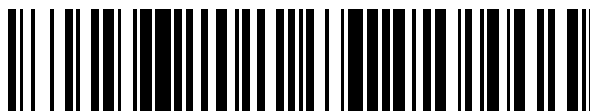


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 365**

51 Int. Cl.:

C07H 1/00 (2006.01)

C07H 13/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2007 E 07765269 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.12.2014 EP 2024377**

54 Título: **Proceso para la preparación de monohidrato de N-acetil-D-manosamina**

30 Prioridad:

19.05.2006 IT MI20060991

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

26.03.2015

73 Titular/es:

**INALCO S.P.A. (100.0%)
VIA CALABIANA 18
20139 MILAN, IT**

72 Inventor/es:

**CIPOLLETTI, GIOVANNI;
TAMERLANI, GIANCARLO;
LOMBARDI, ILARIA y
BARTALUCCI, DEBORA**

74 Agente/Representante:

RUO, Alessandro

ES 2 532 365 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 monohidrato de N-acetil-D-manosamina

5 **Campo de la invención**

[0001] La presente invención se refiere al campo de la síntesis de azúcares, y en particular a un proceso para la preparación de monohidrato de N-acetil-D-manosamina que tiene la fórmula (I) presentada más adelante.

10 **Técnica anterior**

[0002] La N-acetil-D-manosamina es un intermedio específico para la síntesis de ácido N-acetil-neuramínico [A1] que, a su vez, es el material de partida útil para la síntesis de diversos principios activos, en particular de productos antiviricos.

15 **[0003]** El ácido N-acetil-neuramínico es un ácido siálico que existe como componente de mucolípidos y mucoproteínas, y como componente de oligosacáridos que se pueden encontrar, por ejemplo, en la leche en pequeñas cantidades.

20 **[0004]** Por tanto existe la necesidad de producir ácido N-acetil-neuramínico de forma sintética y, así, tener una gran disponibilidad de productos tales como N-acetil-D-manosamina, a partir de la cual se obtiene el ácido.

[0005] Hasta la fecha se han descrito en la bibliografía diversos métodos para la síntesis de N-acetil-D-manosamina, de forma enzimática, fermentativa o química.

25 **[0006]** Entre los métodos de síntesis enzimática es muy conocido, por ejemplo, la interconversión de N-acetil-D-glucosamina en N-acetil-D-manosamina usando la N-acetil-D-glucosamina-2-epimerasa, como se presenta, por ejemplo, en Lee, Jeong-Oh y col. en *Enzyme and Microbial Technology* 2004, 35 (2-3), 121-125.

30 **[0007]** En la solicitud de patente internacional número WO 00/52138 se informa de un ejemplo de síntesis de N-acetil-D-manosamina mediante la fermentación con *Klebsiella pneumoniae* usando N-acetil-D-glucosamina como sustrato.

35 **[0008]** Entre los métodos de síntesis química en la bibliografía se informa de la epimerización alcalina de N-acetil-D-glucosamina a pH > 9 usando diferentes bases tales como hidróxido de sodio o de potasio o una resina de intercambio iónico tal como Duolite® A113, como se describe en la solicitud de patente internacional número WO 94/29476. En la bibliografía también se describen otros métodos similares de síntesis química que usan otras bases tales como hidróxido de calcio o una resina básica.

40 **[0009]** Un método sintético químico diferente se describe en Mack, Hans y col. *Carb. Res.*, 1988, 175(2), 311-16 que consiste en la ciclación del producto del 2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosido al derivado de oxazolina, su posterior hidrólisis a 2-acetamida-2-desoxi-5,6-O-isopropiliden-D-glucofuranosa y la isomerización mediante tratamiento con la resina básica Amberlite® IRA-68 en 2-acetamida-2-desoxi-D-manosa. Este método consume gran cantidad de tiempo, es laborioso y difícil de explotar a nivel industrial.

45 **[0010]** Una síntesis química adicional de la N-acetil-D-manosamina se describe en la patente europea número 0 385 287; esta síntesis requiere la reacción del derivado de N-acetil-D-glucosamina con un iluro de fósforo (reacción de Wittig) y la epimerización al derivado olefínico correspondiente que a continuación se oxida con ozono hasta el derivado de mannosamina. Este proceso requiere el uso de reactivos y disolventes que dificultan la producción a gran escala.

50 **[0011]** Spivak C. T. y col., *JACS* 1959, 81, 2403-2404 describe un proceso para la preparación de monohidrato de N-acetil-D-manosamina en forma cristalina partiendo de N-acetil-D-glucosamina, comprendiendo dicho proceso la cristalización selectiva de N-acetil-D-manosamina a partir de una mezcla de reacción en la que la N-acetil-D-glucosamina sin reaccionar se ha extraído previamente.

55 **[0012]** El documento WO 94/29476 desvela un proceso para la preparación de una mezcla de N-acetil-D-manosamina y N-acetil-D-glucosamina partiendo de N-acetil-D-glucosamina, comprendiendo dicho proceso la cristalización selectiva de N-acetil-D-glucosamina para producir una mezcla enriquecida en N-acetil-D-manosamina.

60 **[0013]** Además, todas las síntesis químicas que conoce el solicitante de N-acetil-D-manosamina a partir de N-acetil-D-glucosamina dan como producto final la N-acetil-D-manosamina no pura, sino una mezcla enriquecida en N-acetil-D-manosamina que permanece en la solución junto con las impurezas de reacción y con una cantidad significativa de N-acetil-D-glucosamina.

65 **[0014]** Por tanto, aún existe la necesidad de disponer de un proceso de preparación químico de N-acetil-D-

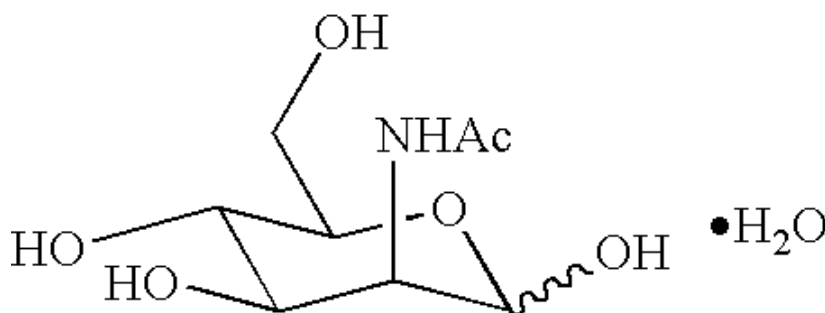
manosamina, que se pueda producir a escala industrial y que sea adecuado para la preparación de este azúcar con un alto grado de pureza.

Sumario de la invención

[0015] Ahora el solicitante ha encontrado un proceso para la preparación de monohidrato de N-acetil-D-manosamina que tiene la fórmula (I) presentada a continuación en este documento, que es particularmente simple y económico, y permite superar las desventajas mencionadas anteriormente para los procesos conocidos, mediante la síntesis de monohidrato de N-acetil-D-manosamina en forma cristalina con una pureza superior al 98 %.

[0016] Por tanto el objeto de la presente invención es un proceso para la preparación de monohidrato de N-acetil-D-manosamina en forma cristalina con una pureza superior al 98 % que tiene la fórmula (I)

(I)



comprendiendo dicho proceso la cristalización selectiva mediante la siembra de una mezcla de N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-manosamina con monohidrato de N-acetil-D-manosamina.

[0017] Un objeto adicional de la invención es el uso de monohidrato de N-acetil-D-manosamina obtenido mediante dicho proceso anterior, para la preparación de ácido N-acetil-neuramínico.

[0018] Las características y ventajas de la presente invención se describirán mejor en la siguiente descripción detallada.

Descripción detallada de la invención

[0019] En la siguiente descripción las abreviaturas NAG, NAM y NANA se usarán para indicar respectivamente los compuestos N-acetil-D-glucosamina, N-acetil-D-manosamina y ácido N-acetil-neuramínico.

[0020] En el presente proceso se puede obtener monohidrato de NAM usado como material de siembra, por ejemplo, siguiendo el procedimiento de preparación descrito en Chava Telem Spivak y col. J. Am. Chem. Soc. Vol. 81, 2403-2404.

[0021] De acuerdo con una realización preferida del presente proceso, la siembra se lleva a cabo añadiendo una cantidad de monohidrato de NAM comprendida entre el 0,5 % y el 5 % en peso con respecto al peso total de la NAG y la NAM en la mezcla de partida, y la filtración del producto sólido obtenido de esta manera después de un tiempo comprendido entre 0,5 y 2 horas.

[0022] Los resultados óptimos en términos de pureza del monohidrato de NAM se obtienen con una cantidad del material de siembra igual al 2,6 % en peso con respecto al peso total de la NAG y la NAM en la mezcla de partida, y la filtración del producto sólido obtenido, después de un tiempo de 1 hora y 50 minutos desde la siembra.

[0023] La mezcla de partida preferentemente consiste en una mezcla de NAG y NAM en la que la relación molar de NAG:NAM está comprendida entre 55:45 y 90:10; esta mezcla preferentemente se suspende en una mezcla de n-propanol:agua que tiene una relación volumétrica entre 80:20 y 90:10, y la suspensión obtenida de esta forma opcionalmente se somete a filtración en caliente antes de la siembra.

[0024] De acuerdo con una realización preferida del presente proceso, se obtiene la mezcla de partida de NAG y NAM mediante epimerización catalizada por una base de NAG hasta que se consigue el equilibrio de epimerización entre la NAG y la NAM, seguido por dos etapas de cristalización posteriores de la NAG sin reaccionar, obteniendo finalmente una mezcla de NAM y NAG sobre la que se lleva a cabo la cristalización selectiva mediante siembra.

[0025] Dicha reacción de epimerización anterior de la NAG se puede llevar a cabo, por ejemplo, en agua a una temperatura comprendida entre 30 y 80 °C, y preferentemente a una temperatura de 60 °C, usando como base una

base orgánica seleccionada, por ejemplo, del grupo constituido por trietilamina, diisopropilamina, N-etilbutilamina, N,N,N,N-tetrametiletildiamina, N-metilpiperazina y dietanolamina. La base preferida de la invención es trietilamina.

[0026] La cantidad de agua en la que se suspende la NAG de partida normalmente es la cantidad mínima necesaria para llevar la NAG a suspensión, igual a 1,6 volúmenes; la cantidad de base orgánica añadida, por ejemplo, está entre el 0,5 y el 10 % molar con respecto a los moles de la NAG de partida, y preferentemente es igual al 2,3 %. La suspensión acuosa de NAG obtenida de esta manera se calienta hasta una temperatura de entre 30 y 80 °C durante el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de epimerización, correspondiente a una relación de NAM/(NAM+NAG) de aproximadamente 20.

[0027] Una vez que se obtiene el equilibrio de epimerización como se ha descrito anteriormente, se puede llevar a cabo una primera cristalización de la NAG sin reaccionar, por ejemplo, neutralizando la base usada para catalizar la reacción de epimerización con una cantidad adecuada de ácido, preferentemente ácido acético, o concentrando la mezcla de reacción hasta que se obtiene un precipitado denso por refrigeración lenta, a partir de este precipitado se cristaliza una primera porción de NAG y se recupera por filtración.

[0028] A continuación se lleva a cabo la segunda cristalización del filtrado agotado en NAG concentrando el filtrado y añadiendo un cristal de siembra de NAG adecuado para obtener una segunda porción de NAG que a continuación se recupera por filtración.

[0029] Ambas porciones de NAG preferentemente se lavan con mezclas de n-propanol:agua que tienen una relación de entre 80:20 y 90:10, y/o con n-propanol, y los lavados se añaden al filtrado antes de la cristalización posterior.

[0030] El filtrado obtenido a partir de la segunda cristalización de NAG por tanto consiste en una mezcla de NAG y NAM en una mezcla de agua y n-propanol, que se puede someter a la cristalización selectiva del presente proceso mediante siembra, para obtener la NAM deseada en forma cristalina, con una pureza superior al 98 % como se ha descrito anteriormente.

[0031] Preferentemente, antes de la siembra, el producto filtrado se calienta a 65 °C para eliminar los posibles cristales de NAG, y a continuación se enfría rápidamente a una temperatura de entre 18 y 22 °C, y preferentemente a 20 °C.

[0032] Una vez que el monohidrato de NAM se recupera por filtración, concentración del producto filtrado y refrigeración, por ejemplo durante 16 horas a 2 °C, se obtiene una mezcla de NAM:NAG a 45:55 aproximadamente, que se puede usar en un ciclo posterior.

[0033] Aparte de la alta pureza del monohidrato de NAM obtenido, el presente proceso como se ha descrito anteriormente, tiene ventajas considerables: el producto final tiene un alto rendimiento en comparación con el producto de la mezcla de reacción, superior al 70 %, y además de tener un bajo contenido de NAG, no contiene esas grandes cantidades de subproductos que se encuentran en los productos obtenidos de acuerdo con los procesos de la técnica anterior.

[0034] Además, el proceso de la invención también se puede explotar fácilmente a nivel industrial puesto que la reacción de epimerización se lleva a cabo en agua y la base orgánica se usa en cantidades catalíticas.

[0035] El monohidrato de NAM en forma cristalina y que tiene alta pureza, obtenido de acuerdo con el presente proceso, se puede usar sin etapas de purificación adicionales, para la preparación de NANA de acuerdo con uno de los procedimientos conocidos en la técnica anterior, por ejemplo, de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento WO 94/29476 en el que la NAM se incubaba con piruvato sódico en presencia de la enzima NANA-aldolasa. El siguiente ejemplo no limitante de la presente invención se proporciona a modo ilustrativo.

Ejemplo 1

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

[0036] 6,67 kg de agua se cargan en un reactor limpio de 10 l y se ponen en agitación. A continuación se cargan 4 kg de NAG y se calientan hasta 60 ± 2 °C; se añaden 60 ml de trietilamina y se mantienen a una temperatura de 60 ± 2 °C durante dos horas.

[0037] A continuación se añaden 31 ml de ácido acético glacial y se extrae una muestra para el análisis por HPLC, de la que se deduce que se ha conseguido una relación de 80/20 entre la NAG y la NAM, y a continuación la mezcla de reacción se concentra al vacío a una temperatura interna inferior a 60 °C descargando 4,6 l de agua.

[0038] La temperatura se lleva hasta 60 ± 3 °C y se mantiene durante 30 minutos; a continuación, con un gradiente de 10 °C/h aproximadamente, se enfría hasta 20 ± 3 °C.

[0039] Se realiza una etapa de centrifugación y el jarabe centrifugado se aspira y se almacena aparte de los lavados.

5 **[0040]** Se lleva a cabo un primer lavado con 1,09 l de una mezcla de n-propanol/agua desmineralizada en una relación de 85/15 y un segundo lavado con 1640 ml de n-propanol.

[0041] De la primera recuperación se obtienen 2421 g de NAG. El jarabe centrifugado se concentra adicionalmente hasta que se obtiene un residuo de 2 kg.

10 **[0042]** Al jarabe concentrado de esta manera se le añaden los lavados de NAG de la primera recuperación y a continuación la mezcla se calienta hasta 60 °C. Tiene lugar una precipitación de una segunda recuperación de NAG y, en caso de que no tenga lugar la precipitación a 60 °C, se siembra con el 0,5 % de NAG en comparación con la cantidad usada en la epimerización y todo ello se mantiene en agitación a 60 °C ± 2 °C durante 1 hora. El sólido se filtra y se lava con una mezcla de n-propanol/agua a 85/15 (180 ml) y, a continuación, con 360 ml de n-propanol. De
15 la segunda recuperación se recuperan 220 g de NAG. El filtrado se calienta a 65 ± 2 °C, a continuación se enfría rápidamente hasta 20 °C y se siembra con 11 g de monohidrato de NAM. Después de 1 hora y 50 minutos se filtra y se lava con 550 ml de una mezcla de n-propanol/agua a 85/15. El sólido obtenido al vacío se deshidrata a 40 °C hasta un peso seco constante.

20 **[0043]** Se obtienen 278 g de NAM (sin contar la cantidad de siembra, son 267 g) que tienen una pureza por HPLC superior al 98 %.

[0044] El líquido madre que se ha concentrado hasta un residuo de 2174 g se enfría a temperatura ambiente y después de 12 horas a temperatura ambiente y 5 horas con agitación a 3 ± 2 °C, el sólido se ha filtrado, lavado con n-propanol (700 ml) y deshidratado. Se obtiene una mezcla de monohidrato de NAM (335 g) y de NAG (300 g), esta se suspende en el líquido madre de filtración y lavado de una NAM posterior (véase Ejemplo 2).

25 RMN ¹H (DMSO, 300 MHz): δ ppm 7,15, 6,55, 4,78, 4,69-4,66 (40H), 4,38, 4,16, 3,75-3,64, 3,55-3,40 (m, 5H), 3,24, 3,14-3,02 (m, 2H), 1,89 (s, 3H, NHCOCH₃)
30 RMN ¹³C (DMSO, 300 MHz): δ ppm 170,79 (NHCOCH₃), 93,47 (C-1), 77,47, 72,59, 67,08, 61,32, 54,05 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6) 23,01 (NHCOCH₃).

Ejemplo 2

35 Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

[0045] 6,29 kg de agua se cargan en un reactor limpio de 10 l y se ponen en agitación. A continuación se cargan 3,78 kg de NAG y se calientan hasta 60 ± 2 °C; se añaden 56,5 ml de trietilamina y se mantienen a una temperatura de 60 ± 2 °C durante dos horas. A continuación se añaden 29,2 ml de ácido acético glacial y se extrae una muestra para el análisis por HPLC, de la que se comprueba que se ha conseguido una relación de 80/20 entre la NAG y la NAM, y a continuación la mezcla de reacción se concentra al vacío a una temperatura interna inferior a 60 °C hasta que se obtiene un residuo de 5,1 kg.

45 **[0046]** La temperatura se lleva hasta 60 ± 3 °C y se mantiene durante 30 minutos; a continuación, con un gradiente de 10 °C/h aproximadamente, se enfría hasta 20 ± 3 °C.

[0047] Se realiza una etapa de centrifugación y el jarabe centrifugado se aspira y se almacena aparte de los lavados.

50 **[0048]** Se lleva a cabo un primer lavado con 1,04 l de una mezcla de n-propanol/agua desmineralizada en una relación de 85/15 y un segundo lavado con 1550 ml de n-propanol.

[0049] De la primera recuperación se obtienen 2510 g de NAG. El jarabe centrifugado se concentra adicionalmente hasta que se obtiene un residuo de 1650 g. Al jarabe concentrado de esta manera se le añaden los lavados de NAG de la primera recuperación y todo ello se calienta hasta 60 °C, obteniendo la precipitación de una segunda recuperación de NAG. A continuación se siembra con el 0,5 % de NAG en comparación con la cantidad usada en la epimerización y se mantiene en agitación a 60 °C ± 2 °C durante 1 hora.

60 **[0050]** El sólido se filtra y se lava con una mezcla de n-propanol/agua a 85/15 (150 ml) y, a continuación, con 340 ml de n-propanol. De la segunda recuperación se recuperan 64 g de NAG. El filtrado se calienta a 65 ± 2 °C, a continuación se enfría rápidamente hasta 20 °C y se siembra con 10 g de monohidrato de NAM. Después de 1 hora y 50 minutos se filtra y se lava con 530 ml de una mezcla de n-propanol/agua a 85/15. El sólido obtenido al vacío se deshidrata a 40 °C hasta un peso seco constante. Se obtienen 465 g de NAM (sin contar la cantidad de siembra, son 455 g) que tienen una pureza por HPLC superior al 98 %.

65 **[0051]** El líquido madre se añade con el producto recuperado del ensayo anterior (véase Ejemplo 1) que consiste

en 335 g de NAM y 300 g de NAG. Se calientan a 55 ± 2 °C, se filtran lavando el sólido con 180 ml de una mezcla de n-propanol/agua a 85/15, y a continuación con 300 ml de n-propanol. De la tercera recuperación se obtienen 280 g de NAG.

5 **[0052]** El líquido madre se enfría a 20 °C y se siembra con 10 g de NAM. La suspensión se mantiene en agitación a 20 ± 2 °C durante 2 horas y a continuación se filtra y el producto obtenido se lava para dar 316 g de NAM (sin contar la cantidad de siembra, son 306 g) que tiene una pureza por HPLV superior al 98 %.

10 **[0053]** El líquido madre recogido se añade al lavado de NAG procedente de la primera recuperación y que se ha concentrado hasta que se obtiene un residuo de 1884 g. Todo ello se ha dejado en agitación durante 12 horas a temperatura ambiente y después de que se enfríe durante 2 horas. El sólido se ha filtrado, lavándolo con 400 ml de n-propanol. Se obtienen 509 g de una mezcla de NAG (45 %) y NAM (56 %).

Ejemplo 3

15

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

20 **[0054]** 27,6 kg de agua se cargan en un reactor limpio de 100 l y se ponen en agitación. A continuación se cargan 16,8 kg de NAG y se calientan a 60 ± 2 °C; se añaden 248 ml de trietilamina y se mantiene a una temperatura de 60 ± 2 °C durante dos horas. A continuación se añaden 128 ml de ácido acético glacial y se extrae una muestra para el análisis por HPLC. Del análisis por HPLC se comprueba que se ha conseguido una relación de 80/20 entre la NAG y la NAM, y a continuación la mezcla de reacción se concentra al vacío a una temperatura interna inferior a 60 °C descargando 19,3 l de agua.

25 **[0055]** La temperatura se lleva hasta 60 ± 3 °C y se mantiene durante 30 minutos; a continuación, con un gradiente de 10 °C/h aproximadamente, se enfría hasta 20 ± 3 °C.

30 **[0056]** Se realiza una etapa de centrifugación y el jarabe centrifugado se aspira y se almacena aparte de los lavados.

35 **[0057]** Se lleva a cabo un primer lavado con 4,6 l de una mezcla de n-propanol/agua desmineralizada en una relación de 85/15 y un segundo lavado con 6,9 l de n-propanol. El jarabe centrifugado se concentra adicionalmente descargando 4,1 l de agua. Al jarabe concentrado de esta manera se le añaden los lavados de NAG de la primera recuperación y todo ello se calienta hasta 60 °C.

40 **[0058]** En este caso, a una temperatura de 60 °C no se produjo precipitación de una recuperación secundaria de NAG, pero no obstante sí se lleva a cabo una siembra con el 0,5 % de NAG en comparación con la cantidad usada en la etapa de epimerización y se mantiene en agitación a 60 ± 2 °C durante 1 hora.

45 **[0059]** El sólido se filtra y se lava con una mezcla de n-propanol/agua a 85/15 (2310 ml). El filtrado se calienta a 65 ± 2 °C, a continuación se enfría rápidamente hasta 20 °C y se siembra con 46 g de monohidrato de NAM. Después de 1 hora y 50 minutos se filtra y se lava con 2,5 l de una mezcla de n-propanol/agua a 85/15. El sólido obtenido al vacío se deshidrata a 40 °C hasta un peso seco constante.

50 **[0060]** Se obtienen 1,5 kg de NAM que tienen una pureza por HPLC superior al 98 %. El rendimiento de la primera recuperación de NAM es de media de $8,9 \pm 2,5$. El líquido madre se ha concentrado hasta que se obtiene un residuo de 8 l aproximadamente y la solución concentrada se enfría a temperatura ambiente.

55 **[0061]** Después de 12 horas a temperatura ambiente y 5 horas con agitación a 3 ± 2 °C, el sólido se ha filtrado, lavado con n-propanol (3 l) y deshidratado. Se obtiene una mezcla de monohidrato de NAM ($45 \% \pm 5 \%$) y de NAG ($55 \% \pm 5 \%$), que se puede volver a procesar como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 2.

Ejemplo 4

60 Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

65 **[0062]** 82 g de agua se cargan en un matraz de cuatro bocas y 250 ml y se ponen en agitación. 50 g de NAG se cargan y se calientan a 60 ± 2 °C; se añaden 0,75 ml de diisopropilamina y se mantiene a una temperatura de 60 ± 2 °C durante 3 horas. La reacción se sigue mediante análisis de HPLC. Después de 3 horas la relación de NAM/(NAM+NAG) es de 21,6.

[0063] A continuación la NAM se aísla como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

Ejemplo 5

65

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

[0064] 82 g de agua se cargan en un matraz de cuatro bocas y 250 ml y se ponen en agitación. 50 g de NAG se cargan y se calientan a 60 ± 2 °C; se añaden 0,75 ml de N-etilbutilamina y se mantiene a una temperatura de 60 ± 2 °C durante 3 horas.

5 **[0065]** La reacción se sigue mediante análisis de HPLC. Después de 3 horas la relación de NAM/(NAM+NAG) es de 19,5.

[0066] A continuación la NAM se aísla como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

10 Ejemplo 6

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

15 **[0067]** 82 g de agua se cargan en un matraz de cuatro bocas y 250 ml y se ponen en agitación. 50 g de NAG se cargan y se calientan a 70 ± 2 °C; se añaden 0,8 ml de N,N,N,N-tetrametiletilendiamina y se mantiene a una temperatura de 70 ± 2 °C durante 3 horas. La reacción se sigue mediante análisis de HPLC. Después de 3 horas la relación de NAM/(NAM+NAG) es de 21,2.

20 **[0068]** A continuación la NAM se aísla como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

Ejemplo 7

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

25 **[0069]** 82 g de agua se cargan en un matraz de cuatro bocas y 250 ml y se ponen en agitación. 50 g de NAG se cargan y se calientan a 70 ± 2 °C; se añaden 0,6 ml de N-metilpiperazina y se mantiene a una temperatura de 70 ± 2 °C durante 3 horas. La reacción se sigue mediante análisis de HPLC. Después de 3 horas la relación de NAM/(NAM+NAG) es de 18,9.

30 **[0070]** A continuación la NAM se aísla como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

Ejemplo 8

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

35 **[0071]** 82 g de agua se cargan en un matraz de cuatro bocas y 250 ml y se ponen en agitación. 50 g de NAG se cargan y se calientan a 80 ± 2 °C; se añaden 0,6 ml de N-metilpiperazina y se mantiene a una temperatura de 80 ± 2 °C durante 3 horas. La reacción se sigue mediante análisis de HPLC. Después de 3 horas la relación de NAM/(NAM+NAG) es de 20,8.

40 **[0072]** A continuación la NAM se aísla como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

Ejemplo 9

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

45 **[0073]** 82 g de agua se cargan en un matraz de cuatro bocas y 250 ml y se ponen en agitación. 50 g de NAG se cargan y se calientan a 80 ± 2 °C; se añaden 0,5 ml de dietanolamina y se mantiene a una temperatura de 80 ± 2 °C durante 3 horas.

50 **[0074]** La reacción se sigue mediante análisis de HPLC. Después de 3 horas la relación de NAM/(NAM+NAG) es de 21,6.

55 **[0075]** A continuación la NAM se aísla como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

Ejemplo 10

Síntesis de monohidrato de NAM (compuesto de fórmula I)

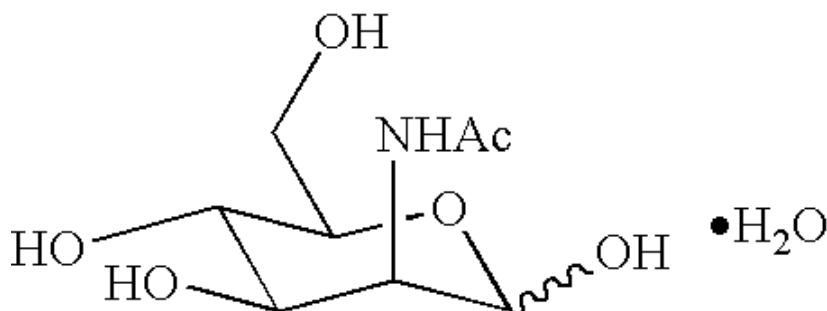
60 **[0076]** 82 g de agua se cargan en un matraz de cuatro bocas y 250 ml y se ponen en agitación. 50 g de NAG se cargan y se calientan a 50 ± 2 °C; se añaden 0,75 ml de trietilamina y se mantiene a una temperatura de 50 ± 2 °C durante 7 horas. La reacción se sigue mediante análisis de HPLC. Después de 7 horas la relación de NAM/(NAM+NAG) es de 19,6. A continuación la NAM se aísla como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1.

65

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de monohidrato de N-acetil-D-manosamina en forma cristalina con una pureza superior al 98 % que tiene la fórmula (I)

(I)



comprendiendo dicho proceso la cristalización selectiva mediante siembra de una mezcla de partida de N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-manosamina con monohidrato de N-acetil-D-manosamina.

2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha siembra se lleva a cabo añadiendo una cantidad de monohidrato de N-acetil-D-manosamina entre el 0,5 % el 5 % en peso con respecto al peso total de la N-acetil-D-glucosamina y la N-acetil-D-manosamina en la mezcla de partida, y la filtración del producto sólido obtenido de esta manera después de un tiempo comprendido entre 0,5 y 2 horas.

3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicha siembra se lleva a cabo añadiendo una cantidad de monohidrato de N-acetil-D-manosamina del 2,6 % en peso con respecto al peso total de la N-acetil-D-glucosamina y la N-acetil-D-manosamina en la mezcla de partida y filtrando el producto sólido obtenido de esta manera después de un tiempo de 1 hora y 50 minutos desde la siembra.

4. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha mezcla de partida consiste en una mezcla de N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-manosamina en la que la relación molar de N-acetil-D-glucosamina:N-acetil-D-manosamina está comprendida entre 55:45 y 90:10.

5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicha mezcla de N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-manosamina se suspende en una mezcla de n-propanol:agua que tiene una relación volumétrica entre 80:20 y 90:10, y se somete a una filtración en caliente opcional antes de la siembra.

6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha mezcla de N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-manosamina se obtiene mediante epimerización catalizada por una base de N-acetil-D-glucosamina hasta que se consigue el equilibrio de epimerización entre la N-acetil-D-glucosamina y la N-acetil-D-manosamina, seguido de dos etapas de cristalización posteriores de la N-acetil-D-glucosamina sin reaccionar, obteniendo en última instancia dicha mezcla de N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-manosamina.

7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha epimerización se lleva a cabo en agua a una temperatura entre 30 y 80 °C, en presencia de una base orgánica.

8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha base orgánica se selecciona del grupo constituido por trietilamina, diisopropilamina, N-etilbutilamina, N,N,N,N-tetrametiletilendiamina, N-metilpiperazina y dietanolamina.

9. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicha base orgánica es trietilamina.

10. El proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha epimerización se lleva a cabo suspendiendo N-acetil-D-glucosamina en una cantidad de agua igual a 1,6 volúmenes.

11. El proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha base orgánica se encuentra en una cantidad comprendida entre el 0,5 y el 10 % molar con respecto a los moles de N-acetil-D-glucosamina.

12. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicha base orgánica se encuentra en una cantidad igual al 2,3 % molar con respecto a los moles de N-acetil-D-glucosamina.

13. El proceso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la N-acetil-D-glucosamina obtenida a partir de dichas dos etapas de cristalización posteriores se lava con mezclas de n-propanol:agua a una relación de entre 80:20 y

90:10, y/o n-propanol y los lavados de la primera cristalización se añaden al filtrado antes de la cristalización posterior.

- 5 **14.** El proceso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la primera de dichas dos etapas de cristalización posteriores de la N-acetil-D-glucosamina sin reaccionar se lleva a cabo después de la neutralización de la base usada para catalizar la reacción de epimerización con una cantidad adecuada de ácido, la concentración de la mezcla de reacción hasta que se obtiene un precipitado denso mediante refrigeración lenta, y a partir de este precipitado se cristaliza una primera porción de N-acetil-D-glucosamina y se recupera por filtración.
- 10 **15.** El proceso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que dicho ácido es ácido acético.
- 15 **16.** El proceso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la segunda de dichas dos etapas de cristalización posteriores de la N-acetil-D-glucosamina sin reaccionar se lleva a cabo concentrando el filtrado que procede de la primera de dichas etapas de cristalización, añadiendo el lavado del producto de dicha primera cristalización y añadiendo una siembra adecuada de N-acetil-D-glucosamina recuperada por filtración.