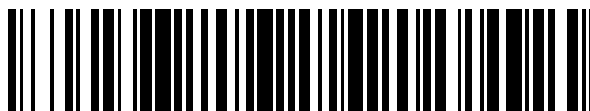


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 262**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7068 (2006.01)

C07F 7/08 (2006.01)

C07H 19/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.05.2009 PCT/GB2009/001134**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.11.2009 WO09136158**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.05.2009 E 09742354 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018 EP 2291193**

54 Título: **Preparación de los intermedios útiles en la síntesis de 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-β-D-arabinofuranosilcitosina**

30 Prioridad:

08.05.2008 GB 0808357

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

26.11.2018

73 Titular/es:

**CYCLACEL LIMITED (100.0%)
New Bridge Street House, 30 - 34 New Bridge
Street
London EC4V 6BJ, GB**

72 Inventor/es:

**WOOD, GAVIN JEFFREY;
WESTWOOD, ROBERT;
MUROFUSHI, TSUYOSHI;
NUMAGAMI, EIJI y
TAKITA, TAKASHI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 691 262 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

Preparación de los intermedios útiles en la síntesis de 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-β-D-arabinofuranosilcitosina

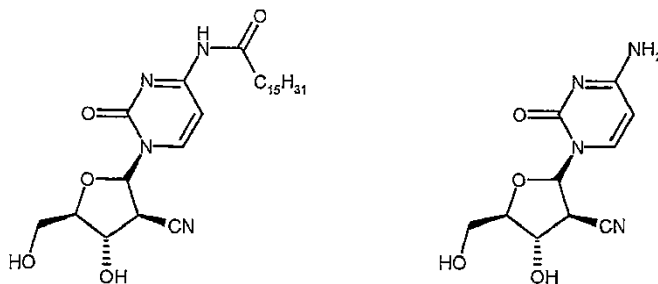
5 La presente invención se refiere a la preparación de productos intermedios útiles en la síntesis de 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-β-D-arabinofuranosilcitosina, un nucleósido de pirimidina terapéuticamente útil en el tratamiento y/o prevención del cáncer. En el presente documento también se describe un proceso mejorado para la preparación de 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-β-D-arabinofuranosilcitosina.

10 Antecedentes de la invención

El uso terapéutico de los nucleósidos de pirimidina en el tratamiento de trastornos proliferativos ha sido bien documentado en la técnica. A modo de ejemplo, los agentes antitumorales disponibles en el mercado de la serie de pirimidina incluyen 5-fluorouracilo (Duschinsky, R., et al., J. Am. Chem. Soc., 79, 4559 (1957)), Tegafur (Hiller, SA., et al., Dokl. Akad. Nauk USSR, 176, 332 (1967)), UFT (Fujii, S., et al., Gann, 69, 763 (1978)), Carmofur (Hoshi, A., et al., Gann, 67, 725 (1976)), Doxifluridina (Cook, AF, et al., J. Med. Chem., 22, 1330 (1979)), Citarabina (Evance, J.S., et al., Proc. Soc. Exp. Bio. Med., 106, 350 (1961), Ancitabina (Hoshi, A., et al., Gann, 63, 353, (1972)) y Enocitabina (Aoshima, M., et al., Cancer). Res., 36, 2726 (1976)).

20 La patente EP 536936 (Sankyo Company Limited) describe varios derivados 2'-ciano-2'-desoxi de la 1-β-D-arabinofuranosilcitosina que se ha demostrado que exhiben una actividad antitumoral valiosa. Un compuesto particular descrito en la patente EP 536936 es la 2'-ciano-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-β-D-arabinofuranosilcitosina (denominada en lo sucesivo "682" o "CYC682"); este compuesto se encuentra actualmente bajo investigación.

25 CYC682, también conocido como 1-(2-ciano-2-dioxi-β-D-arabino-pentofuranosil)-N4-palmitoil citosina, (Hanaoka, K., et al., Int. J. Cancer, 1999: 82: 226-236; Donehower R, et al., Proc Am Soc Clin Oncol, 2000: abstract 764; Burch, PA, et al., Proc Am Soc Clin Oncol, 2001: abstract 364), es un nuevo profármaco antimetabolito de administración oral de 2'-deoxicitidina del nucleósido CNDAC, 1-(2-C-Ciano-2-desoxi-β-D-arabino-pentafuranosil)-citosina.



CYC682

CNDAC

30 CYC682 tiene un modo de acción único sobre otros metabolitos nucleosídicos, como la gemcitabina, ya que tiene una acción de ruptura de la cadena de ADN espontánea, que resulta en una potente actividad antitumoral en una variedad de líneas celulares, xenoinjerto y modelo de cáncer metastásico.

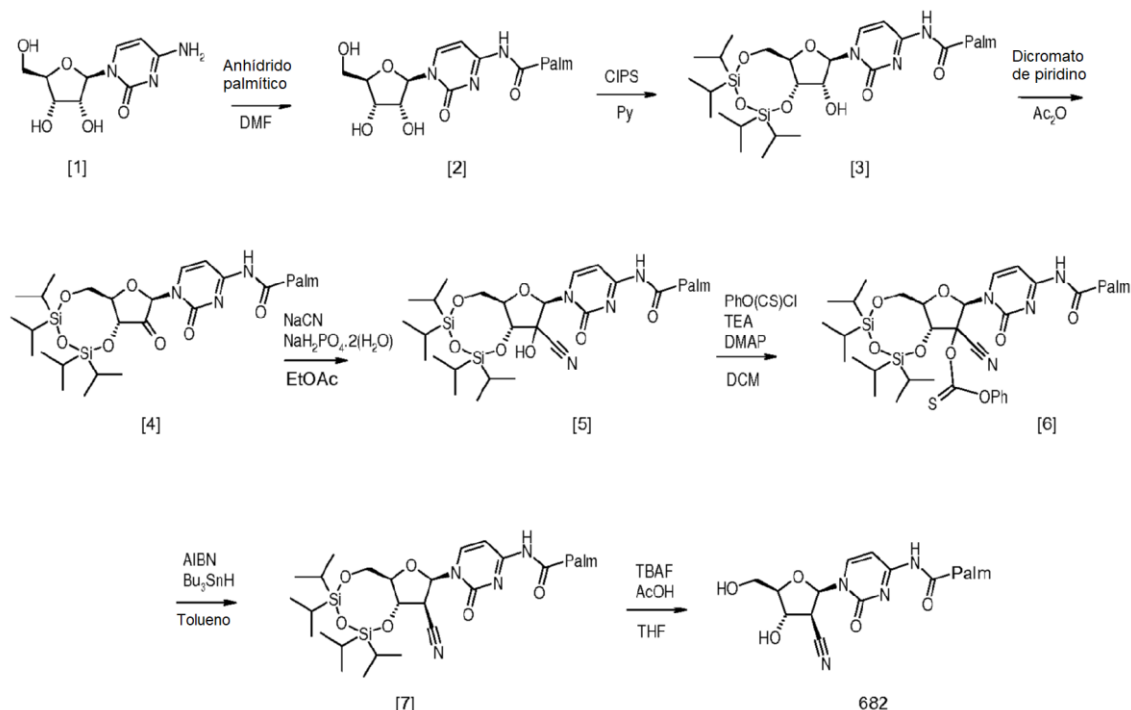
35 CYC682 ha sido el foco de varios estudios en vista de su biodisponibilidad oral y su actividad mejorada con respecto a la gemcitabina (el principal análogo de nucleósido comercializado) y 5-FU (un fármaco antimetabolito ampliamente utilizado) basado en datos preclínicos en tumores sólidos. Recientemente, los investigadores informaron que CYC682 exhibió una fuerte actividad anticancerígena en un modelo de cáncer de colon. En el mismo modelo, se encontró que CYC682 es superior a la gemcitabina o al 5-FU en términos de aumento de la supervivencia y también previene la propagación de metástasis del cáncer de colon al hígado (Wu M, et al., Cancer Research, 2003: 63: 2477-2482). Hasta la fecha, los datos de fase I de pacientes con una variedad de cánceres sugieren que CYC682 es bien tolerado en seres humanos, con la mielosupresión como la toxicidad limitante de la dosis.

45 Estudios más recientes se han centrado en diferentes formas cristalinas de CYC682 (véase, por ejemplo, el documento WO 02/064609 a nombre de Sankyo Company Limited) y formulaciones optimizadas que contienen CYC682 que muestran una estabilidad mejorada y que permiten un procesamiento más sencillo (ver, por ejemplo, documento WO 07/072061 a nombre de Cyclacel Limited).

50 La preparación de CYC682 descrita en la patente EP 536936 (ver Esquema 1 a continuación) implica hacer reaccionar citidina [1] con anhídrido palmítico en DMF para formar N4-palmitoilcitidina [2] y a continuación proteger con 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano (CIPS) para formar el intermedio [3]. La oxidación de [3] con dicromato de piridinio/anhídrido acético en diclorometano produce una cetona intermedia [4], que a continuación reacciona con cianuro de sodio y dihidrogenofosfato de sodio dihidratado en acetato de etilo para formar la

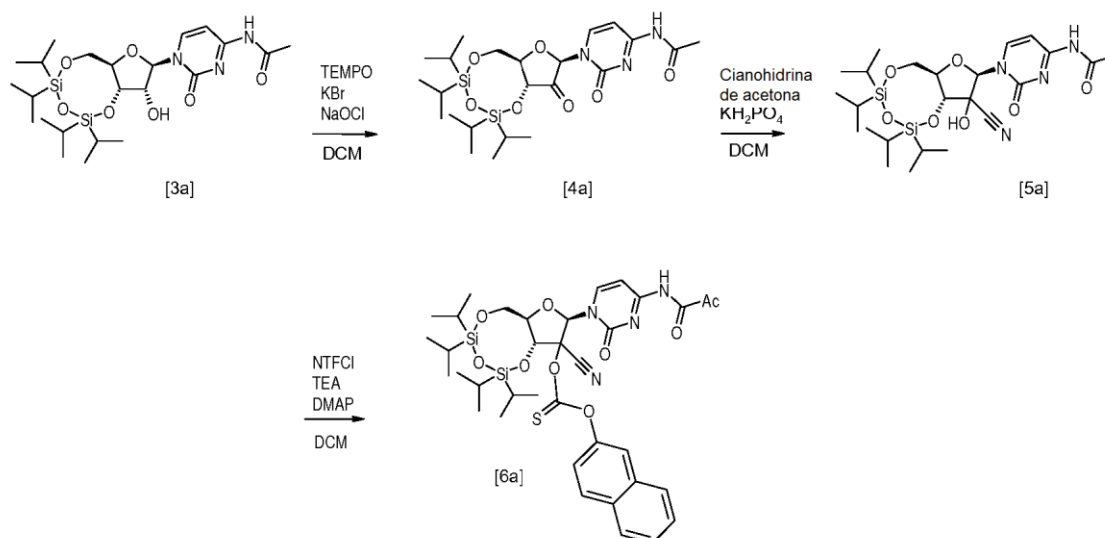
cianohidrina [5]. El intermedio [5] se hace reaccionar a continuación con N,N-dimetilaminopiridina, cloruro de fenoxitiocarbonilo y trietilamina para formar el intermedio [6], que posteriormente se hace reaccionar con AIBN e hidruro de tributilestaño en tolueno para dar el intermedio [7]. La desprotección de [7] con ácido acético y fluoruro de tetrabutilamonio en THF produce el producto deseado, CYC682.

5



Esquema 1: Preparación de CYC682 como se describe en la patente EP 536936

- 10 Otras modificaciones a la ruta descrita anteriormente se han desvelado en la patente JP 07053586 (Sankyo Company Limited). En particular, la patente JP 07053586 describe que la etapa de oxidación se puede lograr utilizando el radical libre de 2,2,6,6-tetrametil piperidiniloxi (TEMPO), NaOCl y un haluro de metal alcalino (ver conversión de [3a] a [4a] en el Esquema 2 a continuación). Además, la conversión de la cetona [4a] en la cianohidrina intermedia [5a] se puede lograr tratando [4a] con cianohidrina de acetona en lugar de NaCN. La cianohidrina [5a] resultante puede tratarse a continuación con 2-naftilclorotioformato para dar el compuesto intermedio [6a].
- 15



20

Esquema 2: Condiciones alternativas descritas en la patente JP 07053586

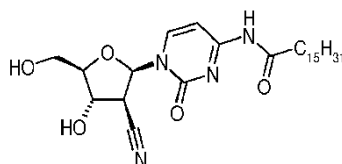
Sin embargo, a pesar de estas modificaciones, las rutas descritas anteriormente se asocian con rendimientos

relativamente pobres y/o un alto nivel de variabilidad, lo que destaca la necesidad de mejores estrategias sintéticas.

La presente invención busca, por lo tanto, proporcionar un proceso mejorado para preparar CYC682. Más específicamente, la invención busca proporcionar una ruta sintética que dé lugar a rendimientos mejorados de CYC682 y/o que sean adecuados para la preparación a gran escala de este compuesto.

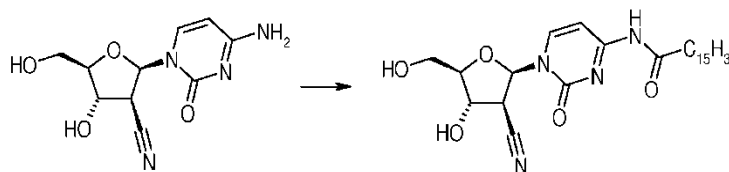
Declaración de la invención

Un primer aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula 682 que está en forma de un solvato de metanol.



682

Un segundo aspecto de la invención se refiere a un proceso para preparar un solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 definido en la reivindicación 1, dicho proceso que comprende las etapas de:



682-9

682

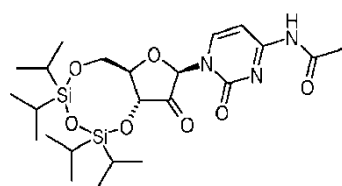
(i) tratar un compuesto de fórmula 682-9 con anhídrido palmítico en una mezcla de H₂O/dioxano para formar un compuesto de fórmula 682;

(ii) tratar el producto formado en la etapa (i) con metanol para formar un solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 (forma K);

(iii) aislar el solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 (forma K) formado en la etapa (ii);

(iv) opcionalmente, purificar el producto de la etapa (iii) por recristalización.

En el presente documento también se describe un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-4,



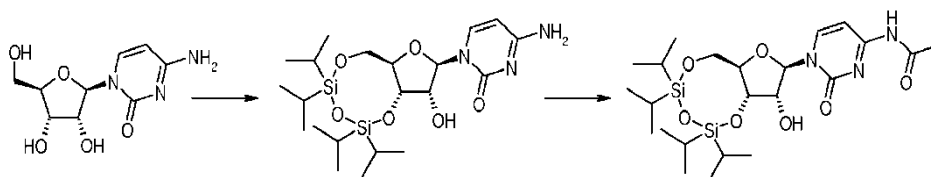
682-4

dicho proceso que comprende las etapas de:

(i) convertir un compuesto de fórmula 682-1 en un compuesto de fórmula 682-2';

(ii) convertir dicho compuesto de fórmula 682-2' en un compuesto de fórmula 682-3; y

(iii) convertir dicho compuesto de fórmula 682-3 en un compuesto de fórmula 682-4



682-1

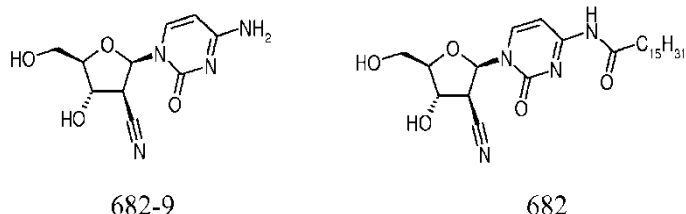
682-2'

682-3

De manera ventajosa, la inversión de las dos primeras etapas de la síntesis para incorporar el grupo protector CIPS

antes del grupo protector -NH₂ da lugar a un material intermedio de mejor calidad 682-4, que forma el sustrato para la reacción posterior con cianohidrina en la preparación de CYC682.

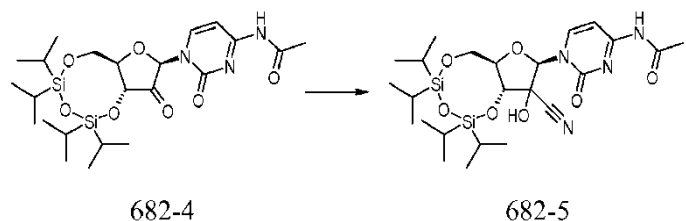
En el presente documento también se describe un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-9 o 682,



dicho proceso que comprende las etapas de:

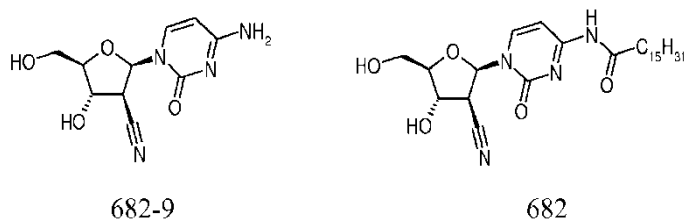
- (A) preparar un intermedio de fórmula 682-4 como se ha descrito anteriormente;
- (B) convertir dicho compuesto de fórmula 682-4 en un compuesto de fórmula 682-9; y
- (C) convertir opcionalmente dicho compuesto de fórmula 682-9 en un compuesto de fórmula 682.

En el presente documento también se describe un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-5, dicho proceso que comprende tratar un compuesto de fórmula 682-4 con cianohidrina de acetona y NEt₃ en heptano.



De manera ventajosa, el uso de cianohidrina de acetona y NEt₃ en heptano da lugar a un mejor rendimiento y una purificación más fácil del intermedio 682-5 en comparación con las condiciones de reacción previamente conocidas en la técnica.

En el presente documento también se describe un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-9 o 682,

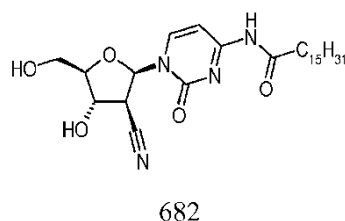


dicho proceso que comprende las etapas de:

- (A'') preparar un intermedio de fórmula 682-5 como se ha descrito anteriormente;
- (B'') convertir dicho compuesto de fórmula 682-5 en un compuesto de fórmula 682-9;
- (C'') convertir opcionalmente dicho compuesto de fórmula 682-9 en un compuesto de fórmula 682.

Descripción detallada

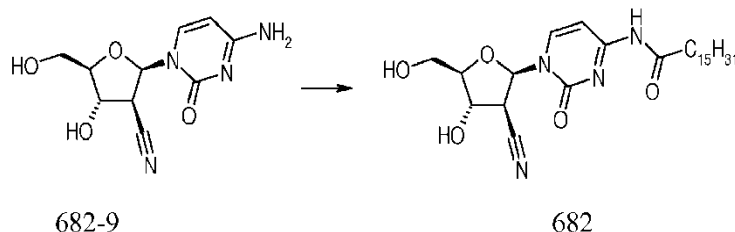
Como se ha descrito anteriormente, un primer aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula 682 que está en forma de un solvato de metanol.



Preferiblemente, el compuesto está en forma cristalina.

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para preparar un solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 definido en la reivindicación 1, dicho proceso que comprende las etapas de:

5



(i) tratar un compuesto de fórmula 682-9 con anhídrido palmítico en una mezcla de H₂O/dioxano para formar un compuesto de fórmula 682:

10 (ii) tratar el producto formado en la etapa (i) con metanol para formar un solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 (forma K);

(iii) aislar el solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 (forma K) formado en la etapa (ii);

(iv) opcionalmente, purificar el producto de la etapa (iii) por recrystalización.

15 En el presente documento también se describe un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-4, dicho proceso que comprende las etapas de:

(i) convertir un compuesto de fórmula 682-1 en un compuesto de fórmula 682-2':

(ii) convertir dicho compuesto de fórmula 682-2' en un compuesto de fórmula 682-3; y

20 (iii) convertir dicho compuesto de fórmula 682-3 en un compuesto de fórmula 682-4.

De manera ventajosa, la incorporación del grupo protector CIPS en primer lugar en la etapa (i) produce un producto sólido, 682-2', que se puede purificar más fácilmente (por ejemplo, mediante lavado) para eliminar los subproductos no deseados y cualquier exceso del grupo protector CIPS reactivo. Una vez purificado, el intermedio 682-2' sólido así producido se aclara para dar el intermedio 682-3, que posteriormente se oxida para dar el intermedio 682-4. La capacidad de purificar 682-2' en forma sólida da lugar a un material de mejor calidad para su uso en las etapas posteriores del proceso, lo que lleva a rendimientos más altos y una mejor reproducibilidad. Más particularmente, la ruta anterior da lugar a un intermedio de mejor calidad 682-4, que es el sustrato para la subsiguiente reacción de cianohidrina en la síntesis de CYC682.

30 Preferiblemente, la etapa (i) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-1 con 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano (CIPS) en piridina. Más detalles de esta reacción se reportan en Org. Process Dev., 4, 172 (2000); Patente de Estados Unidos 6.531.584 B1 (2003); Org. Lett., 8, 55 (2006).

35 Preferiblemente, la etapa (ii) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-2' con anhídrido acético en EtOH. Alternativamente, se puede usar DMF como disolvente [véase *Angew. Chem. Int. Ed.*, 43, 3033 (2004)].

Los agentes oxidantes para convertir el compuesto 682-3 en el compuesto 682-4 en la etapa (iii) serán familiares para el experto en la materia. A modo de ejemplo, la conversión se puede lograr mediante oxidación con periodinano de Dess-Martin [análogo a los métodos descritos en *Helv. Chim. Acta*, 85, 224 (2002) y *J. Org. Chem.*, 55, 5186 (1990)], oxidación de Swern [*Org. Process Res. Dev.*, 4, 172 (2000) y *J. Med. Chem.*, 48, 5504 (2005)], oxidación con dicromato de piridinio o con radical libre de 2,2,6,6-tetrametilpiperidiniloxi (TEMPO) y NaOCl.

Preferiblemente, la etapa (iii) comprende oxidar dicho compuesto de fórmula 682-3 con un radical libre de 2,2,6,6-tetrametil piperidiniloxi (TEMPO) en presencia de un haluro de metal alcalino y NaOCl. Otros detalles de esta reacción se describen en la patente JP 07053586 (Sankyo Company Limited).

Otro aspecto se refiere a un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-9 o 682, dicho proceso que comprende las etapas de:

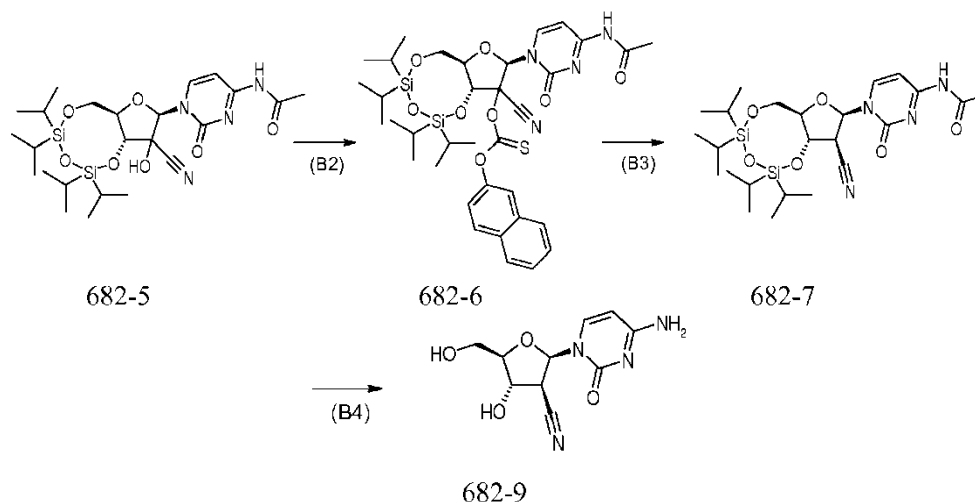
50

(A) preparar un intermedio de fórmula 682-4 como se ha descrito anteriormente:

(B) convertir dicho compuesto de fórmula 682-4 en un compuesto de fórmula 682-9; y

(C) convertir opcionalmente dicho compuesto de fórmula 682-9 en un compuesto de fórmula 682.

Preferiblemente, la etapa (B) comprende las etapas de:



- (B1) convertir dicho compuesto de fórmula 682-4 en un compuesto de fórmula 682-5;
 (B2) convertir dicho compuesto de fórmula 682-5 en un compuesto de fórmula 682-6;
 (B3) convertir dicho compuesto de fórmula 682-6 en un compuesto de fórmula 682-7; y
 (B4) convertir dicho compuesto de fórmula 682-7 en un compuesto de fórmula 682-9.

En un aspecto preferido, la etapa (B1) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-4 con NaCN/NaHCO₃ en H₂O/EtOH.

En otro aspecto preferido, la etapa (B1) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-4 con NaCN/NaH₂PO₄·2H₂O en acetato de etilo. Se pueden encontrar más detalles de esta reacción en la patente EP 536936 (Sankyo Company Limited).

En otro aspecto preferido, la etapa (B1) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-4 con cianohidrina de acetona/KH₂PO₄ en diclorometano. Se pueden encontrar más detalles de esta reacción en la patente JP 07053586 (Sankyo Company Limited).

En un aspecto particularmente preferido, la etapa (B1) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-4 con cianohidrina de acetona y NEt₃ en heptano. Más detalles de esta reacción se describen a continuación en el segundo aspecto de la invención.

En otro aspecto preferido alternativo, la etapa (B1) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-4 con TMSCN y AlCl₃ en diclorometano. Otros detalles de esta reacción se describen en Tet, 60, 9179 (2004).

Preferiblemente, la etapa (B2) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-5 con clorotioformato de 2-naftilo en presencia de NEt₃ y dimetilaminopiridina. Otros detalles de esta reacción se describen en la patente JP 07053586 (Sankyo Company Limited).

Alternativamente, la etapa (B2) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-5 con cloruro de fenoxiltiocarbonilo en presencia de NEt₃ y dimetilaminopiridina. Se pueden encontrar más detalles de esta reacción en la patente EP 536936 (Sankyo Company Limited).

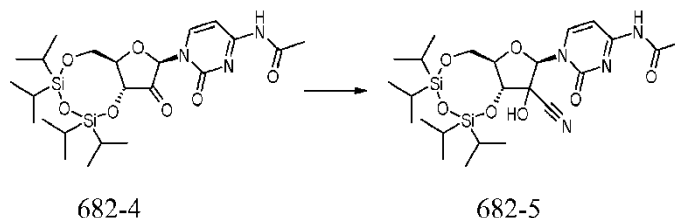
Preferiblemente, la etapa (B3) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-6 con tris (trimetilsilil) silano (TTMSS) y azobisisobutironitrilo (AIBN) en tolueno. Se pueden encontrar más detalles sobre el uso de este reactivo en J Org. Chem., 53, 3641 (1988) y Tett. Lett., 44, 4027 (2003).

Alternativamente, la etapa (B3) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-6 con hidruro de tributilestaño y azobisisobutironitrilo (AIBN) en tolueno, como se describe en la patente EP 536936 (Sankyo Company Limited).

La eliminación del grupo protector CIPS de dicho compuesto de fórmula 682-7 en la etapa (B4) y la posterior liberación de la base libre 682-9 se puede lograr usando métodos familiares para el experto en la materia. Preferiblemente, la etapa (B4) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-7 con HCl/MeOH, y a continuación tratar el intermedio producido de este modo con una base para formar un compuesto de fórmula 682-9. Se pueden encontrar más detalles de esta reacción en la patente EP 536936 (Sankyo Company Limited).

Preferiblemente, la etapa (C) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-9 con anhídrido palmítico en una mezcla de H₂O/dioxano. Otras condiciones adecuadas para esta conversión serán familiares para el experto en la materia.

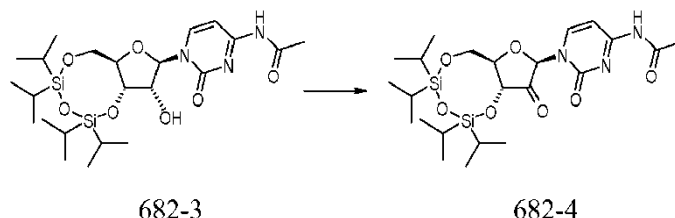
- 5 Un aspecto adicional se refiere a un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-5, dicho proceso que comprende tratar un compuesto de fórmula 682-4 con cianohidrina de acetona y NEt₃ en heptano.



- 10 De manera ventajosa, el uso de cianohidrina de acetona y NEt₃ en heptano da lugar a un mejor rendimiento y una purificación más sencilla del intermedio 682-5 en comparación con las condiciones de reacción previamente conocidas en la técnica.

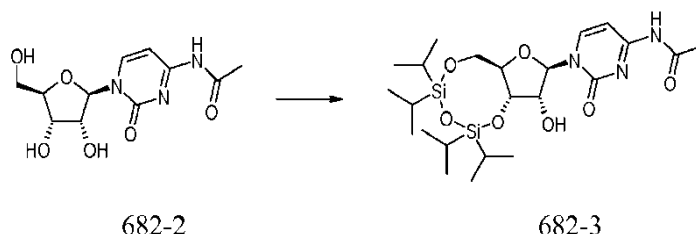
15 Las condiciones de la técnica anterior para esta conversión normalmente implican el uso de NaCN o acetona, cianohidrina y trietilamina en una mezcla de reacción de 2 fases (por ejemplo, agua/acetato de etilo) que da lugar a un equilibrio entre el material de partida de cetona 682-4 y dos posibles isómeros de cianohidrina. En contraste, el uso de cianohidrina y NEt₃ en heptano favorece la formación de solo uno de los dos posibles productos de cianohidrina; el producto de cianohidrina deseado es insoluble en heptano y precipita de la solución, mientras que el otro isómero y la cetona de partida 682-4 permanecen en solución. Esta precipitación impulsa el equilibrio hacia su finalización de acuerdo con el Principio de Le Chatelier, lo que da lugar a mejores rendimientos de la cianohidrina deseada. Además, la formación de un sólido permite un procesamiento más fácil del intermedio 682-5.

25 Preferiblemente, el proceso comprende además la etapa de preparar dicho compuesto de fórmula 682-4 a partir de un compuesto de fórmula 682-3.



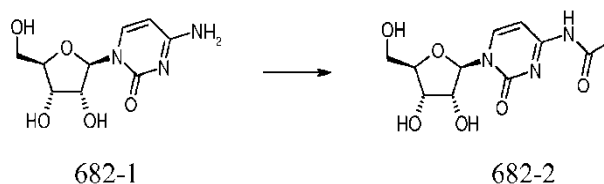
30 Las condiciones de oxidación adecuadas son las descritas anteriormente para el primer aspecto de la invención. Más preferiblemente, el proceso comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula 682-3 con un radical libre de 2,2,6,6-tetrametil piperidinilo (TEMPO) y NaOCl.

Preferiblemente, el proceso comprende además la etapa de preparar dicho compuesto de fórmula 682-3 a partir de un compuesto de fórmula 682-2.



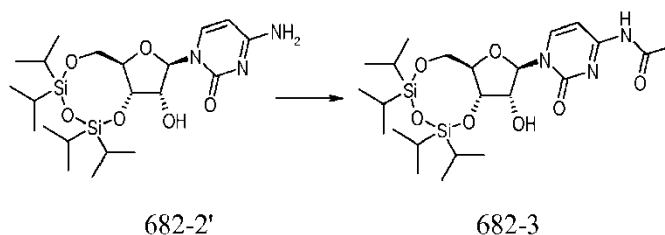
35 Más preferiblemente, el proceso comprende hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula 682-2 con 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano (CIPS) en piridina. Las condiciones adecuadas para esta conversión son las descritas anteriormente para el primer aspecto de la invención.

40 Preferiblemente, el proceso comprende además la etapa de preparar dicho compuesto de fórmula 682-2 a partir de un compuesto de fórmula 682-1.



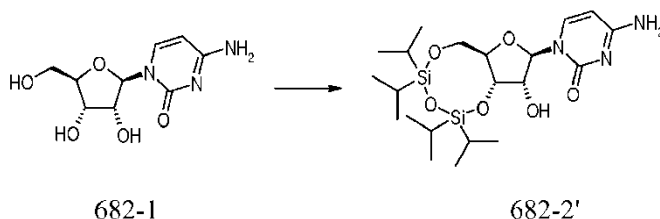
Más preferiblemente, el proceso comprende hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula 682-1 con Ac_2O en EtOH. Las condiciones adecuadas para esta conversión son las descritas anteriormente para el primer aspecto de la invención.

Preferiblemente, el proceso comprende además la etapa de preparar dicho compuesto de fórmula 682-3 a partir de un compuesto de fórmula 682-2'



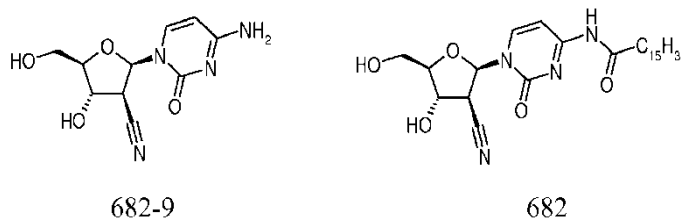
Más preferiblemente, el proceso comprende hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula 682-2' con Ac_2O en EtOH.

Preferiblemente, el proceso comprende además la etapa de preparar dicho compuesto de fórmula 682-2' a partir de un compuesto de fórmula 682-1.



Más preferiblemente, el proceso comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula 682-1 con 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano (CIPS) en piridina.

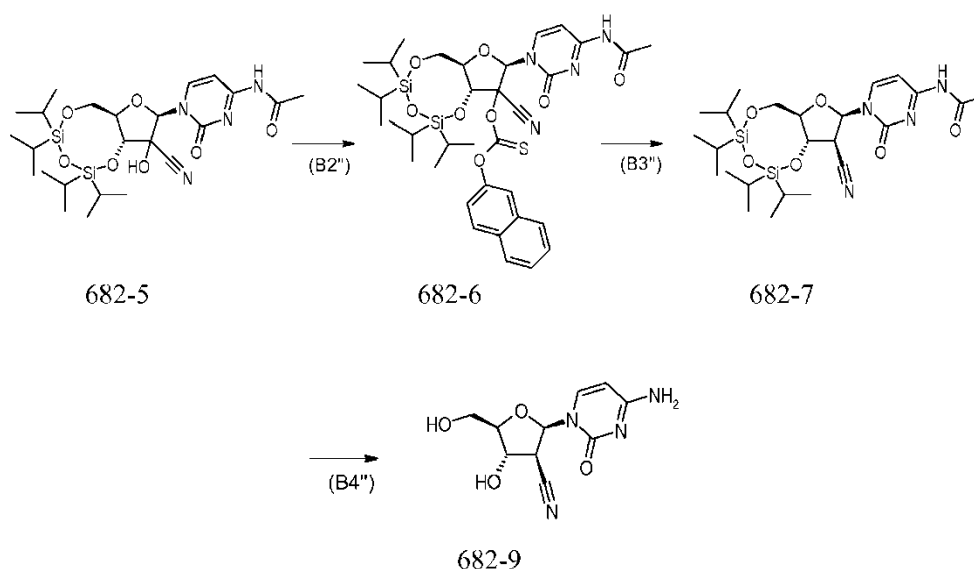
Un aspecto adicional se refiere a un proceso para preparar un compuesto de fórmula 682-9 o 682,



dicho proceso que comprende las etapas de:

- (A'') preparar un intermedio de fórmula 682-5 como se ha descrito anteriormente;
- (B'') convertir dicho compuesto de fórmula 682-5 en un compuesto de fórmula 682-9;
- (C'') convertir opcionalmente dicho compuesto de fórmula 682-9 en un compuesto de fórmula 682.

Preferiblemente, la etapa (B'') comprende las etapas de:



(B2'') convertir dicho compuesto de fórmula 682-5 en un compuesto de fórmula 682-6;

(B3'') convertir dicho compuesto de fórmula 682-6 en un compuesto de fórmula 682-7;

(B4'') convertir dicho compuesto de fórmula 682-7 en un compuesto de fórmula 682-9.

Preferiblemente, la etapa (B2) comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-5 con clorotioformato de 2-naftilo en presencia de NEt_3 y dimetilaminopiridina. Las condiciones adecuadas para esta etapa son las descritas anteriormente para el primer aspecto de la invención.

Preferiblemente, la etapa (B3'') comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-6 con tris (trimetilsilil) silano (TTMSS) y azobisisobutironitrilo (AIBN) en tolueno.

Las condiciones adecuadas para esta etapa son las descritas anteriormente para el primer aspecto de la invención.

Preferiblemente, la etapa (B4'') comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-7 con HCl/MeOH , y a continuación tratar el intermedio producido de este modo con una base para formar un compuesto de fórmula 682-9. Las condiciones adecuadas para estas etapas son como se ha descrito anteriormente para el primer aspecto de la invención.

Preferiblemente, la etapa (C'') comprende tratar dicho compuesto de fórmula 682-9 con anhídrido palmítico en una mezcla de $\text{H}_2\text{O}/\text{dioxano}$.

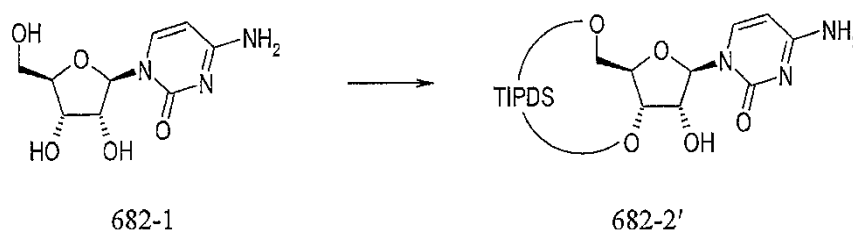
La presente invención se describe adicionalmente a modo de ejemplos no limitantes, y con referencia a las siguientes figuras, en las que;

La Figura 1 muestra la síntesis de CYC682 a través de la Ruta 1, una modificación del procedimiento de la técnica anterior.

La Figura 2 muestra la síntesis de CYC682 a través de la Ruta 1a, de acuerdo con una realización preferida de la invención.

Ejemplos

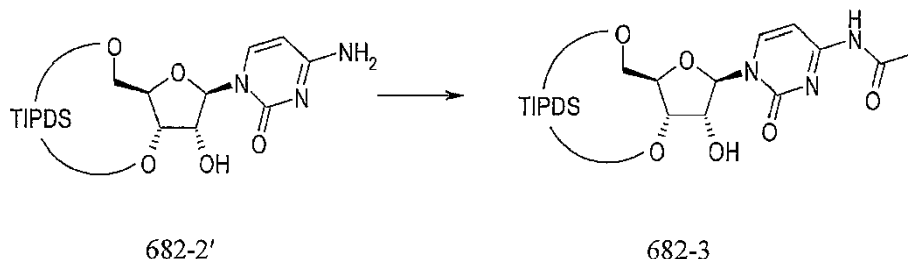
Etapas 1: 682-1 $\rightarrow$ 682-2'



Org. Process Dev., 4, 172 (2000); Patente de EE.UU. 6531584 B1 (2003); Org. Lett., 8, 55 (2006).

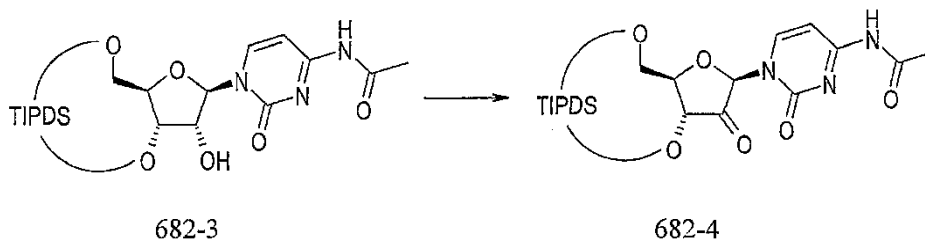
La citidina (8,0 g, 32,89 mmol) se secó previamente por destilación azeotrópica con piridina (2 x 15 ml), a continuación se suspendió en piridina (22 ml) y el recipiente se purgó con argón. Se añadió gota a gota 1,3-dicloro-1,1,4,4-tetraisopropildisiloxano (12,0 ml, 35,40 mmol) a temperatura ambiente durante un período de 20 minutos. Se observó una leve exotermia a 32 °C. Un precipitado blanco pesado se asentó gradualmente en el fondo del matraz. Este se rompió con agitación vigorosa y la suspensión pesada resultante se agitó durante la noche. La mezcla se vertió en agua (200 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron (salmuera), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporaron hasta obtener un sólido blanco. Este se trituro con heptano, se filtró y se lavó con heptano (100 ml) seguido de éter de petróleo ligero (2 x 50 ml). 13,46 g (84 %) obtenidos. En la última etapa del tratamiento, el acetato de isopropilo puede sustituir al heptano.

Etapa 2: 682-2' → 682-3



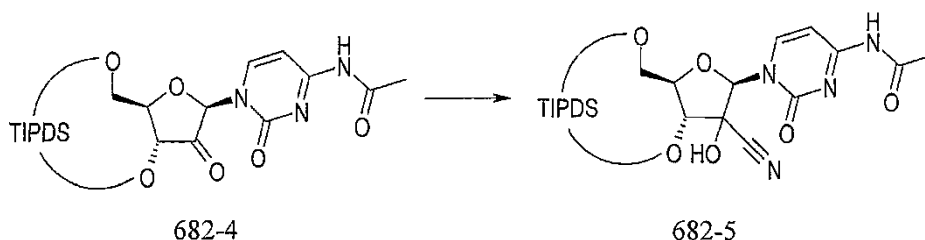
Se suspendió 682-2' (10,0 g, 20,59 mmol) en etanol (200 ml) y se añadió gota a gota anhídrido acético (6,9 ml, 72,06 mmol) (sin exotermia). La mezcla se calentó (baño de aceite 65 °C – temperatura interna 50-53 °C) durante 2 h. La TLC (7 % de MeOH/DCM) mostró un producto con solo trazas de material de partida. Se añadieron otros 3 ml de anhídrido acético (sin exotermia) y el calentamiento continuó durante 1,5 h más. La TLC no mostró material de partida. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el EtOH se evaporó en VR. Se añadió NaHCO₃ al 5 % (100 ml) (CO₂ ↑) y la mezcla se extrajo con 1:1 de TBDME/heptano (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron (salmuera), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporaron hasta obtener una espuma blanca (10,43 g, 96 %).

Etapa 3: 682-3 → 682-4



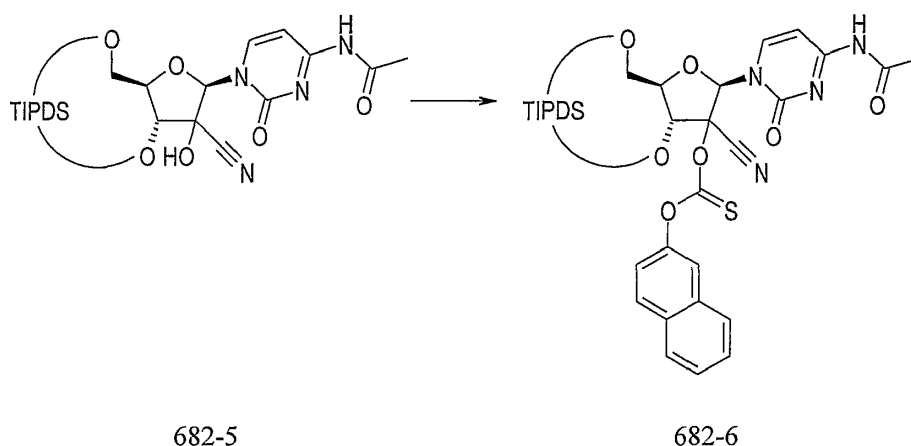
Se disolvió 682-3 (8,0 g, 15,15 mmol) en DCM (120 ml) y se enfrió a 10 °C en un baño de hielo. Se añadió periodinano de Dess-Martin (12,58 g, 28,78 mmol) en pequeñas porciones y el embudo de adición se enjuagó con DCM (20 ml). La solución turbia resultante se agitó con enfriamiento durante 10 minutos, y a continuación a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con Et₂O (450 ml) y se lavó con NaHCO₃ ac. (200 ml) en el que se había disuelto Na₂S₂O₃·5H₂O (38,5 g). La fase acuosa se extrajo con Et₂O (200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron (NaHCO₃ sat., seguido de salmuera), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporaron hasta obtener una espuma blanca crujiente. La RMN mostró aprox. El 7,5 % del material de partida restante. El producto en bruto se redisolvió en DCM (150 ml) y se trató con otros 2,5 g (5,89 mmol) de periodinano de Dess-Martin como antes. La mezcla de reacción se trató como antes (usando 9 g de Na₂S₂O₃·5H₂O) para dar 7,54 g (95 %) del producto deseado como una espuma blanca.

Etapa 4: 682-4 → 682-5



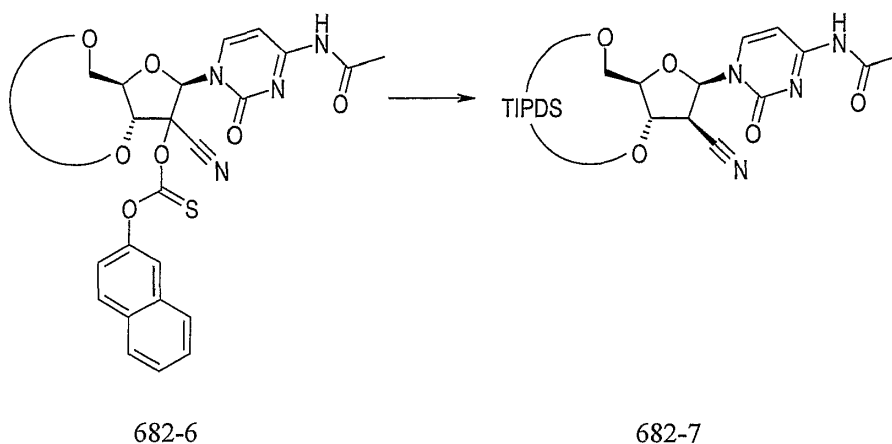
Se disolvió parcialmente 682-4 (700 mg, 1,33 mmol) en heptano (7 ml) para dar una solución turbia. Se añadió cianohidrina de acetona (0,25 ml, 2,66 mmol) en una corriente constante, seguido de la adición gota a gota de trietilamina (19 µl, 0,13 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente, volviéndose gradualmente más turbia. Después de aproximadamente 20 min la mezcla de reacción era una suspensión espesa, parecida a una pasta. La LCMS después de 1 h no mostraba material de partida. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se filtró. El sólido blanco recogido se lavó con heptano frío (aprox. 15 ml) seguido de éter de petróleo ligero (aproximadamente 5 ml). El producto se secó al vacío a 40 °C. 673 mg (91 %) obtenidos.

Etapa 5: 682-5 → 682-6



Se añade una solución de clorotioformato de 2-naftilo en tolueno (2-NTF) (solución al 25 %, 1,82 kg/kg de 682-5) a 682-5 en diclorometano (10 l/kg de 682-5) y 4-dimetilaminopiridina (0,022 kg/kg de 682-5) a 5 °C o menos. La trietilamina (0,22 kg/kg de 682-5) de 0 °C a 10 °C, se añade lentamente a la mezcla de reacción a una velocidad para mantener la temperatura a 10 °C, o menos. La mezcla se mantiene de 0 °C a 10 °C y se controla por HPLC. La reacción se continúa hasta que el contenido de 682-5 es del 52,0 %. Al finalizar la reacción, se añade el 1 % p/p de dihidrogenofosfato de sodio acuoso (10 kg/kg de 682-5) a una velocidad para mantener la temperatura de 10 °C a 25 °C. Las fases se separan y la fase acuosa se extrae con diclorometano adicional (4,5 l/kg de 682-5). Después de dividir la fase, las fases orgánicas se lavan con una sola carga de agua con bajo contenido de pirógenos (10 l/kg de 682-5), se combinan y se transfieren para su destilación con un lavado de línea de diclorometano. La fase orgánica se concentra a presión reducida a no más de 30 °C. Se carga metanol (3 l/kg de 682-5) y la concentración continúa. Se carga metanol adicional (10 l/kg de 682-5) y el producto se granula durante al menos 1 hora a, o por debajo de, 5 °C. El producto se aísla mediante centrifugación en hasta dos cargas. Cada carga se lava con metanol frío (1,5 l/kg de 682-5) de 0 °C a 5 °C, antes de secar al vacío hasta 45 °C, hasta peso constante.

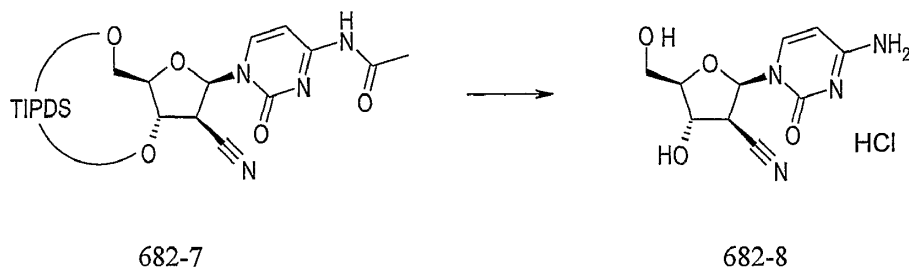
Etapa 6: 682-6 → 682-7



El radical iniciador Vazo67 (2,2'-azobis [2-metilbutironitrilo]) (0,05 kg/kg de 682-6) y tris (trimetilsilil) silano (TTMSS) (0,41 kg/kg de 682-6) se añaden al intermedio 682-6 en tolueno (4,5 l/kg de 682-6). La mezcla de reacción se calienta a 70 °C y se agita de 65 °C a 75 °C durante al menos 1 hora, antes de la monitorización. La mezcla se controla por HPLC. La reacción se continúa hasta que el contenido de 682-6 es X2,0 %. Se pueden añadir iniciador adicional y TTMSS si es necesario. Una vez que se logra completar la reacción, la mezcla se añade lentamente a etilciclohexano (20 l/kg de 682-6) de 65 °C a 75 °C. La mezcla de reacción se enfría de 0 °C a 5 °C durante al menos

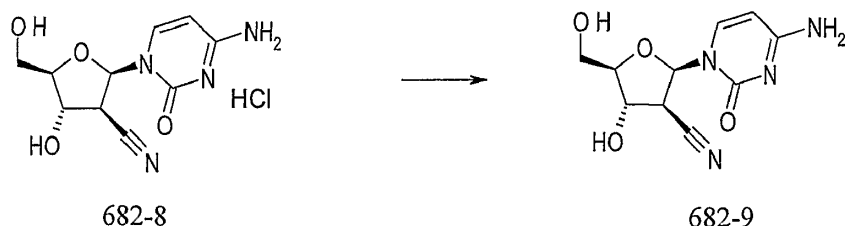
2,5 horas y se mantiene a esta temperatura. El sólido resultante se aísla por centrifugación en hasta tres cargas. Cada carga se lava con un etilciclohexano frío (1 l/kg de 682-6) a una temperatura de 0 °C a 5 °C. El producto se seca al vacío hasta 45 °C, hasta peso constante.

5 Etapas 7: 682-7 → 682-8



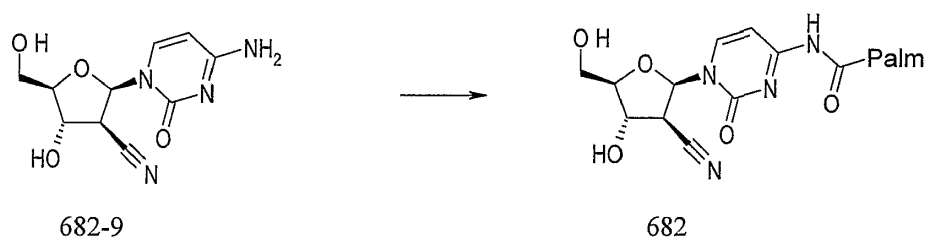
10 Para establecer la hidrólisis, 682-7 se disuelve en metanol (2,34 l/kg de 682-7) y ácido clorhídrico (36 %, 0,48 l/kg de 682-7) de 48 °C a 52 °C. Se prepara una semilla 682-8 tratando 682-9 (5 g/kg de 682-7) con ácido clorhídrico (29 ml/kg de 682-7) en metanol (140 ml/kg de 682-7), antes de cargar en la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se calienta de 53 °C a 60 °C durante al menos 2 horas y se controla por HPLC. La reacción continúa hasta que el pico en el tiempo de retención a 5,25 aproximadamente es del 512,0 %. Una vez completada la reacción, la mezcla se enfría de 10 °C a 15 °C durante al menos 100 minutos. Se añade acetato de etilo (10 l/kg de 682-7) durante al menos 25 minutos a una temperatura de 10 °C a 15 °C, y la mezcla se enfría a 0 °C a 5 °C durante al menos 30 minutos. La mezcla se granula a menos de 5 °C durante al menos 1 hora. El producto se aísla por centrifugación en hasta dos cargas y cada carga se lava con una mezcla fría de metanol (0,38 l/kg de 682-7) y acetato de etilo (1,11 l/kg de 682-7) a una temperatura de 0 °C a 5 °C. El producto se seca al vacío hasta 45 °C, hasta peso constante.

20 Etapas 8: 682-8 → 682-9



25 La sal de clorhidrato 682-8 se neutraliza añadiendo trietilamina (0,41 kg/kg de 682-8) a una suspensión de 682-8 en una mezcla de metanol (3,9 l/kg de 682-8): diclorometano (10 l/kg de 682-8) de 15 °C a 30 °C. La disolución se produce con la adición de la trietilamina. La mezcla de reacción se agita a una temperatura de 15 °C a 30 °C durante al menos 10 minutos y se comprueba el pH de una muestra después de la dilución con agua. Se espera que esté en el intervalo de pH 9 a 9,5. El intermedio 682-9 puede sufrir epimerización a un pH alto. Se añade lentamente ácido acético (0,25 kg/kg de 682-8) con agitación, a una velocidad para mantener la temperatura a menos de 30 °C, para ajustar el intervalo de pH de 4,0 a 4,5 e inducir la cristalización. Se puede añadir ácido acético adicional si se requiere. La mezcla se diluye a continuación con diclorometano (25 l/kg de 682-8) y se enfría a 0 °C a 5 °C. La mezcla se agita de 0 °C a 5 °C durante al menos 1 hora, y el producto se aísla mediante centrifugación en hasta dos cargas. Cada carga se lava con una mezcla fría de metanol (0,63 l/kg de 682-8) y diclorometano (4,4 l/kg de 682-8). El producto se seca al vacío hasta 45 °C, hasta peso constante.

35 Etapas 9: 682-9 → 682



40 Se puede obtener 682 de acuerdo con los métodos descritos en los Ejemplos 1-4 dla patente EP 536936. El intermedio 682-9 se convierte en CYC682 y se aísla inicialmente como la Forma K, que es un solvato de metanol. La Forma K se convierte en la Forma B, que es un hemihidrato por una reacción de cambio de forma de suspensión. La

Forma K o la Forma B pueden purificarse adicionalmente por recristalización. La recristalización produce la Forma K que a continuación se convierte, o se reconvierte a la Forma B.

(i) 682: Forma K

Se añade anhídrido palmítico (3,53 kg/kg de 682-9) a una mezcla de 682-9 en 1,4-dioxano (20 l/kg de 682-9) y agua con bajo contenido de pirógenos (1,0 l/kg de 682-9) y la mezcla de reacción se calienta de 80 °C a 90 °C (intervalo objetivo de 80 °C a 85 °C). La reacción se controla por HPLC y se continúa hasta que el contenido de 682-9 es del 52,0 %. Una vez completada la reacción, la mezcla se filtra en caliente y el filtro se lava con 1,4-dioxano (10 l/kg de 682-9) de 70 °C a 90 °C. El filtrado combinado resultante se concentra a menos del 30 % de su volumen original (7,3 l/kg de 682-9) a 60 °C o menos (temperatura interna objetivo de 45 °C a 55 °C, o menos). El contenido de agua se verifica mediante titulación de Karl Fischer. Si el contenido de agua es <2 %, se añade dioxano adicional y se repite la destilación. Si es necesario, se añade 1,4-dioxano para diluir la mezcla al 30 % del volumen original. Se añaden etilciclohexano (48,3 l/kg de 682-9) y 1,4-dioxano (3,66 l/kg de 682-9) y la temperatura se ajusta en el intervalo de 43 °C a 47 °C. Se añade metanol (3,23 l/kg de 682-9) a una temperatura de 40 °C a 45 °C durante al menos 5 minutos.

En un reactor separado, se añaden cristales de siembra CYC682 (Forma B) (10 g/kg de 682-9) a una mezcla de etilciclohexano (1333 ml/kg de 682-9), 1,4 dioxano (177 ml/kg de 682-9) y metanol (89 ml/kg de 682-9) (15:2:1 en v/v/v). La mezcla resultante se agita de 20 °C a 25 °C durante al menos 1 hora, y a continuación se añade a la solución de reacción cruda de 40 °C a 45 °C. Después de que se produce la cristalización de la Forma K, la mezcla de reacción se agita a una temperatura de 40 °C a 45 °C durante al menos otros 30 minutos. La mezcla de reacción se enfría de 20 °C a 23 °C durante al menos 120 minutos, y se mantiene en el intervalo de 20 °C a 23 °C durante al menos 1 hora. El sólido resultante se aísla mediante centrifugación en hasta dos cargas y cada carga se lava con una mezcla de etilciclohexano (7,5 l/kg de 682-9), 1,4-dioxano (1,0 l/kg de 682-9) y metanol (0,5 l/kg de 682-9) de 0 °C a 5 °C. El producto se seca al vacío entre 35 °C y 40 °C, hasta peso constante para producir CYC682 (Forma K).

(ii) 682: Forma B

CYC682 (Forma K) se suspende en acetato de metilo (8,9 l/kg de CYC682) que contiene aproximadamente del 1,5 al 2 % de agua con bajo contenido de pirógenos (169,3 ml/kg de CYC682). La suspensión se agita de 20 °C a 25 °C (objetivo de 22 °C a 24 °C) durante 1,5 horas y se somete a conversión de forma. El producto se aísla mediante filtración de Nutsche y se lava con una mezcla de acetato de metilo (2,2 l/kg de CYC682) y agua con bajo contenido de pirógenos (42,3 ml/kg de CYC682) de 20 °C a 25 °C. El producto se seca al vacío a 40 °C o menos, hasta peso constante, para producir CYC682 (Forma B).

Recristalización de CYC682 (Forma K o B)

CYC682 (Forma K o B) se suspende en una mezcla de 1,4-dioxano (3.33 l/kg de CYC682) y etilciclohexano (25 l/kg de CYC682) y la mezcla se ajusta en el intervalo de 43 °C a 47 °C. Se añade metanol (1,66 l/kg de CYC682) a una temperatura de 40 °C a 50 °C durante al menos 5 minutos para lograr la disolución. Puede requerirse un calentamiento adicional de hasta 60 °C para lograr la disolución de la Forma B de CYC682.

En un reactor separado, se añaden cristales de siembra de CYC682 (4 a 15 g/kg de CYC682) a una mezcla de etilciclohexano, 1,4-dioxano y metanol (15:2:1 en v/v/v) como en la sección (i) más arriba. La mezcla resultante se agita de 20 °C a 25 °C durante al menos 1 hora, y a continuación se añade a la solución de reacción cruda de 40 °C a 45 °C. Después de que se produce la cristalización de la Forma K, la mezcla de reacción se agita a una temperatura de 40 °C a 45 °C durante al menos otros 30 minutos. La mezcla de reacción se enfría de 20 °C a 23 °C durante al menos 120 minutos, y se mantiene en el intervalo de 20 °C a 23 °C durante al menos 1 hora. El sólido resultante se aísla mediante centrifugación en hasta dos cargas y cada carga se lava con una mezcla de etilciclohexano (3,852 l/kg de CYC682), 1,4-dioxano (0,514 l/kg de CYC682) y metanol (257 ml/kg de CYC682) de 0 °C a 5 °C. El producto se seca al vacío entre 35 °C y 40 °C, hasta peso constante para producir CYC682 (Forma K).

Estudios comparativos

Los estudios realizados por el solicitante han demostrado que las etapas del proceso como se reivindica actualmente dan lugar a rendimientos mejorados con respecto a la metodología utilizada anteriormente en la técnica. A modo de ejemplo, la Tabla 1 a continuación compara los rendimientos para cada etapa en la Ruta 1 (ver Figura 1; metodología de la técnica anterior) y la Ruta 1a (ver Figura 2; de acuerdo con la invención).

Tabla 1: Comparación de rendimientos para la Ruta 1 y la Ruta 1a

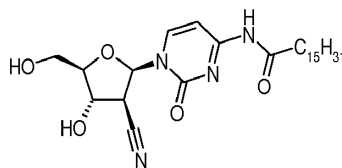
	→ 2	→ 3	→ 4	→ 5	→ 6	→ 7	→ 8	→ 9	→ K	→ B	Tot.
Ruta 1	98			38	90	91	85	97	89	89	19,9
Ruta 1a	86	99	95	92	90	91	85	97	89	89	39,8

La Tabla 1 muestra que la inversión de las dos primeras etapas en la síntesis (Ruta 1a, es decir, la incorporación del grupo protector CIPS antes de la etapa de acilación) y el uso de cianohidrina de acetona/heptano en la etapa de cianación dan lugar a un intermedio 682-5 con un alto rendimiento. A modo de comparación, realizar la etapa de acilación antes de incorporar el grupo protector CIPS (Ruta 1) y usar las condiciones de cianación convencionales conocidas en la técnica (por ejemplo, NaCN, NaHCO₃ en H₂O/EtOAC) dan lugar a un rendimiento mucho menor 682-5 (38 %). En general, una comparación de las dos rutas proporciona un 19,9 % de CYC682 para la Ruta 1, en comparación con un 39,8 % de CYC682 para la Ruta 1a.

Diversas modificaciones y variaciones de los aspectos descritos de la invención serán evidentes para los expertos en la materia sin apartarse del alcance y espíritu de la invención. Aunque la invención se ha descrito en relación con realizaciones preferidas específicas, debe entenderse que la invención reivindicada no debe limitarse indebidamente a dichas realizaciones específicas. De hecho, está previsto que varias modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención que son obvias para los expertos en los campos relevantes estén dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

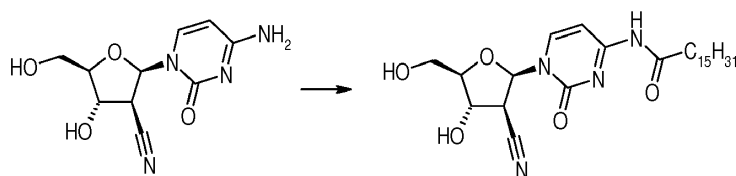
1. Un compuesto de fórmula 682 que está en forma de un solvato de metanol.



682

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que está en forma cristalina.

3. Un proceso para preparar un solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 definido en la reivindicación 1, dicho proceso que comprende las etapas de:



682-9

682

- (i) tratar un compuesto de fórmula 682-9 con anhídrido palmítico en una mezcla de H₂O/dioxano para formar un compuesto de fórmula 682;
- (ii) tratar el producto formado en la etapa (i) con metanol para formar un solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 (forma K);
- (iii) aislar el solvato de metanol del compuesto de fórmula 682 (forma K) formado en la etapa (ii);
- (iv) opcionalmente, purificar el producto de la etapa (iii) por recristalización.

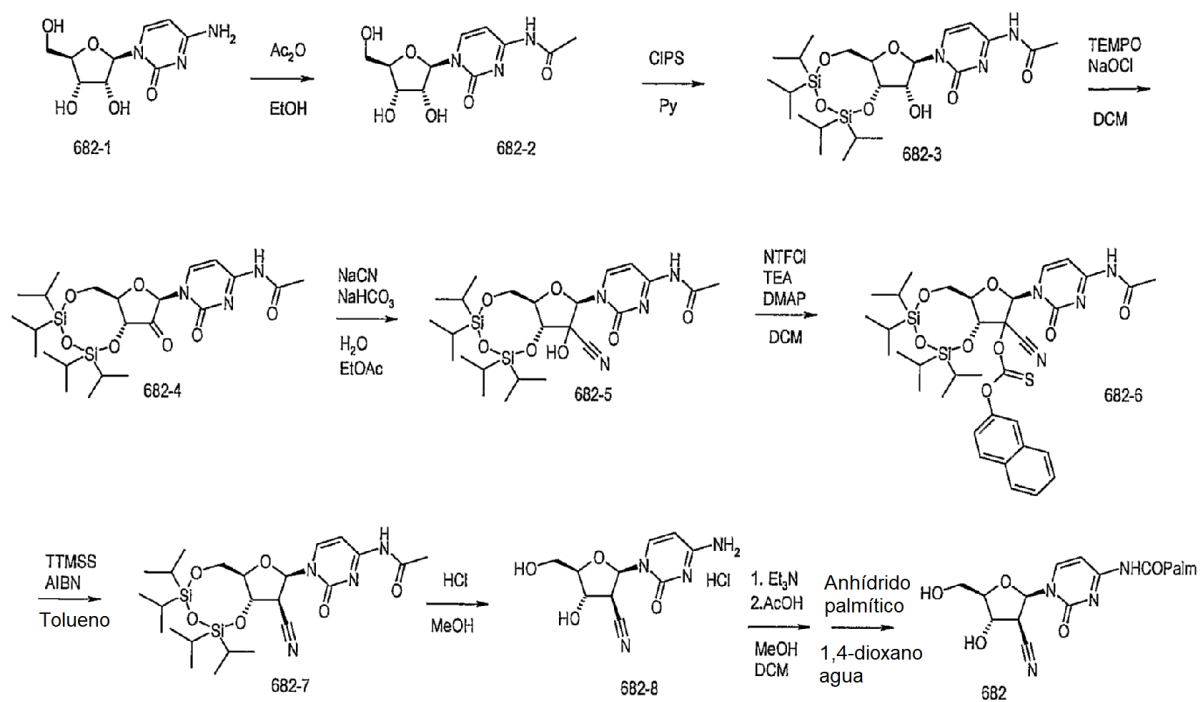


FIGURA 1 (RUTA 1)

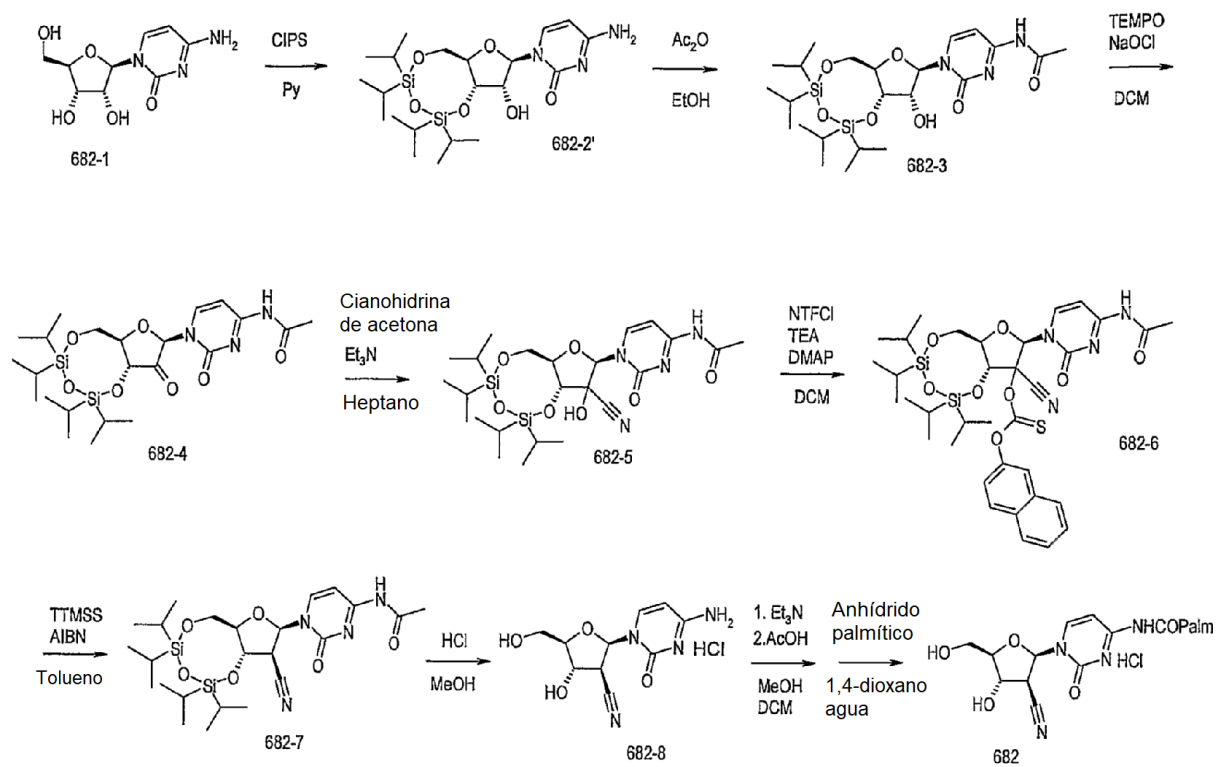


FIGURA 2 (RUTA 1A)