h	no se produjo ninguna reacción
8	5 mol% CpRu(PPh ₃) ₂ Cl, H ₂ (1 atm), <i>i</i> -PrOH, 75 °C, 1 h	no se produjo ninguna reacción
9	NaBH ₄ (0,25 eq), <i>i</i> -PrOH, 0 °C, 1 h	27 %
10	Al (O <i>i</i> Pr) ₃ (1 eq), <i>i</i> -PrOH, 80 °C, burbuja de N ₂ para eliminar la acetona, 1 h	28 %
11	NaBH ₄ (0,5 eq.), EtOH, 0 °C, 1h	73 %
12	NaBH ₄ (0,5 eq.), MeOH, 0 °C, 1h	92 %