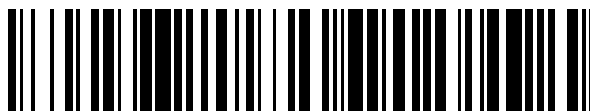


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 591**

51 Int. Cl.:

C07D 498/18 (2006.01)

C07F 7/18 (2006.01)

A61K 31/435 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.03.2011 PCT/EP2011/053434**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.08.2012 WO12103959**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.03.2011 E 11707171 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.06.2017 EP 2670756**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de everolimus**

30 Prioridad:

04.02.2011 US 201161439830 P

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

04.10.2017

73 Titular/es:

**SYNTHON BV (100.0%)
Microweg 22
6545 CM Nijmegen, NL**

72 Inventor/es:

**LUTEN, JORDY;
KELTJENS, ROLF;
BENES, MICHAL;
JANOUSEK, VLADIMIR y
PÍS, JAROSLAV**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 635 591 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).

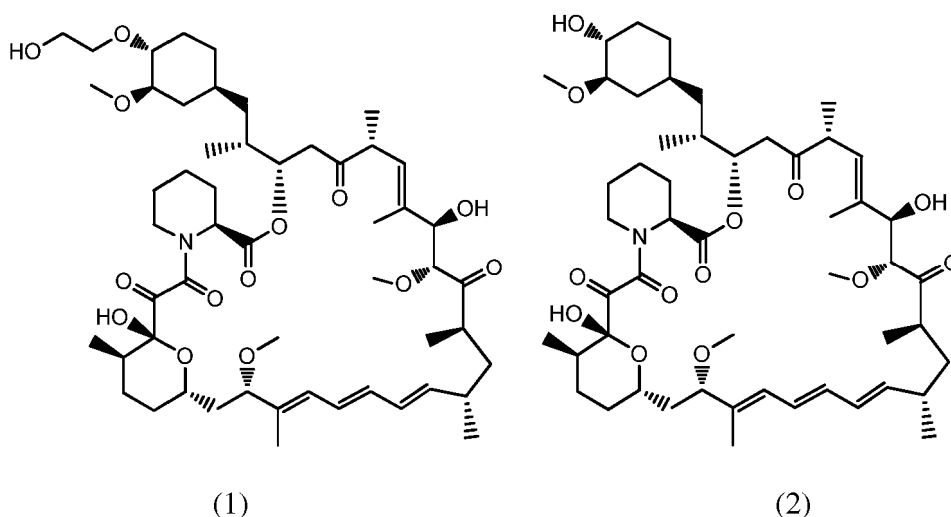
DESCRIPCIÓN

Procedimiento de fabricación de everolimus

5 Antecedente de la invención

Everolimus, 40-O-(2-hidroxiethyl)-rapamicina de fórmula (1) es un compuesto farmacéuticamente eficaz. Es un derivado sintético de rapamicina (sirolimus) de fórmula (2), que es producido por una determinada bacteria y es también farmacéuticamente activo.

10



15

El everolimus difiere de la rapamicina parental en que el carbono C₄₀ de la rapamicina está sustituido por una cadena 2-hidroxiethyl. Por lo tanto, la molécula se vuelve más polar, y supuestamente tiene mejor biodisponibilidad oral. Además, el mecanismo de acción de everolimus en el cuerpo humano es ligera y aparentemente diferente que para la rapamicina, lo que conduce a un potencial terapéutico más amplio.

20

Everolimus se comercializa bajo la marca Certican para la prevención de episodios de rechazo tras el trasplante de corazón y riñón, y bajo la marca Afinitor para el tratamiento del cáncer de riñón avanzado. Ambos productos son comprimidos de administración oral; Certican está disponible en comprimidos de potencias de entre 0,1 a 1 mg, mientras Afinitor se ha comercializado en comprimidos de potencias de 2,5, 5 y 10 mg.

25

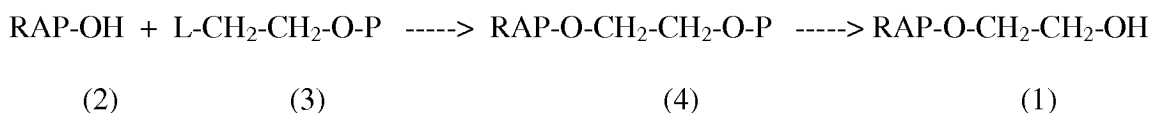
Everolimus es un polvo amorfo blanco o casi blanco, que es casi insoluble en agua. La molécula contiene 15 carbonos quirales y 4 enlaces doble sustituidos. La configuración de los carbonos quirales y los dobles enlaces corresponden a la rapamicina.

30

Debido a su complicada estructura química macrolídica, everolimus es, de forma análoga a la rapamicina parental, un compuesto extremadamente inestable. Es sensible, en particular, a la oxidación, incluyendo la oxidación aérea. Por lo tanto, en composiciones farmacéuticas, everolimus es estabilizado con hidroxitolueno butilado (BHT). También es inestable a temperaturas mayores de 25 °C y a pH alcalino.

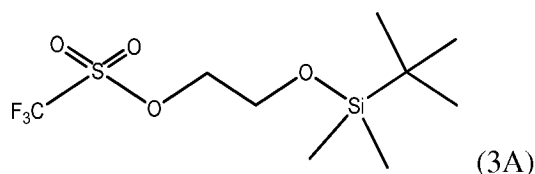
35

Se ha divulgado Everolimus y un procedimiento para fabricarlo en el documento WO 94/09010 (US 5,665,772, EP 663916). El principio del procedimiento se muestra en el esquema a continuación, en el que la abreviatura RAP-OH se ha usado como una abreviatura de la estructura de rapamicina de fórmula (2) anterior, L es un grupo saliente y P es un grupo protector hidroxilo.



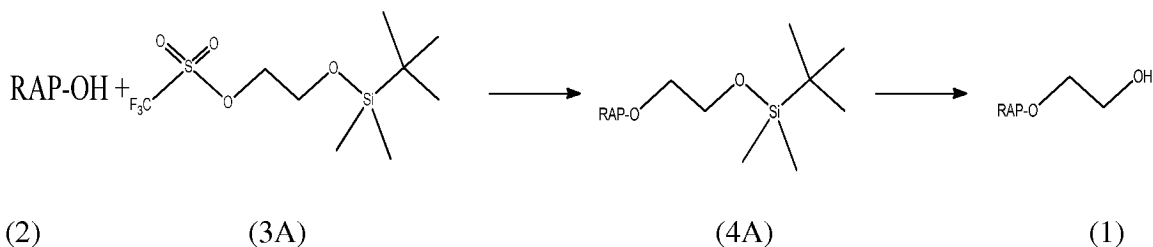
40

Específicamente, El grupo L es un grupo trifluorometanosulfonato (triflato) y el grupo protector P es normalmente un grupo terc-butildimetilsililoxi. Por consiguiente, el reactivo útil conocido de la fórmula general (3) anterior para fabricar everolimus a partir de rapamicina es triflato de 2-(terc-butildimetilsililoxi)etilo de fórmula (3A):



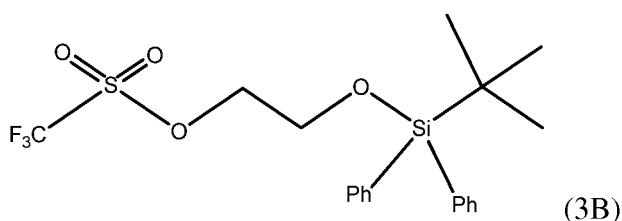
La síntesis del compuesto (3A) se divulgó en el Ejemplo 1 de la solicitud de EE.UU 2003/0125800. Se debe indicar que el disolvente de reacción en la etapa principal B de la presente síntesis ha sido omitido; sin embargo, una divulgación adicional permite estimar que dicho disolvente es diclorometano. De forma análoga, también un artículo de Moenius y col. [J. Labelled Cpd. Radiopharm. 42, 29-41 (1999)] enseña que el diclorometano es el disolvente de la reacción.

De acuerdo con un conocido procedimiento sintético divulgado en el Ejemplo 8 del documento WO 94/09010 y en el Ejemplo 1 de la solicitud de EE.UU 2003/0125800, la rapamicina (2) reacciona en tolueno caliente y en presencia de 2,6-lutidina con un exceso molar del compuesto (3A), que se carga en varias porciones, para formar everolimus protegido con t-butildimetilsililo (4A). Este compuesto se aísla y desprotege mediante HCl acuoso 1 N en metanol. Entonces, el everolimus bruto se purifica por cromatografía en columna.

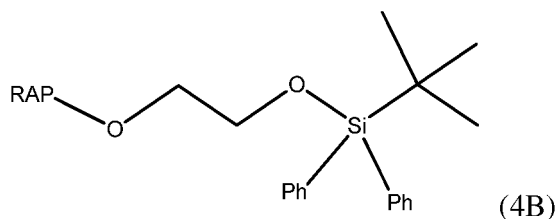


Los rendimientos, tanto del everolimus protegido como del producto final no han sido proporcionados en los documentos anteriores. Parece que es necesario un exceso molar elevado de (3A) (4 equivalentes en el documento WO 94/09010, hasta 40 equivalentes en la solicitud de EE.UU 2003/0125800), que indican una baja reactividad del (3A) o inestabilidad de (3A) durante las condiciones de reacción. La repetición del procedimiento por los presentes inventores confirmó bajos rendimientos del procedimiento (aproximadamente 17 % de rendimiento del compuesto (4A) de acuerdo con el documento WO 94/09010 y aproximadamente 19 % de rendimiento de acuerdo con la solicitud de EE.UU 2003/0125800).

En un segundo artículo de Moenius y col. [J. Labelled Cpd. Radiopharm. 43, 113-120 (2000)], que usó el procedimiento anterior para fabricar everolimus marcado con C-14 y tritiado, se usó un grupo protector difenil-terc-butilsililoxi como agente de alquilación mostrado como (3B) a continuación.



Solo el 8 % de rendimiento del compuesto correspondiente (4B)

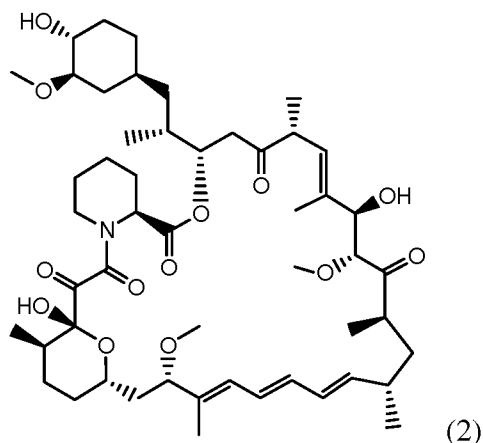


y el 21 % de rendimiento del compuesto (1) han sido presentados. Por tanto, parece que las mejoras en el procedimiento de fabricación de everolimus a partir de rapamicina son necesarias. En particular, se apreciaría, sin duda, un desarrollo de un procedimiento que mostrara mayores rendimientos y menos impurezas.

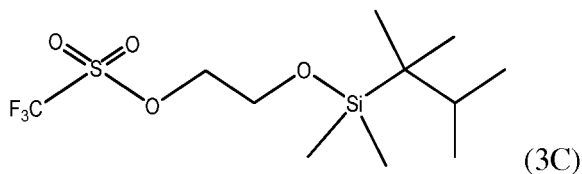
Breve sumario de la invención

La presente invención de refiere a un procedimiento mejorado de fabricación de everolimus.

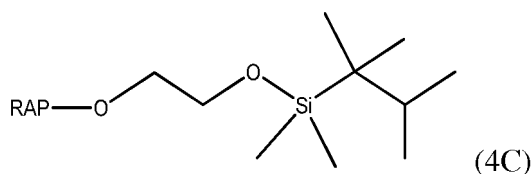
- 5 Un primer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento, que comprende una etapa de reacción de rapamicina de fórmula (2)



- 10 con triflato de 2-(t-hexildimetilsililo)etilo de fórmula (3C)



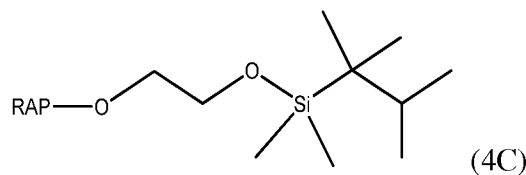
- 15 en un disolvente inerte, en el que el disolvente es un hidrocarburo alifático, cíclico o aromático de 5 a 10 átomos de carbono, un hidrocarburo clorado de 1 a 6 átomos de carbono, un éter alifático o cíclico de 4 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 átomos de oxígeno, y mezclas de los mismos, en presencia de una amina terciaria alifática, para formar 40-O-2-(t-hexildimetilsililo)etilrapamicina de fórmula (4C),



- 20 en la que "RAP" representa el residuo de una rapamicina sustituida con O en la posición 40.

La amina terciaria alifática puede ser tri-isobutilamina. La 40-O-2-(t-hexildimetilsililo)etil-rapamicina de fórmula (4C) se aísla y/o se extrae opcionalmente de la mezcla de reacción y se puede purificar adicionalmente.

- 25 Un segundo aspecto de la invención se refiere a la desprotección del compuesto (4C) con un ácido para formar everolimus. El procedimiento comprende hacer reaccionar una 40-O-2-(t-hexildimetilsililo)etilrapamicina de fórmula (4C)

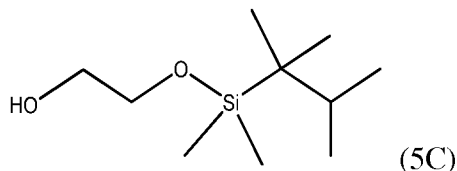


- 30 en la que RAP representa el residuo de una rapamicina sustituida en la posición 40, con un ácido para formar everolimus de fórmula (1):

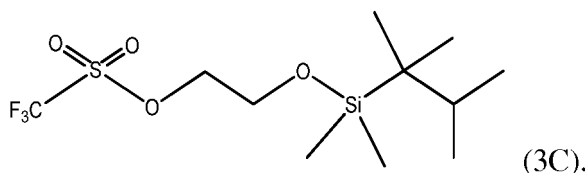
- 35 RAP-O-CH₂-CH₂-OH (1)

en la que RAP representa el residuo de una rapamicina sustituida en la posición 40. El ácido es normalmente un ácido mineral u orgánico fuerte, preferentemente ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico o ácido trifluoroacético. A menudo la reacción de desprotección se realiza en un disolvente de alcohol, normalmente un alcohol que tiene de 1-5 átomos de carbono.

5 Un tercer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento, que comprende hacer reaccionar 2- (t-hexildimetilsililo)etanol de fórmula (5C):



10 con ácido trifluorometanosulfónico o un derivado activado del mismo, preferentemente de anhídrido del ácido, en presencia de una base, para formar triflato de 2-(t-hexildimetilsililo)etilo de fórmula (3C)



15 La reacción se lleva a cabo preferentemente en un disolvente alcano, que tiene preferentemente de 5 a 12 carbonos, tales como pentano o hexano. El compuesto (3C) se puede usar en los dos aspectos anteriores para formar en última instancia everolimus.

20 Un cuarto aspecto de la invención se refiere a un compuesto triflato de 2-(t-hexildimetilsililo)etilo de fórmula (3C). El compuesto es útil como reactivo en la fabricación de everolimus. En un modo ventajoso, el compuesto está sustancialmente libre de sales, p. ej., sales de ácido trifluorometanosulfónico formadas como un producto secundario con la base.

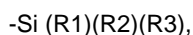
25 Un quinto aspecto de la invención se refiere a un compuesto 40-O-2-(t-hexildimetilsililo)etilrapamicina de fórmula (4C) y su uso como reactivo en la fabricación de everolimus.

Descripción detallada de la invención

30 La compleja estructura macrólida de rapamicina y everolimus permite que se produzcan varias posibles vías de degradación en diversas posiciones de la molécula (oxidación, hidrólisis, racemización, etc.). Esta degradación puede producirse no solo durante la manipulación y almacenamiento del producto, sino, en un aspecto importante, durante el procedimiento de fabricación de everolimus. Aunque algunas condiciones de reacción pueden permitir la reacción química deseada, también pueden causar, en otro sitio de la molécula, un cambio químico indeseado del macrólido dirigido.

35 La degradación y los productos secundarios deben ser eliminados por procedimientos de purificación bastante complicados, incl. cromatografía, lo que disminuye el rendimiento global y son el tiempo y el material que consume. Por lo tanto, un procedimiento de síntesis industrialmente útil debe evitar las reacciones secundarias de la manera máxima posible.

40 La presente invención se refiere a la vía de reacción que conduce al everolimus de fórmula (1), en la que la rapamicina de fórmula (2) se O-alkila selectivamente en la posición 40 por el compuesto de fórmula (3) siguiente, en la que L- es un grupo saliente adecuado y P- es un grupo protector OH adecuado, que normalmente es un grupo protector sililo de fórmula

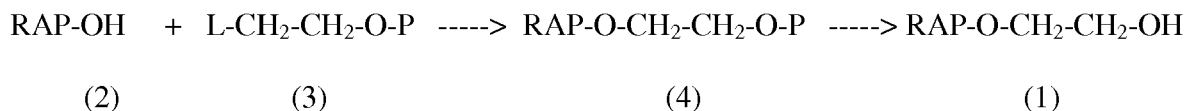


45 en la que R1, R2 y R3 son independientemente un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 10 átomos de carbono y/o un grupo fenilo.

Entonces, el compuesto intermedio formado de fórmula (4) se convierte en everolimus por eliminación del grupo protector P.

55 El procedimiento se ilustra en el esquema a continuación, en el que RAP representa el residuo de una rapamicina

sustituida en la posición 40:

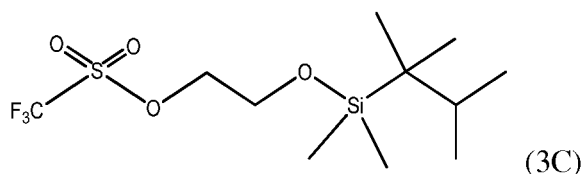


5 De acuerdo con la enseñanza anterior, la selección apropiada tanto del grupo saliente L- como del grupo protector P- es aparentemente de suma importancia. Por ejemplo, podría esperarse que la etapa de O-alkilación en el grupo OH unido al carbono 40 del esqueleto de rapamicina pudiera realizarse esencialmente en las mismas condiciones que, p. ej., en un ciclohexanol. Sin embargo, los grupos salientes comunes para la reacción de O-alkilación requieren
10 condiciones de reacción relativamente duras, de modo que la reacción de alquilación de la rapamicina se acompaña de enormes cantidades de productos secundarios y de descomposición. Por tanto, el uso de un grupo saliente trifluorometanosulfonato (triflato) extremadamente reactivo es una buena opción, ya que puede alquilar el grupo OH en la posición 40 en condiciones muy suaves.

15 Sin embargo, un compuesto reactivo es también un compuesto inestable. Ya se ha tratado anteriormente que los rendimientos de la alquilación de la rapamicina con el compuesto de fórmula (3A) son relativamente bajos - solo aproximadamente del 20 % - y el compuesto (3A), en un gran exceso molar, se carga en la mezcla de reacción en varias porciones. Estas dos características indican que el compuesto (3A) se ha descompuesto en gran medida en las condiciones de reacción elegidas. Sería deseable la estabilización del compuesto (3A), preferentemente sin una pérdida de reactividad, sin embargo, no se ha proporcionado ninguna indicación de cómo estabilizarse en la técnica
20 anterior.

25 Se encontró que el compuesto (3A) se puede reemplazar satisfactoriamente en la etapa de alquilación de rapamicina por triflato de 2-(t-hexildimetilsililo)etilo de fórmula (3C) de la presente invención. Este compuesto puede reaccionar con rapamicina en condiciones de reacción esencialmente similares, sin embargo, produce el everolimus protegido de fórmula general (4) con mejores rendimientos y con menos impurezas. Para la obtención de pruebas, véase el Ejemplo 7 a continuación.

30 Para una mayor claridad, el "t-hexilo" tal como se usa en la presente invención es una abreviatura para el resto 2,3-dimetilbut-2-il.

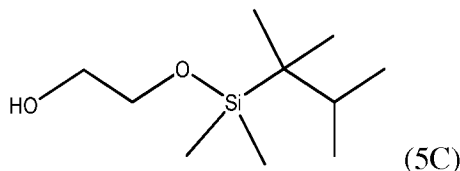


35 En un aspecto importante, mientras que el uso del grupo protector t-hexildimetilsililo genera un triflato más estable, dicho grupo es todavía lo suficientemente lábil como para ser eliminado en la siguiente etapa de síntesis de everolimus en condiciones ácidas suaves sin destruir el producto. A efectos de comparación, cuando se ensayó un grupo protector tri-isopropilsililo en compuestos de triflato de la fórmula general (3), se demostró que dicho grupo era útil para preparar el compuesto de fórmula general (4), pero causó grandes problemas (bajos rendimientos, elevada cantidad de impurezas) en la etapa de desprotección ya que la desprotección fue satisfactoria solo bajo condiciones
40 más duras.

45 En resumen, el uso del triflato de 2-(t-hexildimetilsililo)etilo (3C) para fabricar everolimus representa un mejor equilibrio entre la estabilidad y la reactividad y puede proporcionar everolimus con mayores rendimientos que cuando se usa el triflato de 2-(terc-butildimetilsililo)etilo (3A) o el triflato de 2-(terc-butildifenilsililo)etilo (3B) de la técnica anterior.

El triflato de 2-(t-hexildimetilsililo)etilo de fórmula (3C) se puede producir mediante un procedimiento de dos etapas.

50 En una primera etapa, el etilenglicol reacciona con cloruro de t-hexildimetilsililo en un disolvente inerte o, ventajosamente, sin usar un disolvente, en presencia de una base, que puede ser una base de hidruro o, ventajosamente, es una base de amina, que produce 2-(t-hexildimetilsililo)etanol de fórmula (5C).



En la segunda etapa, el compuesto (5C) reacciona con ácido trifluorometanosulfónico o un derivado activado del mismo, p. ej., con anhídrido trifluorometanosulfónico (anhídrido triflico), en presencia de una base. El procedimiento puede llevarse a cabo en condiciones análogas al procedimiento de fabricación del compuesto conocido (3A), es decir, en diclorometano. Sin embargo, los presentes inventores descubrieron que dicha reacción puede transcurrir ventajosamente en un disolvente alcano. La principal ventaja de este disolvente de alcano es que el segundo producto de la reacción, una sal de ácido triflico con la base, es insoluble en este disolvente y puede ser eliminada por una simple filtración. Por el contrario, el disolvente de diclorometano de la técnica anterior disuelve esta sal, que debe entonces ser eliminada mediante una extracción relativamente complicada.

Por tanto, el compuesto (5C) reacciona ventajosamente con ácido trifluorometanosulfónico o un derivado activado del mismo, p. ej., con anhídrido trifluorometanosulfónico (anhídrido triflico), en un disolvente alcano de C5-C12, en presencia de una base, que es preferentemente una base de amina, ventajosamente una base de amina terciaria. El "alcano" en esta consecuencia particular significa un alcano lineal o ramificado o cíclico así como mezclas de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos con un areno, p. ej., benceno o tolueno. Ventajosamente, el alcano es n-pentano, n-hexano o n-heptano.

La temperatura de reacción es normalmente ambiente o inferior a la ambiente, ventajosamente de -10 a -40 °C. La sal triflica insoluble formada de la base se elimina por filtración y el producto se aísla del filtrado, p. ej., por evaporación del disolvente. Después del aislamiento, el compuesto se puede obtener como un producto oleoso. También debe indicarse que se encontró que la eliminación de las sales de triflato por simple filtración, sin usar extracción acuosa, aumenta altamente la estabilidad del triflato sililado, aparentemente debido a evitar la formación de productos secundarios por hidrólisis durante la extracción. Por tanto, el procedimiento anterior proporciona el compuesto de fórmula (3C) sustancialmente libre de sales de amina del ácido triflico (es decir, menos del 10 % de la cantidad original de sales está presente después de la filtración), lo cual es ventajoso desde el punto de vista de la estabilidad.

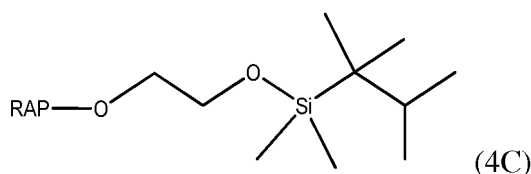
La calidad, es decir, el contenido y la pureza del triflato producido (3C) en el producto aislado debe determinarse ventajosamente antes de su uso en el procedimiento de fabricación de everolimus. Ya que el triflato no es detectable de por sí por procedimientos analíticos adecuados basados en la detección UV, se ha desarrollado un procedimiento de derivatización para controlar este compuesto. Este procedimiento de derivatización se basa en la reacción del triflato (3C) con un agente de derivatización, que es preferentemente una amina secundaria aromática, por ejemplo N-metilnilina. La amina terciaria aromática formada, que ahora lleva un grupo cromóforo, puede entonces ser detectada y/o su contenido puede determinarse mediante una técnica analítica adecuada, p. ej., por HPLC.

El mismo procedimiento de derivatización puede usarse para analizar la pureza y/o la estabilidad del compuesto de triflato de fórmula (3C) durante el almacenamiento.

En la primera etapa del procedimiento de fabricación de everolimus de la presente invención, el compuesto (3C) se hace reaccionar con rapamicina en un disolvente inerte y en presencia de una amina terciaria alifática. El disolvente puede ser un hidrocarburo alifático, cíclico o aromático de 5 a 10 átomos de carbono, normalmente tolueno, un hidrocarburo clorado de 1 a 6 átomos de carbono, normalmente diclorometano, un éter alifático o cíclico de 4 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 átomos de oxígeno, normalmente dimetoxietano, y mezclas de los mismos. El disolvente inerte es ventajosamente anhídrido, que contiene normalmente menos del 0,1 % de agua. El disolvente se puede desairear ventajosamente por un gas inerte, p. ej., por nitrógeno o argón, y la reacción puede transcurrir ventajosamente en la atmósfera de dicho gas inerte. La amina terciaria alifática es normalmente una base de tipo amina terciaria altamente impedida estéricamente, ya que dicha base es débilmente nucleófila debido al impedimento estérico. Ventajosamente, la base es una amina terciaria alifática con al menos dos grupos alifáticos ramificados. Los grupos alifáticos ramificados pueden ser iguales o diferentes y normalmente tienen 3-8 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen tris (2-metilpropil)amina y N,N-diisopropiletilamina. La relación molar del compuesto (3C) a rapamicina preferentemente no excede de 5:1, y normalmente es de aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones de aproximadamente 3:1 o incluso de aproximadamente 2:1. El compuesto (3C) se carga ventajosamente en una porción. La base se carga normalmente en un equivalente molar con respecto al compuesto (3C). La temperatura de reacción es normalmente una temperatura ambiente o mayor que la temperatura ambiente, preferentemente entre 25 °C y 75 °C. La reacción y elaboración de la mezcla de reacción puede, en una disposición ventajosa, transcurrir en ausencia de luz.

En un modo ventajoso, el curso de la reacción se controla mediante un procedimiento analítico adecuado, p. ej., por TLC o HPLC. En particular, se debe controlar la reacción de la presencia del triflato no reaccionado (3C), ya que se ha encontrado que la presencia del triflato que no ha reaccionado (3C) en la mezcla de reacción debe evitarse en la siguiente fase de elaboración de la mezcla de reacción. Por las razones tratadas anteriormente, el triflato se controla ventajosamente por el procedimiento de derivatización basado en la reacción de triflato (3C) con un agente de derivatización, que es preferentemente una amina secundaria aromática, normalmente N-metilnilina.

El producto de la reacción del compuesto (3C) con rapamicina es el compuesto de fórmula (4C),



que se puede aislar, opcionalmente, de la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se elabora normalmente mediante una extracción con una base acuosa, secado y eliminación del disolvente. El compuesto bruto (4C) se puede purificar opcionalmente, p. ej., por cromatografía, ventajosamente por cromatografía en columna empaquetada de sílice.

En la segunda etapa del procedimiento de la presente invención, el compuesto (4C) se somete a una reacción de desprotección, que elimina el grupo protector t-hexildimetilsililo. La desprotección se realiza haciendo reaccionar el compuesto (4C) con un ácido en un disolvente adecuado. El disolvente es normalmente un alcohol alifático de 1-5 átomos de carbono, ventajosamente metanol. El ácido es normalmente un ácido mineral u orgánico fuerte, ventajosamente ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico o ácido trifluoroacético. El ácido se puede cargar como una solución acuosa. La temperatura de la reacción es ventajosamente ambiente. La reacción se puede realizar ventajosamente bajo atmósfera inerte y en ausencia de luz y se puede controlar mediante un procedimiento analítico adecuado, p. ej., por TLC o HPLC.

Después de la terminación de la reacción, la mezcla de reacción se neutraliza con una base, ventajosamente con una base acuosa, más ventajosamente con una solución de bicarbonato de sodio, y se extrae con un disolvente orgánico inmiscible en agua. El producto se aísla de la fase orgánica, opcionalmente después del lavado y secado, mediante la eliminación del disolvente de extracción. El producto bruto se puede purificar, p. ej., por cromatografía, ventajosamente por cromatografía en columna empaquetada de sílice.

Por tanto, en resumen, los compuestos novedosos de fórmulas (3C) y (4C) se pueden usar como reactivos en un procedimiento de fabricación de everolimus. Mediante el uso de estos compuestos, el procedimiento de fabricación de everolimus puede ser más eficaz que los procedimientos divulgados en la técnica anterior.

Por consiguiente, los compuestos novedosos se pueden usar en la fabricación de derivados de everolimus, particularmente aquellos, que usan everolimus como material de partida. En un aspecto particular, el compuesto (4C) se puede usar para proteger o enmascarar el grupo 40-O- (2-hidroxi) en el anillo de rapamicina en un procedimiento de fabricación de derivados de everolimus.

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, pero no se deben interpretar como limitantes del alcance de la presente invención de ningún modo.

35 Ejemplos

Ejemplo 1: Trifluorometanosulfonato de 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililo)etilo

Etapa 1 -2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililo)etanol

En un matraz de fondo redondo de 1 l se mezclaron etano-1,2-diol (100,02 g, 1,611 mol) y cloro (2,3-dimetilbutan-2-il)dimetilsilano (43,40 g, 243 mmol) para dar dos capas líquidas incoloras no miscibles. El matraz se colocó en un baño de agua ajustado a 30 °C. Se añadió piridina (299 ml, 3,699 mol) en aprox. 30 s bajo agitación, por la que se formó una solución. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h.

Después se neutralizó la mezcla con 2 g de acetato sódico y 12,75 g de carbonato sódico. La mezcla se agitó durante 20 min a 30 °C y se dejó durante una noche.

La piridina se separó por destilación usando vacío (vacío de 50 mbar, temperatura del baño de 50 °C-75 °C). El residuo (suspensión amarilla) se enfrió y se repartió entre agua (200 ml) y metil t-butiléter (200 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua (200 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ (20 g). Los disolventes se eliminaron por destilación al vacío (330 a 160 mbar, temperatura del baño a 60 °C) para dar el producto bruto en forma de un aceite amarillo (57,5 g). El producto bruto se purificó adicionalmente por destilación al vacío (vacío de 25 a 2 mbar, temperatura del baño de 90 °C-100 °C). Se recogieron dos fracciones que contenían el producto: fracción 2 (24,10 g, punto de ebullición 50-55 °C/2-3 mbar) y fracción 3 (17,40 g, punto de ebullición 55-60 °C/2-3 mbar). En total se obtuvieron 41,2 g (82,9 % del rendimiento teórico).

Etapa 2

A un matraz de 100 ml cargado con anhídrido trifluorometanosulfónico (0,889 ml, 5,28 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadió gota a gota a -8 °C, 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililo)etanol (0,9 g, 4,40 mmol) y N,N-diisopropiletilamina

(1,151 ml, 6,61 mmol). Se formó una solución anaranjada y se agitó durante 30 minutos a -8 °C. La solución anaranjada se concentró hasta un sólido marrón/naranja, que se purificó usando cromatografía en columna sobre gel de sílice (CH₂Cl₂, Rf 0,8). Después de la concentración de la fracción derecha, el producto se obtuvo en forma de un aceite.

5

Ejemplo 2: Trifluorometanosulfonato de 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etilo

La reacción se llevó a cabo bajo nitrógeno. En un matraz de fondo redondo de 1 l, se agitaron 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etanol (18,29 g, 89 mmol) y N-etil-N-isopropil-2-aminopropano (12,14 g, 94 mmol) en n-heptano (366 ml) para dar una solución incolora. La solución se enfrió bajo agitación (temperatura del baño de -30 °C). Se cargó un embudo de adición de 250 ml con una solución de anhídrido trifluorometanosulfónico (25,20 ml, 89 mmol) en n-heptano (183 ml). Esta solución se añadió gota a gota durante 15 minutos a la mezcla de reacción (el precipitado blanco comenzó a formarse inmediatamente) mientras se mantenía la temperatura de la mezcla de reacción entre -33 °C y -25 °C. La mezcla de reacción se agitó a una temperatura entre -30 °C y -15 °C durante 120 minutos. El precipitado se separó por filtración. El filtrado se filtró a través de gel de sílice (65 g), el gel de sílice se lavó con heptano (1.000 ml). El líquido combinado se evaporó para dar el producto deseado.

El rendimiento total fue de 26,07 g (86,6 % del rendimiento teórico).

Ejemplo 3: Procedimiento de derivatización para la determinación de trifluorometanosulfonato de 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etilo

Muestra modelo:

Se cargó 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etanol (232 mg, pureza del 97,9 %, 1,112 mmol) en un matraz de reacción y se añadió pentano (3 ml) seguido de N-etil-N-isopropil-2-aminopropano (0,203 ml, 1,192 mmol). La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C. Se disolvió anhídrido trifluorometanosulfónico (320 mg, 1,135 mmol) en 3 ml de pentano y esta solución se añadió a la mezcla de reacción agitada durante 5 minutos usando una jeringa mientras se mantenía la temperatura a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min.

30

Derivatización:

Se añade inmediatamente a la muestra modelo, 10 ml de solución de agente de derivatización (solución 1M de N-metilanilina en acetonitrilo:diclorometano 3:1 v/v) usando una pipeta y el matraz de reacción con la mezcla se sumerge en un baño de agua (temperatura ambiente). La mezcla de derivatización se agita a temperatura ambiente durante 15 minutos. El contenido del matraz de reacción se transfiere a un matraz aforado de 50 ml y el volumen se enrasa con acetonitrilo. 1 ml de esta solución se transfiere a un matraz aforado de 25 ml y el volumen se enrasa con acetonitrilo. Esta muestra (10 µl) se inyecta en la HPLC y se analiza. La recuperación determinada por HPLC es de 355 mg (95 % del rendimiento teórico).

35

Ajustes de HPLC:

Columna analítica:	Gemini C18 110 A, 150 x 4,6 mm, 5 µm	
Guarda columna:	n.a.	
Temperatura de columna	ambiente	
Caudal	1 ml/min	
Detección	UV 255 nm	
Volumen de inyección	10 µl	
Programa de gradiente:	tiempo [min]	conc. de B [%]
	0	50
	5	55
	11	95
	18	95
	19	50
	24	50

Fase móvil A: 20 mM de tampón formiato de amonio pH 4 (1,26 g de NH₄CO₂H en 1 l de agua, pH ajustado a pH = 4 por ácido fórmico (diluido)).
Fase móvil B: Acetonitrilo

45

Ejemplo 4: Uso del procedimiento de derivatización para ensayar la estabilidad del triflato (3C)

a) Estabilidad del triflato en diclorometano

- 5 A un matraz de reacción de 10 ml, se añadieron 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etanol (200 mg, 0,979 mmol) y triisobutilamina (181 mg, 0,979 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml). La mezcla de reacción se enfrió hasta -10 °C bajo nitrógeno. En un matraz de 5 ml, se preparó una solución de anhídrido trifluorometanosulfónico (276 mg, 0,979 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml). Esta solución se añadió gota a gota a la mezcla de reacción durante 5 minutos. La mezcla de reacción (solución) se agitó durante 20 minutos a -10 °C. La temperatura de la mezcla de reacción se ajustó a
- 10 temperatura ambiente y el contenido de triflato se determinó por el procedimiento de HPLC en varios momentos. Los resultados se presentan en la siguiente tabla (el contenido de triflato se expresa como % del rendimiento teórico corregido para la pureza del material de partida 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)-etanol).

Tiempo (horas)	Rendimiento de triflato (% de rendimiento teórico)
0	81,89
1	72,52
2	71,50
4	68,48
6	67,68

15 b) Estabilidad de triflato en pentano

- A un matraz de reacción, se añadieron 2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etanol (400 mg, 1,957 mmol) y triisobutilamina (0,474 ml, 1,957 mmol) en 6 ml de pentano. La mezcla de reacción se enfrió hasta -10 °C bajo nitrógeno. En un matraz se preparó una solución de anhídrido trifluorometanosulfónico (552 mg, 1,957 mmol) en
- 20 pentano (6 ml). Esta solución se añadió gota a gota a la mezcla de reacción durante 5 minutos. La suspensión de reacción se agitó a -10 °C durante 20 minutos y los sólidos se separaron por filtración y se lavaron con 5 ml de pentano. La temperatura del filtrado se ajustó a temperatura ambiente y el contenido de triflato se determinó por el procedimiento de HPLC en varios momentos. Los resultados se presentan en la siguiente tabla (el contenido de triflato se expresa como % del rendimiento teórico corregido para la pureza del material de partida 2-((2,3-dimetilbut-
- 25 2-il)dimetilsililoxi)etanol).

Tiempo (horas)	Rendimiento de triflato (% de rendimiento teórico)
0	89,05
1	89,09
2	89,54
4	90,28
6	90,29

Ejemplo 5: 40-O-[2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etil]rapamicina

- 30 En un matraz de 100 ml, se disolvió rapamicina (6 g, 6,56 mmol) en dimetoxietano (4,2 ml) y tolueno (24 ml) para dar una suspensión blanca y la temperatura se elevó a 70 °C. Después de 20 minutos, se añadieron N,N-diisopropiletilamina (4,56 ml, 27,6 mmol) y trifluorometanosulfonato de 2-((2,3-dimetilbutan-2-il)dimetilsililoxi)etilo (8,83 g, 26,3 mmol) en 2 porciones con un intervalo de 2 h a 70 °C. La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente, entonces se diluyó con EtOAc (40 ml) y se lavó con NaHCO₃ sat. (30 ml) y salmuera (30 ml).
- 35 La capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se cromatografió en una columna de gel de sílice (EtOAc/heptano 1/1; rendimiento de 4,47 g).

Ejemplo 6: 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina [everolimus]

- 40 En un matraz de 100 ml, se disolvió 40-O-[2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etil]rapamicina (4,47 g, 4,06 mmol) en metanol (20 ml) para dar una solución incolora. A 0 °C, se añadió ácido clorhídrico acuoso 1N (2 ml), 2 mmol) y la mezcla se agitó durante 90 min. La reacción fue seguida por TLC (acetato de etilo/n-heptano 3:2) y HPLC. Entonces se añadieron 20 ml de NaHCO₃ acuoso saturado, seguido de 20 ml de salmuera y 80 ml de acetato de etilo. Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con NaCl acuoso saturado hasta pH de 6/7. La capa orgánica se secó
- 45 con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para producir 3,3 g del producto.

Ejemplo 7: Preparación de rapamicina sililoxietilada - Resultados comparativos A] 40-O-[2-(t-butildimetilsil)oxi]etil-rapamicina - Reproducción del documento WO94/09010,**Ejemplo 8 (el experimento se realizó a una escala del 10 % de dicho Ejemplo 8)**

5 Se usaron reactivos con el siguiente contenido de agua: tolueno (0,002 % de H₂O) y 2,6-lutidina (0,015 % de H₂O). Se calentó una solución de rapamicina (0,914 g, 1 mmol) y 470 µl de 2,6-lutidina (4 mmol) en 3 ml de tolueno seco a 60 °C. Entonces, se añadieron la solución de triflato de 2-(terc-butildimetilsililoxi)etilo (0,795 g, ensayo del 77,6 %, corresponde a 0,617 g de material al 100 %, 2 mmol) y 235 µl de 2,6-lutidina (2 mmol) en 2 ml de tolueno seco. Esta
10 mezcla se agitó durante 1,5 h a 60 °C.

Entonces, se añadieron la solución de triflato de 2-(terc-butildimetilsililoxi)etilo (0,397 g, ensayo del 77,6 %, corresponde a 0,308 g de material al 100 %, 1 mmol) y 120 µl de 2,6-lutidina (1 mmol) en 2 ml de tolueno seco. La
15 mezcla se agitó durante 1,5 h a 60 °C.

Entonces, se añadieron la solución de triflato de 2-(terc-butildimetilsililoxi)etilo (0,397 g, ensayo del 77,6 %, corresponde a 0,308 g de material al 100 %, 1 mmol) y 120 µl de 2,6-lutidina (1 mmol) en 2 ml de tolueno seco. La
mezcla se agitó durante 2 h a 60 °C. Después, la suspensión se enfrió hasta 20-25 °C y los sólidos se separaron por
20 filtración y se lavaron con 2 ml de tolueno. La conversión se verificó por HPLC: la mezcla de reacción contiene 80,2 % de rapamicina y 18,3 % de producto (% de área).

El filtrado se diluyó con EtOAc (25 ml) y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2 x 25 ml) y una solución saturada de NaCl (1 x 25 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo (m=1,23 g)
se añadió a una columna de gel de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano:EtOAc (40:60 v/v). Las fracciones se
25 recogieron, se analizaron por HPLC y se combinaron fracciones de pureza similar. Después de la evaporación de los disolventes, el producto se obtuvo en dos porciones: 0,15601 g, pureza del 98,19 %, corresponde a 153,186 mg de material al 100 % y 0,05008 g, pureza del 59,49 %, corresponde a 29,793 mg de material al 100 %. El rendimiento total calculado como material al 100 % fue de 182,979 mg, 17,1 % del rendimiento teórico.

30 B] 40-O-[2-(t-butildimetilsil)oxi]etil-rapamicina - Reproducción del documento de EE.UU 2003/0125800, Ejemplo 1, etapa C

Se usaron reactivos con el siguiente contenido de agua: tolueno (0,002 % de H₂O) y 2,6-lutidina (0,015 % de H₂O).

35 Se calentó una solución de rapamicina (400 mg, 0,438 mmol) y 1,9 ml de 2,6-lutidina (16,31 mmol) en 10 ml de tolueno a 55-57 °C. Entonces, se añadieron la solución de triflato de 2-(terc-butildimetilsililoxi)etilo (3,183 g, ensayo del 77,6 %, corresponde a 4,47 g de material al 100 %, 8 mmol, 18,3 eq sobre rapamicina) y 940 µl de 2,6-lutidina (8,07 mmol) en 1 ml de tolueno. Esta mezcla se agitó durante 1,5 h a 55-57 °C.

40 Entonces, se añadieron 480 µl de 2,6-lutidina (4,12 mmol) a la mezcla de reacción e inmediatamente después se añadió triflato de 2-(terc-butildimetilsililoxi)etilo (1,593 g, ensayo del 77,6 %, corresponde a 1,236 g de material al 100 %, 4 mmol, 9,16 eq. sobre rapamicina). Esta mezcla se agitó durante 1 h a 55-57 °C.

45 Después, se añadieron 480 µl de 2,6-lutidina (4,12 mmol) a la mezcla de reacción e inmediatamente después se añadió triflato de 2-(terc-butildimetilsililoxi)etilo (1,593 g, ensayo del 77,6 %, corresponde a 1,236 g de material al 100 %, 4 mmol, 9,16 eq. sobre rapamicina). Esta mezcla se agitó durante 1,5 h a 55-57 °C. La suspensión de reacción se enfrió hasta 20-25 °C. Los sólidos se separaron por filtración y se lavaron con 5 ml de tolueno. La conversión se verificó por HPLC: la mezcla de reacción contiene 83,7 % de rapamicina y 15,2 % de producto (% de área).

50 El filtrado se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2 x 60 ml) y una solución saturada de NaCl (1 x 30 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró (0,68 g).

El producto bruto se añadió a una columna de gel de sílice (16 g) y se eluyó con una mezcla de hexano:EtOAc (40:60 v/v). Las fracciones se recogieron, se analizaron por HPLC y se combinaron fracciones de pureza similar.
55 Después de la evaporación de los disolventes, el producto se obtuvo en dos porciones: 0,09102 g, pureza del 93,9 %, corresponde a 85,47 mg de material al 100 % y 0,0127 g, pureza del 43,65 %, corresponde a 5,544 mg de material al 100 %. El rendimiento total calculado como material al 100 % fue de 101,134 mg, 19,4 % del rendimiento teórico.

60 C] 40-O-[2-((2,3-dimetilbut-2-il)dimetilsililoxi)etil]rapamicina

Se añadieron rapamicina (300 mg, 0,328 mmol), tolueno (1,2 ml), 1,2-dimetoxietano (0,20 ml) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (148 µl, 0,863 mmol) a 3 ml de matriz piriforme y la mezcla se calentó a 65 °C, dando finalmente una solución transparente. Después de 5 min, se añadió inmediatamente a la solución, triflato de 2-((2,3-dimetilbutan-2-il)dimetilsililoxi)etilo (276 mg, ensayo del 79,8 % 0,655 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 65 °C
65 durante 4 horas y se tomaron muestras en los siguientes intervalos de tiempo para controlar el progreso de la

reacción.

Tiempo de reacción:	Rapamicina (% de área)	Producto (% de área)
2 horas	34,2 %	55,5 %
3 horas	28,2 %	60,6 %
4 horas	21,8 %	63,1 %

5 La mezcla de reacción se enfrió. El peso de la mezcla de reacción fue de 1,778 g. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (10 ml), se transfirió a un embudo de decantación y se lavó con 10 ml de NaHCO₃ y NaCl saturado (10 ml; solución al 10 %). la capa orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó a vacío (temperatura del baño a 35 °C) para dar un 0,520 g de producto bruto.

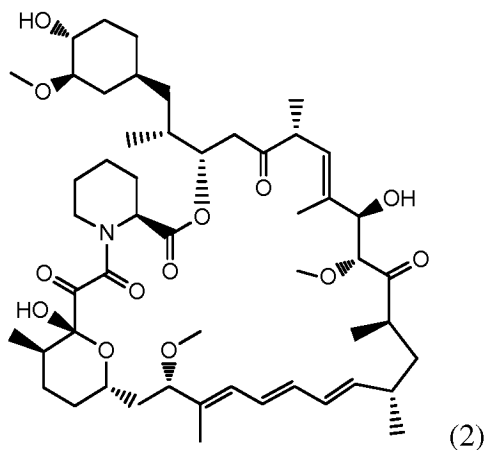
10 El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (10 g de gel de sílice, eluyente, heptano-EtOAc 70:30). Se recogieron fracciones (10 ml), se analizaron y se combinaron fracciones de pureza similar. Después de la evaporación de los disolventes, se obtuvo 166 mg del producto, pureza del 97,3 %, corresponde a 161,52 mg de material al 100 %, 44,7 % del rendimiento teórico.

15 La invención que ha sido descrita será evidente que la misma puede variarse de muchas maneras y todas estas modificaciones se contemplan por estar dentro del alcance de la invención como se define por las siguientes reivindicaciones.

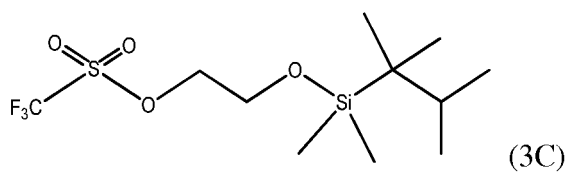
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento, que comprende:

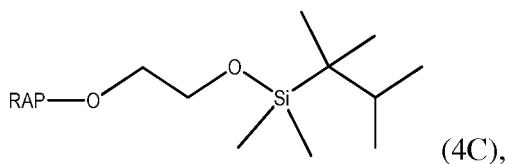
5 una etapa de reacción de rapamicina de fórmula (2)



10 con triflato de 2-(t-hexildimetilsililo)etilo de fórmula (3C)



15 en un disolvente inerte, en donde el disolvente es un hidrocarburo alifático, cíclico o aromático de 5 a 10 átomos de carbono, un hidrocarburo clorado de 1 a 6 átomos de carbono, un éter alifático o cíclico de 4 a 10 átomos de carbono y de 1 a 3 átomos de oxígeno y mezclas de los mismos, en presencia de una amina terciaria alifática para formar 40-O-2-(t-hexildimetilsililo)etilrapamicina de fórmula (4C)



20 en la que "RAP" representa el residuo de una rapamicina sustituida con O en la posición 40

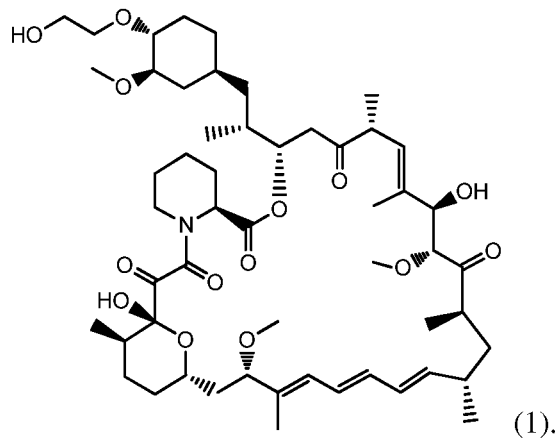
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el disolvente se selecciona de entre tolueno, diclorometano, dimetoxietano y mezclas de los mismos.

25 3. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que la relación molar del compuesto de fórmula (3C) con respecto al compuesto de fórmula (2) es inferior a 5:1.

30 4. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1-3, en el que la reacción se controla de la presencia del compuesto de fórmula (3C), mediante un procedimiento de derivatización basado en la reacción del compuesto (3C) con una amina secundaria aromática.

5. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1-4, que comprende adicionalmente aislar o extraer dicho compuesto de fórmula (4C) de la mezcla de reacción.

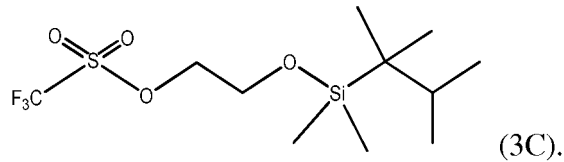
35 6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprenden adicionalmente hacer reaccionar el compuesto (4C) con un ácido para formar everolimus de fórmula (1):



7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el ácido es ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico o ácido trifluoroacético.

5

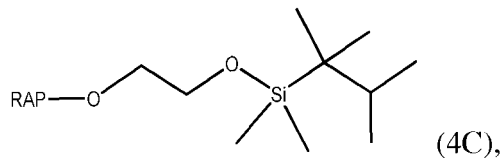
8. Un compuesto triflato de 2-(t-hexildimetilsililoxi)etilo de fórmula (3C)



10 9. Un procedimiento de control de la calidad del compuesto de fórmula general (3C), que comprende una reacción de derivatización del compuesto de fórmula (3C) con una amina secundaria aromática y una detección y/o una determinación del contenido del producto de la reacción de derivatización mediante una técnica analítica adecuada.

15

10. Un compuesto 40-O-2-(t-hexildimetilsililoxi)etilrapamicina de fórmula (4C)



en la que "RAP" representa el residuo de una rapamicina sustituida con O en la posición 40.

20 11. Uso del compuesto de fórmulas (3C), (4C) y/o (5C) en un procedimiento de fabricación de everolimus.