(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 537 959**

(51) Int. Cl.:
C07H 19/167 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.05.2007** **E 07783900 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015** **EP 2158208**

(54) Título: **Proceso para preparar un agonista de receptor de adenosin-A_{2A} y sus polimorfos**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.06.2015

(73) Titular/es:

GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)
333 Lakeside Drive
Foster City, CA 94404, US

(72) Inventor/es:

ZABLOCKI, JEFF y
ELZEIN, ELFATIH

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 537 959 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 preparar un agonista de receptor de adenosin-A_{2A} y sus polimorfos

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un proceso para la preparación a gran escala de un agonista de receptor de adenosin-A_{2A} y también se refiere a polimorfos de ese compuesto y a métodos de aislamiento de un polimorfo específico.

Antecedentes

La adenosina es un nucleósido que aparece de manera natural, que ejerce sus efectos biológicos por interacción con una familia de receptores de adenosina conocidos como A_1, A_{2A}, A_{2B} y A_3, todos los cuales modulan importantes procesos fisiológicos. Uno de los efectos biológicos de la adenosina es actuar como un vasodilatador coronario; siendo este resultado producido por la interacción con el receptor de adenosin-A_{2A}. Este efecto de la adenosina se ha encontrado para ser útil como una ayuda para la formación de imágenes del corazón, en el que las arterias coronarias se dilatan anteriormente a la administración de un agente de formación de imágenes (por ejemplo talio 201), y por tanto, por la observación de las imágenes producidas, por tanto, puede determinarse la presencia o ausencia de enfermedad arterial coronaria. La ventaja de tal técnica, es que evita el método más tradicional de inducir vasodilatación coronaria por ejercicio en una cinta, que claramente es indeseable para un paciente que tiene una enfermedad coronaria.

Sin embargo, la administración de adenosina tiene varias desventajas. La adenosina tiene una semivida muy corta en seres humanos (menos de 10 segundos) y también tiene todos los efectos asociados con el agonismo de receptor de A_1, A_{2A}, A_{2B} y A_3. Por tanto, el uso de un agonista de receptor de adenosin-A_{2A} selectivo proporcionará un método superior de producir vasodilatación coronaria, particularmente uno con una semivida más larga y pocos o ningún efecto secundario.

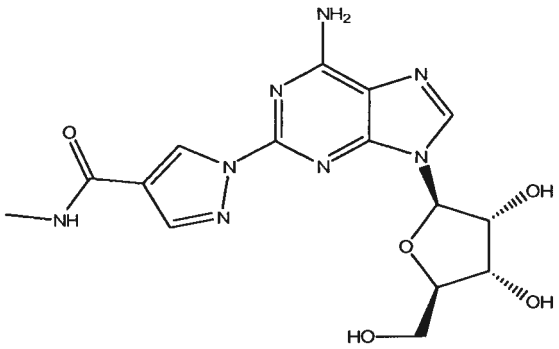
Una clase de compuestos que poseen estas propiedades deseables se describen en la Patente de los Estados Unidos Nº 6.403.567. En particular, un compuesto descrito en esta patente, (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida, se muestra que es un agonista de receptor de adenosin-A_{2A} altamente selectivo y actualmente se somete a ensayos clínicos como un vasodilatador útil en imagen cardiaca.

Dado el alto interés en este y similares compuestos, es deseable encontrar nuevos métodos de síntesis que proporcionen un método conveniente para fabricar grandes cantidades del material, de buen rendimiento y alta pureza. La patente que desvela el compuesto de interés (Patente de los estados Unidos Nº 6.403.567), proporciona varios métodos para preparar el compuesto. Sin embargo, aunque estos métodos son adecuados para síntesis a pequeña escala, todos los métodos sintéticos desvelados en la patente utilizan grupos protectores, lo cual es indeseable para la síntesis a gran escala.

Además, se ha descubierto que el producto deseado (que es (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida) es capaz de existir en al menos tres formas cristalinas diferentes, la más estable de las cuales es un monohidrato. Este polimorfo es estable en condiciones de estrés de humedad relativa, hasta su punto de fusión. Por consiguiente, es deseable que el producto final producido En las nuevas síntesis, se obtenga como el monohidrato estable.

Sumario de la invención

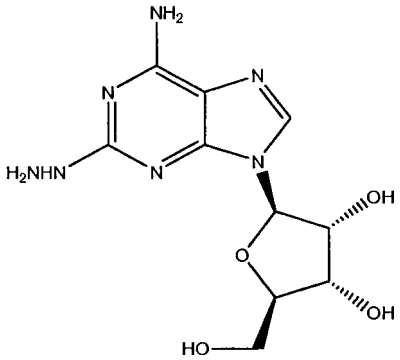
Por tanto, es un objeto de esta invención proporcionar síntesis convenientes para la preparación a gran escala de (1-{9-[(4S,2R,3R,SR)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida y polimorfos de los mismos, preferentemente como su monohidrato. Por consiguiente, en un primer aspecto, la invención se refiere a la preparación de un compuesto de la Fórmula I:



Fórmula I

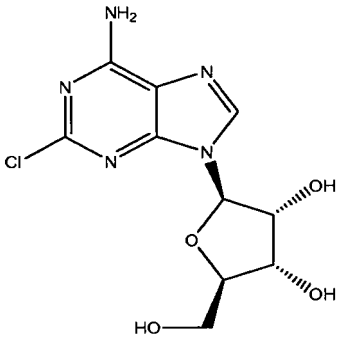
que comprende las etapas enumeradas en la reivindicación 1.

La invención proporciona una realización que se refiere a la preparación de un compuesto de la fórmula (2):



(2)

que comprende: poner en contacto un compuesto de la fórmula (1):



(1)

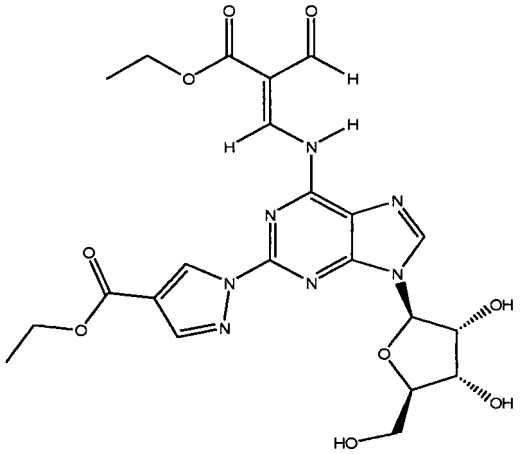
con hidrazina.

Se usa un exceso molar de 14,3-16,7 veces de hidrazina y la reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 60-65 ºC. En una realización la hidrazina, primero se calentó a aproximadamente 60-65 ºC, seguido de la adición del compuesto de fórmula (1). El compuesto de fórmula (2) puede aislarse por (a) enfriando la mezcla de reacción a aproximadamente 40 ºC, (b) añadiendo una masa equivalente de agua de 4,2-4,9, mientras se mantiene la

temperatura a aproximadamente 40 ºC, (c) enfriando la mezcla a aproximadamente 10 ºC y manteniendo esa temperatura durante al menos 1 hora aproximadamente, (d) filtrando, (e) lavando los contenidos del filtro con agua, seguido de etanol, y (f) secando el sólido al vacío que permanece a una temperatura que no exceda de 30 ºC durante al menos 12 horas.

La síntesis descrita anteriormente es adecuada para la síntesis a gran escala del producto deseado, que se proporciona con un buen rendimiento. Además, la síntesis anterior no da el compuesto de fórmula (2) como una impureza en el producto final.

La invención se refiere a un método de sintetizar (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida, que comprende la etapa de poner en contacto compuesto de la fórmula (4):



(4)

con metilamina.

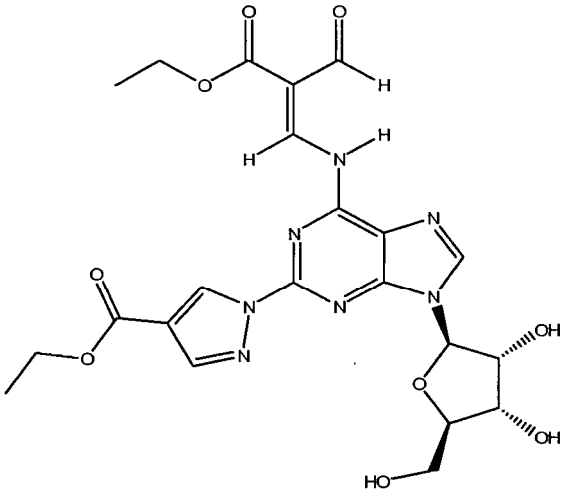
La reacción se realza en una solución acuosa de metilamina. Preferentemente, la reacción se realiza en un reactor de presión cerrado herméticamente.

La reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 2,5-7,5 ºC.

Todavía en otra realización, el producto se aísla en forma del monohidrato puro disolviendo el producto en un disolvente, por ejemplo dimetilsulfóxido, adición de agua purificada, filtrando la suspensión así formada, lavando los contenidos del filtro con agua seguido de etanol, y secando al vacío el sólido que permanece a una temperatura que no exceda de 40 ºC. En algunas otras realizaciones, el producto puede aislarse en forma del monohidrato puro por (a) desgasificando la mezcla de reacción al vacío a no más de 35 ºC para retirar el exceso de metilamina, (b) liberando el vacío y enfriando a 0-5 ºC durante aproximadamente de 15 minutos a una hora, (c) filtrando la suspensión así formada, (d) lavando los contenidos del filtro con agua seguido de etanol, y (e) secando al vacío el sólido que permanece a una temperatura que no exceda de 40 ºC.

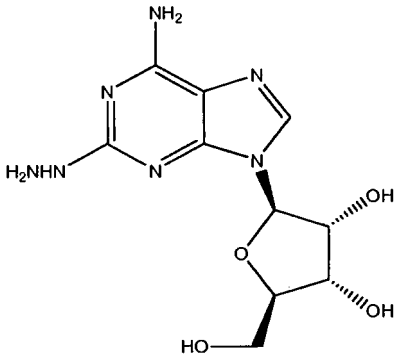
En algunas realizaciones la (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida se purifica adicionalmente para proporcionar la forma monohidrato por (i) disolviendo el compuesto en un disolvente, tal como dimetilsulfóxido, calentado a aproximadamente 78-88º, (ii) filtrando cualquier impureza sólida de la solución, (iii) aclarando con disolvente adicional, (iv) adición de solución a agua purificada que se mantiene a aproximadamente 78-88º, formando de ese modo una solución, (v) agitando la suspensión, (vi) enfriando la suspensión, (vii) filtrando, (viii) lavando los contenidos del filtro con agua seguido de etanol, y (ix) secando al vacío el sólido que permanece a una temperatura que no exceda de 40 ºC.

La invención se refiere a un método que comprende la etapa de sintetizar un compuesto de la fórmula (4):



(4)

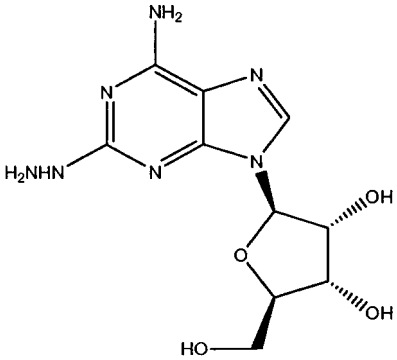
que comprende poner en contacto un compuesto de la fórmula (2):



(2)

con un exceso de 2-formil-3-oxopropionato de etilo en un exceso de 5-10 veces. En una realización, la reacción se realiza en etanol, a una temperatura de aproximadamente 80 ºC. El 2-formil-3-oxopropionato de etilo está presente en un exceso de 5-10 veces.

En una realización más, también se presenta un método adicional de sintetizar un compuesto de la fórmula (4) que comprende poner en contacto un compuesto de la fórmula (2)



(2)

con un exceso como se ha definido anteriormente de 2-formil-3-oxopropionato de etilo en presencia de un ácido. La reacción tiene lugar a reflujo a reflujo, se realiza generalmente en etanol. La reacción tiene lugar con o sin el uso de HCl como un catalizador. Se usa hasta 0,1 equivalente molar, preferentemente un exceso molar de HCl de aproximadamente 0,05 y aproximadamente un exceso molar de 5-10 veces, preferentemente un exceso molar de 6,8-7,5 veces aproximadamente, de 2-formil-3-oxoproionato de etilo. El producto de esta reacción puede aislarse por (a) enfriando la mezcla de reacción completada a aproximadamente 10 ºC, (b) filtrando, (c) lavando los contenidos del filtro con etanol, y (d) secando al vacío el sólido que permanece a una temperatura que no exceda de 40 ºC.

Definiciones Y Parámetros Generales

FIGURA 1 es un espectro de RMN ^{1}H de monohidrato de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida (Forma A).

FIGURA 2 muestra el análisis térmico del monohidrato (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida.

FIGURA 3 muestra el patrón de difracción de Rayos X para el monohidrato 1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi 5-(hidroximetil)oxolan-2- il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida.

FIGURA 4 muestra el patrón de difracción de Rayos X para (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida Forma B.

FIGURA 5 muestra el patrón de difracción de Rayos X (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida Forma C en comparación a la Forma A.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, las siguientes palabra y frases se pretende generalmente que tengan los significados que se exponen a continuación, excepto en la medida que el contexto en el que se usan, indique lo contrario.

"Opcional" u "opcionalmente", significa que el suceso o circunstancia descrita posteriormente puede o puede no ocurrir y que la descripción incluye casos en los que dichos sucesos o circustancias ocurren y casos en los que no lo hace.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", se refiere a la cantidad de un compuesto de Fórmula I que es suficiente para efectuar el tratamiento, como se definen a continuación, cuando se administran a un mamífero que necesita de tal tratamiento. La cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo del sujeto y el estado patológico que se esté tratando, el peso y la edad del sujeto, la gravedad del estado patológico, el modo de administraión y similares, que puede determinarse fácilmente por un experto ordinario en la materia.

El término "tratamiento" o "tratar", significa cualquier tratamiento de una enfermedad de un mamífero, que incluye:

(i) prevención de la enfermedad, es decir, causando que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen;

(ii) inhibición de la enfermedad, es decir, deteniendo los síntomas clínicos de la enfermedad; y/o

(iii) aliviando la enfermedad, es decir, causando la regresión de los síntomas clínicos.

Como se usa en la presente memoria, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier y todos los disolventes, dispersión media, recubrimientos, agentes antibacteriales y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. El uso de tales medidas y agentes para sustancias activas farmacéuticamente es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional es incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en composiciones terapéuticas. También pueden incorporarse ingredientes activos suplementarios en las composiciones.

El término "polimorfo" pretende incluir amorfos y solvatos de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida.

Se ha descubierto que este compuesto es capaz de existir en al menos tres formas cristalinas diferentes, referidos en el presente documento como Forma A, Forma B, Forma C y un producto amorfo.

Forma A: Este polimorfo puede producirse por cristalización de 1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida a partir de disolventes próticos, por ejemplo etanol o mezclas de etanol/agua, o a partir un disolvente polar, por ejemplo dimetilsulfóxido/agua. La Forma A se muestra para ser un monohidrato y es la más estable de los diversos polimorfos a temperatura ambientes. Es estable en condiciones de estrés de humedad relativa hasta su punto de fusión.

Forma B: Este polimorfo se produce por evaporación al vacío de una solución de 1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida en trifluoroetanol a temperatura ambiente. El análisis de rayos X de era claramente diferente de cualquier otro polimorfo (véase FIGURA 4), pero fue difícil determinar su construcción, puesto que los análisis de rayos X dieron picos anchos desordenados y el polimorfo contenía cantidades variables de agua. Se encontró que era difícil reproducir de forma fiable la preparación de este polimorfo.

Forma C: Este polimorfo se produce suspendiendo 1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida en acetonitrilo durante un largo periodo de tiempo a 60 ºC. El análisis de rayos era claramente diferente de cualquier otro polimorfo (véase FIGURA 5). Se mostró que el polimorfo C era un hidrato variable, que, a temperaturas elevadas, desolvataba a una forma inestable.

Material Amorfo: Este polimorfo se produce calentando el polimorfo de Forma A a una temperatura de hasta 200 ºC. Este polimorfo es inestable en presencia de humedad atmosférica, formando hidratos variables.

Técnicas para el análisis de las Formas A, B, C y Material Amorfo

Difracción de rayos X de polvo

Los análisis de difracción de rayos X de polvo (XRPD) se realizaron en un difractómetro de rayos X de polvo XRD-6000 usando radiación Cu Kα. El instrumento fue equipado con un tubo de rayos X de tubo fino y la tensión y amperaje del tubo se estableció a 40 kV y 40 mA respectivamente. Las rendijas de divergencia y dispersión se establecieron en 1" y la rendija receptora se estableció en 0,15 mm. La radiación difractada se detecto por un detector de centelleo de NaI. Se usó un barrido continuo theta-dos theta a 3º/min (etapa 0,4 secg/0,02º) de 2,5-40º 2θ. Se usó un estándar de silicio para comprobar la alineación del instrumento. Los datos se recogieron y se analizaron usando software XRD-6000 v. 4,1.

Los análisis de difracción de rayos X de polvo (XRPD) también se realizaron usando un difractómetro Inel XRG-3000 equipado con un detector CPS (Posición curvada sensible) con a 28 range of 120º. La calibración del instrumento se realizó usando un estándar de referencia de silicio. El voltaje y el amperaje del tubo se establecieron en 40 kV y 30 mA, respectivamente. La rendija monocromador se estableció en 5 mm por 80 µm. Las muestras simples se colocaron un soporte de muestra con un inserto de aluminio o en capilares de vidrio con calidad XRPD. Cada capilar se montó sobre una cabeza goniométro que se controló para permitir el giro del capilar durante la adquisición de datos. Se recogieron datos en tiempo real usando radiación Cu-Kα en una resolución de 0,03º 2θ. Normalmente, los datos se recogieron durante un periodo de 300 segundos. Solo los puntos de datos dentro de la gama de 2,5-40º 2θ, aparecen en los patrones XRPD trazados.

Análisis térmico

Los análisis termogravimétricos (TG) se realizaron en un analizador termogravimétrico TA Instruments 2050 o 2950. Los estándares de calibración fueron níquel y Alumel™. Las muestras se colocaron en un recipiente de muestra de aluminio, insertado en el horno TG y pesadas con precisión. Las muestras se calentaron en nitrógeno una velocidad de 10 ºC/min hasta 300 o 350 ºC. A menos que se indique lo contrario, las muestras de pesos se equilibraron a 25 ºC en el horno TGA antes del análisis.

Los análisis de calorimetría de barrido diferencial (DSC) se realizaron en un calorímetro de barrido diferencial de TA Instruments 2920. Se pusieron muestras pesadas de forma precisa tanto en recipientes pinzados como recipientes cerrados herméticamente que contenían un agujero puntual para permitir la liberación de presión. Cada muestra se calentó en una atmósfera de nitrógeno a una velocidad de 10 ºC/min hasta 300 o 350 ºC. Se usó metal indio como el estándar de calibración. Las temperaturas se registraron en el máximo de transición.

Espectroscopia de Infrarrojo

Se adquirieron espectros de infrarrojos en un espectrómetro Magna 860® transformada de Fourier de infrarrojos (FT-IR) (Nicolet Instrument Corp.) equipado con una fuente de IR cercano/lejano Ever-Glo, un divisor de haz de bromuro potásico de alcance extendido y un detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS). A menos que se indique lo contrario, se usó un accesorio de reflectancia difusa Spectra-Tech, Inc. (the Collector™) para el muestreo. Cada espectro representa 256 barridos añadidos en conjunto a una resolución espectral de 4 cm^{-1}. La preparación de la muestra para el compuesto consistió en colocar la muestra en una microcápsula y la nivelación del material con un portaobjetos de vidrio esmerilado. Se adquirió un conjunto de datos iniciales con un espejo de alineamiento en su lugar. El espectro representa una relación del conjunto de datos de un solo haz de muestra al conjunto de datos de un solo haz inicial. La calibración de la longitud de onda del instrumento se realizó usando poliestireno.

Espectroscopia de RMN

Fase de solución. Se adquirieron espectros de RMN ’H a temperatura ambiente es un espectrómetro modelo Bruker AM-250 que opera a 5,87 T (frecuencia de: ’H = 250 MHz). Se adquirieron datos de tiempo de dominio usando una amplitud de pulso de 7,5 ps y un tiempo de adquisición de 1,6834 segundos sobre una ventana espectral de 5000 Hz. Se recogieron un total de 16.384 puntos de datos. Se empleó un tiempo de retardo de relajación de 5 segundos entre transitorios. Cada conjunto de datos normalmente consistía en 128 transitorios ponderados. Los espectros se procesaron usando software GRAMS132 A1, versión 6,00. El decaimiento de inducción libre (FID), se llenó de cero a cuatro veces el número de puntos de datos y se multiplico exponencialmente con un factor de línea de ampliación de 0,61 Hz antes de la transformación de Fourier. Los espectros de ’H se referenciaron internamente a tetrametilsilano (0 ppm) que se añadió como estándar interno.

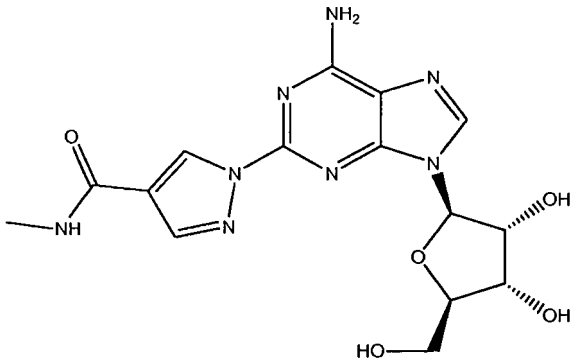
Como alternativa, se realizaron análisis de RMN como se describe en el Ejemplo 4.

Análisis de absorción /desorción de humedad

Los datos de absorción/desorción de humedad se recogieron en un analizador de absorción de vapor VTI SGA-100. Los datos de absorción y desorción se recogieron en un intervalo del 5 % al 95 % de humedad relativa (RK) a intervalos de RH al 10 % en una atmósfera de purga de nitrógeno. Se usaron cloruro sódico (NaCl) y polivinilpirrolidona (PVP) como estándares de calibración. Los criterios de equilibrio usados para análisis fueron un cambio de menos del 0,0100 % en peso en 5 minutos, con un tiempo de equilibrado máximo de 180 minutos si el criterio de peso no se cumplía. Los datos trazados no han sido corregidos por el contenido de humedad inicial.

Nomenclatura

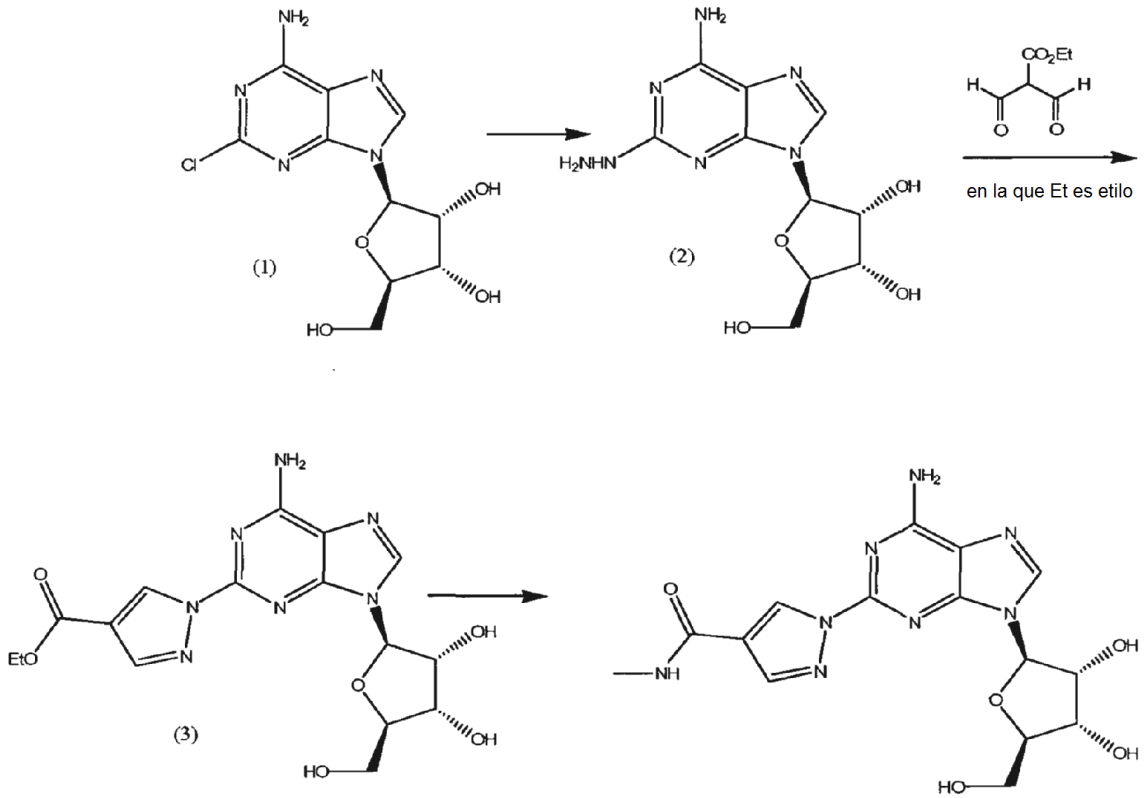
La estructura del compuesto (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il} pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida es como sigue a continuación:



Síntesis de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida

Un método de referencia para la síntesis a gran escala de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida se muestra en el Esquema de Reacción I. Todas las reacciones se realizan normalmente en una atmósfera de nitrógeno.

ESQUEMA DE REACCIÓN I



Etapa 1 - Preparación de Fórmula (2)

El compuesto de fórmula (2) se prepara a partir del compuesto de fórmula (1) por reacción con monohidrato de hidrazina en ausencia de un disolvente. La reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 45-55 ºC. Cuando la reacción está completa, el producto de fórmula (2) se aísla por agitación con un disolvente prótico en que el compuesto de fórmula (2) ha limitado la solubilidad, por ejemplo de etanol o isopropanol. La mezcla se agita durante aproximadamente 1-5 horas y después se filtra. El sólido se purifica por agitación con agua, filtrando y lavando con agua seguido de isopropanol y secado al vacío, que se lleva a la siguiente etapa sin purificación.

Etapa 2 - Preparación de Fórmula (3)

El compuesto de fórmula (2) se convierte después en un compuesto de fórmula (3) por reacción con aproximadamente 1-1,2 equivalentes molares 2-formil-3-oxopropionato de etilo. La reacción se realiza en un disolvente prótico, preferentemente etanol, a aproximadamente temperatura de reflujo, durante aproximadamente 2-4 horas. Después de un periodo de refrigeración, a aproximadamente 0 ºC, el sólido se retira por filtración, se lava con etanol frío y se seca a presión reducida. El producto de fórmula (3) se lleva a la siguiente etapa sin purificación.

Etapa 3 - Preparación del Producto Final

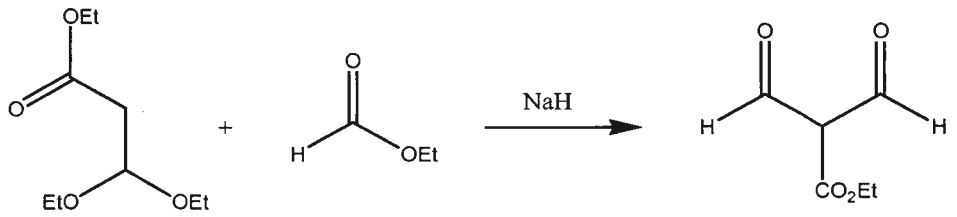
El producto final se prepara a partir del compuesto de fórmula (3) por reacción con metilamina, preferentemente metilamina acuosa. La reacción se realiza a aproximadamente temperatura ambiente, durante aproximadamente 4 horas. El producto de Fórmula I se aísla por medios convencionales, por ejemplo por filtración, lavando el sólido con etanol frío y secando a presión reducida.

Preparación de Materiales de Partida

Se usa (4S,2R,3R,5R)-2- (6-amino-2-cloropurin-9-il)-5-(hidroximetil)oxolan-3,4-diol se usa como un material de partida en la etapa 1. Este compuesto está disponible en el mercado.

Se usa 2-formil-3-oxopropanoato de etilo como un material de partida en la etapa 2, Está disponible en el mercado o puede hacerse como se muestra en el Esquema de Reacción II.

ESQUEMA DE REACCIÓN II

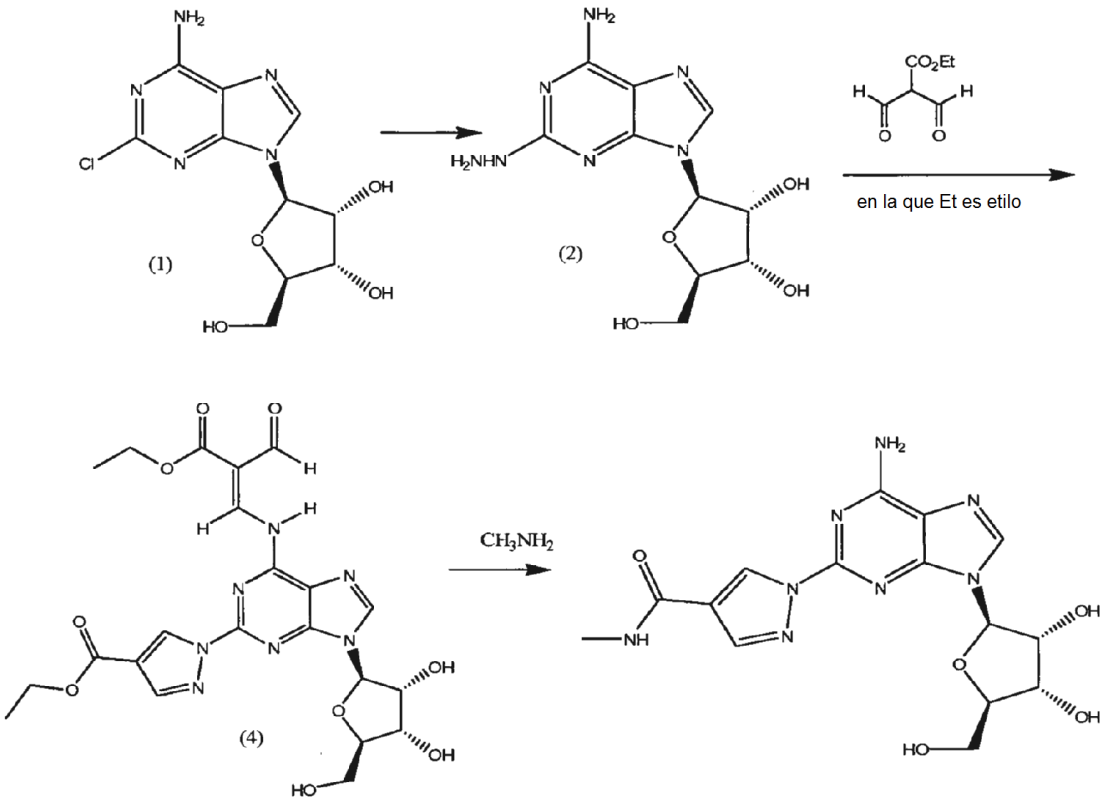


en la que Et es etilo

Se hace reaccionar 3,3-dietoxipropionato de etilo con formiato de etilo en presencia de una base fuerte, preferentemente hidruro sódico. La reacción se realiza a aproximadamente 0-5 ºC, durante aproximadamente 24 horas. El producto se aísla por medios convencionales, por ejemplo mediante la adición de agua y extracción de impurezas con un disolvente, por ejemplo t-butilmetil éter, acidificación de la fase acuosa con, por ejemplo, ácido clorhídrico, seguido de la extracción con un disolvente tal como diclorometano y retirando el disolvente del extracto seco a presión reducida. Se purifica 2-formil-3-oxopropanoato de etilo por destilación a presión reducida.

Un método preferido para la síntesis a gran escala de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida se muestra en el Esquema de Reacción III.

ESQUEMA DE REACCIÓN III



Etapa 1 - Preparación de Fórmula (2)

Como antes, el compuesto de fórmula (2) se prepara a partir del compuesto de fórmula (1) por reacción con monohidrato de hidrazina en ausencia de un disolvente. En este método, sin embargo, se calienta primero un exceso molar de 14,3-16,7 veces de monohidrato de hidrazina a aproximadamente 60-65 ºC, seguido de la adición del compuesto de fórmula (1). La temperatura se mantiene a aproximadamente 60-65 ºC durante la reacción que tarda aproximadamente 1 a 3 horas para completarse. Cuando el nivel de compuesto residual de fórmula (1) en la mezcla no

es mayor que aproximadamente el 0,10 %, después la mezcla de reacción se enfría a aproximadamente 40 ºC. La temperatura se mantiene mientras se añade agua lentamente. Una vez que se habían añadido 4,2-4,9 equivalencias de masa aproximadamente, la mezcla se enfría a aproximadamente 10 ºC y se mantiene a esa temperatura durante no menos de 1 hora.

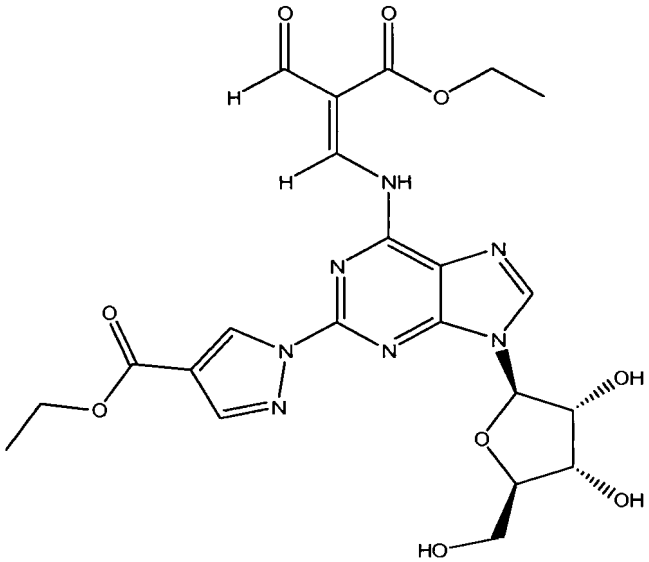
Después el producto se aísla por filtración, se lava con agua y después se lava con etanol absoluto. El sólido se seca al vacío a hasta 30 ºC durante no menos de 12 horas y después se lleva a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 2 - Preparación de Fórmula (4)

El compuesto de fórmula (2) después se convierte en un compuesto de fórmula (4) por reacción con un exceso de 2-formil-3-oxopropionato etilo, un exceso de 5-10 veces, de manera ideal un exceso de aproximadamente 6,8-7,5 veces. La reacción puede realizarse en las mismas condiciones como las descritas para la preparación del compuesto de fórmula (3) en el Esquema de Reacción I.

Como alternativa, también pueden añadirse aproximadamente 0,05 equivalentes molares de un ácido, tal como HCl, a la mezcla de reacción. La reacción se deja proceder a temperatura de reflujo, durante aproximadamente 2-4 horas, hasta que el nivel de compuesto residual de fórmula (2) no sea mayor que el 0,50 % y la cantidad de cualquier compuesto de fórmula (3), que puede formarse, no sea mayor que el 2,5 %. Después de enfriar, a aproximadamente 10 ºC, el sólido se retira por filtración, se lava con etanol absoluto y se seca al vacío hasta 40 ºC para retirar etanol residual. El producto de fórmula (4) se recogió para la siguiente etapa sin purificación.

El compuesto de fórmula (4) se dibuja como un derivado de alqueno (2E), ya que este es el isómero principal formado en esta reacción. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que también puede formarse en esta reacción una cantidad significativa del derivado de alqueno (2Z); esto es:



denominado como (2Z)-3-({9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)-oxolan-2-il]-2-[4-(etoxicarbonil)pirazolil] purin-6-il}amino)-2-formilprop-2-enoato de etilo.

Por consiguiente, aunque el compuesto de fórmula (4) se representa solo como el derivado de alqueno (2E), la expresión "compuesto de fórmula (4)" pretende incluir tanto el caso en el que solamente es el isómero (2E) y el caso en el que la porción principal del producto es el isómero (2E) y una porción menor del isómero (2Z) también está presente. La conversión del compuesto de fórmula (4) en el producto final por reacción con metilamina como se ha descrito en la Etapa 3, transcurre de la misma manera, como si el compuesto de fórmula (4) está presente como el isómero (2E) o como una mezcla del isómero (2E) y el isómero (2Z).

Etapa 3 - Preparación del Producto Final

El producto final se prepara a partir del compuesto de fórmula (4) haciéndole reaccionar con metilamina acuosa.

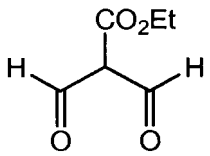
La metilamina, primero se coloca en el recipiente de presión y se enfría a aproximadamente 2,5-7,5 ºC y después se añade el compuesto de fórmula (4) mientras que la temperatura se mantiene. La reacción procede hasta que el nivel de compuesto residual de fórmula (3) es menor que aproximadamente el 0,10 %.

A la finalización, el producto se aísla por medios convencionales, por ejemplo, desgasificando al vacío a no más que aproximadamente 35 ºC para retirar el exceso de metilamina. Después se libera el vacío y la mezcla se enfría a aproximadamente 0-5 ºC y se mantuvo a la temperatura durante 15 minutos a una hora, seguido de filtración. Por tanto, el sólido obtenido se lava con agua seguido de etanol y se seca a presión reducida a una temperatura de no más que 40 ºC.

Este proceso proporciona (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida como su monohidrato. Este polimorfo puede purificarse adicionalmente disolviendo en dimetilsulfóxido (DMSO), filtrando cualquier impureza sólida de la solución, aclarando con más DMSO y precipitando el monohidrato de la solución por adición al agua. Este método es particularmente efectivo cuando la solución de DMSO y el agua se calientan a aproximadamente 78-88 ºC y se mantiene a esa temperatura con agitación durante aproximadamente 1 hora. Después de agitar, la suspensión se enfría lentamente a aproximadamente 20 ºC. Después, el producto final se aísla por filtración, se lava con agua purificada seguido de etanol y se seca como se ha descrito previamente.

EJEMPLO de referencia 1

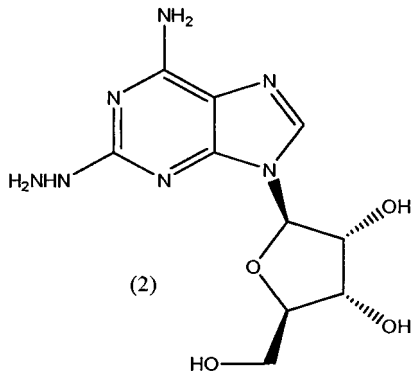
Preparación de Etil-2-formil-3-oxopropionato



Un matraz de fondo redondo de tres o cuatro bocas equipado con una barra agitadora magnética, termopar, termómetro digital, entrada y salida de gas y embudo de adición se lavó abundantemente con argón. Se cargó 3,3-dietoxipropionato de etilo (64,5 g) en tetrahidrofurano en el embudo de adición. Se cargó hidruro sódico (21,2 g de una dispersión al 60 %) al matraz de reacción seguido de tetrahidrofurano. Los contenidos del matraz se enfriaron a 0-5 ºC en un baño de hielo y se añadió formiato de etilo (257 g). La mezcla se enfrió a 0-5 ºC y se añadieron gota a gota los contenidos del embudo de adición, manteniendo una temperatura interna de menos de 5 ºC. El baño de hielo se retiró y los contenidos se dejaron calentar a temperatura ambiente. Se controló por análisis de TLC el consumo de 3,3-dietoxipropionato de etilo. La reacción se interrumpió mediante la adición de agua enfriada por hielo (10,6 vol), y se extrajo tres veces con t-butilmetil éter (5,4 vol cada vez) y las fases orgánicas se descargaron. La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico conc. a un pH de 1 a 1,5. La fase acuosa acidificada se extrajo tres veces con diclorometano y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se destilo al vacío, para proporcionar 2-formil-3-oxopropionato de etilo, 27,92 g, rendimiento del 70 %.

EJEMPLO de referencia 2

A. Preparación de 2-Hidrazinoadenosina (2)



(2)

Un matraz equipado con un agitador mecánico, entrada de gas, salida de gas y termopar se lavó abundantemente con argón. Se añadió hemihidrato de 2-cloroadenosina (53,1 g), seguido de monohidrato de hidrazina (134 g). La mezcla se agitó mientras que se calentaba a 40-45 ºC durante 2 horas. El progreso de la reacción fue seguido de análisis de TLC. Cuando la reacción se completó, la fuente de calor se retiró y se añadió etanol (800 ml). La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, después el precipitado se recogió por filtración. La torta de filtro se lavó con etanol y se secó a presión reducida durante 30 minutos. Los sólidos se transfirieron a un matraz limpio equipado con

un agitador mecánico y se añadió agua (300 ml). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y los sólidos se aislaron por filtración. La torta de filtro se lavó con agua enfriada por hielo (300 ml) seguido de un lavado con etanol enfriado con (300 ml). El sólido se secó a presión reducida para proporcionar 2-hidrazinoadenosina (41,38 g, rendimiento del 81,4 %, pureza del 99,3 %).

B. Preparación alternativa de 2-Hidrazinoadenosina (2)

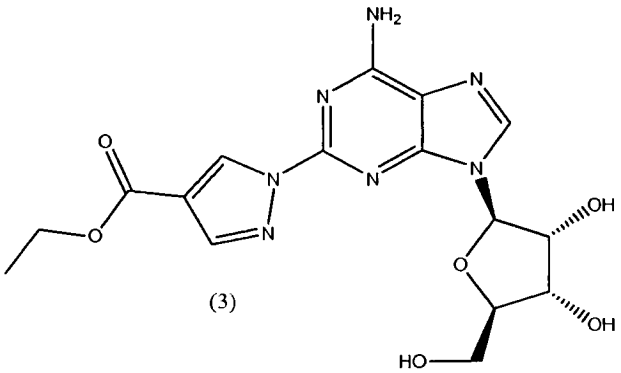
Un recipiente de reacción que contenía hidrato de hidrazina (258 g, 250 ml), se calentó a 40-50 ºC. A la mezcla caliente se le añadió en porciones hemihidrato de 2-cloroadenosina (100 g), manteniendo la entre 45-55 ºC. La temperatura se mantuvo a esta temperatura durante dos horas, y después se añadió agua desionizada (500 ml) durante un periodo de 30 minutos, manteniendo la temperatura a 45-55 ºC. Después, la mezcla se enfrió gradualmente a 0-5 ºC durante un periodo de 3 horas, después se agitó a esta temperatura durante 30 minutos más. Después, el sólido se retiró por filtración y se lavó con agua desionizada (200 ml) helada (2-5 ºC), seguido de etanol (400 ml). El sólido se secó al vacío durante 12 horas, para proporcionar 2-hidrazinoadenosina.

C. Preparación Alternativa de 2-Hidrazinoadenosina (2)

Un recipiente de reacción se cargó con hidrato de hidrazina (1285 g). La solución se calentó a aproximadamente 62 ºC y se añadió 2-cloroadenosina (500 g) mientras que se mantenía la temperatura de aproximadamente 62 ºC. La mezcla se mantuvo a un objetivo de 62 ºC durante al menos 2 horas, hasta que el nivel de 2-cloroadenosina residual no fue mayor del 0,10 %. La mezcla se enfrió a aproximadamente 40 ºC y se comprobó la mezcla para verificar la presencia de sólidos. Se añadió lentamente agua (2275 g) mientras que se mantenía la temperatura a aproximadamente 40 ºC. La mezcla se enfrió a aproximadamente 10 ºC y se mantuvo durante no menos de 1 hora. El producto se aisló por filtración, se lavó con agua (1195 g) y después con etanol absoluto (1885 g). El producto se secó al vacío hasta 30 ºC durante no menos de horas, para dar 2-hidrazinoadenosina.

EJEMPLO de referencia 3

Preparación de 1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-carboxilato de etilo (3)

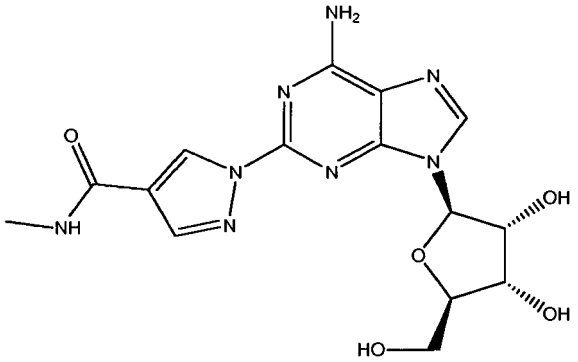


(3)

Se colocó 2-formil-3-oxopropionato de etilo (23,93 g. 0,17 mol) en un matraz equipado con un agitador mecánico, entrada de gas, salida de gas y condensador de reflujo. Se añadió 2-propanol al matraz seguido de 2-hidrazinoadenosina (44,45 g. 0,15 mol). La mezcla se calentó a reflujo en agitación durante 2-4 horas, siguiendo el progreso de la reacción por análisis de TLC. Cuando la reacción se consideró completada. La fuente de calor se retiró y la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. La suspensión se enfrió en agitación en un baño de hielo durante 1,5 a 2 horas. Los sólidos se aislaron por filtración al vacío y se lavaron con 2-propanol enfriado con hielo. El producto, 1-{9-[(4S.2R.3R.SR)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-carboxilato de etilo, se secó a presión reducida a un peso constante.

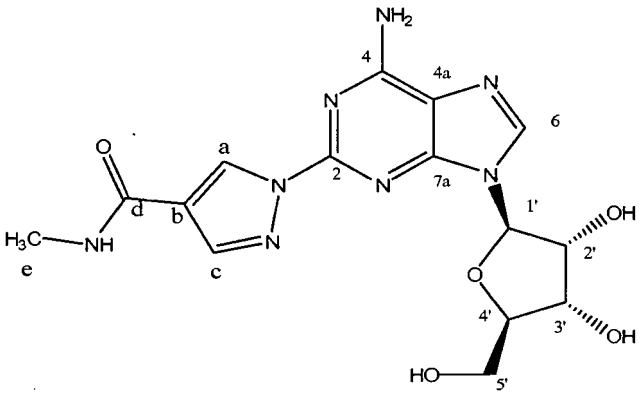
EJEMPLO 4

Preparación de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida



Una mezcla de 1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-carboxilato de etilo (46,4 g) y metilamina (40 % en agua, 600 ml) se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 4 horas, siguiendo el progreso de la reacción por análisis de HPLC. La mayoría del exceso de metilamina se retiró a presión reducida y la mezcla restante se enfrió a 0 ºC durante 2 horas. El material sólido se retiró por filtración. Se lavó con etanol de graduación 100 % enfriado con hielo y se secó a presión reducida, para proporcionar (1-{9-[(4S,2R,3R,SR)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida como su monohidrato.

La estructura del material se confirmó por RMN ^{1}H (véase FIGURA 1 y más adelante). El análisis térmico (véase FIGURA 2) proporcionó resultados consistentes, con la presencia de una molécula de agua. Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X de polvo (FIGURA 3)



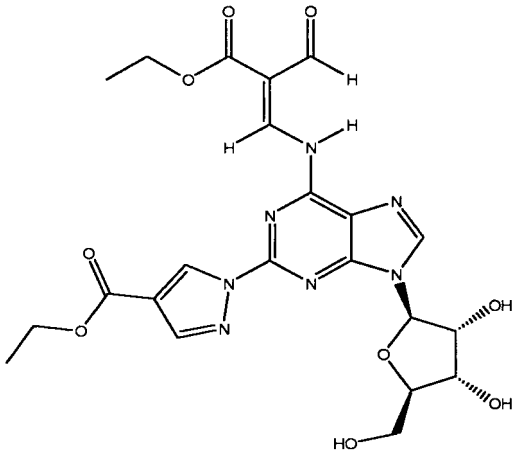
Se adquirieron espectros de RMN ^{1}H y ^{13}C de la siguiente manera. Dos muestras del material obtenido anteriormente se pesaron y se disolvieron en d_6-DMSO – Se usaron 5,3 mg para el espectro ^{1}H y se usaron 20,8 mg para el espectro ^{13}C. Todos los espectros se consiguieron a temperatura ambiente en un espectrómetro JEOL Eclipse + 400 que operaba a 400 MHz para ^{1}H y 100 MHz para ^{13}C.

Etiqueta	Desplazamiento ^{13}C (ppm)	Desplazamiento ^{1}H (ppm)	Multiplicidad, división (Hz)
2	150,5 o 150,3	-	
4	156,4	-	
4a	117,9	-	
6	140,0	8,41	s
7a	150,5 o 150,3	-	
1'	86,9	5,94	D, 6,2
2'	73,7	4,62	m
2'-OH	-	5,50	D, 6,2

3'	70,5	4,17	m
3'-OH	-	5,23	D, 4,7
4'	85,7	3,96	m
5'	61,5	3,67, 3,57	m
5'-OH	-	5,02	D, 5,7
A	140,9	8,07	D, 0,8
B	120,2	-	
C	129,6	8,95	D, 0,8
D	161,7	-	
E	25,6	2,76	D, 4,6
NH_2	-	7,77	s a
NH	-	8,35	Q, 4,6

EJEMPLO 5

A. Preparación de (2E)-3-({9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)-oxolan-2-il]-2-[4-(etoxicarbonil)pirazolil] purin-6-il}-amino)-2-formilprop-2-enoato de etilo (4)



Una mezcla de 2-hidrazinoadenosina (100 g. 0,34 mol). 2-formil-3-oxopropionato de etilo (242 g. 1,7 mol) y etanol absoluto se cargó en un reactor y la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Cuando la reacción se consideró completada, la fuente de calor se retiró y la mezcla se enfrió gradualmente a 5-10 ºC durante un periodo de 3 horas. La suspensión se agitó durante 30 minutos a esta temperatura y la mezcla se filtró. El material sólido se lavó con etanol absoluto frío (5-10 ºC) y después se secó al vacío a una temperatura que no excedió de 40 ºC, para proporcionar (2E)-3-({9-[(4S.2R.3R.5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-2-[4-(etoxicarbonil)-pirazolil]purin-6-il} amino)-2-formilprop-2-enoato de etilo.

B. Preparación Alternativa de (2E)-3-({9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)-oxolan-2-il]-2-[4-(etoxicarbonil) pirazolil]purin-6- il}amino)-2-formilprop-2-enoato de etilo (4)

Un recipiente de reacción se cargó con 2-hidrazinoadenosina (450 g) y etanol absoluto (11376 g). Se añadieron HCl (7,47 g) y 2-formil-3-oxopropionato de etilo (1557 g). La mezcla se calentó y se tomaron muestras hasta que el nivel de 2-hidrazinoadenosina residual no fue mayor que el 0,50 % y el nivel del compuesto de fórmula (3) no fue mayor que el 2,5 %. La mezcla se enfrió lentamente a aproximadamente 10 ºC. El producto, el compuesto de fórmula (4) se aisló por filtración y se lavó con etanol absoluto (5121 g). El producto se secó al vacío hasta 40 ºC, hasta que el etanol residual no fue mayor que 5000 ppm para dar (2E)-3-({9-[(4S.2R.3R.5R)-3,4-dihidroxi- 5-(hidroximetil)oxolan-2-il1-2 -[4-(etoxicarbonil)-pirazolil]purin-6-il}amino)-2-formilprop-2-enoato de etilo.

Un análisis elemental del producto del Ejemplo 5A dio los siguientes resultados: C, 48,75 %; H, 4,86 %; N, 18,05 %; O, 27,57, Teórico: C, 49,72 %; H, 4,74 %; N, 18,45 %; O, 27,09. El análisis corresponde dentro de los límites de error experimentales al hemihidrato del producto deseado. (C, 48,89 %; H, 4,81 %; N, 18,1 %; O, 28,12)

Se obtuvieron espectros de RMN ^{1}H y ^{13}C de la siguiente manera. Se disolvieron 20,2 mg del compuesto de fórmula (4) en ~0,75 ml de DMSO-d6 y se obtuvo el espectro a temperatura ambiente en un espectrómetro JEOL ECX-400 RMN

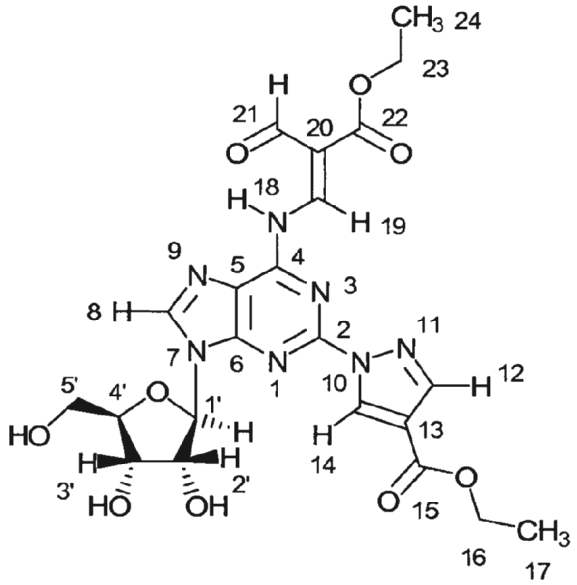
que operaba a 400 MHz para ^{1}H y 100 MHz para ^{13}C. Los desplazamientos químicos se referenciaron al disolvente DMSO. 2,50 ppm para ^{1}H y 39,5 ppm para ^{13}C.

RESULTADOS

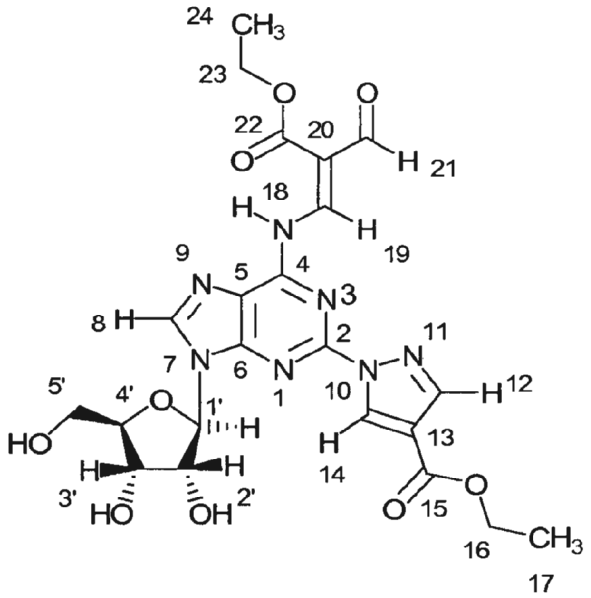
Los desplazamientos químicos ^{1}H y ^{13}C se enumeran en la Tabla 1. Se observaron dos isómeros en una proporción de ~60/30 en tanto que los espectros ^{1}H y ^{13}C, etiquetados como mayor y menor en la tabla.

Átomo[a]	Desplazamiento químico ^{13}C (ppm)	Desplazamiento químico ^{1}H (ppm)	Multiplicidad[b]. División (Hz)
21(mayor)	192,4	9,96	d. 3,6
21(menor)	187,6	9,83	S
22(menor)	167,1	-	-
22(mayor)	165,2	-	-
15(menor)	161,8	-	-
15(mayor)	161,7	-	-
6(mayor)	153,1	-	-
6(menor)	152,9	-	-
2(menor)	149,4	-	-
2(mayor)	149,3	-	-
19(menor)	148,0	9,22	d, 13,0
4(menor)	147,9	-	-
4(mayor)	147,8	-	-
19(mayor)	147,5	9,26	d, 12,4, d, 3,6
8 (mayor)	144,9	8,87	s
8(menor)	144,7	8,85	s
12	143,1	8,20-8,23	m
14(menor)	132,8	9,20	d, ~0,7
14(mayor)	132,6	9,12	d, ~0,7
5(mayor)	120,7	-	-
5(menor)	120,6	-	-
13	116,7	-	-
20(menor)	107,2	-	-
20(mayor)	106,1	-	-
1' (mayor)	87,9	6,07	d, 5,3
1' (menor)	87,9	6,06	d, 5,3
4'	85,8	4,02	q, 3,9
2'(menor)	74,1	4,62	q, ~5,4
2'(mayor)	74,1	4,61	q, ~5,4
3'	70,1	4,22	q, 4,2
5'	61,0	3,62, 3,73	m
23, 16	60,3-60,8	4,25-4,39	m
17, 24	14,1-14,2	1,28-1,38	m
18(mayor)	-	12,51	d, 12,4
18(menor)	-	11,47	d, 13,0
2'-OH (mayor)	-	5,63	d, 6,1
2'-OH (menor)	-	5,62	d, 6,1
3'-OH	-	5,30	d, 5,1
5'-OH	-	5,08	t, 5,5

El compuesto de fórmula (4) se confirmó que era una mezcla de los dos isómeros siguientes:



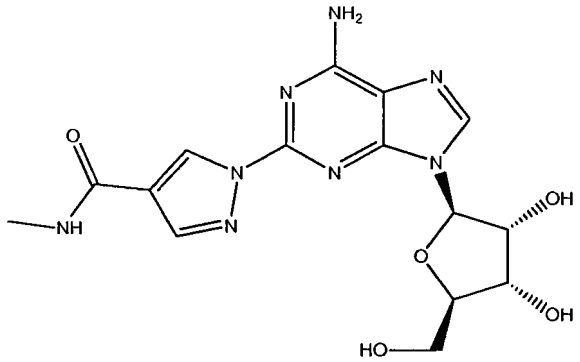
Mayor



Menor

EJEMPLO 6

A. Preparación de (1-{9-F(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2- il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida a partir del Compuesto (4)



Se colocó una solución acuosa al 40 % de metilamina (1300 ml) en un reactor de presión, se enfrió a 0-5 ºC y se añadió el producto del Ejemplo 5A ((2E)-3-({9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-2-[4-(etoxicarbonil)pirazolil]purin-6-il}amino)-2-formilprop-2-enoato de etilo (100 g). La mezcla se agitó a 0-5 ºC durante al menos 8 horas, controlando la reacción para la terminación. Cuando se completó, la mezcla se calentó, se mantuvo la temperatura entre 50 y 60 ºC durante 1 hora y después se enfrió a menos de 30 ºC durante un periodo de 1 hora. Cuando la temperatura fue inferior a 30 ºC, la mezcla se desgasificó usando una presión de of 100-150 mmHg, permitiendo que la temperatura disminuyese a 0-5 ºC. La mezcla se agitó a 0-5 ºC durante al menos 1 hora, manteniendo la presión a 100-150 mmHg. Después se interrumpió el vacío y se reemplazó por una atmósfera de nitrógeno, manteniendo la temperatura a 0-5 ºC durante no menos de 30 minutos. Después el producto sólido se retiró por filtración, se lavó con agua (3 x 500 ml), después con etanol absoluto (625 ml). El producto se secó al vacío, no permitiendo que la temperatura excediese los 40 ºC, para proporcionar (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi -5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida como su monohidrato.

B. Preparación Alternativa de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidro-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il} pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida a partir del Compuesto (4)

Un recipiente de presión se cargó con una solución al 47 % de metilamina (10080 g). La solución se enfrió y se añadió el compuesto de fórmula (4) como se preparó en el Ejemplo 5B anterior (600 g), mientras que se mantenía un objetivo de temperatura de 5 ºC. La mezcla se agitó a un objetivo de temperatura de 5 ºC, hasta que el nivel del compuesto

residual de fórmula (3) en la mezcla fue menor del 0,10 %. La mezcla de reacción se desgasificó al vacío a no más de 35 ºC para retirar el exceso de metilamina. El vacío se liberó y la mezcla se enfrió a 2,5 ºC y se mantuvo durante al menos 30 min. Después, el producto se aisló por filtración, se lavó con agua (no menos de 9000 g) y después con etanol absoluto (no menos de 2964 g). El producto se secó al vacío hasta 40 ºC, hasta que el etanol residual no era mayor que 5000 ppm para dar (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida en bruto como su monohidrato.

Se adquirieron espectros de RMN ^{1}H y ^{13}C RMN de la siguiente manera. Dos muestras del material obtenido en el Ejemplo 6A se pesaron y se disolvieron en d_6-DMSO – Se usaron 5,3 mg para el espectro ^{1}H y se usaron 20,8 mg para el espectro ^{13}C. Todos los espectros se consiguieron a temperatura ambiente en un espectrómetro JEOL Eclipse+ 400 que operaba a 400 MHz para ^{1}H y 100 MHz para ^{13}C.

Etiqueta	Desplazamiento ^{13}C (ppm)	Desplazamiento ^{1}H (ppm)	Multiplicidad, división (Hz)
2	150,5 o 150,3	-	
4	156,4	-	
4a	117,9	-	
6	140,0	8,41	s
7a	150,5 o 150,3	-	
1'	86,9	5,94	D, 6,2
2'	73,7	4,62	m
2'-OH	-	5,50	D, 6,2
3'	70,5	4,17	m
3'-OH	-	5,23	D, 4,7
4'	85,7	3,96	m
5'	61,5	3,67, 3,57	m
5'-OH	-	5,02	D, 5,7
A	140,9	8,07	D, 0,8
B	120,2	-	
C	129,6	8,95	D, 0,8
D	161,7	-	
E	25,6	2,76	D, 4,6
NH_2	-	7,77	br s
NH	-	8,35	Q, 4,6

Un análisis elemental dio los siguientes resultados: C, 43,96 %; H, 4,94 %; N, 27,94. Teórico: C, 44,12 %; H, 4,94 %; N, 27,44 %; O, 27,09. El análisis corresponde dentro de los límites de error experimentales al monohidrato.

EJEMPLO 7

A. Purificación de monohidrato de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il} pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida

Una solución de monohidrato de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il1-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida, como se preparó en el Ejemplo 4, (100 g) en dimetilsulfóxido (300 ml) se filtró a través de un prefiltro de 0,6 a 0,8 micrómetros y un filtro de 0,2 micrómetros para retirar cualquier impureza sólida. Después, se añadió lentamente con agitación el filtrado, durante un periodo de 1 hora, a agua desionizada (1 litro) y la suspensión así producida se agitó durante no menos de 1 hora. El sólido se retiró por filtración, se lavó con agua desionizada (2 x 1 litro) y se secó al vacío durante no menos de 1 hora.

Después, el producto seco se suspendió de nuevo con agua desionizada (1,5 litro) durante no menos de 2 horas, se retiró por filtración y se lavó con agua desionizada (1 litro) seguido de etanol absoluto (750 ml). El producto purificado se secó al vacío a una temperatura de no más de 40 ºC durante no menos de 12 horas, para proporcionar monohidrato de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N- metilcarboxamida libre de cualquier impureza de 2-hidrazinoadenosina.

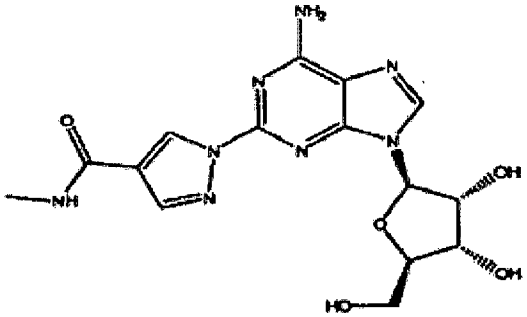
B. Purificación alternativa de monohidrato de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida

Una solución de monohidrato de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida, (400 g), se disolvió DMSO (1320 g) y la solución se filtró a través de filtros en línea en serie de 0,6 a 0,8-micrómetros y 0,2 micrómetros. Se usó DMSO adicional (880 g) para enjuagar el Sistema de filtro. La solución se añadió lentamente a agua purificada (5000 g), mientras se mantenía una temperatura objetivo de 83 ºC. El producto comenzó a cristalizar durante la adición y la suspensión se agitó a un objetivo de 83 ºC durante aproximadamente 1 h. La mezcla se enfrió lentamente a 20 ºC. El producto se aisló por filtración y se lavó con agua purificada (8000 g).

Los sólidos se cargaron en un recipiente y se añadió agua purificada (6000 g). La suspensión se mezcló durante aproximadamente 1 hora. El producto se aisló por filtración y se lavó con agua purificada (4000 g) y después con etanol absoluto (3160 g). El producto se secó al vacío hasta 40 ºC , hasta que el contenido de agua residual no era mayor del 5,5 % y el etanol residual no era más de 2000 ppm, para dar monohidrato de (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida.

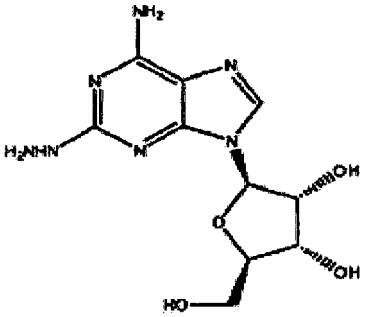
REIVINDICACIONES

1. Un método de sintetizar (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il} pirazol-4-il) -N-metilcarboxamida



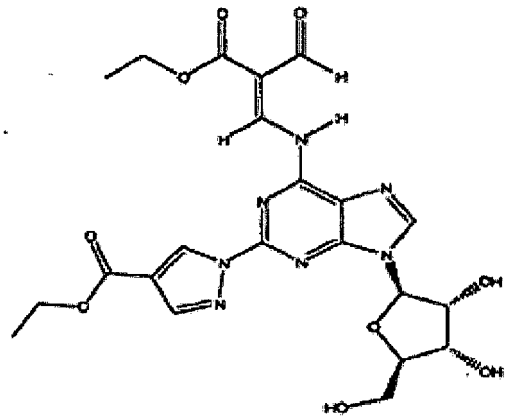
que comprende las etapas de:

(I) poner en contacto un compuesto de fórmula (2):



(2)

con un exceso molar de 5-10 veces de 2-formil-3-oxopropionato de etilo, opcionalmente en presencia de un ácido, para producir un compuesto de fórmula (4):



(4)

y

(II) poner en contacto el compuesto de fórmula (4) con metilamina acuosa a una temperatura de aproximadamente 2,5-7,5 ºC para producir (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroxi-metil)oxolan-2-il]-6-aminopurin-2-il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida.

2. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa (I) se realiza en etanol.

3. El método de la reivindicación 1, en el que el ácido es HCl y se usa en una cantidad de hasta 0,1 equivalente molar.

4. El método de la reivindicación 3, en el que la reacción tiene lugar a reflujo.

5. El método de la reivindicación 1, en el que se usa aproximadamente un exceso molar de 6,8-7,5 veces de 2-formil-3-oxopropionato de etilo.

6. El método de la reivindicación 5, en el que el producto de fórmula (4) se aísla

(a) enfriando la mezcla de reacción completada a aproximadamente 10 ºC,
(b) filtrando,
(c) lavando los contenidos del filtro con etanol, y
(d) secando el sólido que permanece al vacío a una temperatura que no exceda de 40 ºC.

7. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa (II) se realiza en un reactor de presión sellado herméticamente.

8. El método de la reivindicación 7, en el que el producto de la etapa (II) se aísla como un monohidrato

(a) degasificando al vacío a no más de 35 ºC para retirar el exceso de metilamina,
(b) liberando el vacío y enfriando a 0-5 ºC durante aproximadamente 15 minutos a una hora,
(c) filtrando la suspensión así formada,
(d) lavando los contenidos del filtro con agua seguido de etanol, y
(e) secando el sólido que permanece al vacío a una temperatura que no exceda de 40 ºC.

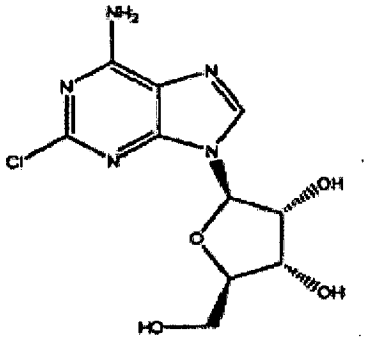
9. El método de la reivindicación 8, en el que el producto final (1-{9-[(4S,2R,3R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) -oxolan-2-il]-6-aminopurin-2il}pirazol-4-il)-N-metilcarboxamida se purifica adicionalmente

(i) disolviendo en un disolvente el sólido secado de la etapa (e) de la reivindicación 8,
(ii) filtrando cualquier impureza sólida de la solución,
(iii) aclarando con disolvente adicional,
(iv) añadiendo solución a agua purificada que se mantiene a aproximadamente 78-88 ºC, formando de ese modo una suspensión,
(v) agitando la suspensión,
(vi) enfriando la suspensión,
(vii) filtrando,
(viii) lavando los contenidos del filtro con agua seguido de etanol, y
(ix) secando el sólido que permanece al vacío a una temperatura que no exceda de 40 ºC.

10. El método de la reivindicación 9, en el que el disolvente usado en las etapas (i) y (iii) es dimetilsulfóxido.

11. El método de la reivindicación 10, en el que el contenido de agua residual en el producto final no es mayor del 5,5 % y el residual etanol no es mayor de 2000 ppm.

12. El método de la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (2) se prepara haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (1):



(1)

con un exceso molar de 14,3-16,7 veces de hidrazina a una temperatura de aproximadamente 60-65 ºC.

13. El método de la reivindicación 12, en el que la hidrazina primero se calienta a aproximadamente 60-65 ºC seguido de la adición del compuesto de fórmula (1).

14. El método de la reivindicación 12, en el que el compuesto de fórmula (2) se aísla

(a) enfriando la mezcla de reacción a aproximadamente 40 ºC,
(b) añadiendo unas 4,2-4,9 equivalencias de masa de agua mientras se mantiene la temperatura a aproximadamente 40 ºC,
(c) enfriando la mezcla a aproximadamente 10 ºC y manteniendo a esa temperatura durante al menos aproximadamente 1 hora,
(d) filtrando,
(e) lavando los contenidos del filtro con agua seguido de etanol, y
(f) secando el sólido que permanece al vacío a una temperatura que no exceda de 30 ºC durante al menos 12 horas.

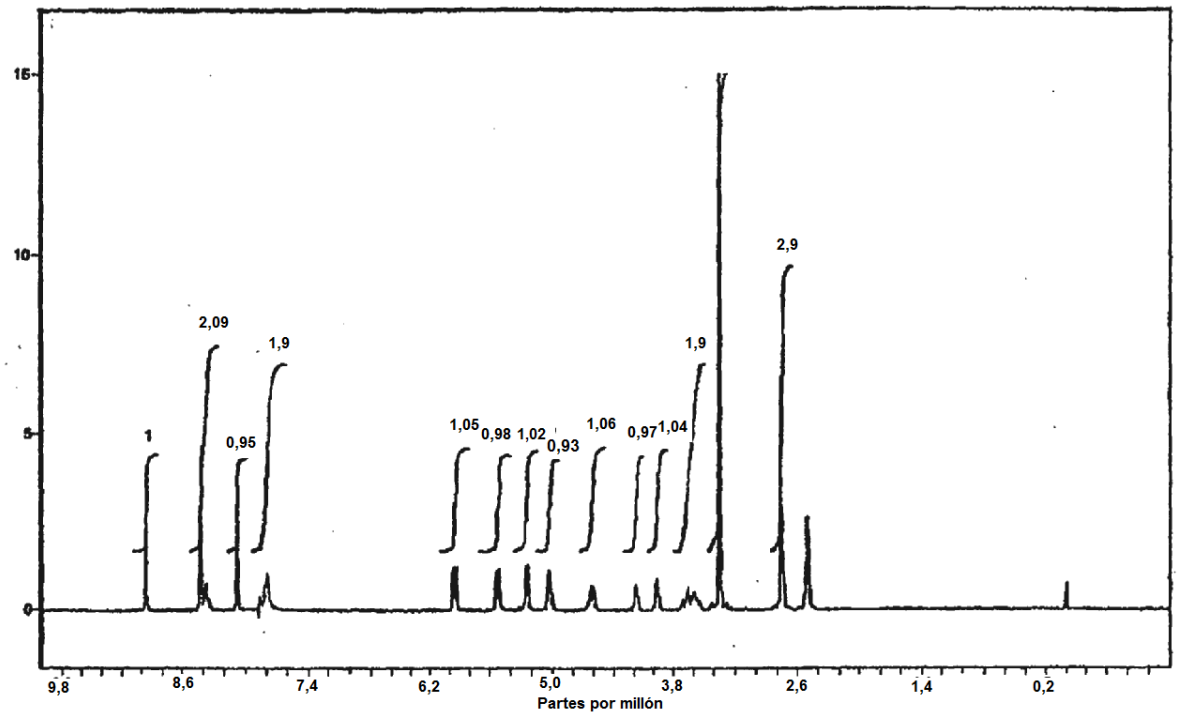

15
10
5
0
1
2,09
0,95
1,9
1,05
0,98
1,02
0,93
1,06
0,97
1,04
1,9
2,9
9,8
8,6
7,4
6,2
5,0
3,8
2,6
1,4
0,2
Partes por millón

Figura 1

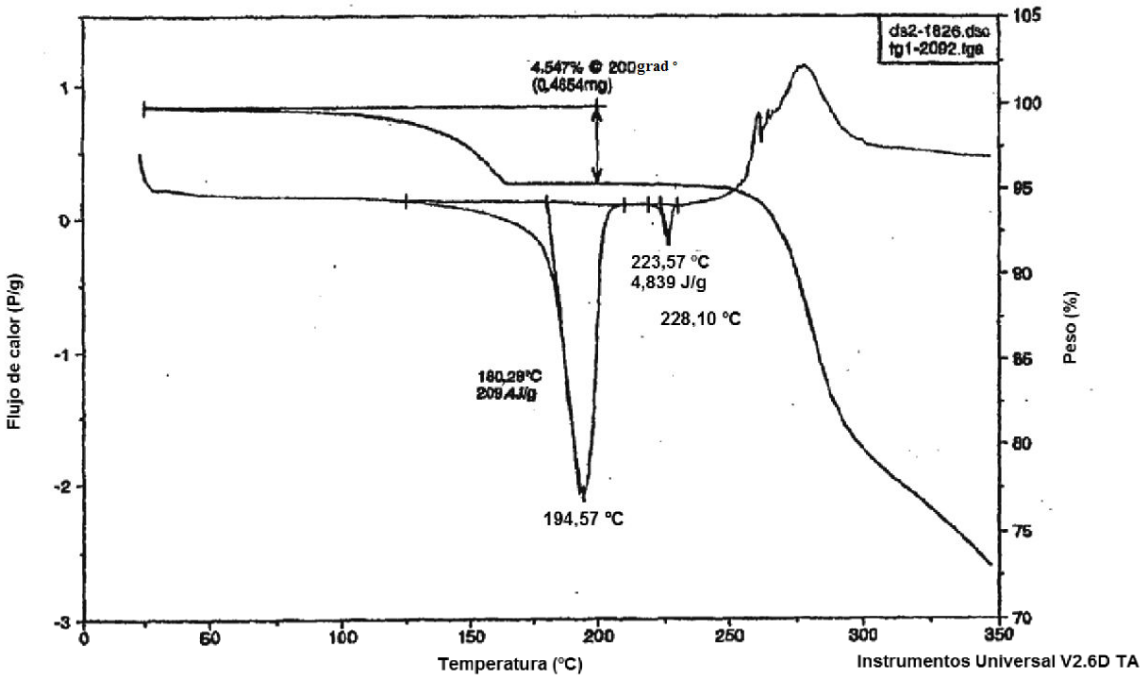

ds2-1626.dsc
tg1-2092.tga
4,547% @ 200grad °
(0,4654mg)
223,57 °C
4,839 J/g
228,10 °C
180,28°C
209,4J/g
194,57 °C
Flujo de calor (P/g)
Peso (%)
Temperatura (°C)
Instrumentos Universal V2.6D TA

Figura 2

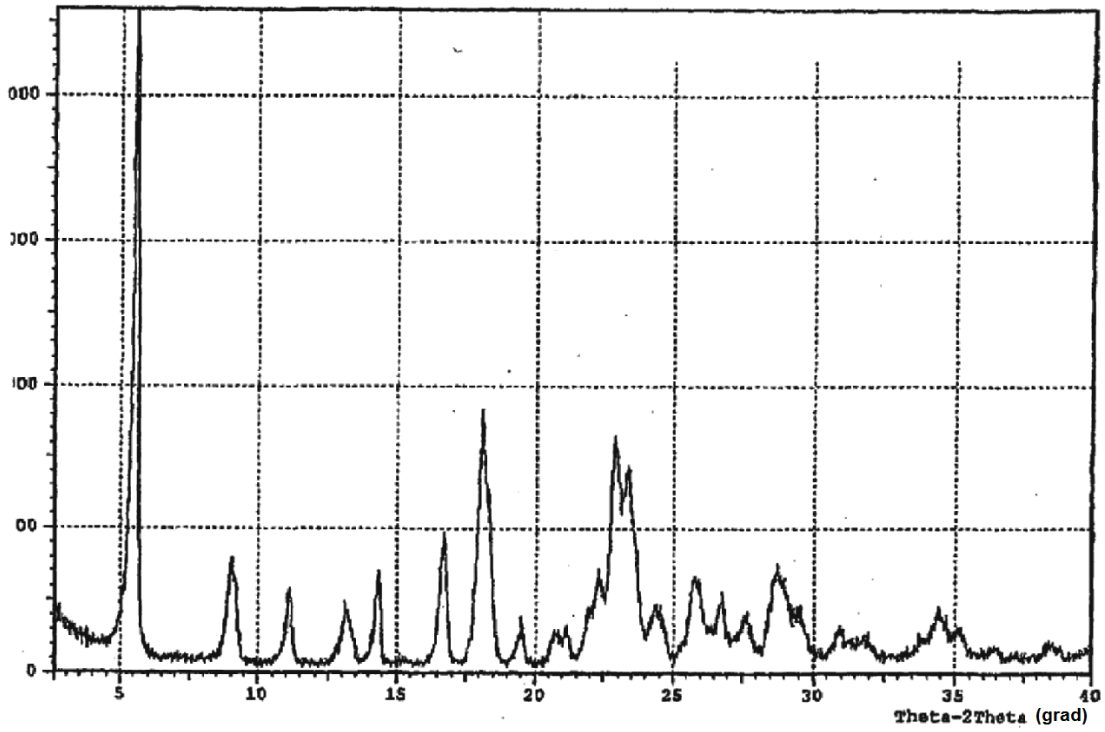


Figura 3

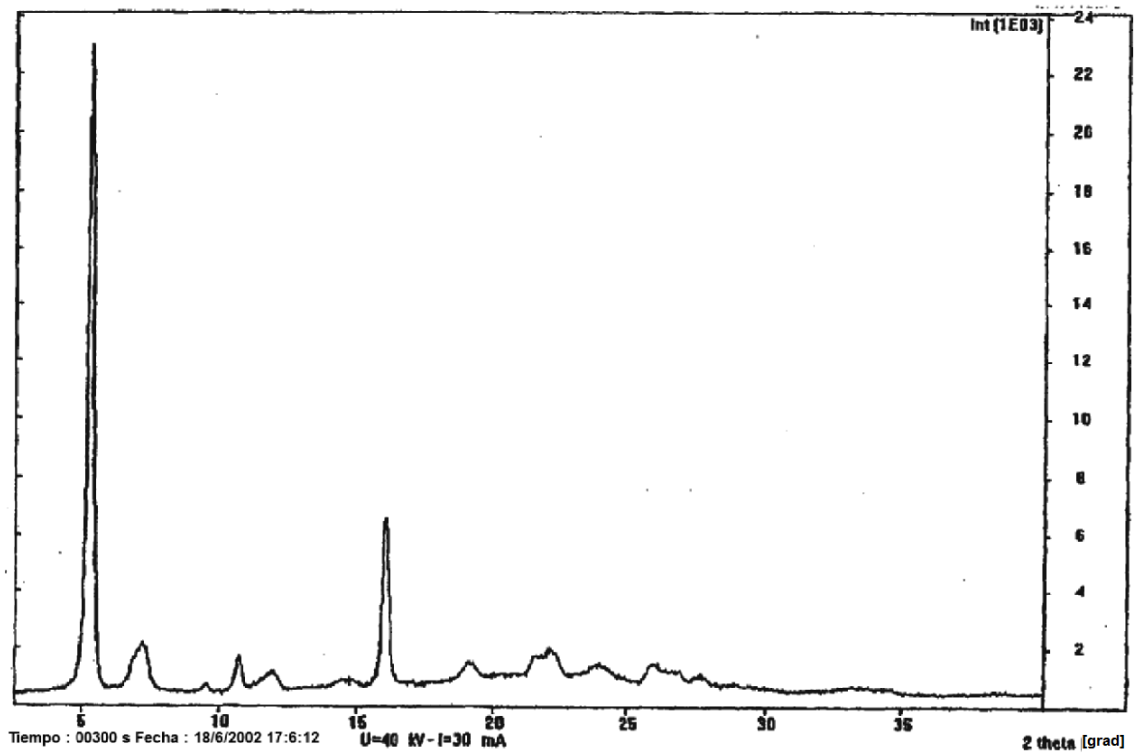

Int (1E03)
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
5
10
15
20
25
30
35
Tiempo : 00300 s Fecha : 18/6/2002 17:6:12
U=40 kV - I=30 mA
2 theta [grad]

Figura 4

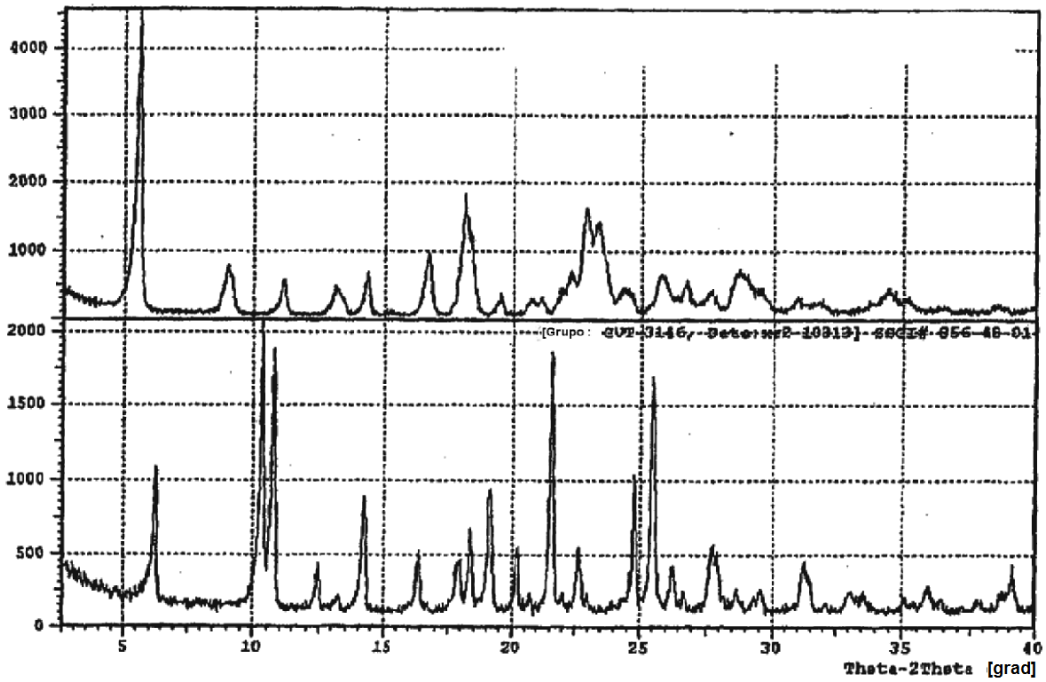

4000
3000
2000
1000
2000
1500
1000
500
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Theta-2Theta [grad]

Figura 5