

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 357**

51 Int. Cl.:

C07H 3/02 (2006.01)

C07H 5/10 (2006.01)

C07D 475/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.06.2011 E 11730560 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014 EP 2582711**

54 Título: **Proceso para la preparación de derivados de pteridina**

30 Prioridad:

15.06.2010 IT MI20101076

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

22.12.2014

73 Titular/es:

**DIPHARMA FRANCIS S.R.L. (100.0%)
Via Bissone, 5
20021 Baranzate (MI), IT**

72 Inventor/es:

**ATTOLINO, EMANUELE;
MICHIELETTI, MARIO;
ROSSI, DAVIDE y
ALLEGRINI, PIETRO**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 525 357 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

Proceso para la preparación de derivados de pteridina

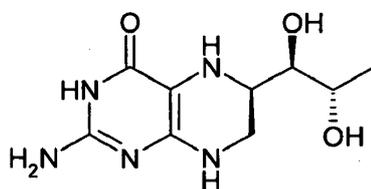
5 CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona con un nuevo proceso para la preparación de Sapropterina o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, y con nuevos compuestos intermedios sintéticos de esta.

10 Antecedentes tecnológicos

La Sapropterina, específicamente (6R)-2-amino-6-[(1R,2S)-1,2-dihidroxiopropil]-5,6,7,8-tetrahidro-4(1H) pteridinona, de la fórmula (I), es una versión sintética del diastereómero 6R de la tetrahidrobiopterina (BH₄), cofactor de la fenilalanina hidrolasa, la enzima responsable del metabolismo de la fenilalanina.

15



20

25

(I)

La estructura tiene tres centros estereogénicos, dos en la cadena lateral del dihidroxipropilo y el tercero en la conexión entre la cadena lateral y el anillo de la pteridina (C-6).

Para obtener el efecto farmacológico deseado se requiere la configuración absoluta (R) en este centro, ya que el diastereómero 6S puede aún inducir la inactivación de la hidrolasa de fenilalanina, y por lo tanto inhibir los efectos del diastereómero 6R.

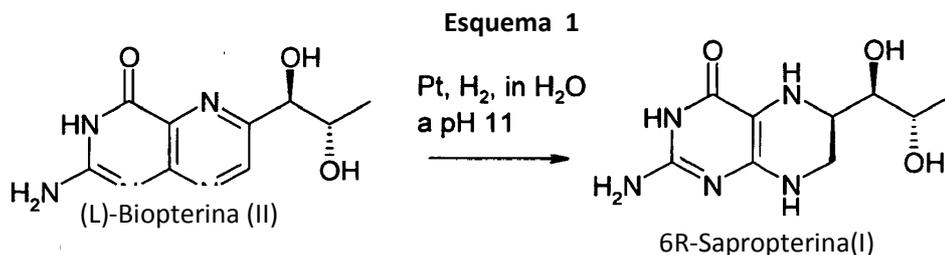
30

La Sapropterina como sal polimorfa del diclorhidrato anhidro, Forma B, actualmente se usa clínicamente para el tratamiento de la hiperfenilalaninemia en pacientes que sufren de una deficiencia de fenilcetonuria o BH₄.

35

La Sapropterina, referida además como Sapropterina-6R, en la presente descripción, se prepara (Esquema 1) mediante hidrogenación catalítica de la biopterina mediada por paladio de la fórmula (II) o de sus derivados cuyas funcionalidades de amina y/o hidroxilo están protegidas por grupos protectores convencionales.

40



45

50

La reacción de hidrogenación se informó por ejemplo en EP 0191335, que establece que la diastereoselectividad de la hidrogenación mejora cuando la reacción se lleva cabo en solución acuosa a pH básico bajo altas presiones de hidrógeno.

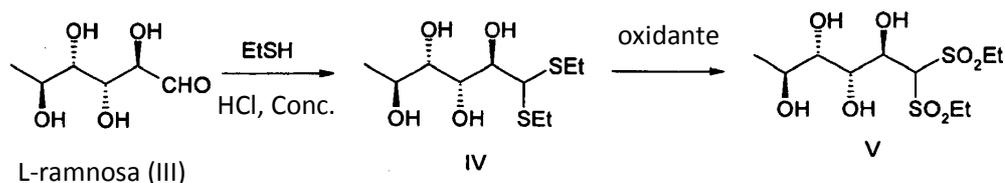
55

Por lo tanto, el problema sintético para la preparación de Sapropterina es obtener L-biopterina de la fórmula (II) a escala industrial con un proceso eficiente, seguro.

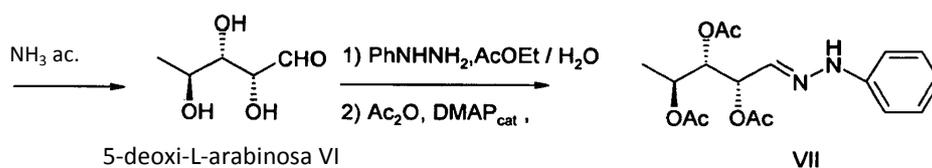
La síntesis de L-biopterina a escala industrial actualmente se lleva a cabo comenzando a partir de L-ramnosa de la fórmula (III) (Esquema 2).

5

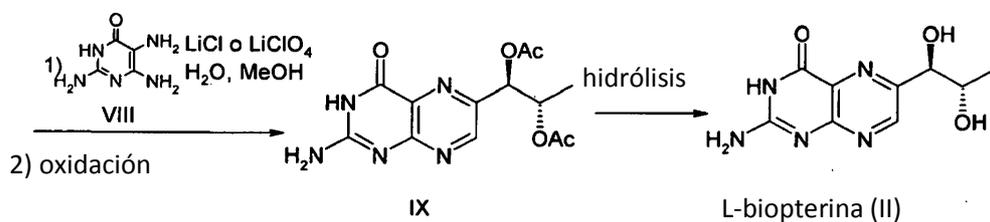
Esquema 2



20



30



40

Esta síntesis implica la transformación de monohidrato de L-ramnosa de la fórmula (III), comercialmente disponible a precios extremadamente bajos, en su dietil ditiacetil (IV) mediante el uso de etanotiol tanto como reactivo como solvente, en presencia de ácido clorhídrico concentrado. El ditiacetil de la fórmula (IV) se oxida después con cualquier oxidante conocido a la disulfona correspondiente de la fórmula (V), la cual se somete después a la degradación de MacDonald-Fischer bajo condiciones básicas, para proporcionar 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI) que contiene las funcionalidades de hidroxilo de la configuración absoluta deseada, en solución acuosa. El azúcar reductor de fórmula (VI) se convierte después a la fenilhidrazona acetilada correspondiente de la fórmula (VII) primero por tratamiento con fenilhidrazina y después con anhídrido acético. El compuesto de la fórmula (VII) se condensa después con 6-hidroxi-2,4,5-triaminopirimidina de la fórmula (VIII) o una sal de ésta comercialmente disponible, para dar un aducto, el cual no se aísla, sino que se somete inmediatamente a oxidación para proporcionar biopterina acetilada de la fórmula (IX). La deacetilación básica o ácida del compuesto de la fórmula (IX) produce biopterina de la fórmula (II), la que puede bien aislarse o mantenerse en disolución, para someterse a hidrogenación catalítica, para proporcionar Sapropterina de la fórmula (I), como se informó, por ejemplo, en el Esquema 1 anterior.

55

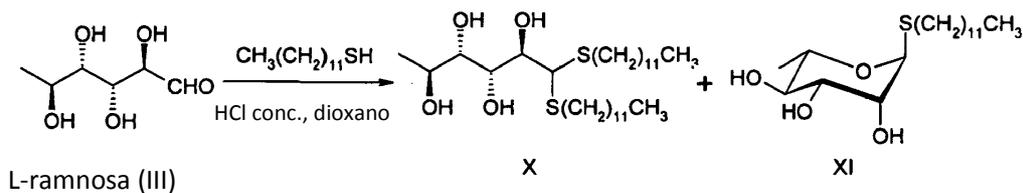
El principal problema en el desarrollo de este proceso a escala industrial es la preparación de 5-deoxi-L-arabinosa de la

fórmula (VI), un azúcar reductor no natural, que comienza a partir del dietil ditioacetal de L-ramnosa de la fórmula (IV). La 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI) es de hecho un intermediario clave en la preparación de L-biopterina de la fórmula (II) y por lo tanto de Sapropterina.

- 5 El etanotiol usado en esta preparación es un reactivo ampliamente conocido por el enorme problema ambiental que su empleo implica. El etanotiol tiene bajo punto de ebullición (35°C), y debido a su olor desagradable que puede ser percibido aún en unas pocas ppm, actualmente no se usa más a escala industrial, incluso en países no industrializados, sin consciencia medio ambiental.
- 10 Los alquitolos de bajo peso molecular, igualmente al etanoetiol, son generalmente tóxicos y debido a la alta volatilidad de los mismos contaminan fácilmente a los operadores y al medio ambiente.

Una posible solución al problema fue aparentemente el proceso descrito en EP 1849793, que describe la preparación del didodecil ditioacetal de L-ramnosa, con un rendimiento de 75%, mediante el uso de dodecanotiol como reactivo. El dodecanotiol tiene de hecho una cadena de alquilo recta de C12, es un líquido barato de alto punto de ebullición, tiene el olor típico del hidrocarburo y no implica problemas medioambientales importantes, contrario a los tioles de cadena corta de bajo punto de ebullición. La reacción anterior ya descrita se repitió, sin embargo, aún cuando los parámetros de reacción tales como temperatura, solvente, y similares se cambiaron, esta siempre proporcionó (Esquema 3) mezclas de dos productos, específicamente el ditioacetal deseado de la fórmula (X) y el tioglicósido de la fórmula (XI) aproximadamente en la misma relación equimolar, los que son difíciles de separar debido a su naturaleza anfílica. Por lo tanto, el rendimiento del ditioacetal deseado fue siempre menos del 50%. Esta es probablemente la razón por la que dicha solicitud europea se abandonó.

Esquema 3



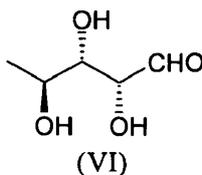
35 Por lo tanto, a pesar de los esfuerzos llevados a cabo hasta la fecha por mejorar la síntesis de 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI), todavía se necesita de un proceso seguro, eficiente para la preparación de L-biopterina de la fórmula (II) y después de Sapropterina de la fórmula (I), o una sal de ésta, a escala industrial.

RESUMEN DE LA INVENCION

40 Ahora sorprendentemente se encontró un nuevo proceso, que proporciona 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI) a partir de un nuevo ditioacetal de ramnosa de la fórmula (XII), como se define en la presente. El nuevo proceso supera los problemas anteriormente mencionados, por ejemplo, con respecto al dodecanotiol, este definitivamente implica una mejor economía de átomos y no se forman las impurezas de tioglicósido de la fórmula (XI) o los análogos de éste. Además, permite obtener Sapropterina, o una sal de ésta, farmacéuticamente aceptable, con muy altos rendimientos, de manera más segura, eficiente y reproducible sin problemas medioambientales a escala industrial.

Descripción detallada de la invención

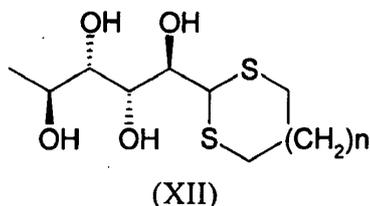
50 Un objetivo de la invención es por lo tanto un proceso para la preparación de 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI).



que comprende la conversión de un compuesto de la fórmula (XII)

5

10



15

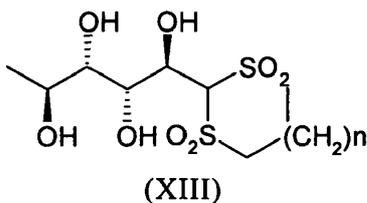
en donde n es 0, 1 o 2;

a un compuesto de la fórmula (VI) como se definió anteriormente.

20

La conversión de dithioacetal de la fórmula (XII) a 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI) se llevó a cabo mediante un proceso que comprende la oxidación de un dithioacetal de la fórmula (XII) para obtener una disulfona de la fórmula (XIII).

25



30

en la cual n es como se definió anteriormente, y la reacción posterior con una base.

35

La oxidación de un dithioacetal de la fórmula (XII) puede llevarse a cabo con un agente oxidante, por ejemplo, seleccionado a partir de un perácido orgánico, preferentemente, ácido perbenzoico metacloro, ácido periódico o una sal de estos, por ejemplo peryodato de sodio, un peroxisulfato, por ejemplo K_2SO_5 , oxona, y peróxido de hidrógeno, opcionalmente en presencia de un catalizador metálico, por ejemplo, tugnstato de sodio.

40

Si es necesario, la reacción puede llevarse a cabo en un solvente, que se selecciona en dependencia del agente oxidante, como los conocidos por los expertos en la técnica.

45

Una base, que puede ser orgánica o inorgánica, fuerte o débil, es preferentemente una amina, por ejemplo, trietilamina o amoníaco, con mayor preferencia amoníaco.

50

De acuerdo con un aspecto adicional, la invención proporciona un proceso que comprende además la conversión de 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI), así obtenida, la que puede aislarse opcionalmente, a L-biopterina de la fórmula (II) o una sal de ésta; y, si se desea, la conversión posterior de esta última a Sapropterina de la fórmula (I) o una sal de ésta.

55

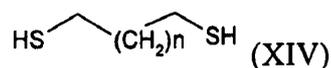
La conversión de 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI) a L-biopterina de la fórmula (II), puede llevarse a cabo, por ejemplo, de acuerdo al Esquema 2 anterior, o de acuerdo a Helv. Chim. Acta 1985, 68(6), 1639-1643.

La conversión de L-biopterina de la fórmula (II), o una sal de ésta, a Sapropterina de la fórmula (I), o una sal de ésta, puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante hidrogenación catalítica de acuerdo al Esquema 1 anterior.

Una sal de L-biopterina de la fórmula (II) o de Sapropterina de la fórmula (I) es preferentemente una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, por ejemplo, una sal con un ácido orgánico o inorgánico, en particular con ácido clorhídrico, típicamente

el diclorhidrato. La salificación de L-biopterina de la fórmula (II) o de Sapropterina de la fórmula (I), así como la conversión de dichas sales a las respectivas bases, se puede llevar a cabo de acuerdo con los métodos conocidos..

5 Un ditionoacetal de la fórmula (XII) se puede preparar mediante un proceso que comprende la reacción entre L-ramnosa, por ejemplo comercial, anhidra o hidrato, con un ditiol de la fórmula (XIV).



10

donde n es 0, 1 o 2, en presencia de un ácido fuerte, y opcionalmente en presencia de un solvente.

15 Los ditiolos de la fórmula (XIV) están comercialmente disponibles. Los preferidos son aquellos en los que n es 1 o 2. Tales ditiolos en los que n es 1 o 2 tienen solamente 3 o 4 átomos de carbono, como los tioles de alquilo inferior, pero tienen puntos de ebullición más altos, es decir, 169°C o más, además no tienen olores penetrantes a pesar del bajo número de átomos de carbono de los mismos. Gracias a estas propiedades, en particular la baja volatilidad, tales ditiolos son más adecuados que otros alquilditiolos para su uso a escala industrial.

20

Un ácido fuerte, que puede ser orgánico o inorgánico, es preferentemente un ácido mineral, por ejemplo, ácido clorhídrico acuoso.

25 Sí está presente un solvente, puede ser un solvente aprótico polar, por ejemplo, una amida, típicamente dimetilacetamida, dimetilsulfóxido o acetonitrilo; un solvente prótico polar, por ejemplo, agua o un alcohol de C₁-C₅, un éter, por ejemplo, tetrahidrofurano o dioxano, o una mezcla de dos o más, preferentemente 2 o 3, de ellos.

La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura en el intervalo de 0°C hasta la temperatura de reflujo del solvente, preferentemente alrededor de 20°C.

30

Los ditionoacetales de la fórmula (XII) y disulfonas de la fórmula (XIII) son compuestos nuevos y son un objetivo adicional de la invención.

35 De acuerdo con un aspecto adicional, la invención proporciona un proceso para la preparación de Sapropterina, o una sal de ésta farmacéuticamente aceptable, que comprende el uso de un compuesto de la fórmula (XII), como se define en la presente, como la materia prima.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

40 **Ejemplo 1: Síntesis de (L)-ramnosa 1',3'-propanoditionoacetal (XII; n=1)**

El monohidrato de L-ramnosa (168.3 g, 0.92 mol) se añade como un sólido en porciones, bajo fuerte agitación, a una mezcla de 1,3-propanoditiol (100 g, 0.92 mol) en 500 ml de HCl al 37%. La disolución resultante se mantiene bajo agitación durante 12 horas a aproximadamente 20°C. A la primera hora ya se observa la formación de un precipitado blanco abundante. La suspensión se enfría después a 5 - 10°C y el exceso de ácido se neutraliza con NaOH y 500 ml de hielo. La suspensión a pH de aproximadamente 7 se filtra después y el sólido se lava con agua y 100 ml de isopropanol. El sólido húmedo se seca bajo vacío a 40°C durante 16 horas hasta alcanzar 222 g del producto (XII) como un sólido de color blanquecino con rendimiento de 95%.

50 C₉H₁₈O₄S₂; MW=254.27; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆), δ 5.05 (d, 1H, J = 5.7 Hz, OH), 4.42 (d, 1H, J = 1.2 Hz, H-1), 4.38 (d, 1H, J = 5.4 Hz, OH), 4.22 (d, 1H, J = 7.2 Hz, OH), 4.00 (d, 1H, J = 8.1 Hz, OH), 3.77 - 3.68 (m, 2H, H-2, H-5), 3.56 - 3.51 (m, 1H, H-4), 3.28 - 3.25 (m, 1H, H-3), 2.96 - 2.67 (m, 4H, 2 x CH₂S), 2.05 - 1.94 (m, 1H, SCH₂CH_a), 1.78 - 1.64 (m, 1H, SCH₂CH_b), 1.10 (d, 3H, J=6.3 Hz, CH₃).

55 **Ejemplo 2: Síntesis de 1',3'-propanodisulfonil (L)-ramnosa (XIII; n=1)**

El tugnato de sodio (13 g, 0.04 mol) se suspende en una solución obtenida al disolver (L)-ramnosa-1',3'-propanoditionoacetal (XII), (200 g, 0.79 mol) en 1.2 L de ácido acético glacial. La suspensión se enfría hasta aproximadamente 15°C y lentamente

se le gotea dentro peróxido de hidrógeno al 35%(417 mL, 4,72 mol) manteniendo la temperatura por debajo de 40°C. La disolución clara resultante se agita a aproximadamente 20°C durante 16 horas. El exceso de H₂O₂ se inhibe después por adición de una solución concentrada de tiosulfato de sodio. La mezcla de solventes se evapora después bajo presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 400 mL. La mezcla resultante se usa directamente en la etapa posterior, sin purificación adicional.

C₉H₁₈O₈S₂; MW = 318.37; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ 6.24 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz, OH), 4.82 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz, OH), 4.59 - 4.54 (m, 2H, H-1, OH), 4.45 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, OH), 4.21 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-2), 3.63 - 3.24 (m, 3H, H-5, H-4, H-3), 2.44 - 2.14 (m, 6H), 1.12 (d, 3H, *J* = 6.0 Hz, CH₃).

Ejemplo 3: Síntesis de 1',3'-propanodisulfonil (L)-ramnosa (XIII; n=1)

La (L)-ramnosa-1',3'-propanoditioacetal (XII) (200 g; 0.738 mol) y tungstato de sodio dihidratado (12.2 g, 0.037 mol) se disuelven en ácido acético glacial (991.6 g). Se añade agua (48 g) a la solución resultante y la mezcla de reacción se enfría hasta 10-15°C. Se añade peróxido de hidrógeno al 35% (322.5 g; 3.32 mol) en al menos 4 horas manteniendo la temperatura a 20-30°C. La mezcla de reacción se calienta después hasta aproximadamente 30-35°C y se mantiene bajo agitación durante aproximadamente 3 horas. Después se añade isopropanol (416.7 g). La suspensión resultante se mantiene bajo agitación a 30-35°C durante aproximadamente 5 horas, después se enfría hasta 20-25°C en al menos 5 horas, posteriormente se enfría a 5-10°C en al menos 3 horas y se mantiene bajo agitación durante otra hora. La suspensión se enfría y después se filtra, y el sólido resultante se lava con isopropanol (314.2 g).

El producto se seca bajo vacío a 50°C durante aproximadamente 24 horas.

Se obtienen 209.9 g del producto como un sólido blanco de la fórmula (XIII), con rendimiento molar de 88%.

C₉H₁₈O₈S₂; MW = 318.37; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ 6.24 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz, OH), 4.82 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz, OH), 4.59 - 4.54 (m, 2H, H-1, OH), 4.45 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, OH), 4.21 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-2), 3.63 - 3.24 (m, 3H, H-5, H-4, H-3), 2.44 - 2.14 (m, 6H), 1.12 (d, 3H, *J* = 6.0 Hz, CH₃).

Ejemplo 4: Síntesis de 5-deoxi-L-arabinosa (VI)

La suspensión que contiene disulfona (XIII) del Ejemplo 2 se disuelve con 1 litro de agua y se enfría hasta 10-15°C, después se alcaliniza a pH de 8 - 9 con NH₃ acuoso al 33%. Una suspensión densa se forma inmediatamente, la que se mantiene bajo agitación durante 16 horas a aproximadamente 20°C, hasta la completa desaparición del producto de partida. El sólido se filtra después y se lava con 250 ml de agua. Las fases acuosas combinadas se extraen con acetato de etilo para eliminar cualquier traza de sulfona. La solución acuosa de 5-deoxi-(L)-arabinosa (VI) resultante puede usarse como tal en la reacción posterior para obtener L-biopterina y, si se desea, Sapropterina.

Ejemplo 5: Síntesis de 5-deoxi-L-arabinosa (VI)

La 1',3'-propanodisulfonil (L)-ramnosa (XIII) (209.9 g; 0.650 mol) del Ejemplo 3 se dispersa en agua (369.9 g) y acetato de etilo (568 g). Después se añade amoníaco al 28% (13.8 g) hasta un pH mayor que o igual a 8.

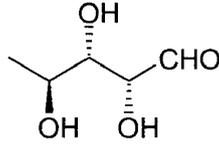
La mezcla de la reacción se mantiene aproximadamente a 20-25°C durante 1 hora hasta la desaparición completa del producto de partida.

La suspensión de la reacción final se filtra después y el sólido resultante se lava con agua (215 g). La mezcla bifásica obtenida por filtración del sólido y que contiene 5-deoxi-(L)-arabinosa (VI) puede ser usarse como tal en la reacción posterior para obtener L-biopterina y, si se desea, Sapropterina.

Reivindicaciones

1. Proceso para la preparación de 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI)

5



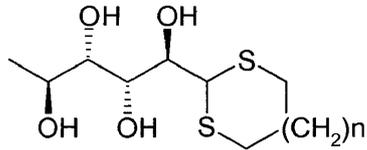
(VI)

10

15

que comprende la oxidación de un ditionoacetal de la fórmula (XII)

20



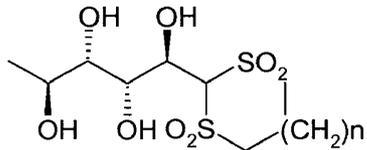
(XII)

25

30

en donde n es 0, 1 o 2
para obtener una disulfona de la fórmula (XIII)

35



(XIII)

40

45

donde n es como se definió anteriormente, y la reacción posterior con una base.

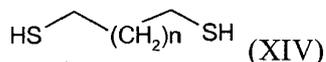
2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la oxidación de un ditionoacetal de la fórmula (XII) se lleva a cabo con un agente oxidante seleccionado de un perácido orgánico, ácido periódico o una sal de estos, un peroxisulfato, oxona, y peróxido de hidrógeno opcionalmente en presencia de un catalizador de metal, preferentemente tungstato de sodio.
3. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la base, que puede ser orgánica o inorgánica, débil o fuerte, es preferentemente una amina o amoniaco.
4. Proceso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, que además comprende la conversión de 5-deoxi-L-arabinosa de la fórmula (VI), que puede ser aislada o no aislada, en L-bioperina, o una sal de ésta; y, si se desea, su conversión posterior en Sapropterina, o una sal de ésta.

50

55

5. Proceso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, que además comprende preparar una ditioacetal de la fórmula (XII) por un proceso que comprende la reacción de L-ramnosa anhidra o hidratada, con un ditiol de la fórmula (XIV)

5



en el cual n es 0, 1 o 2, en presencia de un ácido fuerte, y opcionalmente un solvente.

10

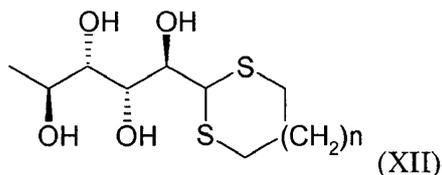
6. Proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el ácido fuerte, que puede ser orgánico o inorgánico, es preferentemente un ácido mineral.

15

7. Proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el solvente se selecciona de un solvente aprótico polar, preferentemente una amida, dimetilsulfóxido o acetonitrilo; un solvente prótico polar, preferentemente agua o un alcohol de C₁-C₅; un éter, preferentemente tetrahidrofurano o dioxano; o una mezcla de dos o más, de preferencia dos o tres, de dichos solventes.

20

8. Un compuesto de la Fórmula (XII)

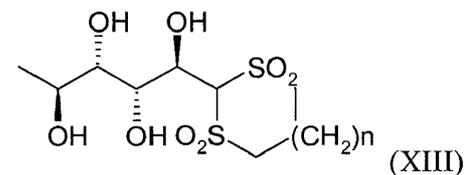


25

en donde n es 1 o 2.

30

9. Un compuesto de la fórmula (XIII)



35

40

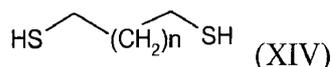
en donde n es 0, 1 o 2

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en donde n es 1.

45

11. Un proceso para la preparación de L-biopterina o Sapropterina, o una sal de estos, que comprende un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto de la fórmula (XII) se obtiene por la reacción de L-ramnosa anhidra o hidratada con un ditiol de la fórmula (XIV)

50



en donde n es 0, 1 o 2, en presencia de un ácido fuerte, y opcionalmente un solvente.