

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 724**

51 Int. Cl.:

C07J 5/00 (2006.01)

C07J 9/00 (2006.01)

A61K 31/57 (2006.01)

A61K 31/575 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2010 E 10808696 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.10.2014 EP 2464653**

54 Título: **Método para preparar 3 -hidroxi,3 β -metil-5 -pregnán-20-ona (ganaxolona)**

30 Prioridad:

13.08.2009 US 233553 P

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

11.12.2014

73 Titular/es:

**MARINUS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
21 Business Park Drive
Brandford, CT 06405, US**

72 Inventor/es:

**SHAW, KENNETH y
HUTCHISON, ALAN**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 524 724 T3

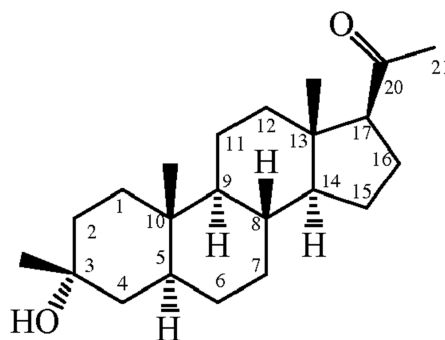
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para preparar 3 α -hidroxi,3 β -metil-5 α -pregnán-20-ona (ganaxolona)

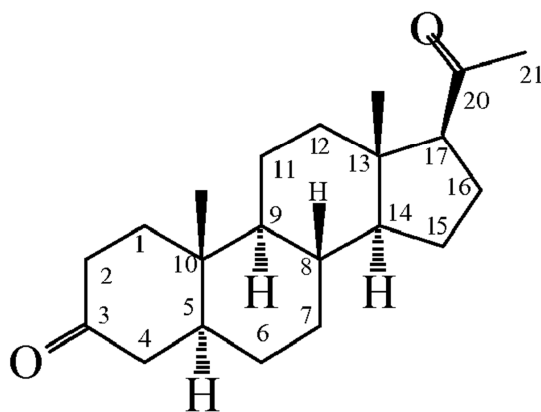
5 Antecedentes de la invención

Varios derivados esteroides de 3 α -hidroxi,3 β -sustituido-5 α -pregnán-20-onas han demostrado eficacia en la modulación del complejo receptor de GABA-ionóforo de cloruro (complejo GR) *in vitro* y muestran efectos terapéuticos útiles en modelos animales de trastornos del SNC humano. El más importante entre ellos es la 3 α -hidroxi,3 β -metil-5 α -pregnán-20-ona (Ganaxolona, GNX, 1), que ha demostrado estimular el complejo GR y que demuestra una diversidad de efectos fisiológicos beneficiosos *in vivo*. La ganaxolona 1 está siendo sometida a ensayo en pruebas clínicas avanzadas de epilepsia y podría presentar utilidad en algunos otros trastornos del SNC. Las elevadas dosis de ganaxolona requeridas para el tratamiento eficaz en el ser humano (>1 g/día) exigen un procedimiento de fabricación eficiente y de bajo coste (Nohria y Giller, J. Am. Soc. Exp. Neurotherapeutics 4:102-105, 2007).



3-hidroxi, 3-metil-5-pregnán-20-ona
Ganaxolona (1)

El enfoque más directo a la síntesis de la ganaxolona es mediante el ataque regioselectivo y estereoselectivo en el carbonilo de C-3 de la 5 α -pregnán-3,20-diona (Diona 2) mediante agentes metilantes organometálicos tales como metilo de Grignard o metil-litio. La metilación directa de la 5 α -pregnán-3,20-diona con metil-litio o metilo de Grignard para preparar ganaxolona no ha resultado posible debido a que el ataque irreversible de los dos grupos carbonilos en C3 y C20 por aniones de carbono proporciona mezclas complejas de productos.



5 α -pregnán-3,20-diona
(Diona 2)

Debido a que los productos no deseados procedentes de la metilación de la diona 2 presentan propiedades físicas similares a las de la ganaxolona, debe obtenerse ganaxolona de una reacción de metilación organometálica de la Diona 2 con menos de 10% de cualquier impureza individual con el fin de evitar múltiples etapas de purificación que también reducen el rendimiento eficaz e incrementan los costes de fabricación con el fin de obtener ganaxolona farmacéuticamente pura (ninguna impureza individual >0,1%).

El enfoque estándar a la síntesis de Ganaxolona 1 implica la protección del carbonilo de C-20 de la 3 α -hidroxi-5 α -pregnán-20-ona antes de la oxidación para la reacción con un agente metilante organometálico en la posición 3 para introducir el grupo 3 β -metilo seguido de la hidrólisis del cetal en C-20 (Hogenkamp *et al.*, J. Med. Chem. 40:61-72,

1997). La desventaja de este enfoque es que añade por lo menos dos etapas adicionales a la síntesis global; en primer lugar la protección del carbonilo de C-20, la eliminación del grupo protector tras la introducción del grupo 3 β -metilo.

- 5 De manera más importante, la estereoselectividad es bastante pobre, resultando en una cantidad prácticamente igual de isómeros 3 α y 3 β . Ello incrementa el coste y la complejidad de la síntesis y reduce el rendimiento global del procedimiento.

10 Otro método para la síntesis de ganaxolona (**1**) ha sido proporcionado por la patente US nº 5.319.115 y la literatura (He *et al.*, Zhongguo Xinyao Zazhi 14(8):1025-1026, 2005), en donde la diona **2** se hace reaccionar con reactivo de Corey (yoduro de trimetilsulfoxonio) y t-butóxido potásico en tetrahidrofurano mediante una reacción reversible controlada termodinámicamente (Johnson *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 95(22):7424-7431, 1973) para generar el isómero de epóxido más estable (1-((2'R,5S,8R,9S,10S,13S,14S,17S)-10,13-

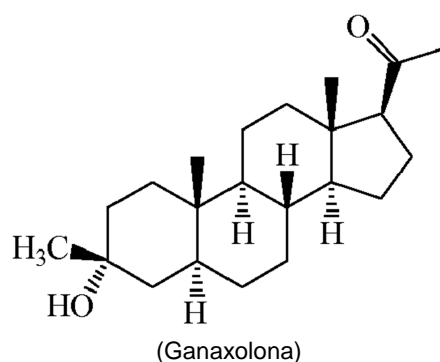
15 dimetilhexadecahidrospiro[ciclopenta[a]fenantrén-3,2'-oxirano]-17-il)etanona) en C3. El epóxido se reduce bajo una diversidad de condiciones, incluyendo la apertura nucleofílica del epóxido con yoduro potásico y la reducción del yoduro resultante mediante hidrogenación, que proporciona ganaxolona **1**. Esta síntesis requiere el aislamiento y la purificación del producto intermedio epóxido, así como muchas manipulaciones y una cara etapa de hidrogenación, todas las cuales contribuyen a un procedimiento más caro y largo. La reacción del reactivo de Corey con Diona **2** seguido de la reducción del epóxido rinde un producto secundario, la 17-hidroxiganaxolona **8**, que resulta difícil de eliminar. La obtención de ganaxolona purificada mediante la ruta del reactivo de Corey con frecuencia ha producido niveles de 17-hidroxiganaxolona >0,1%, según la HPLC.

20 Sigue existiendo una necesidad de una síntesis de ganaxolona eficiente y económica que proporcione ganaxolona de alta pureza.

25 Sumario de la invención

La invención proporciona un método simple y económico para la preparación de ganaxolona a partir de 5 α -pregnán-3,20-diona.

30 Se ha descubierto inesperadamente que la adición organometálica a la 3,20-diona (**2**) puede llevarse a cabo con tanto regioselectividad como estereoselectividad inesperadamente buenas. Se ha descubierto que resulta posible conseguir una reacción regioselectiva en el carbonilo de C3 de la Diona **2** en la que tiene lugar poca o ninguna reacción en el carbonilo de C20 con una selección apropiada de los reactivos y las condiciones de reacción. Se ha confirmado además que la elección apropiada de reactivos y condiciones puede proporcionar una elevada estereoselectividad mediante el ataque ecuatorial del agente metilante, proporcionando el isómero beta-metilo deseado llamado ganaxolona. De esta manera, en un primer aspecto, la invención proporciona un método para la preparación de ganaxolona que comprende la reacción de 5 α -pregnán-3,20-diona (Diona **2**) con un agente metilante organometálico en un solvente inerte, proporcionando un compuesto de fórmula:



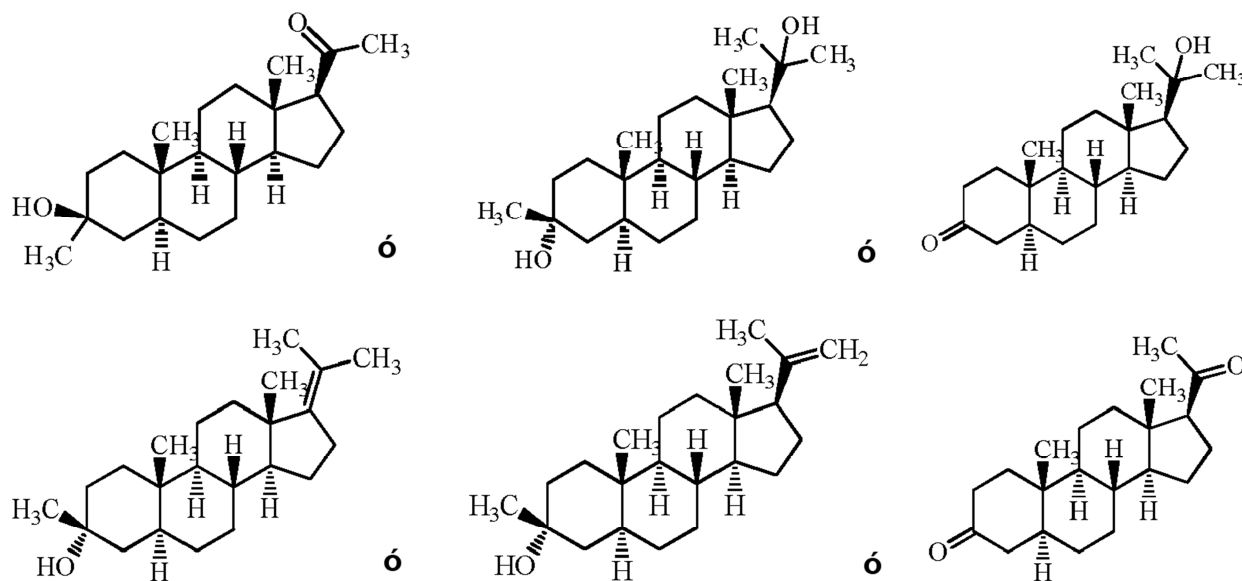
45 en la que la pureza de la ganaxolona es superior al 80% según la HPLC.

La invención presenta la ventaja además de proporcionar ganaxolona con un rendimiento elevado y sustancialmente sin impurezas de reacción. Mediante el uso apropiado de agente metilante organometálico puede conseguirse esta transformación con un rendimiento químico inesperadamente elevado con elevado control regioselectivo y estereoselectivo. Mediante la utilización de la presente invención no resulta necesaria ninguna protección del carbonilo de C20 y la transformación global se lleva a cabo en una etapa química sin necesidad de aislar ningún producto intermedio.

50 La invención proporciona además un método para la preparación de ganaxolona, que comprende hacer reaccionar 5 α -pregnán-3,20-diona con un agente metilante organometálico en un solvente inerte, que proporciona ganaxolona, que es por lo menos 99,5% pura según la HPLC. En determinadas formas de realización, tras una única etapa de

55

purificación la ganaxolona obtenida contiene menos de 0,1 por ciento de área según la HPLC de cualquiera de las impurezas de reacción de fórmula:



Breve descripción de los dibujos

10 Figura 1. Productos potenciales de la adición organometálica de Diona 2. Los métodos anteriores para preparar ganaxolona mediante metilación directa de la cetona en C3 de la Diona 2 proporcionaban ganaxolona y una diversidad de impurezas de reacción, tal como se ilustra en la figura.

Descripción detallada de la invención

15 Terminología

Antes de describir la invención en detalle, puede resultar de ayuda proporcionar las definiciones de determinados términos que se utilizarán en la presente memoria. Los compuestos de la presente invención se indican utilizando nomenclatura estándar. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria presentan el mismo significado entendido por el experto en la materia a la que se refiere la presente invención.

20 Los términos "un" y "una" no se refieren a una limitación de la cantidad sino que por el contrario se refieren a la presencia de por lo menos uno de los ítems referenciados. El término "o" se refiere a "y/o". Las expresiones "que comprende", "que presenta", "que incluye" y "que contiene" deben interpretarse como expresiones abiertas (es decir, con el significado de "que incluye, aunque sin limitación"). La recitación de los intervalos de valores meramente pretende servir como método abreviado para hacer referencia individual a cada valor comprendido dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en la presente memoria, y cada valor individual se incorpora en la memoria como si hubiera sido recitado individualmente en la misma. Los extremos de todos los intervalos se encuentran comprendidos dentro del intervalo y son combinables independientemente. Todos los métodos descritos en la presente memoria pueden llevarse a cabo en un orden adecuado a menos que se indique lo contrario en la presente memoria o que de otra manera resulte claramente contradictorio por el contexto. La utilización de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ejemplo "tal como") pretende únicamente ilustrar más claramente la invención y no plantea una limitación al alcance de la invención a menos que se reivindique lo contrario. Ningún término en la memoria debe interpretarse como indicativo de que cualquier elemento no reivindicado resulta esencial para la práctica de la invención tal como se utiliza en la presente memoria. A menos que se defina lo contrario, los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria presentan el mismo significado apreciado comúnmente por el experto en la materia a la que se refiere la presente invención.

40 El término "alcoxi" indica un grupo alquilo tal como se ha definido anteriormente con el número indicado de átomos de carbono unidos mediante un puente de oxígeno (-O-). Un "alcoxi inferior típicamente presenta entre 1 y aproximadamente 6 átomos de carbono y en algunas formas de realización preferidas, de entre 1 y aproximadamente 3 átomos de carbono. Un "complejo ato" es una sal formada mediante la reacción de un ácido de Lewis y una base, en la que el átomo central en el complejo salino incrementa su valencia. Entre los ejemplos de complejos ato se incluyen $(\text{CH}_3)_3\text{FeLi}$ y $(\text{CH}_3)_3\text{FeMgCl}$.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "haluro" es cloruro, bromuro o yoduro.

La HPLC tal como se utiliza en la presente memoria es una cromatografía líquida de alto rendimiento que utiliza la detección según el índice refractario con el método descrito en la Sección Experimental.

5 El porcentaje de pureza ("% de pureza") se refiere al porcentaje del área obtenido de la división del área del pico de HPLC de la ganaxolona por las sumas de las áreas para el pico de HPLC de la ganaxolona y los picos de HPLC de cada impureza de la reacción y la multiplicación de este dividendo por 100.

10 El "rendimiento en porcentaje o rendimiento aislado (% de rendimiento)" es el peso del producto o productos aislados dividido por el peso molecular de la ganaxolona dividido por los moles de materia prima utilizada en la reacción.

15 Las "impurezas de reacción" son impurezas relacionadas con el procedimiento (productos secundarios), incluyendo todas las materias primas residuales, productos intermedios residuales y otros productos de reacción aparte de la ganaxolona detectada mediante HPLC. La FDA utiliza la expresión "impurezas relacionadas con el procedimiento" para referirse a impurezas derivadas del procedimiento de fabricación.

20 El término "regioselectivo" se refiere a cualquier reacción de metilación organometálica directa con 5 α -pregnán-3,20-diona que resulta en menos de 10% de aducto C20 **6** identificado en la figura 1.

El término "estereoselectivo" se refiere a cualquier reacción de metilación organometálica directa en la 5 α -pregnán-3,20-diona que resulta en menos de 10% del producto secundario epimérico no deseado **3** en la figura 1.

25 Las expresiones transicionales "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" presentan los significados asignados a ellas por la legislación de patentes actual. Todas las formas de realización reivindicadas con una de las expresiones transicionales también pueden reivindicarse utilizando las otras expresiones transicionales. Por ejemplo, una forma de realización reivindicada con "que comprende" como expresión transicional también incluye formas de realización que pueden reivindicarse con las expresiones transicionales "que consiste esencialmente en" o "que consiste en", y viceversa.

Descripción química

35 Dados los problemas de los que adolecen los métodos existentes de síntesis de ganaxolona, el método de preparación de ganaxolona más económica es mediante la metilación directa en la cetona de C3 de la diona **2**. El ataque estereoselectivo y regioselectivo en C-3 con reactivo de Corey mediante un procedimiento termodinámico reversible no se esperaría que resultase aplicable a la adición irreversible directa de un reactivo organometálico a la diona **2**. De esta reacción se espera una mezcla de productos. Esta previsión nace del Ejemplo 1 de la Sección experimental, en la que la diona **2** se hace reaccionar con metil-litio en tetrahidrofurano, proporcionando una mezcla compleja de productos (ver la figura 1) que sólo contiene aproximadamente 11% del producto deseado ganaxolona. La impureza **7** relacionada con el procedimiento ilustra los posibles productos de deshidratación de olefinas al someter las impurezas **4** y **5** relacionadas con el procedimiento a un ambiente ácido que puede inducir la deshidratación del grupo hidroxilo de C21. La impureza **9** relacionada con el procedimiento ilustra las posibles posiciones de olefina para la deshidratación del grupo hidroxilo de C21 de la estructura **6** al añadir el ácido.

45 Se ha descubierto un método sintético de ganaxolona regioselectivo y estereoselectivo de una única etapa para la preparación de ganaxolona. Las materias primas para este procedimiento son 5 α -pregnán-3,20-diona, cuya síntesis eficiente y económica es conocida. La reacción de reactivos metilantes organometálicos preferentes en un solvente inerte con 5 α -pregnán-3,20-diona proporciona la ganaxolona correspondiente en una única etapa química sin ningún intermediario aislable. El agente metilante organometálico preferido puede ser un material purificado y bien caracterizado o una mezcla de especies organometálicas generadas *in situ*. La reacción puede llevarse a cabo en cualquier solvente inerte (o combinaciones de solventes inertes), aunque más favorablemente se lleva a cabo en solventes etéreos, tales como tetrahidrofurano, glima, éter t-butil-metilico, 1,4-dioxano, dimetoxietano o éter dietílico. También resulta ventajoso añadir sales inorgánicas, tales como haluros de litio, a la mezcla de reacción con el fin de mejorar adicionalmente el rendimiento de reacción y reducir la viscosidad de la reacción, permitiendo la utilización de menos solvente inerte y un tamaño de lote más grande en un recipiente de reacción. En general, la regioselectividad y la estereoselectividad de la reacción son una función del solvente, la temperatura y la composición del reactivo metilante organometálico.

60 La presente invención incluye un método para la preparación de ganaxolona que comprende hacer reaccionar 5 α -pregnán-3,20-diona con un agente metilante organometálico en un solvente inerte, comprendiendo dicho método por lo menos una de las etapas siguientes:

65 (a) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 equivalentes de haluro de metil-magnesio o metil-litio a haluro férrico anhidro o haluro ferroso anhidro en un solvente inerte,

(b) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 4 equivalentes de cloruro de litio a haluro de hierro en un solvente inerte, antes de añadir 3 a 4 equivalentes (basados en haluro de hierro) de haluro de metil-magnesio,

(c) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 1 equivalente de haluro de metil-magnesio o metil-litio a una solución de cloruro de tri(alcoxi C₁-C₃)-titanio en un solvente inerte,

(d) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 1 equivalente de haluro de metil-magnesio o metil-litio a una solución de dicloruro de di(alcoxi C₁-C₃)-titanio anhidro en un solvente inerte, y

(e) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 4 equivalentes de haluro de metil-magnesio o metil-litio a TiCl₄ en un solvente inerte,

en el que:

- el agente metilante organometálico es dimetil-hierro (Me₂Fe), metil-trietoxi-titanio, metilcloro-dietoxi-titanio ((CH₃)Cl(CH₃CH₂O)Ti), metil-triclorotitanio (CH₃Cl₃Ti), tetrametil-titanio ((CH₃)₄Ti), dimetil-dicloro-titanio ((CH₃)Cl₂Ti), trimetil-cloro-titanio ((CH₃)₃ClTi) o cloruro de metil-hierro (CH₃FeCl),
- el solvente inerte es tetrahidrofurano, glima, éter t-butil-metilico, 1,4-dioxano, dimetoxietano o éter dietílico, y
- el solvente inerte se mantiene a una temperatura de entre aproximadamente -40°C y aproximadamente 35°C durante la reacción.

En determinadas formas de realización, el rendimiento en % de ganaxolona es de por lo menos 45%, de por lo menos 55%, de por lo menos 70%, de por lo menos 80%, de por lo menos 85%, de por lo menos 90%. En determinadas formas de realización, la pureza del producto 3 α -hidroxi, 3 β -metil-5 α -pregnán-20-ona es de por lo menos 70%, de por lo menos 80%, de por lo menos 90%, o de por lo menos 95% del área según la HPLC. En determinadas formas de realización, la cantidad de las impurezas de reacción individuales 3 a 8 en la figura 1 como porcentaje del total de productos de reacción según la HPLC No es Superior A (NSA) 20%, o NSA 10% o NSA 5%, NSA 2%, NSA 1%. Resulta preferido que el rendimiento de impurezas sea NSA 2% cada impureza, más preferentemente NMT 1% cada uno y todavía más preferentemente NSA 0,1% del área según la HPLC. También resulta preferido que el rendimiento de las impurezas 5 y 6 NSA 1% conjuntamente.

En una primera forma de realización, el método para sintetizar la ganaxolona comprende además añadir entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4 equivalentes de haluro de metil-magnesio o metil-litio a una solución de haluro férrico anhidro o haluro ferroso anhidro en un solvente orgánico, y formar de esta manera el agente o agentes metilantes organometálicos.

Lo expuesto anteriormente genera varios reactivos metilantes diferentes dependiendo de la estequiometría, notablemente MeFeCl, Me₂Fe, Me₃Fe⁻ Y⁺ y Me₄Fe⁽²⁻⁾ 2Y⁺, en el que Y es Li y/o MgX (X=Cl, Br o I) dependiendo de si se utiliza haluro de metil-magnesio o metil-litio (o combinaciones) para generar el reactivo. Las propiedades de estos reactivos pueden modificarse ventajosamente mediante la adición de sales inorgánicas, tales como cloruro de litio, a la reacción antes o después de la adición del agente organometálico a la solución de cloruro férrico.

En una forma de realización preferida, el agente metilante de hierro se genera mediante la adición de 3 a 4 equivalentes de un haluro de metil-magnesio a una solución de cloruro férrico anhidro en tetrahidrofurano que contiene 0 a 3 equivalentes de cloruro de litio (basado en FeCl₃). El primer equivalente del haluro de metil-magnesio reduce FeCl₃ a FeCl₂. En el caso de que se utilicen 4 equivalentes de haluro de metil-magnesio (basándose en FeCl₃), el agente metilante presumiblemente es el complejo (Me₃Fe⁻ MgX⁺), aunque resulta posible que el agente metilante sea una mezcla más complicada de reactivos y contraiones. La temperatura de reacción óptima es de entre -40°C y 35°C para generar el agente o agentes metilantes organometálicos.

En otra forma de realización preferida, el agente metilante organometálico se genera mediante la adición de 0,5 a 2 equivalentes de cloruro férrico (basado en Diona 2), 3 a 4 equivalentes de cloruro de metil-magnesio (basado en FeCl₃) a una solución de 0 a 2 equivalentes de LiCl (basado en FeCl₃) en tetrahidrofurano y el mantenimiento de temperaturas inferiores a aproximadamente -15°C.

En otra forma de realización preferida de la invención, el agente metilante organometálico se genera mediante la adición de 3 equivalentes de haluro de metil-magnesio o metil-litio a una solución/suspensión de cloruro férrico anhidro en tetrahidrofurano a temperaturas inferiores a aproximadamente -15°C. En determinadas formas de realización, la temperatura de reacción se mantiene entre aproximadamente -35°C y aproximadamente -15°C hasta completarse la reacción. El agente metilante presumiblemente es el complejo (Me₂Fe) pero puede ser una mezcla más compleja de especies de hierro. La temperatura de reacción óptima con Diona 2 es de entre aproximadamente -25°C y aproximadamente 40°C.

En otra forma de realización preferida, el agente metilante organometálico se genera mediante la adición de 1 a 4 equivalentes de un haluro de metil-magnesio o metil-litio al reactivo de titanio TiXYZT, en el que X, Y, Z y T son iguales o diferentes y pueden ser halógenos o alcoxi, con la condición de que el número máximo de equivalentes de reactivo organometálico añadido no sea superior al número de halógenos en el reactivo de titanio inicial. La reacción posterior con diona **2** se lleva a cabo en un solvente inerte y a temperaturas de reacción de entre -40°C y 70°C.

En una segunda forma de realización, el método para sintetizar ganaxolona comprende añadir entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 4 equivalentes de cloruro de litio a haluro de hierro en un solvente inerte, antes de añadir 3 a 4 equivalentes de cloruro de metil-magnesio (basado en haluro de hierro) al solvente inerte y formar de esta manera el agente o agentes metilantes organometálicos.

En una tercera forma de realización, el método para sintetizar ganaxolona comprende añadir aproximadamente 1 equivalente de haluro de metil-magnesio o metil-litio (basado en titanio) a una solución de cloruro de tri(alcoxi C₁-C₃)-titanio en un solvente orgánico y generar de esta manera el agente metilante organometálico.

En una cuarta forma de realización, el método para sintetizar una 3 α -hidroxi,3 β -metil-5 α -pregnán-20-ona comprende añadir entre aproximadamente 1 y aproximadamente 4 equivalentes de haluro de metil-magnesio o metil-litio a una solución de TiCl₄ en un solvente orgánico y formar de esta manera el agente o agentes metilantes organometálicos.

En determinadas formas de realización, el agente metilante organometálico es un "complejo ato" que contiene un anión (CH₃)₃Fe⁻ y litio o MgX, como el catión, en el que X es un haluro.

En las formas de realización preferidas, se hacen reaccionar 0,75 a 4 equivalentes molares del agente metilante organometálico de hierro (basado en Diona **2**) con diona **2** en un solvente inerte.

En otra forma de realización preferida de la invención, se purifica ganaxolona en bruto mediante la agitación del producto en bruto en acetato de etilo caliente para eliminar eficientemente las impurezas de reacción.

En la Sección experimental, la Tabla 1 resume diversas condiciones de reacción y estequiometrías con diferentes reactivos organometálicos. Puede llevarse a cabo la conversión útil de Diona **2** en ganaxolona utilizando diferentes reactivos organometálicos bajo diferentes condiciones de reacción. La Tabla 2 resume la optimización de los parámetros con respecto a la purificación de la ganaxolona en bruto.

Ejemplos

Métodos analíticos

Espectrometría de masas

Se obtuvieron los espectros de masas en un sistema de CL/EM que consistía en un módulo de separaciones de CL HP 1100 provisto de un detector de masas Thermo Finnigan LCQ-Deca. La fuente de iones era IEP+/EM. Las condiciones de la CL se presentan a continuación.

Columna: Waters Sunfier C18, 4,6(DI) x 250(L) mm, 5 μ m

Fase móvil: ACN/MeOH/H₂O=65/5/30 (isocrático)

Tiempo de funcionamiento: 40 min.

Caudal: 1 ml/min.

Temperatura de la columna: ambiente

Detector: IR

Temperatura del detector: 40°C

Volumen de inyección: 50 μ l

HPLC

Los análisis de HPLC se llevaron a cabo en un módulo de separación HITACHI serie L-2000 o Waters 2695 provisto de un detector de índice refractivo (IR) Waters 2414. Se presentan las condiciones a continuación.

Columna: Waters Sunfire C18, 4,6(DI) x 250(L) mm, 5 μ m

Fase móvil: ACN/MeOH/H₂O=65/5/30 (isocrático)

Tiempo de retención: 40 min.

Caudal: 1 ml/min.

Temperatura: ambiente

Temperatura del detector: 40°C

Volumen de inyección: 50 μ l

Las concentraciones de las muestras que debían inyectarse eran de entre 0,1 y 1 mg/ml en metanol.

Espectroscopía de RMN

Se obtuvieron los espectros de RMN en un espectrómetro de RMN Bruker Avance 400 o un Oxford 300, en CDCl₃ u otros solventes deuterados.

5

Pureza

La pureza de la ganaxolona en bruto y purificada se expresa en porcentaje de área para cada impureza de reacción y el tiempo de retención relativo (TRR) respecto al producto deseado según el análisis de HPLC. Los rendimientos en % se expresan como rendimientos aislados.

10

Ejemplo 1

Se cargó tetrahidrofurano furano (190 g) y 5 α -pregnán-3,20-diona (1,0 g, 3,16 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 250 ml bajo nitrógeno con el fin de obtener una solución transparente. A continuación, se enfrió el matraz a -30°C (temperatura interna), a la que se añadió con una jeringa la solución de metil-litio en dioxietano (3 M, 1,1 ml, 3,3 mmoles). La reacción se agitó a una temperatura de entre -25°C y 20°C bajo nitrógeno durante 1 h. Las alícuotas se desactivaron con HCl 3 N y se extrajeron con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con NaOH 3 N y agua. La eliminación del solvente proporcionó un sólido blanco, que se disolvió en metanol y se analizó mediante HPLC (Tabla 1, entrada 1).

15

20

Ejemplo 2

Se añadió éter *terc*-butil-metilico (anhidro, 30 ml) a -10°C gota a gota a una suspensión bien agitada de 5 α -pregnán-3,20-diona (1,9 g, 6 mmoles). La mezcla de reacción se mantuvo entre 0°C y 10°C durante 4 horas, seguido de 12 horas a una temperatura de entre 10°C y 15°C. La mezcla de reacción se desactivó mediante la adición de 100 ml de HCl 2 N y los productos se extrajeron con 200 ml de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con NaOH 2 N y solución hipersalina y el solvente se eliminó al vacío, proporcionando una mezcla compleja de productos que contenía 30,1% de ganaxolona 1 según la HPLC, conjuntamente con 0,99% de 5 α -pregnán-3,20-diona 2 de partida (Tabla 1, entrada 2).

25

30

Ejemplo 3

Se añadió tetracloruro de titanio (350 μ l, 3,2 mmoles) gota a gota a una solución de tetraóxido de titanio (2,42 g, 10,6 mmoles) en tetrahidrofurano (anhidro, 30 ml) enfriada a 0°C. Tras agitar durante 20 min. a 0°C, se añadió gota a gota cloruro de metil-magnesio (3 M, 4,3 ml, 12,9 mmoles) en solución de tetrahidrofurano, manteniendo simultáneamente una temperatura inferior a 5°C. Tras agitar durante 20 minutos adicionales a 5°C, se añadió de una vez 5 α -pregnán-3,20-diona (2,53 g, 8 mmoles). La reacción se calentó a 40°C y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se desactivó con 20 ml de metanol y el solvente se eliminó al vacío. La mezcla de reacción se dividió entre 100 ml de HCl 3 N y 100 ml de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con hidróxido sódico 1 N y solución hipersalina y el solvente se eliminó al vacío, proporcionando ganaxolona en bruto en forma de un sólido blanco de ganaxolona con una pureza de 75,9% según la HPLC (Tabla 1, entrada 3).

35

40

Ejemplo 4

Una solución de cloruro férrico (anhidro, 2,14 g, 13,2 mmoles) en tetrahidrofurano (anhidro, 40 ml) se enfrió a -50°C. Se añadió cloruro de metil-magnesio (3 M, 17,6 ml, 52,8 mmoles) en tetrahidrofurano a dicha mezcla gota a gota, manteniendo una temperatura interna inferior a -40°C. Tras 10 min. a -40°C, se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (3,48 g, 11 mmoles) de una vez bajo agitación. Se llevó la temperatura a -20°C durante 30 min. y se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se desactivó con 100 ml de HCl 2 N y el producto se extrajo con 100 ml de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con NaOH 2 N y solución hipersalina y se eliminó el solvente al vacío, proporcionando ganaxolona en bruto (pureza de 80,2% según la HPLC) (Tabla 1, entrada 4).

45

50

Ejemplo 5

Una mezcla de cloruro férrico (anhidro, 1,63 g, 10,06 mmoles) en tetrahidrofurano (anhidro, 35 ml) se enfrió a -50°C bajo nitrógeno. Se añadió metil-litio (3 M, 3,4 ml, 10,2 mmoles) en dietoximetano a la mezcla de cloruro férrico, manteniendo una temperatura inferior a -40°C. Tras completar esta adición, se añadió solución de cloruro de metil-magnesio (3 M, 10,1 ml, 30,18 mmoles) en tetrahidrofurano, manteniendo una temperatura interna inferior a -40°C. Tras 10 min. a -40°C, se añadió de una vez 5 α -pregnán-3,20-diona (2,84 g, 9 mmoles) bajo agitación. Se llevó la temperatura a -20°C y se agitó durante 3,5 horas. La reacción se desactivó mediante la adición de 3 ml de ácido acético y se eliminó el tetrahidrofurano al vacío. El residuo se dividió entre 100 ml de HCl 3 N y 200 ml de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con hidróxido sódico 1 N y solución hipersalina y el solvente se eliminó al vacío, proporcionando ganaxolona en bruto (pureza de 94,8% según la HPLC) (Tabla 1, entrada 5).

55

60

65

Ejemplo 6

Se cargó un matraz de reacción con solución anhidra de cloruro de litio en tetrahidrofurano (0,5 M, 100 ml, 50 mmoles). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió cloruro férrico anhidro (5,61 g, 34,6 mmoles) en partes, manteniendo una temperatura inferior a 10°C. La solución verde pálido resultante se enfrió a -35°C y se añadió solución de cloruro de metil-magnesio en tetrahidrofurano (3 M, 47 ml, 141 mmoles), manteniendo una temperatura inferior a -30°C. Tras completar la adición, se enfrió la mezcla de reacción a -35°C y se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g, 31,65 mmoles) bajo agitación, manteniendo una temperatura inferior a -25°C. Se dejó que se calentase la reacción a -20°C y se agitó a una temperatura de entre -18°C y -22°C durante 3 h. En este momento restaba 0,96% del material de partida según la HPLC y 94,46% era ganaxolona (Tabla 1, entrada 6). La reacción se desactivó mediante la adición lenta de 225 ml de HCl 3 N, manteniendo una temperatura inferior a 25°C. Tras completar la adición, la suspensión resultante de ganaxolona se granuló durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Se filtró la reacción y la torta de filtración se lavó sucesivamente con 50 ml de THF al 20%/HCl 3 N, 50 ml de HCl 3 N y dos veces con 50 ml de agua. Se secó la torta de filtración en un horno de vacío a 70°C, proporcionando 9,54 g (rendimiento de 91%) de ganaxolona 1 pura al 99% en forma de un sólido blanco.

Ejemplo 7

Se enfrió tetrahidrofurano (anhidro, 35 ml) a 10°C y se añadieron 907 mg (21,4 mmoles) de cloruro de litio (anhidro) de una vez. La mezcla se agitó durante 10 min., obteniendo a continuación una solución transparente. A esta mezcla se le añadió cloruro férrico (anhidro, 1,62 g, 10 mmoles) de una vez y se agitó durante 5 min. adicionales. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a -35°C y se añadió cloruro de metil-magnesio (3 M, 13,3 ml, 40 mmoles) gota a gota, manteniendo la temperatura interna entre -35°C y -30°C. Tras completar la adición, se continuó con la agitación durante 10 min. a -30°C y se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona 2 (2,85 g, 9 mmoles) de una vez bajo agitación. Se dejó que la temperatura interna se elevase a -20°C y se mantuvo entre -15°C y -20°C durante 2 horas. El análisis de HPLC de una alícuota demostró que 1,2% era de material de partida y 95,3% era ganaxolona (Tabla 1, entrada 7).

Ejemplo 8

Se añadió cloruro de litio (1,43 g, 33,8 mmoles) a tetrahidrofurano (anhidro, 40 ml) a 10°C y se agitó hasta obtener una solución. Se añadió cloruro férrico (anhidro, 1,63 g, 10,06 mmoles) y se agitó durante 5 minutos. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a -35°C y se añadió solución de cloruro de metil-magnesio (3 M, 13,4 ml, 40,24 mmoles) en tetrahidrofurano, manteniendo simultáneamente una temperatura interna de entre -35°C y -25°C. Tras la adición, se continuó con la agitación durante 10 min. a -30°C y se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (3,0 g, 9,5 mmoles) de una vez bajo agitación. Se dejó que la temperatura interna se elevase a -20°C y se agitó a una temperatura de entre -15°C y -20°C durante 2 horas. El análisis de HPLC de una alícuota demostró que 1,47% era material de partida y 94,25% era ganaxolona (Tabla 1, entrada 8). Se desactivó la reacción mediante la adición lenta de 2,4 ml (42 mmoles) de ácido acético, manteniendo simultáneamente una temperatura inferior a -10°C. Tras completar la adición, se dejó que la mezcla de reacción se calentase hasta la temperatura ambiente bajo agitación vigorosa. A continuación, se eliminó el tetrahidrofurano al vacío y el residuo resultante se dividió entre HCl 3 N y acetato de etilo. Se lavó la capa orgánica con NaOH 2 N y solución hipersalina y se eliminó el solvente al vacío, proporcionando 3,5 g de ganaxolona en bruto (pureza de 98% según la HPLC).

Ejemplo 9

Se cargó THF (anhidro, 190 g), LiCl (anhidro, 4,2 g, 0,100 moles) y FeCl₃ (anhidra, 10,8 g, 0,066 moles) bajo nitrógeno en un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 500 ml seco. Se añadió MeMgCl (3 M, 84,4 ml, 0,253 moles) en tetrahidrofurano, manteniendo simultáneamente una temperatura interna de entre 0°C y 15°C. Tras completar la adición, se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (20 g, 0,0633 moles) de una vez y la mezcla resultante se agitó entre 0°C y 15°C bajo N₂. Se realizó un seguimiento de la reacción mediante HPLC de la manera siguiente: se desactivó una alícuota con HCl 3 N y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con NaOH 3 N y agua. La eliminación del solvente proporcionó un sólido blanco, que se disolvió en metanol y se analizó mediante HPLC (Tabla 1, entrada 9).

Ejemplo 10

Se cargó THF (anhidro, 80 g) y LiCl (anhidro, 2,12 g, 50 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 500 ml seco. El matraz se enfrió a -10°C y se añadió FeCl₃ (anhidro, 5,63 g, 34,8 mmoles). La mezcla se enfrió a -35°C bajo nitrógeno. Se añadió lentamente solución de MeMgCl en tetrahidrofurano (3 M, 58 ml, 174 mmoles), manteniendo simultáneamente una temperatura interna de entre -27°C y -35°C durante la adición. Tras la adición, se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g, 31,6 mmoles) de una vez y la mezcla resultante se agitó a una temperatura de entre -25°C y -20°C bajo nitrógeno. Se realizó un seguimiento de la reacción mediante HPLC de la manera siguiente: se extrajo una alícuota, se desactivó con HCl 3 N y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con NaOH 3 N y agua, y se evaporó a sequedad. El residuo blanco se disolvió en metanol y se analizó mediante HPLC (Tabla 1, entrada 10).

Ejemplo 11

5 Se cargó THF (anhidro, 120 g) y LiCl (anhidro, 2,12 g, 50 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 500 ml seco. El matraz se enfrió a -10°C y se añadió FeCl₃ (anhidro, 1,28 g, 7,9 mmoles). Se enfrió la mezcla a -35°C bajo nitrógeno. Se añadió lentamente la solución de MeMgCl en tetrahidrofurano (3 M, 13,3 ml, 39,9 mmoles), manteniendo simultáneamente una temperatura interna de entre -27°C y -35°C durante la adición. Tras la adición, se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g, 31,6 mmoles) de una vez y la mezcla resultante se agitó a una temperatura de entre -25°C y -20°C bajo nitrógeno. Se realizó un seguimiento de la reacción mediante HPLC de la manera siguiente:

10 se extrajo una alícuota, se desactivó con HCl 3 N y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con NaOH 3 N y agua, y se evaporó a sequedad. El residuo blanco se disolvió en metanol y se analizó mediante HPLC (Tabla 1, entrada 11).

Tabla 1. Conversión de 5α-pregnán-3,20-diona en ganaxolona							
Entrada	% (3)	% de diona (2)	% (5)	% de mono C-20 (6)	% de ganaxolona (1)	% (4)	Condiciones de reacción
TRR	0,68	0,75	0,82	0,9	1	1,09	
1	8,64	39,94	13,13	9,98	11,16	18,06	MeLi (1,0 eq.); -25°C a -20°C, 1h
2	8,47	0,99	11,47	1,57	30,08	44,98	Me ₃ Al (3,0 eq.); 0°C a 15°C, 16h
3	17,16	1,26	0,52	ND	75,86	2,06	Ti(OEt) ₄ (1,3 eq.), TiCl ₄ (0,4 eq.), MeMgCl (1,6 eq.), 40°C
4	5,40	4,36	0,57	0,09	80,24	8,48	FeCl ₃ (1,2 eq.), MeMgCl (4,8 eq.); -40°C a -20°C, 2h
5	0,93	1,19	ND	ND	94,73	2,44	FeCl ₃ (1,1 eq.), MeLi (1,1 eq.), MeMgCl (3,3 eq.), PhOLi (1,0 eq.); -50°C a -20°C
6	1,22	0,96	ND	ND	94,46	2,18	FeCl ₃ (1,1 eq.), LiCl (1,6 eq.), MeMgCl (4,4 eq.); -40°C a -18°C
7	1,15	1,16	ND	ND	95,28	1,72	FeCl ₃ (1,1 eq.), LiCl (2,1 eq.), MeMgCl (4,0 eq.); -35°C a -15°C
8	1,52	1,47	ND	ND	94,25	1,93	FeCl ₃ (1,0 eq.), LiCl (3,3 eq.), MeMgCl (4,0 eq.); -23°C a -15°C
9 ^a	23,37	3,33	2,86	ND	58,06	5,12	FeCl ₃ (1,05 eq.), MeMgCl (4,0 eq.), LiCl (1,58 eq.); 1h, 0 a 15°C
10	1,33	1,29	0,47	0,31	70,92	24,5	FeCl ₃ (1,1 eq.), MeMgCl (5,5 eq.), LiCl (1,58 eq.), 1h, -25°C a -20°C
11 ^b	0,65	52,08	0,51	ND	45,44	0,18	FeCl ₃ (0,25 eq.), MeMgCl (1,25 eq.), LiCl (1,58 eq.), 1h, -25°C a -20°C

15 ^a Se detectaron mediante HPLC cuatro productos secundarios desconocidos adicionales. ^b La reacción no se había completado tras 20 h, restando aproximadamente 30% del material de partida de 3,20-diona.

Ejemplo 12A

20 Se cargaron THF (anhidro, 9,65 kg) y LiCl (anhidro, 0,21 kg) en un reactor de Hastelloy de 50 l purgado con N₂. La mezcla se agitó bajo N₂ y se enfrió a -10°C durante 1 h. Se cargó FeCl₃ (anhidro, 0,515 kg) en el reactor bajo

agitación y la mezcla de reacción se enfrió a -35°C. Se cargó lentamente MeMgCl (3,0 M, 4,04 kg) en tetrahidrofurano en el reactor, manteniendo simultáneamente una temperatura interna a un valor objetivo de -35°C bajo agitación. Tras completar la adición, se agitó la reacción a -35°C durante una hora. Se cargó 5 α -pregnán-3,20-diona (1,00 kg) en el reactor, manteniendo simultáneamente una temperatura interna de aproximadamente -35°C.

5 Tras la adición, se calentó la reacción a -21°C en aproximadamente 1 h y se agitó a la misma temperatura durante 1 h. Se cargó lentamente ácido acético glacial (3,36 kg) en el reactor (1 h) y se calentó la reacción a aproximadamente 25°C (1 h). Se eliminó el THF mediante destilación al vacío fijando la temperatura de la camisa a 35°C hasta un volumen de reacción final de 7,8 l. Se enfrió el residuo a aproximadamente 0°C, seguido de la adición lenta de HCl 3 N (13,86 kg), manteniendo simultáneamente una temperatura interna inferior a 25°C. La mezcla de reacción se agitó

10 a 25°C durante 6 h. Se recogió el sólido mediante filtración y la torta de producto se lavó con THF al 25% en agua (p/p, 4,89 kg) una vez y con agua (5,0 kg) cuatro veces, seguido de un lavado final con THF al 25%/agua (p/p, 4,86 kg). La torta húmeda se secó bajo vacío a 50°C, obteniendo ganaxolona en bruto (0,983 kg) con una pureza de 95,5% según la HPLC (Tabla 2, entrada 1).

15 **Ejemplo 12B**

Se cargó un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 2 l provisto de un agitador mecánico, un embudo de adición graduado de 500 ml y un termómetro de temperaturas bajas, con tetrahidrofurano (THF) anhidro (950 g) bajo nitrógeno. Se enfrió el matraz en un baño frío hasta aproximadamente 0°C (temperatura interna), momento en el que

20 se añadió cloruro de litio (anhidro, 21,2 g, 0,5001 moles) de una vez. Se agitó la mezcla bajo enfriamiento a -10°C y se añadió cloruro férrico (anhidro, 51,3 g, 0,3165 moles) de una vez. La mezcla se agitó para disolver los sólidos, enfriando simultáneamente a -30°C. Se añadió lentamente cloruro de metil-magnesio (3 M, 394,2 g, 1,171 moles) en tetrahidrofurano mediante el embudo de adición, manteniendo una temperatura interna de entre -30°C y -25°C. Se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (100 g, 0,3165 moles) de una vez y la reacción se agitó a una temperatura de entre -

25 25°C y -20°C bajo nitrógeno hasta completarse (5 h) (<3% de área en la HPLC).

Tras completar la reacción, se añadió ácido acético (320 ml). La mezcla se agitó hasta formarse una solución. Se eliminó el THF, obteniendo una suspensión (1.016 g), que se agitó en HCl 3 N (1.250 ml) durante 6 h. La suspensión resultante se enfrió en un baño de hielo-agua durante 2 h y se filtró bajo vacío. La torta húmeda se lavó con solución

30 de THF al 20% fría en agua (v/v, 100 ml) y agua (200 ml x 3), obteniendo la ganaxolona en bruto en forma de un sólido blanco húmedo (144 g) con una pureza de 97,33% según la HPLC (Tabla 2, entrada 4).

Ejemplo 12C

35 Se cargó THF (anhidro, 106 ml), LiCl (anhidro, 2,1 g, 0,050 moles) y FeCl₃ (anhidro, 5,1 g, 0,0317 moles) en un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 250 ml seco. La mezcla se agitó bajo nitrógeno, enfriando simultáneamente a aproximadamente -25°C. Se añadió el material de partida 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g, 0,0316 moles) de una vez y la suspensión resultante se agitó durante 5 min. Se añadió lentamente MeMgCl de Grignard (3 M, 39 ml, 0,117 moles) en tetrahidrofurano, manteniendo simultáneamente una temperatura interna de entre -25°C y

40 -20°C. Tras la adición, se agitó la mezcla de reacción marrón oscuro bajo nitrógeno a la misma temperatura durante la noche. El análisis de HPLC mostró que se había completado la reacción, con menos de 1,37% de diona y 92,71% de ganaxolona.

La reacción se desactivó mediante la adición de ácido acético (32 ml). La mezcla marrón oscuro se agitó bajo

45 calentamiento, obteniendo una solución marrón pálido. La solución se concentró mediante Rotovap, obteniendo un residuo verdoso (82 g), que se agitó con HCl 3 N (125 ml) a temperatura ambiente durante 1 h. La suspensión se filtró bajo vacío. La torta húmeda se lavó con agua (50 ml x 2) y se secó mediante succión. La ganaxolona en bruto húmeda se disolvió en THF (100 ml) a temperatura ambiente. La solución se clarificó mediante filtración a través de un filtro de membrana de 0,45 μ m. El filtrado se concentró mediante destilación a presión atmosférica, eliminando la

50 mayor parte del THF (aproximadamente el 70%). Bajo reflujo, se añadió agua (150 ml). La suspensión blanca se agitó bajo reflujo durante 10 min. A continuación, se enfrió en un baño de hielo-agua durante 1 h. Se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con agua y se secó mediante succión.

El sólido húmedo se puso en suspensión en acetato de etilo (50 ml) a 70°C durante 8 h y se enfrió en un baño de

55 hielo-agua durante 1 h. Se filtró el sólido y se lavó con acetato de etilo frío (10 ml). Tras secar a 50°C bajo vacío, se obtuvo ganaxolona purificada (8,3 g, rendimiento de 79%). Pureza: 99,59% según la HPLC.

Ejemplo 13A. Purificación de ganaxolona en bruto

60 La ganaxolona en bruto del Ejemplo 12A (20 g) se mezcló en suspensión en acetato de etilo (120 ml) a 70°C durante 18 h. Se retiró la suspensión en bruto del calor y la suspensión se enfrió en un baño de hielo-agua durante 1 h. Se recogió el producto mediante filtración, se lavó con 20 ml de mezcla de 2-propanol/agua (1:1, v/v) y se secó, rindiendo 16,6 g de ganaxolona. La pureza de la ganaxolona purificada era de 99,71%, siendo la impureza de reacción individual más grande de 0,07% (Tabla 2, entrada 2).

65

Ejemplo 13B. Ganaxolona purificada

La ganaxolona purificada, obtenida mediante el método proporcionado en el Ejemplo 13A (100 g), se disolvió en THF caliente (700 ml). La solución se clarificó todavía caliente mediante filtración a través de un filtro de 0,45 µm (para eliminar los materiales insolubles). La solución se concentró para eliminar aproximadamente 370 ml de THF y el residuo se calentó bajo reflujo, obteniendo una solución transparente. Bajo reflujo, se añadió lentamente agua (450 ml) para inducir la precipitación. Se retiró la fuente de calor y la reacción se agitó a 25°C durante 2 h. La reacción se agitó adicionalmente a 0°C durante 2 h. Se recogió el sólido mediante filtración y se secó, obteniendo 96 g de ganaxolona con una pureza de 97,2%. Se purificó una parte de la ganaxolona clarificada anteriormente indicada (20 g), mediante agitación en acetato de etilo (100 ml) a 70°C durante 19 h. Se enfrió la ganaxolona y se agitó a aproximadamente 5°C durante 2 h y se filtró. Tras secar, se obtuvo ganaxolona pura (17 g) con una pureza de 99,83% y la impureza de reacción individual más grande presente era de 0,07% (Tabla 2, entrada 3).

Ejemplo 13C

Se agitó ganaxolona en bruto húmeda (140 g) del Ejemplo 12B en una mezcla de acetato de etilo (630 ml) y 2-propanol (70 ml) a 55°C durante 8 h y se enfrió hasta la temperatura ambiente y se enfrió adicionalmente en un baño de hielo-agua durante 2 h. La suspensión se filtró bajo vacío, se lavó con 50 ml de mezcla fría de acetato de etilo/2-propanol/agua (9:1:0,7, v/v/v) y se secó en un horno de vacío a 60°C hasta peso constante (76,2 g, rendimiento de 74,4%). La pureza era de 99,81% y no se observó ninguna impureza individual superior a 0,1% en la HPLC (Tabla 2, entrada 5).

Ejemplo 13D

Se disolvió ganaxolona en bruto (9 g) con un perfil de pureza mostrado en la Tabla 2, entrada 6, preparada mediante un método similar al descrito en el Ejemplo 12A, en una mezcla de acetato de etilo (27 ml) y 2-propanol (63 ml) bajo reflujo. Se añadió agua purificada (45 ml) y la suspensión resultante se agitó bajo reflujo durante 10 min. Se retiró la fuente de calor y la suspensión se enfrió en un baño de hielo-agua durante 1 h. Se recogió el sólido mediante filtración. La torta húmeda se lavó con 40 ml de mezcla de 2-propanol/agua (1/2, v/v) y se secó a 60°C bajo vacío durante 63 h, obteniendo 7,78 g de ganaxolona purificada. Su pureza era de 99,69%, siendo la impureza individual más grande de 0,08% (Tabla 2, entrada 7).

Ejemplo 13E

Se preparó ganaxolona en bruto con el perfil de pureza mostrado en la Tabla 2, entrada 8, mediante un método similar al descrito en el Ejemplo 12A, con la excepción de que se añadió menos FeCl₃. El material en bruto (30 g) se disolvió en tetrahidrofurano (210 ml) bajo reflujo. La solución se filtró en caliente a través de un papel de filtro para eliminar los materiales insolubles. El filtrado transparente se concentró al vacío hasta restar aproximadamente 100 g de tetrahidrofurano. Se calentó la suspensión bajo reflujo para la disolución. Se añadió lentamente agua (135 g) bajo reflujo. La suspensión blanca se agitó bajo reflujo durante 30 min. y se retiró de la fuente de calor. La suspensión se enfrió hasta la temperatura ambiente y se enfrió adicionalmente en un baño de hielo-agua durante 1 h. Se recogió el sólido mediante filtración y se secó a 50°C bajo vacío durante la noche, rindiendo 28,5 g de producto.

El sólido mencionado anteriormente (28,5 g) se agitó en acetato de etilo (285 ml) a 70°C durante 4 h. El sólido se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se enfrió en un baño de hiel-agua durante 2 h. Se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con acetato de etilo frío (10 ml) y se secó a 50°C bajo vacío durante la noche, obteniendo 21,5 g de producto. Este material se agitó dos veces adicionales en acetato de etilo (5 ml/g sólido, 4 horas de agitación) a 70°C, seguido de enfriamiento a 10°C y se filtró, proporcionando 17,5 g (rendimiento de 58,3%) de ganaxolona purificada. Su pureza era de 99,86%, siendo la impureza individual más grande de 0,06% (Tabla 2, entrada 9).

Tabla 2. Perfiles de pureza de lotes de ganaxolona antes y después de las purificaciones															
	Perfil de pureza	Pregnanolona*	20-dimetil-20-hidroxi-5 α -pregnán-3-ol**	3-Epi (3)	3,20-diona 2	Metilación 3-Epi C-20 (5)	Metilación de C-20 (6)	GNX 1	4	7***	PD	PD	PD	PD	PD
Entrada	TRR	0,57	0,63	0,68	0,75	0,82	0,9	1,00	1,09	1,44	1,63	1,77	2,27	2,41	2,78
1	Ejemplo 12A (en bruto)	0,46	0,08	0,86	0,20	ND	ND	95,57	1,35	ND	0,08	0,43	0,12	0,47	0,33
2	Ejemplo 13A (purificado)	0,05	0,07	0,05	0,03	ND	ND	99,71	0,07	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	Ejemplo 13B (purificado)	0,02	0,07	0,01	ND	ND	ND	99,83	0,07	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	Ejemplo 12A (en bruto)	0,43	0,07	0,68	0,08	ND	ND	97,33	0,59	0,06	ND	0,08	ND	0,67	ND
5	Ejemplo 13C (purificado)	0,03	0,04	0,05	ND	ND	ND	99,81	0,06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	Ejemplo 13D (en bruto)	0,27	0,08	0,45	0,45	ND	ND	97,97	0,31	ND	0,09	0,38	ND	ND	ND
7	Ejemplo 13D (purificado)	0,07	0,08	0,07	0,03	ND	ND	99,69	0,06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	Ejemplo 13E (en bruto)	0,45	0,03	0,59	0,57	0,05	0,03	88,79	9,23	0,06	0,07	0,12	ND	ND	ND
9	Ejemplo 13E (purificado)	0,03	ND	0,06	ND	ND	ND	99,86	0,06	ND	ND	ND	ND	ND	ND

* Transferido de 5 α -pregnán-3,20-diona; ** Probablemente formado mediante metilación del carbonilo de C20 de la pregnanolona; *** producto de deshidratación de 20-OH de la impureza 4; PD: producto desconocido; ND: no detectado.

Ejemplo 14

Se hizo reaccionar 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g) con un reactivo obtenido haciendo reaccionar FeCl₃ (5,2 g) y MeMgCl (4 equiv., basado en FeCl₃) en tetrahidrofurano anhidro (200 ml) a -25°C durante 3 h. La reacción se desactivó con ácido acético (32 ml). La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se agitó con HCl 3 N durante 6 h. Se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con agua y se secó a 50°C bajo vacío, obteniendo ganaxolona en bruto. El producto en bruto se disolvió en THF (33 ml) bajo reflujo y se filtró en caliente. Se añadió agua (45 ml) al filtrado con el fin de obtener una suspensión, que se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó. El producto seco se mezcló en suspensión adicionalmente en acetato de etilo (50 ml) a 70°C durante 19 h. La suspensión se enfrió a 0°C y se filtró, se lavó con acetato de etilo frío y se secó, obteniendo ganaxolona.

Ejemplo 15

Se hizo reaccionar 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g) con un reactivo obtenido haciendo reaccionar FeCl₃ (5,2 g) y MeMgCl (4 equiv., basado en FeCl₃) en dioxano (anhidro, 200 ml) a -25°C durante 5 h. La reacción se desactivó con ácido acético (32 ml). La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se agitó con HCl 3 N durante 6 h. Se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con agua y se secó a 50°C bajo vacío, obteniendo ganaxolona en bruto. El producto en bruto se disolvió en THF (33 ml) bajo reflujo y se filtró en caliente. Se añadió agua (45 ml) al filtrado con el fin de obtener una suspensión, que se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó. El producto seco se mezcló en suspensión adicionalmente en acetato de etilo (50 ml) a 70°C durante 19 h. La suspensión se enfrió a 0°C y se filtró y se lavó con acetato de etilo frío. La etapa de suspensión en acetato de etilo se repitió una vez más con el fin de obtener ganaxolona purificada.

Ejemplo 16

Se hizo reaccionar 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g) con un reactivo obtenido haciendo reaccionar FeCl₃ (5,2 g) y MeMgCl (4 equiv., basado en FeCl₃) en éter t-butil-metilico (anhidro, 200 ml) a -25°C durante 3 h. La reacción se desactivó con ácido acético (32 ml). La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se agitó con HCl 3 N durante 6 h. Se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con agua y se secó a 50°C bajo vacío, obteniendo ganaxolona en bruto. El producto en bruto se disolvió en THF (33 ml) bajo reflujo y se filtró en caliente. Se añadió agua (45 ml) al filtrado con el fin de obtener una suspensión, que se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó. El producto seco se mezcló en suspensión adicionalmente en acetato de etilo (50 ml) a 70°C durante 19 h. La suspensión se enfrió a 0°C y se filtró. La etapa de suspensión en acetato de etilo se repitió una segunda vez con el fin de obtener ganaxolona purificada.

Ejemplo 17

Se hizo reaccionar cloruro ferroso (4 g) con MeMgCl (3 equiv. basado en FeCl₂) en THF (anhidro, 200 ml) a -25°C bajo nitrógeno. A continuación, a esta mezcla se añadió 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g). La mezcla se agitó a -25°C durante 4 h y se desactivó mediante la adición de ácido acético (32 ml). La mezcla se concentró al vacío y el residuo se agitó en HCl 3 N (200 ml) durante 6 h. Se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con agua y se secó. El producto en bruto se disolvió en THF (33 ml) bajo reflujo y se filtró en caliente. El filtrado se mezcló con agua (45 ml) y el sólido se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó. El sólido se mezcló en suspensión adicionalmente en acetato de etilo (50 ml) a 70°C durante 19 h. Se enfrió a 5°C y se filtró, se lavó con acetato de etilo frío y se secó, obteniendo ganaxolona.

Ejemplo 18

Se hizo reaccionar cloruro ferroso (4 g) con MeLi (3 equiv. basado en FeCl₂) en tolueno (anhidro, 200 ml) a -25°C bajo nitrógeno. A continuación, se añadió a esta mezcla 5 α -pregnán-3,20-diona (10 g). La mezcla se agitó a -25°C durante 5 h. Se desactivó mediante la adición de ácido acético (32 ml). La mezcla se concentró al vacío y el residuo se agitó en HCl 3 N (200 ml) durante 6 h. Se recogió el sólido mediante filtración, se lavó con agua y se secó. El producto en bruto se disolvió en THF (33 ml) bajo reflujo y se filtró en caliente. El filtrado se mezcló con agua (45 ml) y el sólido se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó. El sólido se mezcló en suspensión adicionalmente en acetato de etilo (50 ml) a 70°C durante 8 h. Se enfrió a 5°C y se filtró, se lavó con acetato de etilo frío y se secó, obteniendo ganaxolona.

REIVINDICACIONES

1. Método para la preparación de 3 α -hidroxi, 3 β -metil-5 α -pregnán-20-ona (ganaxolona), que comprende:

5 hacer reaccionar 5 α -pregnán-3,20-diona,
con un agente metilante organometálico,
en un solvente inerte,

10 comprendiendo dicho método por lo menos una de las etapas siguientes:

15 (a) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 equivalentes de haluro de metil-magnesio o metil-litio a haluro férrico anhidro o haluro ferroso anhidro en un solvente inerte;

20 (b) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 4 equivalentes de cloruro de litio a haluro de hierro en un solvente inerte, previamente a la adición de 3 a 4 equivalentes (basado en haluro de hierro) de haluro de metil-magnesio;

(c) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 1 equivalente de haluro de metil-magnesio o metil-litio a una solución de cloruro de tri(alcoxi C₁-C₃)-titanio en un solvente inerte;

25 (d) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 1 equivalente de haluro de metil-magnesio o metil-litio a una solución de dicloruro de di(alcoxi C₁-C₃)-titanio anhidro en un solvente inerte; y

30 (e) generar el agente metilante organometálico mediante la adición de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 equivalentes de haluro de metil-magnesio o metil-litio a TiCl₄ en un solvente inerte;

en el que:

35 - el agente metilante organometálico es dimetil-hierro (Me₂Fe), metil-trietoxi-titanio, metilcloro-dietoxi-titanio ((CH₃)Cl(CH₃CH₂O)₂Ti), metil-tricloro-titanio (CH₃Cl₃Ti), tetrametil-titanio ((CH₃)₄Ti), dimetil-dicloro-titanio ((CH₃)Cl₂Ti), trimetil-cloro-titanio ((CH₃)₃ClTi), o cloruro de metil-hierro (CH₃FeCl);

- el solvente inerte es tetrahidrofurano, glima, éter t-butil-metílico, 1,4-dioxano, dimetoxietano o éter dietílico; y

40 - el solvente inerte se mantiene a una temperatura de aproximadamente -40°C a aproximadamente 35°C durante la reacción.

2. Método según la reivindicación 1, que comprende además calentar la ganaxolona obtenida en un solvente orgánico con el fin de obtener ganaxolona purificada.

45 3. Método según la reivindicación 2, en el que el solvente orgánico es el acetato de etilo y la cantidad de acetato de etilo utilizada es 4 a 15 veces el peso de la ganaxolona que debe purificarse.

50 4. Método según la reivindicación 1, en el que el agente metilante organometálico es un complejo ato que contiene un anión (Me)₃Fe⁻ y litio o MgX, como catión, en el que X es un haluro.

5. Método según la reivindicación 1, en el que:

(a) el cloruro de metil-magnesio se utiliza para generar el agente metilante; o

55 (b) el metil-litio se utiliza para generar el agente metilante.

6. Método según la reivindicación 1, en el que el solvente inerte es tetrahidrofurano y se mantiene la temperatura del solvente inerte a una temperatura inferior a aproximadamente -15°C durante la reacción.

60 7. Método según la reivindicación 1, en el que el haluro de hierro de la etapa (b) es el haluro férrico anhidro o el haluro ferroso anhidro.

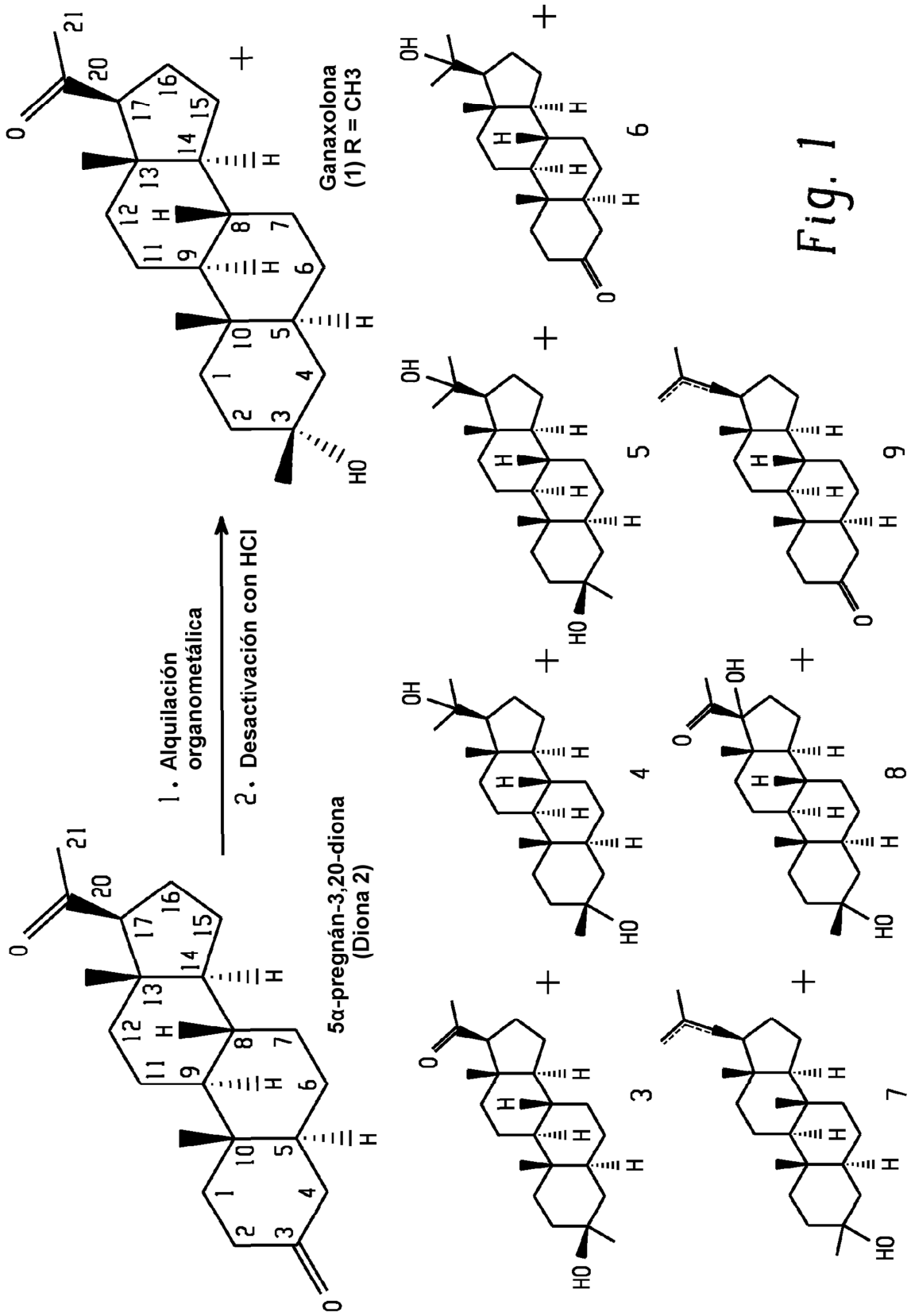


Fig. 1