

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 972**

51 Int. Cl.:

C07D 213/80 (2006.01)

C07D 213/803 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2010 E 10742424 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.10.2014 EP 2459536**

54 Título: **Método y sustancias para la preparación de compuestos de piridinio N-sustituidos**

30 Prioridad:

27.07.2009 EP 09166456

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

16.12.2014

73 Titular/es:

**F.HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel , CH**

72 Inventor/es:

**HEINDL, DIETER y
GEBAUER, PETER**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 524 972 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 y sustancias para la preparación de compuestos de piridinio N-sustituídos

- 5 La presente invención se refiere a un método para la síntesis de compuestos de piridinio carboxilado N-sustituídos mediante la reacción de un precursor pentametilina con una amina primaria. En esta reacción se forma un heterociclo piridinio carboxilado N-sustituído.
- 10 Los compuestos de piridinio resultan de especial interés, por ejemplo en el diseño de fármacos, o como intermediarios generales para síntesis orgánicas, especialmente en la síntesis de productos naturales (Cheng W.-C. y Kurth M.J., *Organic Preparations and Procedures International* 34:585-608, 2002). Determinados compuestos de piridinio sustituido según la presente invención resultan de gran utilidad en la síntesis de NAD o carba-NAD, respectivamente.
- 15 La vía sintética estándar en la producción de compuestos de piridinio sustituido es mediante la alquilación de derivados de piridina. Sin embargo, esta reacción sólo resulta conveniente al utilizar haluros de alquilo primario. En el caso de que se utilicen haluros de alquilo secundario o terciario, se produce la eliminación como reacción secundaria no deseada y los rendimientos generalmente son bajos. Además, al llevar a cabo la alquilación con haluros de alquilo con el átomo de halógeno unido a un átomo de carbono asimétrico, puede producirse la racemización durante la reacción de desplazamiento nucleofílico.
- 20 Todas dichas limitaciones se superan mediante la utilización de la "reacción de Zincke", la cual se basa en la reacción de sales de Zincke con alquil- o aril-aminas. Las sales de Zincke son sales de piridinio activadas que son capaces de reaccionar con una amina primaria (R-NH₂), en la que en el nitrógeno en posición 2 ó 6, respectivamente, se induce la apertura de anillos, que, a su vez, es seguida por el cierre de anillos produciendo un compuesto de piridinio R-sustituido. La reacción de Zincke también puede llevarse a cabo con hidrazinas, hidroxilaminas e hidrazidas de ácido carboxílico. Estos tipos de reacción de Zincke se utilizan para síntesis orgánica en solución y en fase sólida (Eda M. *et al.*, *J. Org. Chem.* 65:5131-5135, 2000).
- 25 En la técnica, la manera predominante de preparar las sales de Zincke deseadas es mediante la reacción de un derivado de piridina con 2,4-dinitro-halobenzol, preferentemente con 2,4-dinitro-clorobenzol y 2,4-dinitro-bromobenzol.
- 30 Tal como resulta evidente a partir de la descripción anterior de los procedimientos del estado de la técnica, los reactivos de activación utilizados actualmente son tóxicos, explosivos o de otro modo peligrosos y, por lo tanto, se encuentran limitados a aplicaciones de investigación a pequeña escala. Se han realizado intentos dispersos para llevar a cabo la reacción de Zincke de una manera ecológicamente respetuosa, por ejemplo mediante la utilización de una síntesis asistida por microondas. Sin embargo, este intento todavía se basa en compuestos explosivos de dinitrofenilo y no resulta posible escalar este método sin adoptar caras medidas de prevención (Viann G.H.R. *et al.*, *Letters in Organic Chemistry* 5:396-398, 2008).
- 35 Por lo tanto, existe una necesidad considerable de mejorar la síntesis de los compuestos de piridinio N-sustituídos, por ejemplo mediante la evitación de peligrosos reactivos de activación. Los nuevos métodos menos críticos deberían proporcionar procedimientos de producción más seguros y una producción más sencilla, menos arriesgada y más eficiente de dichos compuestos a escala mucho mayor.
- 40 Es conocido que diversos derivados 2-alquilaminopentadienimina reaccionan con NH₄OAc o con aminas primarias (R-NH₂) bajo condiciones ácidas en las piridinas 3-alkiladas correspondientes, respectivamente los compuestos de piridinio 1-R-3-alkilo-sustituídos. Los compuestos de 2-alquilaminopentadienimina requeridos son accesibles a partir de derivados N-*terc*-butilimino de aldehídos, desprotonados con LDA y reaccionados con cloruro de vinamidinio (Wypych J.C. *et al.*, *J. Org. Chem.* 73:1169-1172, 2008).
- 45 Sin embargo, la utilidad de dicho método desafortunadamente resulta limitada. No puede introducirse ningún grupo reactivo, tal como una función éster, en la posición 2 del sistema aminopentadienimina, lo que sería, por ejemplo, una condición necesaria para la síntesis de derivados éster de ácido nicotínico.
- 50 Con la presente invención se proporciona un enfoque totalmente nuevo.
- 55 Inesperadamente los presentes inventores han encontrado que, por ejemplo, la sal amonio-tetrafluoroborato de pentametilino 5-dimetilamino-4-metoxicarbonil-penta-2,4-dimetil-dienilideno cicliza con diferentes aminas primarias (R-NH₂) en una etapa, produciendo los metil-ésteres de ácido nicotínico 1-R-sustituídos correspondientes. Mediante la utilización de dicho método resulta posible, por ejemplo, obtener la nicotinamida "carbaribósido" (3-carbamoiil-1-
- 60

((1R,2S,3R,4R)-2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-ciclopentil)-piridinio, cloruro), un precursor en la síntesis de un análogo carba de NAD.

5 En un método según la presente invención en primer lugar se proporciona un compuesto aminopentadieniminio. La posterior reacción de dicho compuesto con una amina primaria (R^6-NH_2) conduce al compuesto piridinio 1- R^6 -sustituido correspondiente. El método dado a conocer posteriormente en la presente memoria evita los reactivos de activación críticos anteriormente indicados. Además, la formación de los derivados de pirimidinio N-sustituídos es prácticamente cuantitativa y puede escalarse fácilmente.

10 Basándose en todos estos resultados pueden evitarse y superarse muchos de los problemas conocidos de la técnica.

Descripción resumida de la invención

15 La presente invención se refiere a un método para la síntesis de un éster piridinio-3-carboxílico N-sustituido, que comprende las etapas de: a) proporcionar una sal pentametinio, b) hacer reaccionar la sal pentametinio de la etapa (a) con una amina primaria, y c) obtener de esta manera un éster de ácido piridinio-3-carboxílico N-sustituido.

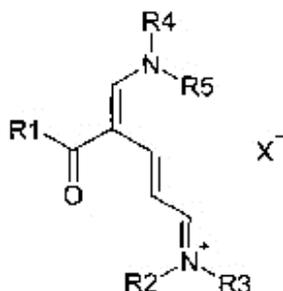
Descripción detallada de la invención

20 En una primera realización, la presente invención se refiere a un método para la síntesis de un éster de ácido piridinio-3-carboxílico N-sustituido, que comprende las etapas de: a) proporcionar una sal pentametinio, b) hacer reaccionar la sal pentametinio de la etapa (a) con una amina primaria, y c) obtener de esta manera un éster de ácido piridinio-3-carboxílico N-sustituido.

25 En una realización preferente, la presente invención se refiere a un método para la síntesis de un compuesto de piridinio carboxilado N-sustituido, que comprende las etapas de:

(a) proporcionar una sal pentametinio según la fórmula I:

Fórmula I



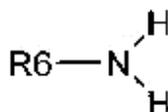
30

en la que X^- es un contraión,
 R^1 es alcoxi seleccionado de entre O-metilo, O-etilo, O-propilo y O-isobutilo, y
 R^2 a R^5 son, independientemente, metilo o etilo.

35

b) Hacer reaccionar la sal pentametinio de la etapa (a) con una amina primaria de fórmula II:

Fórmula II

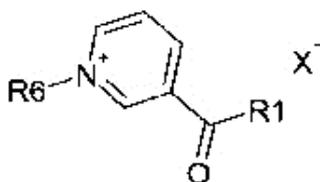


40

en la que R^6 es alquilo lineal, ramificado o cíclico sustituido opcionalmente,

c) obteniendo de esta manera un compuesto de piridinio N-sustituido de fórmula III:

Fórmula III



en la que X, R¹ y R⁶ son tal como se ha definido anteriormente.

- 5 Son contraiones apropiados y preferentes, dodecilsulfato, cloruro, PF₆⁻, BF₄⁻ y ClO₄⁻. Preferentemente el contraión es dodecilsulfato, tetrafluorofosfato o tetrafluoroborato.

10 Tal como se ha definido anteriormente, R⁶ preferentemente es alquilo lineal, ramificado o cíclico sustituido opcionalmente. En una realización preferente, alquilo es alquilo C₁-C₆ lineal o un alquilo C₃-C₆ ramificado, o un alquilo C₅-C₆ cíclico, o alquilo sustituido es un alquilo C₁-C₆ lineal sustituido, o un alquilo C₃-C₆ ramificado sustituido, o un alquilo cíclico C₅-C₆ sustituido. Preferentemente R⁶ es un residuo furanosilo o ciclopentilo. Preferentemente, el compuesto según la fórmula II es una alquilamina lineal o ramificada o es una furanosilamina o una ciclopentilamina.

15 Inesperadamente se ha encontrado que la síntesis según la presente invención presenta un rendimiento muy elevado del producto deseado en el caso de que dicha síntesis se lleve a cabo bajo condiciones de reacción en las que se encuentren presentes tanto la amina primaria como dicha amina primaria en forma protonada. En una realización preferente, la presente invención se refiere a un método para la síntesis de un éster piridinio-3-carboxílico N-sustituido, que comprende las etapas de: a) proporcionar una sal pentametinio, b) hacer reaccionar la sal pentametinio de la etapa (a) con una amina primaria en presencia de la amina primaria en forma protonada, y c) obtener de esta manera un éster de ácido piridinio-3-carboxílico N-sustituido.

20 Preferentemente, el método según la presente invención se lleva a cabo bajo condiciones de reacción en las que la proporción de amina primaria a su amina protonada correspondiente es de entre 2:1 y 1:50. Resulta adicionalmente preferente en un método según la presente invención que la proporción de amina primaria a su amina protonada correspondiente sea de entre 1:1 y 1:20. Resulta preferente además que la proporción de amina primaria a su amina protonada correspondiente sea de entre 1:2 y 1:15.

25 El método según la presente invención resulta apropiado para producir compuesto de alcoxicarbonil-piridinio. En una realización preferente, la presente invención se refiere a la utilización de una sal pentametinio en un método según la presente invención, en la que R¹ es OCH₃, es decir, a la producción de un compuesto de metoxicarbonil-piridinio N-sustituido.

30 En una realización preferente adicional, la presente invención se refiere a la utilización de una sal pentametinio en un método según la presente invención, en la que R² a R⁵ son, cada uno, metilo.

35 Las investigaciones proporcionadas en la sección de Ejemplos se centran en la conversión de la sal pentametinio de amonio-tetrafluoroborato de 5-dimetil-amino-4-metoxicarbonil-penta-2,4-dimetil-dienilideno con amino-carbaribosa ((1R,2S,3R,4R)-2,3-dihidroxi-4-hidroximetil)-1-aminociclopentano). Se ha encontrado que la amino-carbaribosa reacciona prácticamente de manera cuantitativa con la sal pentametinio, por ejemplo en presencia de tetrafluoroborato de piridinio como contraión, obteniendo el derivado éster de ácido nicotínico N-sustituido. Inesperadamente la función éster no resultó afectada por la amina primaria.

40 Algunas reacciones secundarias, tales como la formación de la dimetilamida, debido al ataque de la dimetilamina liberada a la función éster del metilnicotinato formado, pueden eliminarse prácticamente por completo utilizando una mezcla apropiada de amino-carbaribosa y el hidrocloreto correspondiente. Resulta conveniente añadir la sal pentametinio mezclada con una cantidad equimolar de ácido metanosulfónico lenta y continuamente.

45 Sin embargo, el presente método no puede extenderse a otras aminas primarias. Tal como apreciará el experto en la materia, dichas aminas primarias pueden comprender sustituyentes adicionales que no interfieren con la reacción de ciclización. En una realización preferente, el compuesto R⁶-NH₂ es una alquilamina primaria sustituida.

50 Las alquilaminas primarias sustituidas preferentes para la utilización en un método según la presente invención son estereoisómeros puros de aminoalcoholes y aminoácidos.

Preferentemente un aminoalcohol se deriva de cualquier aminoácido natural o no natural disponible comercialmente. Preferentemente, el aminoalcohol se selecciona de entre el grupo que consiste de serinol, treoninol, fenilalaninol, 2,5-diamino-1-pentanol (de ornitina) y 2,6-diamino-1-hexanol (de lisina).

5 En el caso de que el compuesto según la fórmula II sea un aminoácido, el aminoácido puede seleccionarse de entre cualquier aminoácido natural o de entre cualquier aminoácido no natural. En una realización preferente, el aminoácido es un aminoácido natural o un aminoácido no natural, preferentemente disponible comercialmente. Preferentemente, el compuesto según la fórmula II es un aminoácido seleccionado de entre serina, treonina, fenilalanina, ornitina, lisina y leucina.

10 En caso que se desee, en una realización alternativa adicional, pueden hacerse reaccionar di- o poli-aminas en las que ningún grupo amino se encuentra protegido, con dos o más equivalentes de la sal pentametinio, con el fin de formar compuestos de di-piridinio o poli-piridinio.

15 También resultan preferentes las aminas primarias, que son aminas sustituidas con fracciones de azúcar furanosilo o análogos de dicha fracciones de azúcar furanosilo, que opcionalmente se encuentran fosforiladas en un grupo OH o que comprometen los grupos hidroxilo protegidos, mientras que los grupos protectores son bencilo, acetal, sililo y tritilo o comprometen grupos de F o metoxi en lugar de grupos OH. Preferentemente, se utiliza un azúcar furanosilo o análogos que resulten adecuados para la síntesis de NAD o nicotinamida-mononucleósido y análogos del mismo.

20 La utilización de furanosilaminas para la síntesis de NAD o nicotinamida-mononucleósido y análogos del mismo se describe en detalle en las referencias siguientes: Kam B.L. *et al.*, *Biochemistry* 26:3453-3461, 1987; Sicsic S. *et al.*, *European Journal of Biochemistry* 155:403-407, 1986; Kam B.L. y Oppenheimer N.J., *Carbohydrate Research* 77:275-280, 1979, y patente US nº 4.411.995. Las furanosilaminas preferentes son los anómeros beta y alfa de las formas D y L de ribosa, xilosa y arabinosa.

25 También resultan preferentes las ciclopentilaminas, que son los análogos carba de furanosilaminas como beta-D-ribofuranosilaminas, 2-desoxiribofuranosilamina ó 2,3-dideoxi-ribosilfuranosilamina, es decir, (1R,2S,3R,4R)-2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-1-aminociclopentano, (1S,3R,4R)-3-amino-4-hidroxi-ciclopentanometanol, o (1R-cis)-3-amino-ciclopentano-metanol.

30 En una realización preferente adicional, en un método según la presente invención, se hace reaccionar una sal pentametinio con una amina primaria, en la que dicha amina primaria es (1R,2S,3R,4R)-2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-1-amino-ciclopentano. La reacción de amonio-tetrafluoroborato de 5-dimetil-amino-4-metoxicarbonil-penta-2,4-dimetil-dienilideno con dicha amina primaria conduce a la formación de nicotinamido-carbaribósido (cloruro de 3-metoxicarbonil-1-((1R,2S,3R,4R)-2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-ciclopentil)-piridinio), que se convierte fácilmente con amonio en nicotinamido-carbaribósido (tetrafluoroborato de 3-carbamoi-1-((1R,2S,3R,4R)-2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-ciclopentil)-piridinio). Nicotinamido-carbaribósido es un compuesto que resulta crucial para la síntesis del análogo carba con NAD. Carba-NAD y los usos preferentes del mismo se describen en detalle en el documento nº WO 2007/012494. La exposición completa del documento nº WO 2007/012494 se incluye en la presente memoria como referencia.

35 Otras aminas primarias sustituidas preferentes se seleccionan de entre 3-amino-tetrahidrofuranos o 3-aminopirrolidinas protegidas, por ejemplo (2R,4R)-4-aminotetrahidrofurán-2-metanol (un análogo heterocíclico de 2,3-dideoxiribosilamina) ciclohexilaminas y ciclohex-2-enil-aminas, por ejemplo 6 análogos de azúcar anular tal como se dan a conocer en Goulioukina N. *et al.*, *Helvetica Chimica Acta* 90:1266-1278, 2007.

40 Los ejemplos preferentes de aminoazúcares fosforilados son: (1R,4S,6S)-4-amino-6-hidroxi-2-ciclohexén-1-metanol-1-(dihidrogenofosfato), 2-amino-1,5-anhidro-2-desoxi-6-(dihidrogenofosfato) D-altritol, 2-amino-1,5-anhidro-2,3-dideoxi- y 6-(dihidrogenofosfato) D-arabino-hexitol.

45 Tal como apreciará el experto en la materia, pueden utilizarse incluso las aminas primarias que presentan un sustituyente adicional principalmente nucleofílico. En este caso, el grupo nucleofílico adicional debe protegerse con un grupo protector apropiado. Los grupos protectores son bien conocidos de la técnica y se revisan en libros de texto estándares (Greene T.W., *Protective groups in organic synthesis*, John Wiley & Sons, Inc., 1981, New York, Chichester, Brisbane, Toronto). Preferentemente, los grupos aminos se protegen con grupos protectores Boc, ftaloilo o trifluoroacetilo; los grupos mercapto se protegen como disulfuro.

50 En una realización preferente adicional, el presente método se utiliza en combinación con otras aminas primarias, tales como un pigmento TAMRA amino-modificado. Mediante ciclización de la sal pentametinio con una mezcla de 5-(y 6)-((N-(5-aminopentil)amino)carbonil)-tetrametil-rodamina (bajo condiciones comparables a la reacción con amino-carbaribosa), puede obtenerse el metilnicotinato N-sustituido correspondiente con un buen rendimiento.

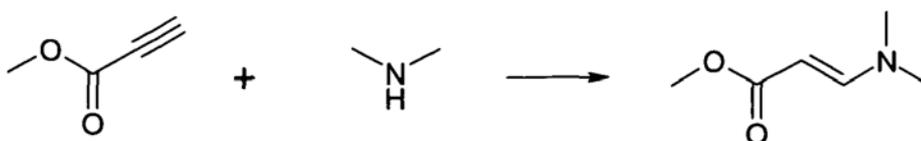
La reactividad del sistema de 3-metoxicarbonilo obtenido abre nuevas oportunidades a la utilización de la ciclización descrita. En una realización preferente adicional, los metil- o etil-nicotinatos N-sustituídos formados en un método según la presente invención se utilizan como conectores alternativos para procedimientos de acoplamiento, por ejemplo para el acoplamiento de moléculas biológicas tales como oligonucleótidos, con un grupo efecto, como un hapteno, un compuesto fluorescente o un compuesto luminiscente. De esta manera, la presente invención se refiere además a conjugados que comprende un metil- o etil-nicotinato N-sustituído a modo de conector.

Ejemplos:

Ejemplo 1:

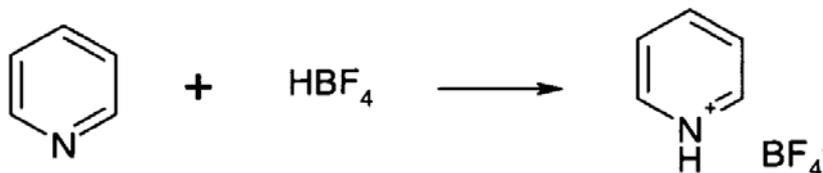
Síntesis de 5-dimetilamino-4-metoxicarbonil-penta-2,4-dienilidén-dimetil-amonio-tetrafluoroborato

Ejemplo 1.1: Síntesis de metil-(2E)-3-(3-dimetilamino)prop-2-enoato



A una solución de metilpropiolato (68,0 ml, 0,764 moles) en 700 ml de THF seco se añadió una solución 2 M de N,N-dimetilamina en el mismo solvente (392 ml, 0,783 moles) dentro del periodo de 1 h a temperatura ambiente. Tras eliminar el solvente, el residuo se secó durante 1 h (37°C, 10 a 20 mbar) en el evaporador, resultando en un sólido amarillo pálido. El sólido triturado se lavó con n-hexano, rindiendo 93,0 g (94%) de metil-(2E)-3-(3-dimetilamino)prop-2-enoato que era puro según la CCF y la RMN-¹H.

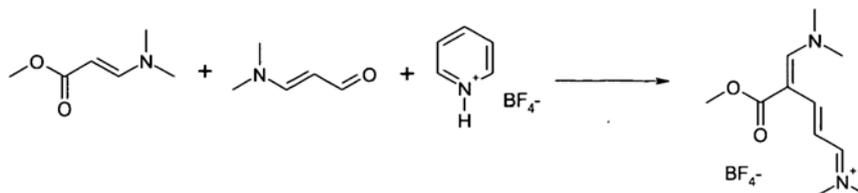
Ejemplo 1.2: Síntesis de tetrafluoroborato de piridinio



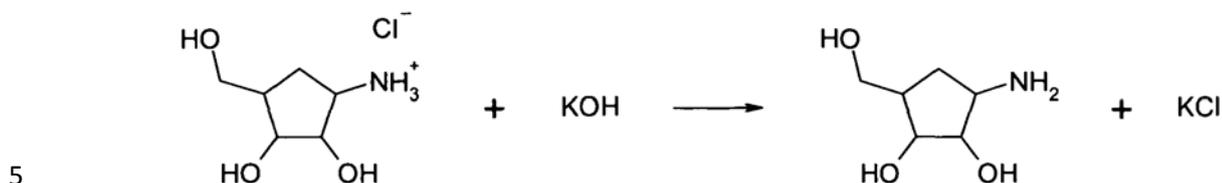
Se añadió ácido tetrafluorobórico (250 ml, 2,00 moles) a piridina fría (0°C) (157,7 ml, 1,95 moles) dentro del periodo de 25 min., obteniendo un precipitado incoloro. Tras finalizar la adición del ácido, la mezcla se agitó adicionalmente durante 30 minutos a la misma temperatura. A continuación se filtró la mezcla de reacción. El residuo se lavó dos veces con etanol frío y se secó durante 12 h bajo alto vacío, rindiendo 201,9 g (60%) de tetrafluoroborato de piridinio en forma de cristales incoloros.

Ejemplo 1.3:

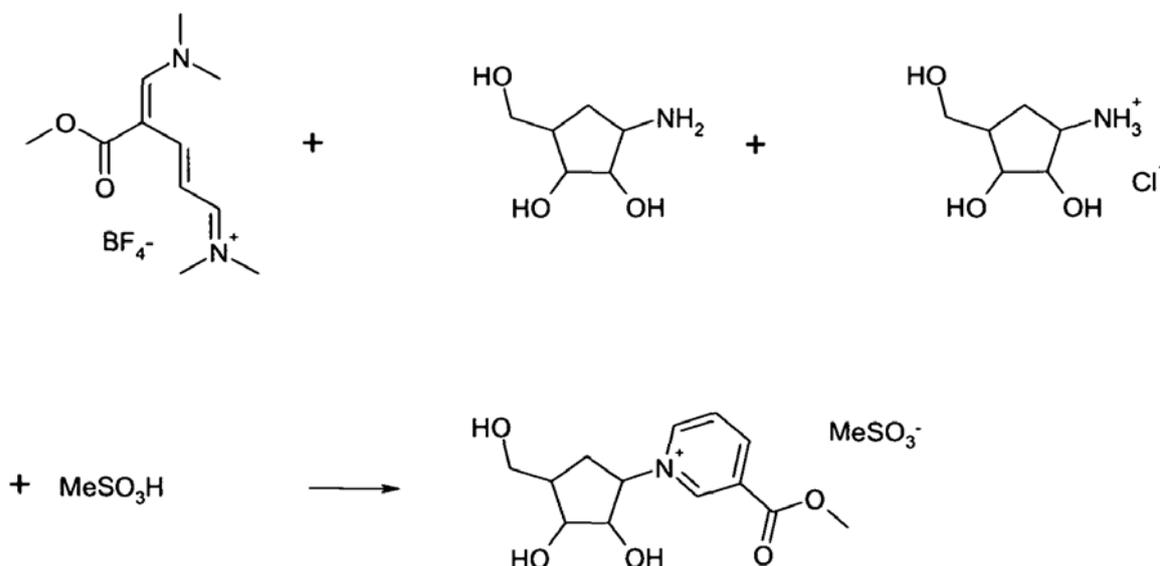
Síntesis de 5-dimetilamino-4-metoxicarbonil-penta-2,4-dienilidén-dimetil-amonio-tetrafluoroborato



Se añadió tetrafluoroborato de piridinio (283,7 g, 1,70 moles) a una solución de metil-(2E)-3-(3-dimetilamino)prop-2-enoato en 442,5 ml de anhídrido acético/ácido acético (2:1). La suspensión resultante se enfrió a 0°C y se añadió 3-dimetilaminoacroleína (169,9 ml, 1,70 moles) lentamente (3 h) bajo agitación vigorosa y enfriamiento en un baño de hielo, obteniendo un precipitado amarillo-marrón. Tras agitar adicionalmente durante 2 h a temperatura ambiente, se filtró la mezcla de reacción. El sólido remanente se lavó con éter dietílico varias veces y se secó bajo presión reducida. La recristalización a partir de i-propanol/etanol (2:1) proporcionó 326,7 g (65%) de la sal pentametinio en forma de cristales amarillos.

Ejemplo 2:**Síntesis de 3-amino-5-hidroximetil-ciclopentán-1,2-diol**

10 Se añadió una solución 1 M de KOH en EtOH (54,5 ml, 54,5 mmoles) a una solución fría (0°C) del hidrocloreto (10,0 g, 54,5 mmoles) disuelto en 540 ml de EtOH. Tras 15 minutos de agitación a temperatura ambiente, se separó mediante filtración el precipitado incoloro formado. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El aceite remanente se secó en el evaporador (1 h, 40°C), rindiendo 9,01 g (112%) de amino-carbaribosa en forma de aceite amarillo pálido. El producto obtenido se utilizó para las etapas siguientes sin purificación adicional.

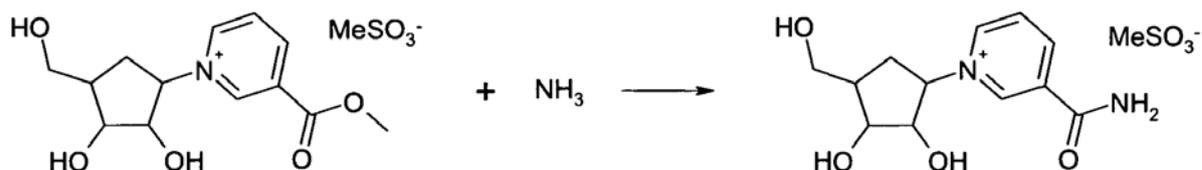
Ejemplo 3:15 **Síntesis de 1-(2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-ciclopentil)-3-metoxicarbonil-piridinio-metanosulfonato**

20 Se disolvió sal vinamidinio (298,1 g, 1,00 mol) en 1.500 ml de DMF y se añadió 1 equivalente de ácido metanosulfónico (65,02 ml, 1,00 mol). Esta mezcla se añadió continuamente y muy lentamente (dentro de un periodo de 5 h) a una solución bajo reflujo (90°C) de 3-amino-5-hidroximetil-ciclopentán-1,2-diol (165,3 g, 0,90 moles) y 3-amino-5-hidroximetil-ciclopentán-1,2-diol (25,8 g, 0,15 moles) en 1.250 ml de MeOH. Tras completar la adición de la solución de sal vinamidinio, la mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y nuevamente se añadieron 0,15 equivalentes de ácido metanosulfónico. La mezcla se agitó durante 12 h a la misma temperatura.

25 Tras eliminar el solvente bajo presión reducida, se obtuvo un aceite rojo-marrón, que se secó adicionalmente durante 3 h (45°C, 4 mbar). Rendimiento: 693,0 g (191%, que contenía sales y una mayor cantidad de solvente).

Ejemplo 4:30 **3-Carbamoil-1-(2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-ciclopentil)-piridinio-metanosulfonato**

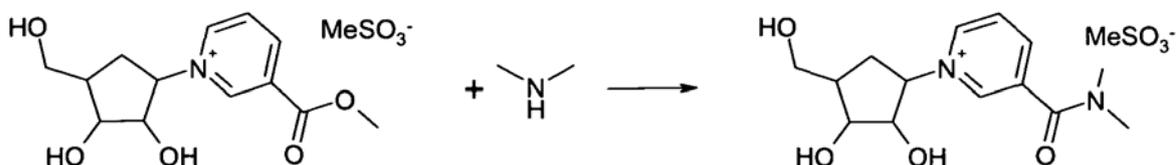
El material 1-(2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-ciclopentil)-3-metoxicarbonil-piridinio-metanosulfonato en bruto del Ejemplo 3 se convirtió rápidamente en la amida correspondiente sin purificación adicional.



Se disolvió 1-(2,3-dihidroxi-4-hidroxi-metil-ciclopentil)-3-metoxicarbonil-piridinio-metanosulfonato (118,3 g, 173,7 mmoles) en 100,0 ml de metanol. Tras la adición de amonio metanólico (7 M, 350,0 ml, 2,45 moles), la mezcla de reacción se agitó durante 2,5 h. Tras eliminar el solvente bajo presión reducida, se obtuvo un aceite rojo-marrón que se secó adicionalmente durante 3 h (40°C, 10 mbar). Este producto en bruto se pre-purificó con carbón activado y se utilizó directamente para la síntesis de NADc (documento nº WO 2007/012494).

Ejemplo 5:

Síntesis de 3-N,N-dimetilcarbamoil-1-(2,3-dihidroxi-4-hidroxi-metil-ciclopentil)-piridinio-metanosulfonato



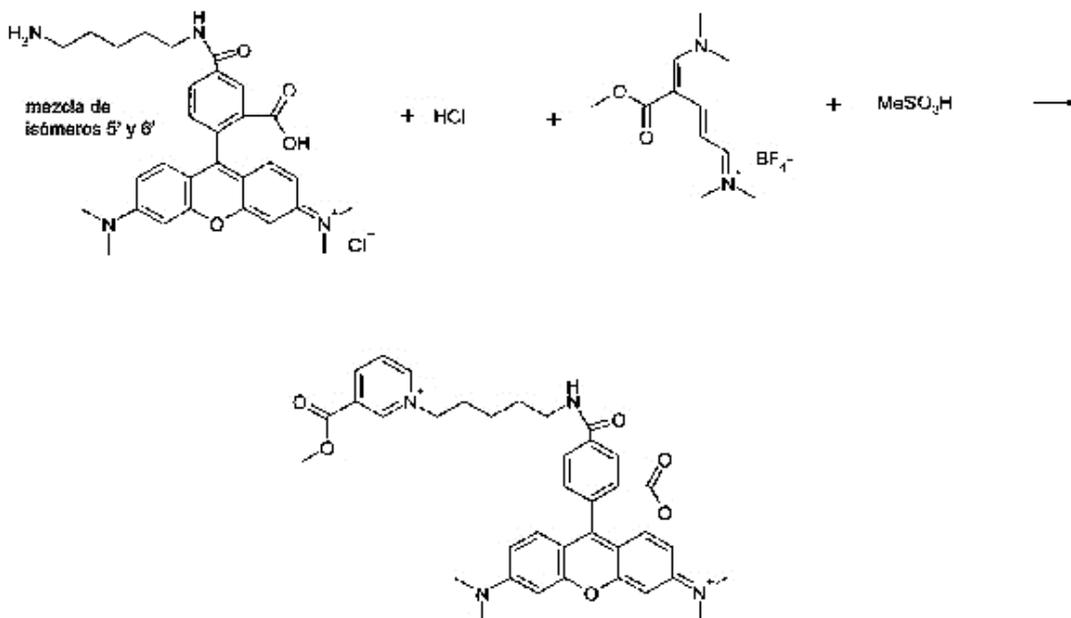
Se obtuvo 3-N,N-dimetilcarbamoil-1-(2,3-dihidroxi-4-hidroxi-metil-ciclopentil)-piridinio-metanosulfonato de manera similar a 3-carbamoil-1-(2,3-dihidroxi-4-hidroxi-metil-ciclopentil)-piridinio-metanosulfonato, mediante la reacción del éster metílico del Ejemplo 3 con una solución de dimetilamina en THF.

Ejemplo 6:

acoplamiento de una sal vinamidinio con un pigmento TAMRA

Mediante la reacción de una sal vinamidinio con un pigmento TAMRA modificado, se formó un éster de ácido nicotínico sustituido con N-TAMRA.

Se llevó a cabo la reacción de ciclización con un pigmento TAMRA amino-modificado.



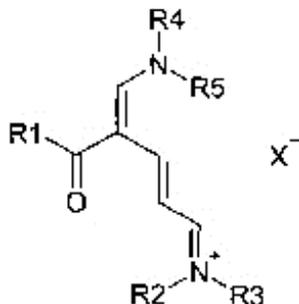
5 El pigmento TAMRA amino-modificado (ver anteriormente: mezcla de isómeros 5 y 6) (19,8 mg, 35,93 μ moles) se disolvió en HCl metanólico (0,125 M, 201 μ l, 25,15 μ moles). La mezcla se calentó a 65°C y se añadió lentamente una solución de sal vinamidinio (10,7 mg, 35,93 μ moles) en MeSO₃H (0,154 M, en MeOH/DMF (1:1), 233 μ l, 35,93 μ moles) dentro de un periodo de 2,5 h a la misma temperatura. Tras la adición de la solución de sal vinamidinio, la mezcla de reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente bajo presión reducida y se purificó mediante HPLC (Hypersil ODS) con un gradiente de acetonitrilo/agua. El producto purificado se disolvió en HCl metanólico y se evaporó bajo presión reducida, proporcionando 16,6 mg (60%) del conjugado de TAMRA-piridinio. EM (IEP): M⁺=636,98 (24).

REIVINDICACIONES

1. Método para la síntesis de un compuesto de piridinio carboxilado N-sustituido, que comprende las etapas de:

5 a) proporcionar una sal pentametinio según la fórmula I:

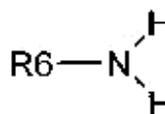
Fórmula I



10 en la que X⁻ es un contraión,
R¹ es alcoxi seleccionado de entre O-metilo, O-etilo, O-propilo y O-isobutilo, y
R² a R⁵ son, independientemente, metilo o etilo.

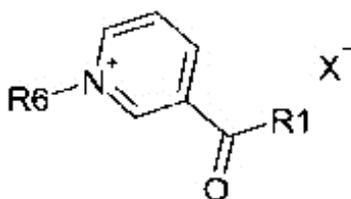
b) Hacer reaccionar la sal pentametinio de la etapa (a) con una amina primaria de fórmula II:

Fórmula II



15 en la que R⁶ es alquilo lineal, ramificado o cíclico, sustituido opcionalmente, c) obteniendo de esta manera un compuesto de piridinio N-sustituido de fórmula III:

Fórmula III



20 en la que X, R¹ y R⁶ son tal como se ha definido anteriormente.

2. Método según la reivindicación 1, en el que en la etapa (b) se encuentran presentes tanto la amina primaria como la amina protonada correspondiente.

25 3. Método según la reivindicación 2, en el que la proporción de amina primaria a su amina protonada correspondiente es de entre 2:1 y 1:50.

4. Método según la reivindicación 2, en el que la proporción de amina primaria a su amina protonada correspondiente es de entre 1:1 y 01:20:00.

30 5. Método según la reivindicación 1, en el que R¹ es OCH₃.

6. Método según la reivindicación 1, en el que R² a R⁵ son metilos.

7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la amina primaria según la fórmula II es 2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-1-aminociclopentano.

5 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la amina primaria según la fórmula II es (1R,2S,3R,4R)-2,3-dihidroxi-4-hidroximetil-1-aminociclopentano.