



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 318 179**

51 Int. Cl.:
C12P 41/00 (2006.01)
C07D 317/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03778180 .4**
96 Fecha de presentación : **18.11.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1573019**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.09.2005**

54 Título: **Procedimiento estereoselectivo para la producción de análogos de nucleósidos de dioxolano.**

30 Prioridad: **18.11.2002 US 426821 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2009

73 Titular/es: **Shire Canada Inc.**
2250 Alfred-Nobel Boulevard, Suite 500
Ville St-Laurent, QC H4S 2C9, CA

72 Inventor/es: **Cimpoia, Alex y**
Lalonde, James, Joseph

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 318 179 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 estereoselectivo para la producción de análogos de nucleósidos de dioxolano.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un proceso estereoselectivo para la producción de análogos de nucleósidos de dioxolano y sus compuestos intermedios.

10 **Antecedentes de la invención**

Los análogos de nucleósidos son una clase importante de agentes terapéuticos. Más particularmente, se ha demostrado que los análogos de nucleósidos de dioxolano en los cuales un 1,3-dioxolano sustituido está reemplazando el carbohidrato que se encuentra en el nucleósido tienen actividad biológica.

15 Los análogos del dioxolano fueron consignados por primera vez por Belleau *et al.* en el documento EP 0337713, publicado el 19 de Octubre de 1989, en la Patente de EE.UU. 5.041.449, expedida el 20 de Agosto de 1991 y la Patente de EE.UU. 5.270.315 expedida el 14 de Diciembre de 1993.

20 9-(β -D-2-hidroxiometil-1,3-dioxolano-4-il)-2,6-diaminopurina (β -D-DAPD) y 9-(β -D-hidroxiometil-1,3-dioxolano-4-il)-9-guanina (β -D-DXG) han sido consignados por Gu *et al.* (*Antimicrob. Agents Chemother.* (1999), **43** (10), pp. 2376-2382 y *Nucleosides Nucleotides* (1999), **18** (4&5), pp. 891-892) indicándose que poseen eficacia útil contra HIV-1 en diversos sistemas celulares.

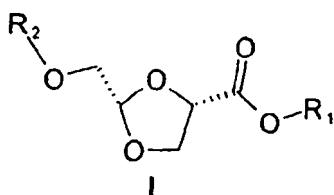
25 Adicionalmente, se consignó también (Weitman *et al. Clinical Cancer Research* (2000), 6(4), pp. 1574-1578 y Giles *et al. Journal of Clinical Oncology* (2001), 19(3), pp. 762-771 y también Gourdeau *et al. Cancer Chemother. Pharmacol.* (2001) 47(3), pp. 236-240) que 1-(β -L-2-hidroxiometil-1,3-dioxolano-4-il)citocina (β -L-oddC, troxacitabina) ha demostrado eficacia para el tratamiento de diversas formas de cánceres (v.g. tumores sólidos, leucemia de los adultos y linfomas).

30 Compuestos intermedios de dioxolano tales como ésteres de 2-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4-carboxilato son compuestos intermedios importantes utilizados en la síntesis de análogos de nucleósidos de dioxolano como se describe en la publicación PCT número WO 97/21706 por MANSOUR, Tarek *et al.* 19 de Junio de 1997, publicación PCT número WO 00/47759 por CIMPOIA, Alex *et al.* 17 de Agosto de 2000, y publicación PCT número WO 00/39143 por NGUYEN-BA, Nghe *et al.*, 6 de Julio de 2000. Durante los últimos años, la bibliografía ha consignado esfuerzos dirigidos hacia el desarrollo de métodos de biorresolución. Las resoluciones enzimáticas tienen las ventajas de utilizar cantidades catalíticas de enzimas, ser económicas y reutilizables, y ser respetuosas con el medio ambiente. Por esta razón, la identificación de enzimas adecuadas para la realización de la resolución diastereomérica de ésteres de 2-benzoiloximetil-[1,3]-dioxolano-2-carboxilato es sumamente deseable.

40 **Sumario de la invención**

En un aspecto, la presente invención proporciona un proceso para producir un compuesto de fórmula I:

45

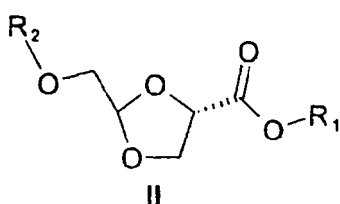


50

55 comprendiendo dicho proceso los pasos de:

a) someter un compuesto de fórmula II:

60



65

ES 2 318 179 T3

a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de Esterasa de hígado de cerdo o Lipasa pancreática de porcino;

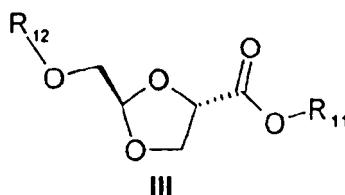
b) recuperar dicho compuesto de fórmula I

en donde:

R_1 se selecciona de alquilo C_{1-12} , alqueno C_{2-12} , alquino C_{2-12} , arilo C_{6-12} , heterociclo C_{3-10} , aralquilo C_{6-12} o heteroaralquilo C_{3-10} ; y

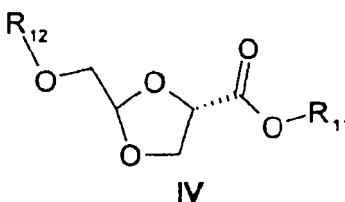
R_2 se selecciona de: CO-alquilo C_{1-6} , CO-arilo C_{6-12} , CO-alcoxi C_{1-6} , CO-ariloxi C_{6-12} , o CO-arilalquilo C_{6-12} .

En otro aspecto, se proporciona un proceso para producir un compuesto de fórmula III:



comprendiendo dicho proceso los pasos de:

a) someter un compuesto de fórmula IV:



a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de lipasa "A" de *Candida anthracina*, lipasa "B" de *Candida anthracina*, lipasa de *Candida lipolytica* o lipasa de *Rhizomucor miehei*;

b) recuperar dicho compuesto de fórmula III;

en donde:

R_{11} se selecciona de alquilo C_{1-12} , alqueno C_{2-12} , alquino C_{2-12} , arilo C_{6-12} , heterociclo C_{3-10} , aralquilo C_{6-12} , o heteroaralquilo C_{3-10} ; y

R_{12} se selecciona de: CO-alquilo C_{2-6} , CO-arilo C_{6-12} , CO-alcoxi C_{1-6} , CO-ariloxi C_{6-12} , o CO-arilalquilo C_{6-12} .

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere en líneas generales a un proceso de resolución enzimática diastereomérica para la producción de análogos de nucleósidos de dioxolano y sus compuestos intermedios.

En una realización, el proceso de la presente invención comprende aquéllos en los cuales están presentes las realizaciones siguientes, sea independientemente o en combinación.

A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en esta memoria tienen el mismo significado que es entendido comúnmente por una persona con experiencia ordinaria en la técnica a la que pertenece esta invención. Adicionalmente, los materiales, métodos, y ejemplos son únicamente ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes.

Como se utiliza en esta solicitud, el término "alquilo" representa un resto hidrocarbonato de cadena lineal, cadena ramificada o cíclica que puede estar sustituido opcionalmente por uno o más de: halógeno, nitro, nitroso, SO_3R_{12} ,

ES 2 318 179 T3

PO_3RcRd , $\text{CONR}_{13}\text{R}_{14}$, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , aralquilo C_{6-12} , arilo C_{6-12} , alquiloxi C_{1-6} , alqueni-
loxi C_{2-6} , alquiniloxi C_{2-6} , ariloxi C_{6-12} , $\text{C}(\text{O})$ -alquilo C_{1-6} , $\text{C}(\text{O})$ -alquenilo C_{2-6} , $\text{C}(\text{O})$ -alquinilo C_{2-6} , $\text{C}(\text{O})$ arilo C_{6-12} ,
 $\text{C}(\text{O})$ aralquilo C_{6-12} , heterociclo C_{3-10} , hidroxilo, $\text{NR}_{13}\text{R}_{14}$, $\text{C}(\text{O})\text{OR}_{12}$, ciano, azido, amidino o guanido;

5 en donde R_{12} , Rc, Rd, R_{13} y R_{14} se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} ,
alquinilo C_{2-12} , arilo C_{6-14} , heterociclo C_{3-12} , heteroaralquilo C_{3-18} , aralquilo C_{6-18} ;

o Rc y Rd se consideran como un todo con los oxígenos para formar un heterociclo de 5 a 10 miembros;

10 o R_{13} y R_{14} se consideran como un todo con el nitrógeno para formar un heterociclo de 3 a 10 miembros. Ejemplos
útiles de alquilos incluyen isopropilo, etilo, fluorohexilo o ciclopropilo. Debe entenderse que el término alquilo incluye
también alquilos en los cuales uno o más átomos de hidrógeno está(n) reemplazado(s) por un oxígeno (v.g. un benzofilo)
o un halógeno, siendo el halógeno más preferiblemente fluoro (v.g. CF_3 - o CF_3CH_2 -).

15 Los términos “alquenilo” y “alquinilo” representan un alquilo que contiene al menos un grupo insaturado (v.g.
alilo).

El término “alcoxi” representa un alquilo que está unido covalentemente al átomo adyacente a través de un átomo
de oxígeno.

20 El término “arilo” representa un resto carbocíclico que contiene al menos un anillo de tipo bencenoide que puede
estar sustituido opcionalmente por uno o más de halógeno, nitro, nitroso, SO_3R_{12} , PO_3RcRd , $\text{CONR}_{13}\text{R}_{14}$, alquilo C_{1-6} ,
alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , aralquilo C_{6-12} , arilo C_{6-12} , alquiloxi C_{1-6} , alqueni-
loxi C_{2-6} , alquiniloxi C_{2-6} , ariloxi C_{6-12} , $\text{C}(\text{O})$ alquilo C_{1-6} , $\text{C}(\text{O})$ alquenilo C_{2-6} , $\text{C}(\text{O})$ alquinilo C_{2-6} , $\text{C}(\text{O})$ arilo C_{6-12} , $\text{C}(\text{O})$ aralquilo C_{6-12} , heterociclo
25 C_{3-10} , hidroxilo, $\text{NR}_{13}\text{R}_{14}$, $\text{C}(\text{O})\text{OR}_{12}$, ciano, azido, amidino o guanido;

en donde R_{12} , Rc, Rd, R_{13} y R_{14} se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} ,
alquinilo C_{2-12} , arilo C_{6-14} , heterociclo C_{3-12} , heteroaralquilo C_{3-18} , aralquilo C_{6-18} ;

30 o Rc y Rd se consideran como un todo con los oxígenos para formar un heterociclo de 5 a 10 miembros;

o R_{13} y R_{14} se consideran como un todo con el nitrógeno para formar un heterociclo de 3 a 10 miembros. Ejemplos
de arilo incluyen fenilo y naftilo.

35 El término “arilalquilo” representa un grupo arilo unido al átomo adyacente por un alquilo C_{1-6} (v.g., bencilo).

El término “ariloxi” representa un arilo que está unido covalentemente al átomo adyacente con un átomo de oxí-
geno.

40 El término “acilo” se define como un radical derivado de un ácido carboxílico, obtenido por reemplazamiento
del grupo -OH. Al igual que el ácido con el cual está relacionado, un radical acilo puede ser de cadena lineal, de
cadena ramificada o cíclico alifático o aromático, sustituido opcionalmente por uno o más de halógeno, nitro, nitroso,
 SO_3R_{12} , PO_3RcRd , $\text{CONR}_{13}\text{R}_{14}$, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , aralquilo C_{6-12} , arilo C_{6-12} , alquiloxi C_{1-6} ,
alqueni-
loxi C_{2-6} , alquiniloxi C_{2-6} , ariloxi C_{6-12} , $\text{C}(\text{O})$ alquilo C_{1-6} , $\text{C}(\text{O})$ alquenilo C_{2-6} , $\text{C}(\text{O})$ alquinilo C_{2-6} , $\text{C}(\text{O})$ arilo
45 C_{6-12} , $\text{C}(\text{O})$ aralquilo C_{6-12} , heterociclo C_{3-10} , hidroxilo, $\text{NR}_{13}\text{R}_{14}$, $\text{C}(\text{O})\text{OR}_{12}$, ciano, azido, amidino o guanido;

en donde R_{12} , Rc, Rd, R_{13} y R_{14} se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} ,
alquinilo C_{2-12} , arilo C_{6-14} , heterociclo C_{3-12} , heteroaralquilo C_{3-18} , aralquilo C_{6-18} ; o Rc y Rd se consideran como un
todo con los oxígenos para formar un heterociclo de 5 a 10 miembros;

50 o R_{13} y R_{14} se consideran como un todo con el nitrógeno para formar un heterociclo de 3 a 10 miembros. Ejemplos
útiles de acilo incluyen acetilo, propionilo, pivaloilo, hexanoilo, trifluoroacetilo, ciclohexanoilo y benzofilo.

55 “Aciloxi” se define como un grupo acilo unido al grupo adyacente por un átomo de oxígeno (v.g. acetoxi, benzoi-
loxi).

Como se utiliza en esta solicitud, el término “cicloalquilo” representa un “alquilo” como se define arriba que forma
un anillo (v.g. ciclopropilo, ciclopentilo o ciclohexilo).

60 El término “cicloalquilamino” representa un cicloalquilo que está unido covalentemente al átomo adyacente por
un átomo de nitrógeno.

El término “alcanol” representa un resto “alquilo” para el cual uno de los hidrógenos ha sido reemplazado por un
grupo hidroxilo (v.g. isopropanol, etanol, o ciclopropanol). Debe entenderse que el término alcanol incluye también
65 alcanol en el cual uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados por un halógeno, siendo el halógeno más
preferiblemente fluoro (v.g. $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$).

ES 2 318 179 T3

El término “independientemente”, significa que un sustituyente puede tener la misma o diferente definición en cada caso.

El término “grupo protector de hidroxilo” es bien conocido en el campo de la química orgánica. Tales grupos protectores pueden encontrarse en T. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, (John Wiley & Sons, 1981). Ejemplos de grupos protectores de hidroxilo incluyen, pero sin carácter limitante, bencilo, acetilo, benzoilo, pivaloilo e isopropiloxycarbonilo.

Un “anillo de dioxolano” es cualquier anillo monocíclico sustituido o insustituido de 5 miembros que tiene un oxígeno en las posiciones 1 y 3 del anillo como se ilustra a continuación:



Los halógenos se seleccionan de F, Cl, I, y Br.

Como se utiliza en esta solicitud, debe entenderse que el término “base púrica o pirimidínica o un análogo” es una base de purina o pirimidina encontrada en un nucleótido o un análogo del mismo que mimetiza dichas bases en el sentido que sus estructuras (las clases de átomos y su configuración) son similares a las bases normales, pero pueden poseer propiedades funcionales adicionales o carecer de algunas de las propiedades funcionales de las bases normales. Tales análogos incluyen los derivados por reemplazamiento de un resto CH por un átomo de nitrógeno (por ejemplo, 5-azapirimidinas tales como 5-azacitosina) o viceversa (por ejemplo 7-desazapurinas, tales como 7-desazaadenosina o 7-desazaguanosina) o ambas cosas (v.g. 7-desaza, 8-azapurinas). Análogos de tales bases incluyen también aquellos compuestos en los cuales se incorporan o se eliminan sustituyentes del anillo o se modifican por sustituyentes convencionales conocidos en la técnica, v.g. halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C₁₋₆. Tales bases púricas o pirimidínicas, análogos y derivados serán bien conocidos por los expertos en la técnica.

Los compuestos descritos en esta memoria incluyen también sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

Debe entenderse que la expresión “sales farmacéuticamente aceptables” de los compuestos incluye aquellos compuestos derivados de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de ácidos adecuados incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, tolueno-p-sulfónico, tartárico, acético, cítrico, metanosulfónico, fórmico, benzoico, malónico, naftaleno-2-sulfónico y bencenosulfónico.

Sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino (v.g. sodio), metal alcalinotérreo (v.g. magnesio), amonio y NR₄⁺ (donde R es alquilo C₁₋₄).

Como se utiliza en esta solicitud, el término “cantidad adecuada de enzima” que puede utilizarse en la presente invención no está limitado particularmente. Será apreciado por una persona con experiencia en la técnica que la cantidad de enzima utilizada se seleccionará con objeto de obtener una transformación química suficiente del material de partida, obtener la pureza deseada o el rendimiento deseado del producto de reacción, el tiempo de reacción deseado o una combinación de los mismos. Un ejemplo útil de “cantidad adecuada de enzima” puede ser una relación en peso comprendida entre aproximadamente 1% y 200% de enzima con respecto a los compuestos de fórmula II o IV.

Será apreciado por los expertos en la técnica que la resolución enzimática diastereomérica puede llevarse a cabo en una diversidad de disolventes. Tales disolventes útiles para llevar a cabo el proceso deseado no deben afectar desfavorablemente a la reacción. Ejemplos útiles de disolventes incluyen: agua, alcohol C₁₋₁₂ (v.g. etanol, butanol, alcohol t-amílico y 3-metil-3-pentanol), tolueno, acetonitrilo, tetrahidrofurano, dimetilformamida, dimetilsulfonamida, N-metilpirrolidona, iso-octano, t-butilmetil-éter y mezclas de los mismos. Las mezclas de disolventes pueden ser monofásicas (v.g. mezcla de agua e isopropanol) o bifásicas y opcionalmente pueden utilizarse catalizadores de transferencia de fase bien conocidos en la técnica.

El disolvente acuoso puede estar tamponado en caso deseado. Ejemplos de tampón útiles incluyen: formiato, acetato, fosfato, TRIS, citrato y borato. Será fácilmente evidente para una persona con experiencia ordinaria el modo en que puede prepararse un tampón de este tipo o un tampón diferente. Alternativamente, tampones premezclados en un intervalo de valores de pH pueden adquirirse de suministros comerciales de laboratorio. Asimismo, es posible el uso de un pH-metro (u otra herramienta de medición del pH) para medir el pH de la solución tamponada.

ES 2 318 179 T3

El intervalo de pH adecuado para uso en esta invención será determinado fácilmente por una persona con experiencia ordinaria en el campo. El pH seleccionado permitirá que el proceso tenga lugar en las condiciones de reacción, y proporcionará el producto deseado sin afectar desfavorablemente a la reacción o desactivar la enzima en un grado importante.

5

En realizaciones adicionales de la invención:

el proceso se lleva a cabo en el intervalo de pH de aproximadamente 4 a 9;

10

el proceso se lleva a cabo en el intervalo de pH de aproximadamente 6 a 8;

el proceso se lleva a cabo en el intervalo de pH de aproximadamente 6,8 a 7,2.

15

El intervalo de concentración de enzima que puede utilizarse en la presente invención no está limitado particularmente. Por ejemplo, la concentración de enzima con respecto al disolvente o la solución puede ser desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml. Alternativamente, la concentración de enzima con respecto al disolvente o solución puede ser:

20

desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml;

desde aproximadamente 5 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml;

aproximadamente 10 mg/ml;

25

aproximadamente 7,5 mg/ml.

30

Se apreciará también que las enzimas útiles para llevar a cabo el proceso deseado pueden ser el extracto exento de células obtenido después de la eliminación de los residuos celulares utilizados como la fuente de la enzima, o la enzima bruta puede aislarse por métodos estándar (v.g. precipitación fraccionada) y el polvo resultante utilizarse como la enzima. Alternativamente, puede utilizarse enzima inmovilizada, purificada, soluble o modificada por ingeniería genética. Ejemplos de dicha tecnología de las enzimas pueden encontrarse en "*Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook*", segunda edición; por Karlheinz Drauz y Herbert Waldmann (editado por Wiley).

35

En una realización, el proceso de la presente invención comprende adicionalmente el paso de recuperar la enzima utilizada en la resolución enzimática diastereomérica.

40

La temperatura adecuada para el uso de esta invención será determinada fácilmente por una persona de experiencia ordinaria en el campo. La temperatura seleccionada permitirá que el proceso tenga lugar en las condiciones de reacción, y proporcionará el producto deseado sin afectar desfavorablemente a la reacción o desactivar la enzima en un grado importante.

45

En realizaciones adicionales de la invención:

el proceso se lleva a cabo a una temperatura comprendida en el intervalo de aproximadamente 5 a 50°C;

el proceso se lleva a cabo a una temperatura comprendida en el intervalo de aproximadamente 20 a 40°C;

50

el proceso se lleva a cabo aproximadamente a la temperatura ambiente;

el proceso se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 30°C.

55

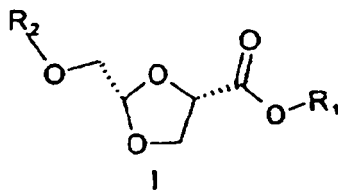
El intervalo de concentración de los compuestos II o IV en el proceso puede ser tan bajo como 0,1% o tan alto como 100%, o más si se desea. Alternativamente, la concentración está comprendida en el intervalo de aproximadamente 1% a aproximadamente 50%, o la concentración está comprendida en el intervalo de aproximadamente 5% a aproximadamente 15%. Alternativamente, la concentración es aproximadamente 12,5% o aproximadamente 11,2%. La concentración se expresa en porcentaje (%) y representa la cantidad en gramos de compuesto por unidad de volumen de disolvente o solución (v.g. 50 g de compuesto/400 ml de tampón de fosfato acuoso $\times 100 = 12,5\%$). La resolución enzimática diastereomérica puede llevarse a cabo asimismo en una solución, una emulsión o una suspensión de compuesto II.

65

ES 2 318 179 T3

En una realización, la presente invención proporciona un proceso para producir un compuesto de fórmula I:

5



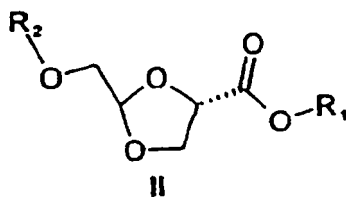
10

comprendiendo dicho proceso los pasos de:

15

a) someter un compuesto de fórmula II:

20



25

a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de Esterasa de hígado de cerdo o Lipasa pancreática de porcino;

30

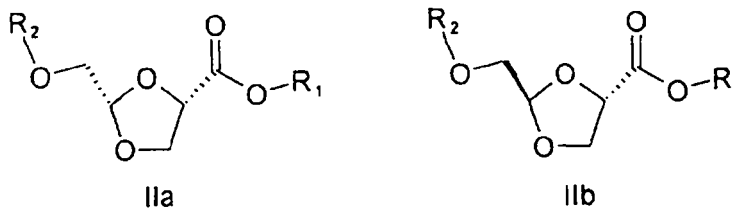
b) recuperar dicho compuesto de fórmula I

en donde cada uno de R₁ y R₂ son como se define arriba.

35

Se apreciará por los expertos en la técnica que el compuesto de fórmula II puede representarse también por las fórmulas IIa y IIb. Dicha mezcla de compuestos de fórmula IIa y IIb puede estar presente en diversas relaciones tales como desde aproximadamente 1% a aproximadamente 99% de IIa frente a IIb (v.g. 1 a 1 o 1,5 a 1 o 2 a 1). La totalidad de dichas posibles relaciones están incluidas dentro del alcance de la invención.

40



45

50

En realizaciones adicionales:

R₁ es alquilo C₁₋₁₂;

R₁ es alquilo C₁₋₆;

55

R₁ es metilo.

60

En realizaciones adicionales:

R₂ es CO-arilo C₆₋₁₂;

R₂ es benzoílo.

65

En una realización, la enzima es Esterasa de hígado de cerdo.

En otra realización, la enzima es Lipasa pancreática de porcino.

ES 2 318 179 T3

En una realización, la cantidad adecuada de enzima se utiliza en una relación en peso de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 100% con respecto al compuesto de fórmula II.

5 En una realización, la cantidad adecuada de enzima se utiliza en una relación en peso de aproximadamente 1% a aproximadamente 25% con respecto al compuesto de fórmula II.

En una realización adicional, la cantidad adecuada de enzima se utiliza en una relación en peso de aproximadamente 5% a aproximadamente 10% con respecto al compuesto de fórmula II.

10

En realizaciones adicionales:

el compuesto de fórmula I tiene una pureza diastereomérica de al menos 80%;

15

el compuesto de fórmula I tiene una pureza diastereomérica de al menos 90%;

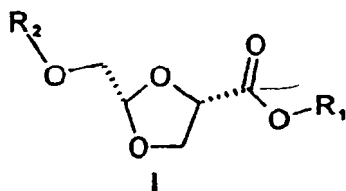
el compuesto de fórmula I tiene una pureza diastereomérica de al menos 95%;

20

el compuesto de fórmula I tiene una pureza diastereomérica de al menos 98%.

En una realización, la presente invención proporciona un proceso para producir un compuesto de fórmula I:

25



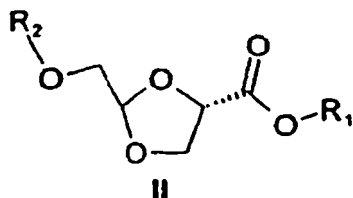
30

comprendiendo dicho proceso los pasos de:

35

a) someter un compuesto de fórmula II:

40



45

a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de Esterasa de hígado de cerdo o Lipasa pancreática de porcino;

50

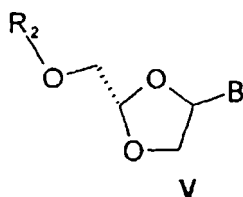
b) recuperar dicho compuesto de fórmula I;

y comprendiendo adicionalmente los pasos de:

55

c) reemplazar el grupo funcional en la posición C4 del compuesto de fórmula I para producir un compuesto de fórmula V:

60

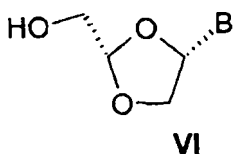


65

d) eliminar el grupo R₂ de dicho compuesto de fórmula V;

ES 2 318 179 T3

e) recuperar un compuesto de fórmula VI:



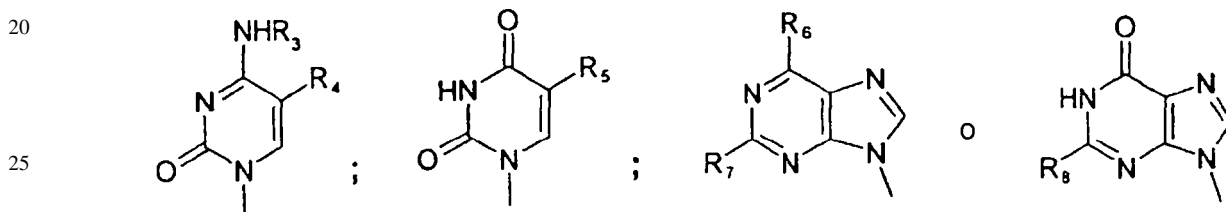
10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde:

B es una base púrica o pirimidínica o un análogo de la misma; y

15 en donde cada uno de R₁ y R₂ son como se define arriba.

En una realización, B se selecciona de:



en donde:

30 R₃ se selecciona de H, alquilo C₁₋₆, acilo C₁₋₆ y CO-R₉;

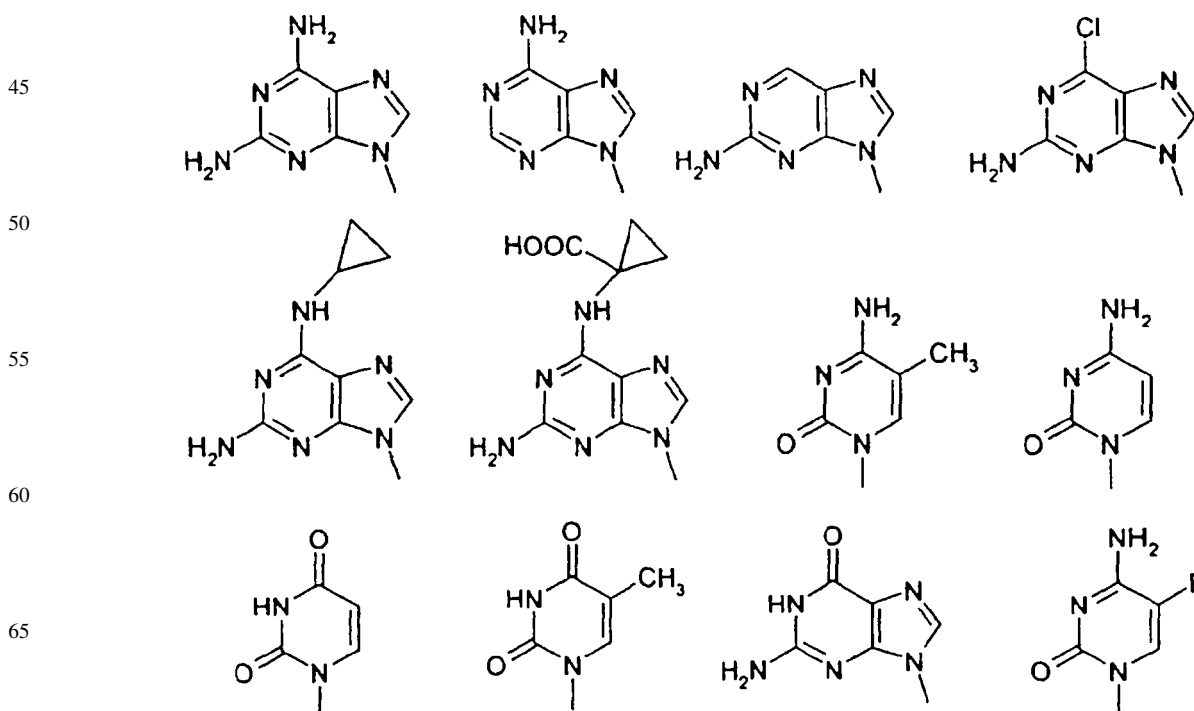
en donde R₉ es H o alquilo C₁₋₆;

35 R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo C₁₋₆, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro o CF₃;

y

R₆, R₇ y R₈ se seleccionan cada uno independientemente de H, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro, amino, hidroxilo o cicloalquilamino C₃₋₆.

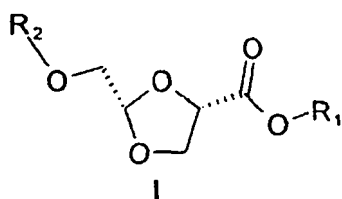
40 En otra realización, B se selecciona de:



ES 2 318 179 T3

En una realización, la presente invención proporciona un proceso para producir un compuesto de fórmula I:

5

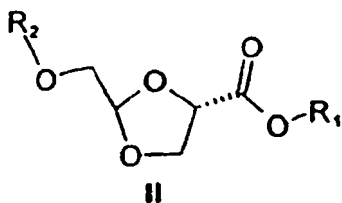


10

15 comprendiendo dicho proceso los pasos de:

a) someter un compuesto de fórmula II:

20



25

30

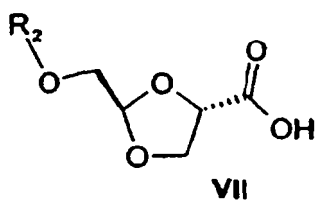
a una solución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de Esterasa de hígado de cerdo o Lipasa pancreática de porcino;

35

b) recuperar dicho compuesto de fórmula I;

y comprendiendo adicionalmente el paso de recuperar un compuesto de fórmula VII:

40



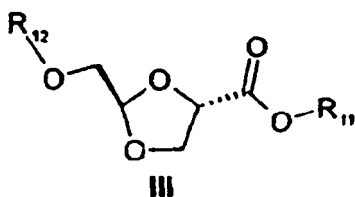
45

50

en donde cada uno de R₁ y R₂ es como se define arriba.

En una realización, la presente invención proporciona un proceso para producir un producir un compuesto de fórmula III:

55



65

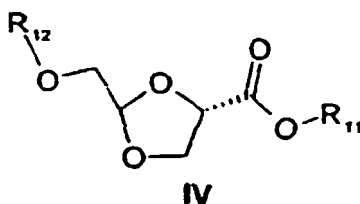
ES 2 318 179 T3

comprendiendo dicho proceso los pasos de:

a) someter un compuesto de fórmula IV:

5

10



15 a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de lipasa "A" de *Candida antarctica*, lipasa "B" de *Candida antarctica*, lipasa de *Candida lypolitica* o lipasa de *Rhizomucor miehei*:

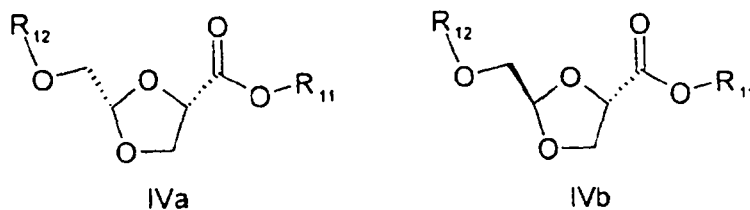
20 b) recuperar dicho compuesto de fórmula III;

en donde R₁₁ y R₁₂ son como se describe arriba.

Se apreciará por los expertos en la técnica que el compuesto de fórmula IV puede representarse también por la fórmula IVa y IVb. Dicha mezcla de compuestos de fórmula IVa y IVb puede estar presente en diversas relaciones tales como desde aproximadamente 1% a aproximadamente 99% de IVa frente a IVb (v.g. 1 a 1 o 1,5 a 1 o 2 a 1). Todas dichas relaciones posibles se incluyen dentro del alcance de la invención.

30

35



En realizaciones adicionales:

40

R₁₁ es alquilo C₁₋₁₂;

R₁₁ es alquilo C₁₋₆;

45

R₁₁ es metilo.

En realizaciones adicionales:

50

R₁₂ es CO-arilo C₆₋₁₂;

R₁₂ es benzoílo.

55

En una realización, la enzima es lipasa "A" de *Candida antarctica*.

En una realización adicional la enzima es lipasa "B" de *Candida antarctica*.

En otra realización adicional, la enzima es lipasa de *Candida lypolitica*.

60

En otra realización adicional, la enzima es lipasa de *Rhizomucor miehei*.

En una realización, la cantidad adecuada de enzima se utiliza en una relación en peso de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 100% con respecto al compuesto de fórmula IV.

65

En una realización, la cantidad adecuada de enzima se utiliza en una relación en peso de aproximadamente 1% a aproximadamente 25% con respecto al compuesto de fórmula IV.

ES 2 318 179 T3

En una realización, la cantidad adecuada de enzima se utiliza en una relación en peso de aproximadamente 5% a aproximadamente 10% con respecto al compuesto de fórmula IV.

5 En realizaciones adicionales:

el compuesto de fórmula III tiene una pureza diastereomérica de al menos 80%;

el compuesto de fórmula III tiene una pureza diastereomérica de al menos 90%;

10

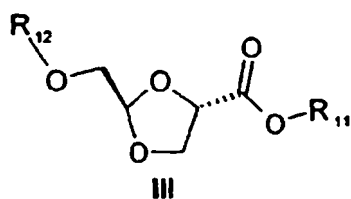
el compuesto de fórmula III tiene una pureza diastereomérica de al menos 95%;

el compuesto de fórmula III tiene una pureza diastereomérica de al menos 98%.

15

En una realización, la presente invención proporciona un proceso para producir un compuesto de fórmula III:

20



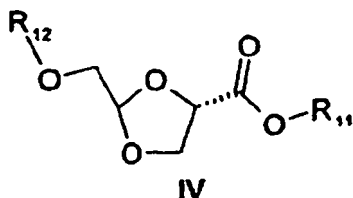
25

comprendiendo dicho proceso los pasos de:

30

a) someter un compuesto de fórmula IV:

35



40

45

a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de lipasa (A) de *Candida antarctica*, lipasa "B" de *Candida antarctica*, lipasa de *Candida lipolytica* o lipasa de *Rhizomucor miehei*;

50

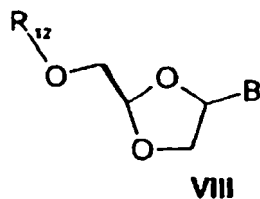
b) recuperar dicho compuesto de fórmula III;

y comprendiendo adicionalmente los pasos de:

55

c) reemplazar el grupo funcional en la posición C4 del compuesto de fórmula III para producir un compuesto de fórmula VIII:

60



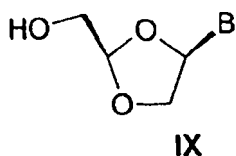
65

ES 2 318 179 T3

d) eliminar el grupo R₁₂ de dicho compuesto de fórmula VIII;

e) recuperar un compuesto de fórmula IX:

5



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde:

15

B es una base púrica o pirimidínica o un análogo de la misma;

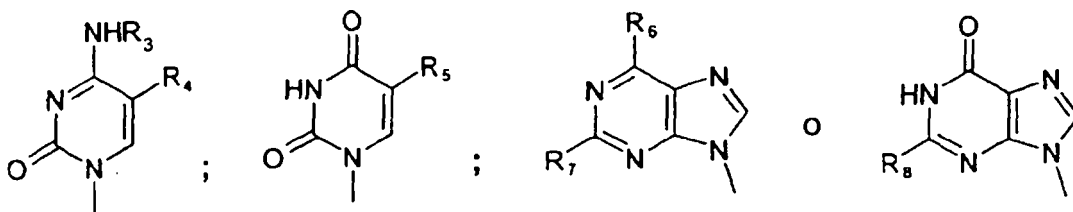
y

20

cada uno de R₁₁ y R₁₂ son como se define arriba.

En una realización, B se selecciona de:

25



30

en donde:

35

R₃ se selecciona de H, alquilo C₁₋₆, acilo C₁₋₆ y CO-R₉;

en donde R₉ es H o alquilo C₁₋₆;

40

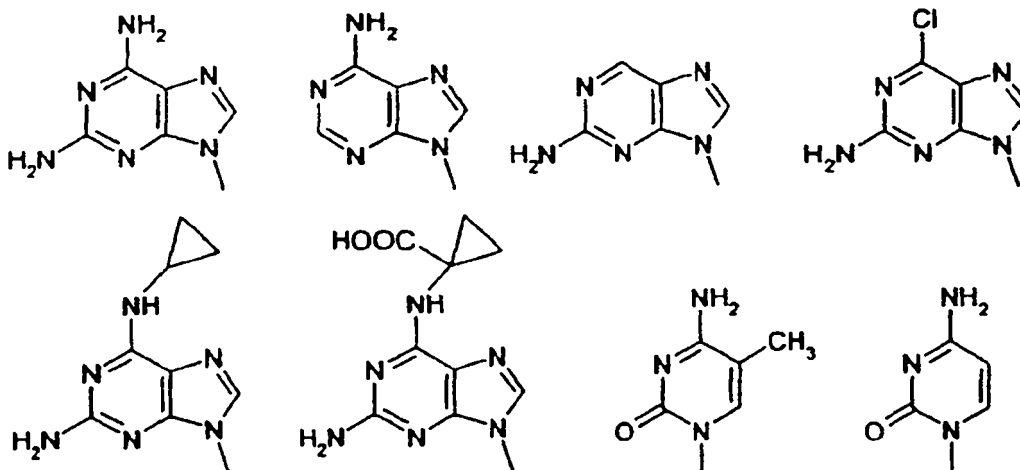
R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo C₁₋₆, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro o CF₃;

R₆, R₇ y R₈ se seleccionan cada uno independientemente de H, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro, amino, hidroxilo o cicloalquilamino C₃₋₆.

45

En otra realización, B se selecciona de:

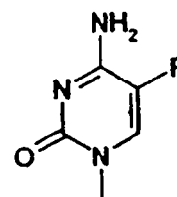
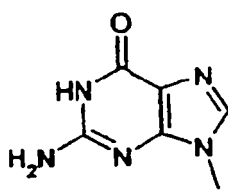
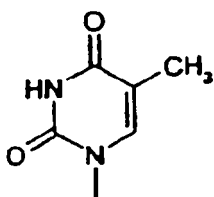
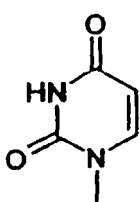
50



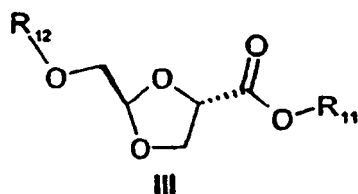
55

60

65

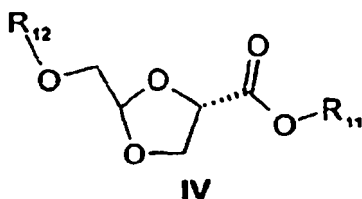


En una realización, la presente invención proporciona un proceso para producir un compuesto de fórmula III:



comprendiendo dicho proceso los pasos de:

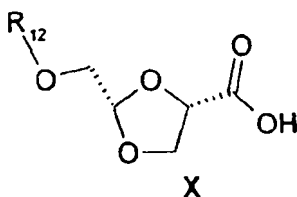
a) someter un compuesto de fórmula IV:



a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de lipasa "A" de *Candida antarctica*, lipasa "B" de *Candida antarctica*, lipasa de *Candida lyphitica* o lipasa de *Rhizomucor miehei*;

b) recuperar dicho compuesto de fórmula III;

y comprendiendo adicionalmente el paso de recuperar un compuesto de fórmula X:



en donde R_{11} y R_{12} son como se describe arriba.

Será apreciado también por un técnico experto que puede utilizarse un matraz de fondo redondo o un reactor estándar de laboratorio, provisto de un agitador en cabeza o una barra de agitación magnética, para proporcionar una mezcla más completa del sistema sin cizallamiento excesivo. Inicialmente, el compuesto II puede formar una fase separada en el fondo del reactor y a lo largo del curso de la reacción llega a dispersarse más uniformemente.

Se apreciará que puede utilizarse agitación si se desea. La tasa de agitación adecuada que puede utilizarse durante los pasos de adición de la enzima, durante la adición de base (para prevenir un pH local alto que puede ser inadecuado para los reactivos) o continuamente durante el proceso se seleccionará a fin de permitir que el proceso tenga lugar en las condiciones de reacción, y proporcionar el producto deseado sin afectar desfavorablemente a la reacción o desactivar la enzima en un grado importante.

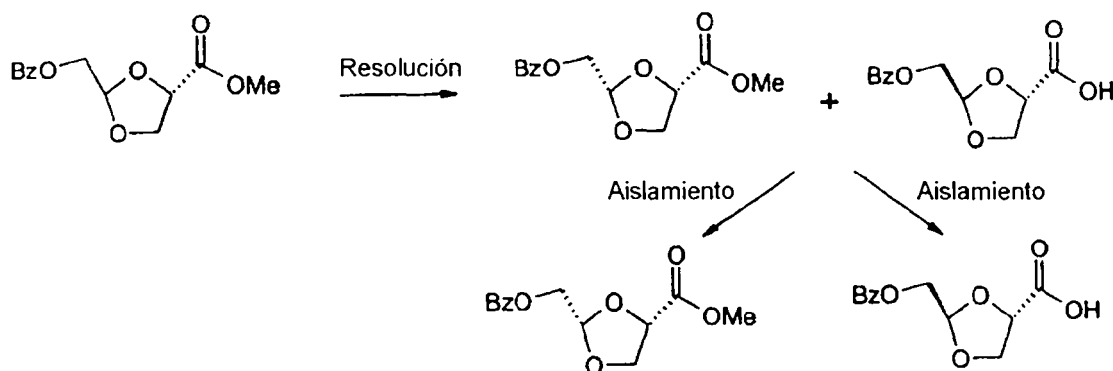
ES 2 318 179 T3

Una persona con experiencia ordinaria en la técnica apreciará que el compuesto de dioxolano utilizado para llevar a cabo la resolución enzimática diastereomérica (esquemas 1 y 2) puede prepararse utilizando procedimientos conocidos. Ejemplos de tales procedimientos se describen en:

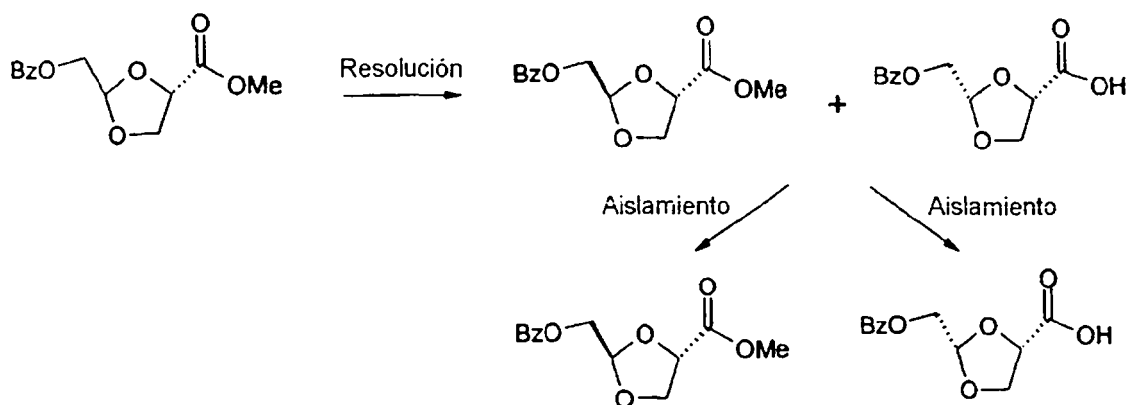
1. Publicación PCT número WO 97/21706 por MANSOUR, Tarek *et al.* 19 Junio 1997;
2. Publicación PCT número WO 00/47759 por CIMPOIA, Alex *et al.* 17 Agosto 2000; y
3. Publicación PCT número WO 00/39143 por NGUYEN-BA, Nghe *et al.* 6 Julio 2000.

En una realización, los procesos de esta invención pueden llevarse a cabo como se ilustra en los Esquemas generales 1 ó 2.

Esquema 1



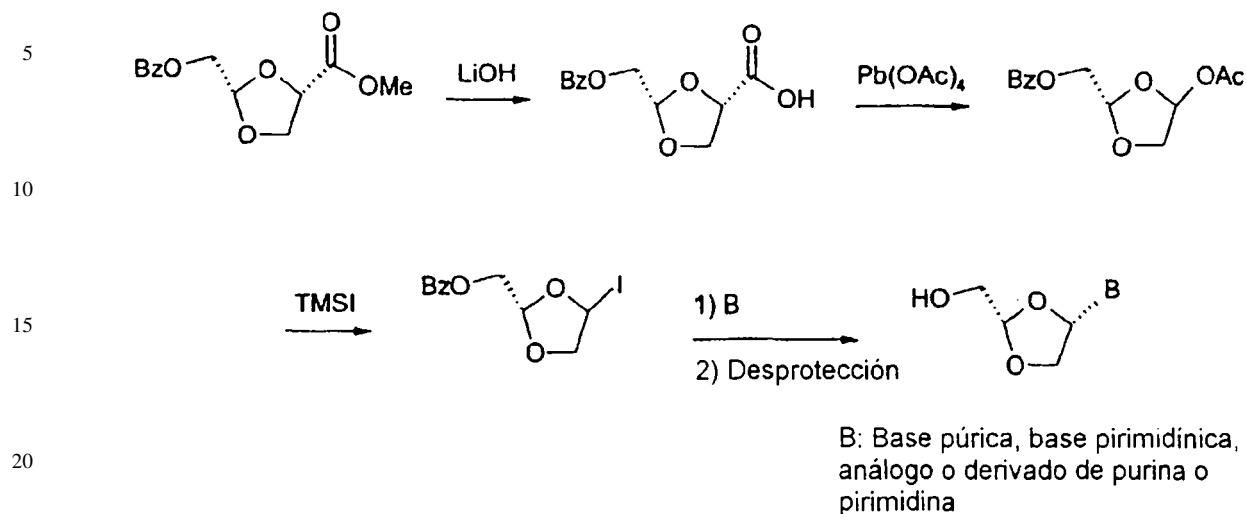
Esquema 2



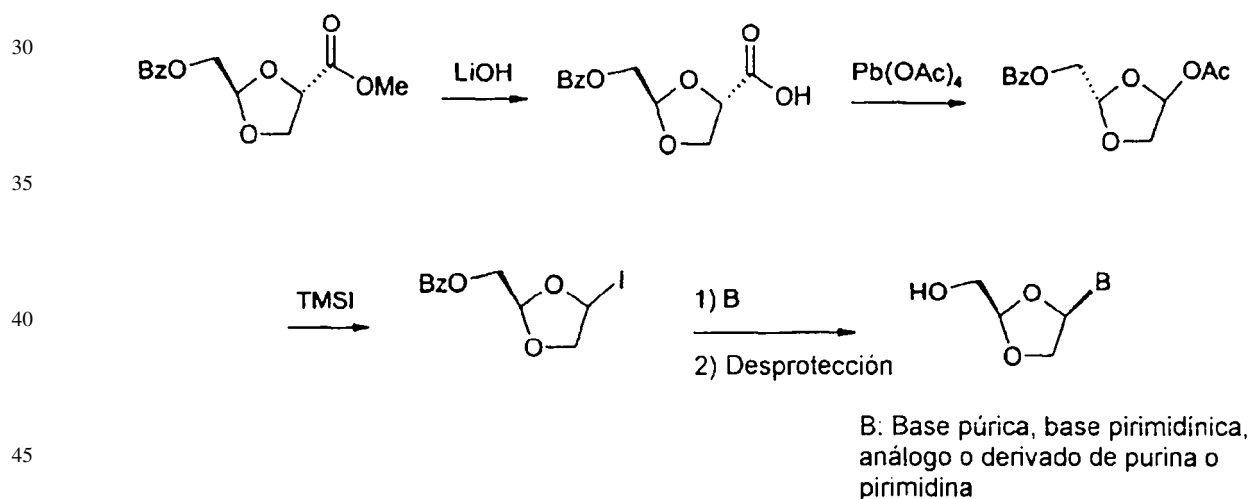
Existen varios ejemplos conocidos por los técnicos expertos en cuanto a la preparación de análogos de nucleósidos de dioxolano a partir de compuestos de dioxolano de fórmula I o fórmula III. Por ejemplo, métodos de enlace de una base púrica, una base pirimidínica o un análogo en la posición C-4 de un anillo de dioxolano se describen en: publicación PCT número WO 97/21706 y publicación PCT número WO 00/39143. El Esquema 3 y el Esquema 4 son métodos ilustrativos del enlace de una base púrica, una base pirimidínica, o un análogo a un anillo de dioxolano.

ES 2 318 179 T3

Esquema 3



Esquema 4



Después de la hidrólisis del éster metílico y descarboxilación oxidante, el dioxolano resultante puede acoplarse a una base púrica o pirimidínica o un análogo y desprotegerse ulteriormente para proporcionar los análogos de nucleósidos de dioxolano deseados.

Los Ejemplos que siguen se proporcionan para ilustrar diversas realizaciones de la presente invención y no deben considerarse como limitantes del alcance de la misma.

Ejemplos

Ejemplo 1

Éster metílico del ácido 2(S)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico

Se cargaron éster metílico del ácido 2-benzoiloximetil-[1,3]-dioxolano-4(S)-carboxílico (50 g, relación 1:1 cis a trans) y una barra de agitación magnética en un matraz Erlenmeyer de 1 litro. Se cargó luego en el matraz un tampón acuoso de fosfato (400 ml, 0,3 M, pH = 7,1). El matraz de reacción se calentó a 30°C utilizando un baño de agua externo.

ES 2 318 179 T3

El pH de la mezcla de reacción se ajustó a 7 con NaOH 1 N y a continuación se añadieron en una sola porción 4 g de polvo de Lipasa pancreática de porcino. La suspensión resultante se agitó moderadamente y el pH se mantuvo entre 6,8 y 7,2 por la adición periódica de NaOH 2 N con una pipeta. Se añadieron aproximadamente 35 ml de NaOH 2 N durante el curso de la reacción. La reacción se monitorizó por análisis HPLC utilizando una columna quirral (CHIRACEL® OD; 0,46 x 25 cm) para determinar la pureza óptica del éster sin reaccionar y la conversión de la reacción. (Se tomaron muestras al cabo de 1, 2, 4, 6 y 8 horas). Después de 5 horas, el proceso de la reacción había cesado, por lo que se añadieron 1,5 g adicionales de Lipasa pancreática de Porcino. Una vez que la relación de éster cis a éster trans era >98:2 (2,5 horas adicionales), la reacción se terminó por la adición de 200 ml de acetato de etilo.

Se añadió tierra de diatomeas (15 g) y la mezcla bifásica se agitó durante 5 minutos. Se filtró luego la mezcla con succión moderada y la torta del filtro se lavó con 2 porciones de 25 ml de acetato de etilo. La mezcla bifásica se transfirió a un embudo separador y se dejó sedimentar hasta que se separaron en la mayor medida posible las dos fases. Se trasegó una fase acuosa inferior clara (aprox. 400 ml) y se extrajo luego una sola vez con acetato de etilo (25 ml). Las capas orgánicas reunidas y la fase de emulsión se lavaron dos veces con 100 ml de bicarbonato de sodio saturado y se secaron por lavado una sola vez con 75 ml de salmuera saturada (en caso necesario, el producto puede secarse ulteriormente pasándolo a través de una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro). El disolvente se evaporó luego a presión reducida para dar el éster metílico del ácido 2(S)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico como un líquido amarillo pálido (25,8 g). El análisis por HPLC arrojó menos de 2% de éster metílico del ácido 2(R)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico.

Ejemplo 2

Éster metílico del ácido 2(R)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico

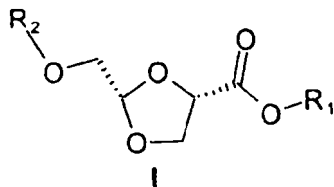
Se añadió éster metílico del ácido 2-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico (1,12 g de una mezcla de 1:1,27 de éster metílico del ácido 2(S)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico y éster metílico del ácido 2(R)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico) a un vaso de precipitados de 25 ml que contenía una barra de agitación y 10 ml de tampón de fosfato 0,04 M de pH 7,2. Se añadieron a esto 75 mg de Lipasa de *Rizomucor miehei* y se reajustó el pH a 7,2 con NaOH 2 N. La suspensión se agitó utilizando un agitador magnético y se dejó que la reacción transcurriera a la temperatura ambiente. El pH se reajustó periódicamente por adición de NaOH 2 N. La conversión se monitorizó retirando partes alícuotas de 50 µl y analizando por HPLC (Chiracel® OD; columna de 0,46 x 25 cm). Después de 1 hora, el grado de hidrólisis era 25%. Después de 9 horas, se paró la reacción por extracción con diclorometano (10 ml). La fase orgánica se recogió y la fase acuosa se reextrajo con diclorometano (10 ml). Se formó una emulsión persistente, por lo que se añadió tierra de diatomeas (3 g) y la mezcla se filtró a través de un embudo de vidrio sinterizado y la torta del filtro se lavó con diclorometano (10 ml). El filtrado se separó y las fases orgánicas reunidas se extrajeron con bicarbonato de sodio saturado (2 x 20 ml) y una porción de salmuera al 5% (15 ml). La solución se secó sobre sulfato de sodio y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se obtuvo el éster metílico del ácido 2(R)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico como un aceite amarillo (0,45 g), que contenía aproximadamente 3,5% de éster metílico del ácido 2(S)-benzoiloximetil-[1,3]dioxolano-4(S)-carboxílico.

Las enzimas útiles para la realización del proceso de la presente invención pueden obtenerse de Altus Biologics Inc. Cambridge, Massachusetts.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para producir un compuesto de fórmula I:

5



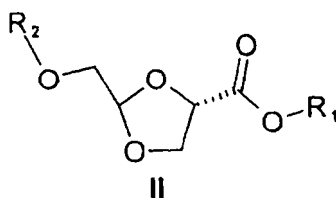
10

15

comprendiendo dicho proceso los pasos de:

a) someter un compuesto de fórmula II:

20



25

30

a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de Esterasa de hígado de cerdo o Lipasa pancreática de Porcino;

b) recuperar dicho compuesto de fórmula I

35

en donde:

R₁ se selecciona de alquilo C₁₋₁₂, alqueno C₂₋₁₂, alquino C₂₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heterociclo C₃₋₁₀, aralquilo C₆₋₁₂ o heteroaralquilo C₃₋₁₀; y

40

R₂ se selecciona de: CO-alquilo C₁₋₆, CO-arilo C₆₋₁₂, CO-alcoxi C₁₋₆, CO-ariloxi C₆₋₁₂ o CO-arilalquilo C₆₋₁₂.

2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₁ es alquilo C₁₋₁₂.

3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₂ es CO-arilo C₆₋₁₂.

45

4. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enzima es Esterasa de hígado de cerdo.

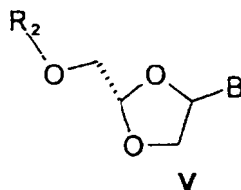
5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enzima es Lipasa pancreática de porcino.

50

6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente los pasos de:

a) reemplazar el grupo funcional en la posición C4 del compuesto de fórmula I para producir un compuesto de fórmula V:

55



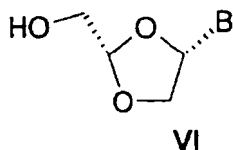
60

65

b) eliminar el grupo R₂ de dicho compuesto de fórmula V;

ES 2 318 179 T3

c) recuperar un compuesto de fórmula VI:

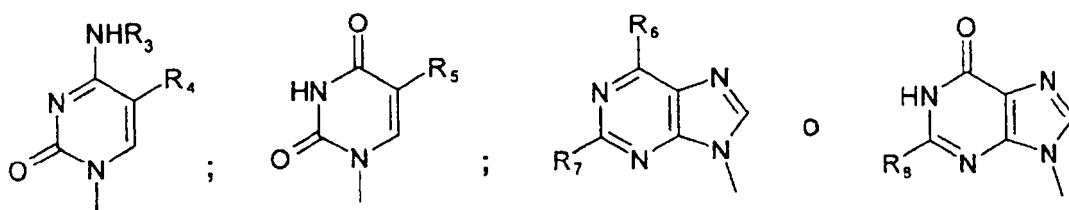


10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde:

15 B es una base púrica o pirimidínica o un análogo de la misma.

7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde B se selecciona de:



30 en donde:

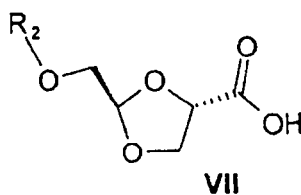
R₃ se selecciona de H, alquilo C₁₋₆, acilo C₁₋₆ y CO-R₉;

en donde R₉ es H o alquilo C₁₋₆;

35 R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo C₁₋₆, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro o CF₃;

40 y R₆, R₇ y R₈ se seleccionan cada uno independientemente de H, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro, amino, hidroxilo o cicloalquilamino C₃₋₆.

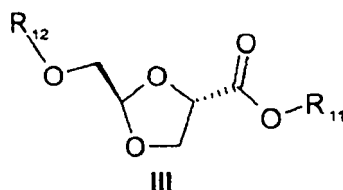
8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente el paso de recuperar un compuesto de fórmula VII:



9. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₁ es alquilo C₁₋₁₂ y R₂ es CO-arilo C₆₋₁₂.

10. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₁ es metilo y R₂ es benzoílo.

11. Un proceso para producir un compuesto de fórmula III:

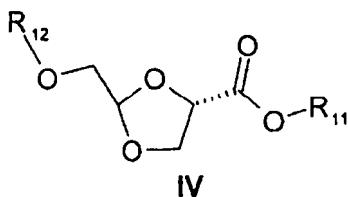


ES 2 318 179 T3

comprendiendo dicho proceso los pasos de:

a) someter un compuesto de fórmula IV:

5



10

15 a una resolución enzimática diastereomérica en presencia de una cantidad adecuada de enzima seleccionada de lipasa "A" de *Candida antarctica*, lipasa "B" de *Candida antarctica*, lipasa de *Candida lypholitica* o lipasa de *Rhizomucor miehei*;

b) recuperar dicho compuesto de fórmula III;

20

en donde:

R₁₁ se selecciona de alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂, alquinilo C₂₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heterociclo C₃₋₁₀, aralquilo C₆₋₁₂ o heteroaralquilo C₃₋₁₀; y

25

R₁₂ se selecciona de: CO-alquilo C₁₋₆, CO-arilo C₆₋₁₂, CO-alcoxi C₁₋₆, CO-ariloxi C₆₋₁₂, o CO-arilalquilo C₆₋₁₂.

12. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde R₁₁ es alquilo C₁₋₁₂.

30

13. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde R₁₂ es CO-arilo C₆₋₁₂.

14. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la enzima es lipasa "A" de *Candida antarctica*.

15. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la enzima es lipasa "B" de *Candida antarctica*.

35

16. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la enzima es lipasa de *Candida lypholitica*.

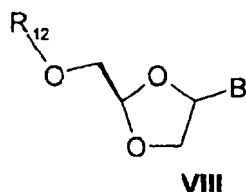
17. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la enzima es lipasa de *Rhizomucor miehei*.

40

18. El proceso de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende adicionalmente los pasos de:

a) reemplazar el grupo funcional en la posición C4 del compuesto de fórmula III para producir un compuesto de fórmula VIII:

45

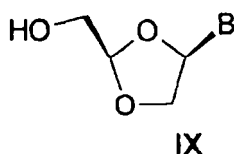


50

b) eliminar el grupo R₁₂ de dicho compuesto de fórmula VIII;

c) recuperar un compuesto de fórmula IX:

60



65

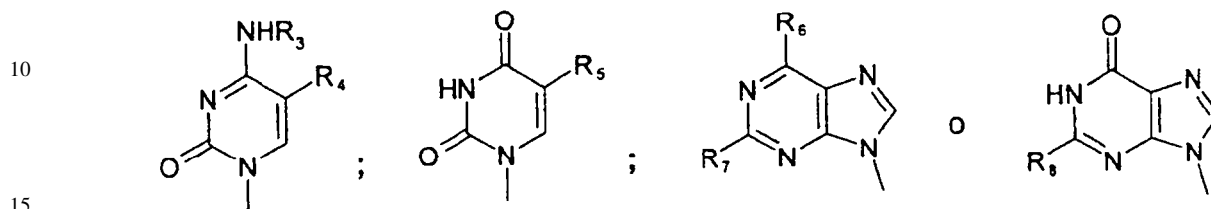
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

ES 2 318 179 T3

en donde:

B es una base púrica o pirimidínica o un análogo de la misma.

5 19. El proceso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde B se selecciona de:



en donde:

20 R₃ se selecciona de H, alquilo C₁₋₆, acilo C₁₋₆ y CO-R₉;

en donde R₉ es H o alquilo C₁₋₆;

25 R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo C₁₋₆, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro o CF₃;

y

R₆, R₇ y R₈ se seleccionan cada uno independientemente de H, bromuro, cloruro, fluoruro, yoduro, amino, hidroxilo o cicloalquilamino C₃₋₆.

30 20. El proceso de acuerdo con la reivindicación 18, que comprende adicionalmente el paso de recuperar un compuesto de fórmula X:



21. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde R₁₁ es alquilo C₁₋₁₂ y R₁₂ es CO-arilo C₆₋₁₂.

45 22. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde R₁₁ es metilo y R₁₂ es benzoílo.

50

55

60

65