



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 306 783**

⑤1 Int. Cl.:  
**C07H 19/00** (2006.01)

①2

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧6 Número de solicitud europea: **02768391 .1**

⑧6 Fecha de presentación : **01.08.2002**

⑧7 Número de publicación de la solicitud: **1412369**

⑧7 Fecha de publicación de la solicitud: **28.04.2004**

⑤4 Título: **Procedimiento para preparar nucleósidos purínicos.**

③0 Prioridad: **02.08.2001 US 309590 P**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.11.2008**

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.11.2008**

⑦3 Titular/es: **Ilex Oncology, Inc.**  
**4545 Horizon Hill Boulevard**  
**San Antonio, Texas 78229, US**

⑦2 Inventor/es: **Bauta, William, E.;**  
**Schulmeier, Brian, E.;**  
**Cantrell, William, R., Jr.;**  
**Lovett, Dennis y**  
**Puente, Jose**

⑦4 Agente: **Carpintero López, Mario**

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 para preparar nucleósidos purínicos.

La presente invención se refiere, en general a la preparación química de nucleósidos purínicos. Más específicamente, la invención se refiere al acoplamiento de un derivado de adenina con un arabinofuranosilo bloqueado para formar un nucleósido de  $\beta$ -D-adenina. Tales nucleósidos son compuestos valiosos en el campo del tratamiento del cáncer y como agentes antivirales.

#### Antecedentes de la invención

Una serie de nucleósidos  $\beta$ -D-purínicos derivados de adenina son útiles como agentes antitumorales y antivirales. Una etapa importante en la síntesis de dichos agentes es la formación del enlace N-glucosídico entre la base nucleotídica adenina y un derivado de arabinofuranosilo. Las reacciones de acoplamiento usadas para formar en enlace N-glucosídico de los 2'-desoxinucleósidos normalmente han tenido como resultado la formación de una mezcla de  $\alpha$  y  $\beta$ -anómeros.

Se han sintetizado nucleósidos mediante glucosilación de fusión, en la que la reacción se lleva a cabo en ausencia de disolventes a una temperatura suficiente para convertir los reactantes en una fase de fusión. Por ejemplo, la 2,6-dicloropurina se ha acoplado en condiciones de fusión con 5-O-bencil-2-desoxi-1,3-di-O-acetil-2-fluoroarabinosa para formar un 2'-fluoroarabinonucleósido con un rendimiento del 27% (Wright y col., J. Org. Chem. 34: 2632, 1969). Otro procedimiento sintético utiliza derivados sililados de bases nucleotídicas, por ejemplo una base nucleotídica sigilada se ha acoplado a azúcar desoxi paracetilada en presencia de un disolvente y un catalizador de Friedel Crafts (Vorbruggen y col., J. Org. Chem. 41: 2084, 1976). Este procedimiento se ha modificado incorporando un grupo saliente de sulfonato en el azúcar desoxi en la síntesis de 2'-desoxi-2'-difluoronucleósidos (patente de EE.UU. N° 4.526.988; patente de EE.UU. 4.965.374).

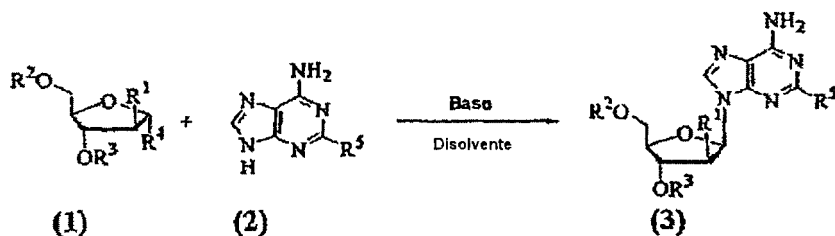
Se han obtenido rendimientos elevados de nucleósidos 2'-desoxi-2'-fluoro-pirimidina mediante el reflujo de pirimidinas con bromuro de 2-desoxi-2-fluoro-3,5-di-O-benzoyl- $\alpha$ -O-arabinofuranosilo. (Howell y col., J. Org. Chem. 53: 85-88, 1988). Se ha descubierto que el uso de los disolventes con constantes dieléctricas menores tienen mayores cocientes de anómeros  $\beta$ : $\alpha$ . Se ha postulado que tales disolventes favorecían una reacción  $S_N2$ , mientras que disolventes con constantes dieléctricas mayores favorecían la producción de  $\alpha$ -anómeros a través de una vía iónica de  $S_N1$ .

También se han usado procedimientos de glucosilación aniónica para preparar nucleósidos de 2'-desoxi-2'-fluoropurina. El documento EP 428109 describe el acoplamiento de la sal de sodio de 6-cloropurina, formada por hidruro de sodio, con bromuro de 3,5-dibencil- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo usando condiciones que favorecen el desplazamiento  $S_N2$ . El uso de acetonitrilo/cloruro de metileno 1:1 tuvo como resultado un producto nucleosídico con una proporción entre los anómeros  $\alpha$ : $\beta$  de 10:1, frente a la proporción de 3,4:1 observada al usar un reactante purínicos sililado. Con respecto al uso de sales de adenina, el sustituyente de amino en la posición C-6 se protegió como un derivado de benzoylo durante la reacción de acoplamiento. La protección del grupo amino exocíclico impide la formación de aductos de arabinofuranosilo que, en caso contrario cabría esperar que se produjeran (p. ej., Ubukata y col., Tetrahedron Lett., 27 3907-3908, 1986; Ubukata y col., Agric. Biol. Chem. 52: 1117-1122, 1988; Searle y col., J. Org. Chem., 60:4296-4298, 1995; Baraldi y col., J. Med. Chem., 41: 3174-3185, 1998). La preparación de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  de los nucleósidos 2'-desoxi-2'-fluoropurina y 2'-difluoropurina mediante glucosilación aniónica se describe en la patente de EE.UU. n° 5.744.597 y la patente de EE.UU. n° 5.821.357 con nucleósidos enriquecidos con el anómero  $\beta$  preparado en una proporción de anómeros  $\alpha$ : $\beta$  entre superior a 1:1 a alrededor de 10:1 y de mayor a 1:1 a alrededor de 7:1, respectivamente. Con respecto a las purinas sustituidas con grupos amino exocíclicos, de nuevo ambas patentes describen la protección de dichos grupos durante el acoplamiento a un resto de azúcar adecuado (véase también el documento EP 577304). La patente de EE.UU. n° 5.281.357 también describe el efecto de los disolventes sobre la proporción de anómeros  $\alpha$ : $\beta$  de 9-[1-(2'-desoxi-2',2'-difluoro-3',5'-di-O-benzoyl-D-ribofuranosilo)]-2,6-dipivalamidopurina preparada mediante acoplamiento de la sal de potasio de 2,6-dipivalanudipurina con una preparación de 2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoyl-1-trifluorometanosulfonato enriquecida con anómero  $\alpha$ . No hubo correlación entre la constante dieléctrica de los seis disolventes usados y la proporción entre los anómeros  $\alpha$ : $\beta$ , por ejemplo tanto el acetato de etilo como el acetonitrilo dieron la misma proporción de 1,6:1. El alcohol t-butílico dio la proporción más elevada de anómeros  $\alpha$ : $\beta$  de 3,5:1.

A pesar de los procedimientos preparativos para los nucleósidos purínicos conocidos en la técnica, todavía existe la necesidad de un procedimiento eficaz, eficiente y económicamente preferible para la preparación de estos compuestos. El objeto de la presente invención es proporcionar tal procedimiento. Otros objetos son minimizar el número de etapas de reacción del procedimiento y proporcionar un procedimiento que sea fácilmente escalable para la producción de cantidades a escala comercial. Otros objetos y ventajas se harán evidentes para personas expertas en la técnica y familiarizadas con las referencias básicas a partir de una lectura detenida de esta memoria descriptiva.

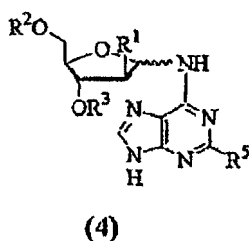
## Resumen de la invención

En sus términos más generales, un aspecto de la presente invención proporciona la preparación de nucleósidos de  $\beta$ -adenina mediante el acoplamiento de un derivado de adenina que contiene en la posición C-6 un grupo amino exocíclico no protegido y un derivado de arabinofuranosilo bloqueado. En formas de realización preferidas, esta reacción se puede representar como:



R<sup>1</sup> es hidrógeno, halógeno o -OR<sup>6</sup>, en el que R<sup>6</sup> es un grupo protector de hidroxilo. En una forma de realización preferida, R<sup>1</sup> es flúor. R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son grupos protectores de hidroxilo. En formas de realización preferidas, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>6</sup> son, de forma independiente, benzoílo o acetilo. R<sup>4</sup> es un grupo saliente. Entre los grupos salientes adecuados se incluyen halo, fluorosulfonilo, alquilsulfonilo, trifluoroalquilsulfonilo y arilsulfonilo. En una forma de realización preferida, R<sup>4</sup> es bromo. R<sup>5</sup> es hidrógeno, halógeno o -NH<sub>2</sub>. En formas de realización preferidas, R<sup>5</sup> es cloro o flúor.

Sorprendentemente, esta reacción procede sin una producción sustancial de aductos resultantes de la adición de arabinofuranosilo bloqueado (1) con el grupo amino exocíclico en la posición C-6 del compuesto (2) (en lo sucesivo denominado “grupo amino exocíclico C-6”), que permanece sin proteger durante la reacción y/o el nitrógeno en la posición N-7 del anillo de adenina. Un ejemplo de un aducto subproducto del grupo amino exocíclico no deseado está representado por la fórmula siguiente:

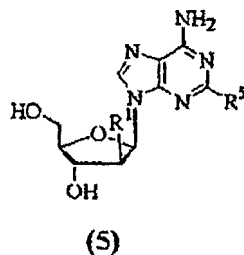


Para los propósitos de la presente invención y a la luz del objetivo de proporcionar un procedimiento eficaz, eficiente y económicamente preferible, “formación sustancial” significa conversión de alrededor del 40% del derivado de adenina de fórmula (2) en un aducto o aductos subproductos resultantes de la adición del arabinofuranosilo bloqueado de fórmula (1) al grupo amino no exocíclico C-6 no protegido y/o la posición N-7 del compuesto (2). En formas de realización en las que R<sup>5</sup> es -NH<sub>2</sub> (en lo sucesivo denominado “grupo -NH<sub>2</sub> R<sup>5</sup>”), “formación sustancial” significa conversión de alrededor del 40% del derivado de adenina de fórmula (2) en aducto(s) subproducto(s) resultantes de la adición del arabinofuranosilo bloqueado de fórmula (1) al grupo amino exocíclico C-6 no protegido y/o posición N-7 y/o el grupo -NH<sub>2</sub> R<sup>5</sup> del compuesto (2).

Incuso más sorprendente es que la reacción puede proceder sin incluso una producción significativa de aductos resultantes de la adición del arabinofuranosilo bloqueado (1) al grupo amino exocíclico C-6 no protegido y/o posición N-7 del compuesto (2). Para los propósitos de la presente invención, “producción significativa” significa conversión de alrededor del 5% del derivado de adenina de fórmula (2) en un aducto o aductos subproductos resultantes de la adición del arabinofuranosilo bloqueado (1) al grupo amino exocíclico C-6 no protegido y/o posición N-7 del compuesto (2). En formas de realización en las que R<sup>5</sup> es -NH<sub>2</sub>, “producción significativa” significa conversión de alrededor del 5% del derivado de adenina de fórmula (2) en un aducto(s) subproducto(s) resultante de la adición del arabinofuranosilo bloqueado de fórmula (1) al grupo amino exocíclico C-6 no protegido y/o posición N-7 y/o el grupo -NH<sub>2</sub>-R<sup>5</sup> del compuesto (2).

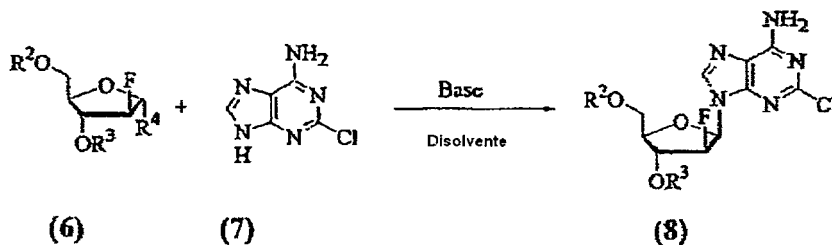
En general, bases útiles son aquellas con una pKa en agua de 15 o superior. En formas de realización preferidas, la base es una base de metal alcalino, más preferentemente una base de potasio. En formas de realización preferidas, la base es una base esteéricamente impedida, por ejemplo *t*-butóxido de potasio o *t*-amilato de potasio. Los disolventes inertes adecuados incluyen, entre otros, alcohol *t*-butílico, acetonitrilo, diclorometano, dicloroetano, alcohol *t*-amílico, tetrahidrofurano o mezclas de los mismos. En formas de realización preferidas, el disolvente o mezcla de disolventes tiene un punto de ebullición de alrededor de 80°C o mayor.

El procedimiento de la presente invención también comprende además la desprotección del resto de hidrato de carbono bloqueado para formar un  $\beta$ -nucleósido de la fórmula:



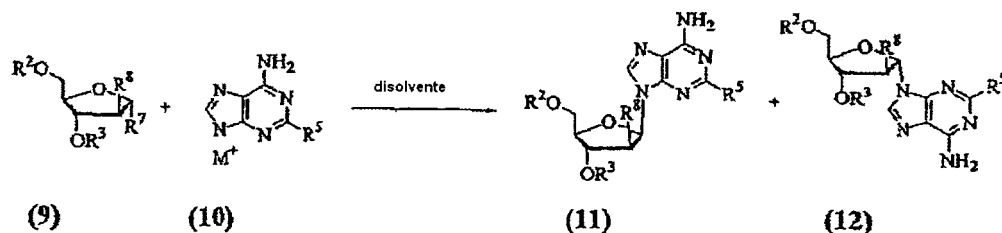
en la que  $R^1$  y  $R^5$  son como se ha definido antes.

En algunas formas de realización, el derivado de adenina es 2-cloroadenina y el derivado de arabinofuranosilo bloqueado es un derivado de 2-desoxi-2-fluoro-arabinofuranosilo, con lo cual el  $\beta$ -nucleósido resultante es un derivado de 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosilo)adenina. La reacción se puede representar como:



en la que  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^4$  son como se ha definido antes. Asimismo, el procedimiento también comprende desproteger el resto hidrato de carbono para formar 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosilo)adenina, también conocida como clofarabina.

Otro aspecto de la invención es el descubrimiento de la sorprendente estereoselectividad que se puede alcanzar en la producción de nucleósidos de 2'-desoxi-2'-halo- $\beta$ -D-adenina, en el que dichos nucleósidos también se producen con un rendimiento elevado. Esta reacción se puede representar como:



$R^7$  y  $R^8$  son, de forma independiente, halógeno,  $M^+$  es potasio, y  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^5$  son como se ha definido antes. Halógeno incluye bromo, flúor, cloro y yodo. En una forma de realización preferida,  $R^8$  es flúor. En varias formas de realización,  $R^7$  es cloro o, preferentemente, bromo. En algunas formas de realización, el procedimiento además comprende la adición de hidruro de calcio. Entre los disolventes inertes adecuados se incluyen alcohol *t*-butílico, acetonitrilo, diclorometano, dicloroetano, alcohol *t*-amílico, tetrahydrofurano o mezclas de los mismos. En formas de realización preferidas, el disolvente es una mezcla de alcohol *t*-butílico y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-butílico y dicloroetano, o una mezcla de dicloroetano y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-amílico y dicloroetano, o una mezcla de alcohol *t*-amílico y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-amílico, acetonitrilo y diclorometano, o una mezcla de alcohol *t*-amílico, acetonitrilo y dicloroetano. En formas de realización preferidas, el disolvente o la mezcla de disolventes tiene un punto de ebullición de alrededor de 80°C o superior.

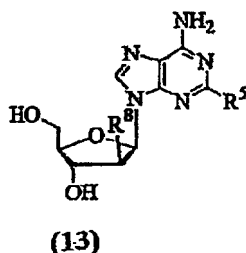
En algunas formas de realización, la sal derivada de adenina (10) se forma *in situ* mediante la reacción de una base de potasio con el correspondiente derivado de adenina (2). En formas de realización preferidas, la base es *t*-butóxido de potasio o *t*-amilato de potasio.

En varias formas de realización de la invención, la reacción de acoplamiento produce una preparación, en la que la proporción del anómero  $\beta$  de fórmula (11) con el anómero  $\alpha$  de fórmula (12) es de al menos alrededor de 10:1, o,

preferentemente, es de al menos alrededor de 15:1 o, más preferible, es de al menos alrededor de 20:1. Por tanto, la proporción de anómeros  $\beta$  y  $\alpha$  a recristalización o mediante un procedimiento de re-suspensión. En una forma de realización preferidas, el anómero  $\beta$  de fórmula (11) se prepara en un rendimiento de alrededor del 40% o superior. En formas de realización más preferidas, el anómero  $\beta$  de fórmula (11) se prepara en rendimientos de alrededor del 50% o superior o de alrededor del 80% o superior.

El procedimiento de la presente invención puede también comprender el aislamiento del anómero  $\beta$  (11) sometiendo la mezcla de anómeros  $\beta$  y  $\alpha$  a recristalización o mediante un procedimiento de re-suspensión. En una forma de realización preferida, la posterior purificación comprende la resuspensión en metanol o la cristalización de una mezcla de acetato de butilo y heptano. En varias formas de realización, la preparación purificada comprende una mezcla de nucleósidos en las que la proporción entre el anómero  $\beta$  de fórmula (11) y el anómero  $\alpha$  de fórmula (12) es de al menos alrededor de 20:1, o de al menos alrededor de 40:1 o de al menos alrededor de 60:1.

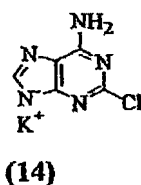
El procedimiento también comprende la desprotección del resto hidrato de carbono bloqueado del anómero  $\beta$  protegido para formar un nucleósido  $\beta$  de la fórmula:



en la que  $R^5$  y  $R^6$  son como se ha definido antes. Cuando  $R^5$  es cloro y  $R^8$  es flúor, el nucleósido  $\beta$  de fórmula (13) es 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina.

Otro aspecto de la presente invención es un procedimiento de múltiples etapas para la preparación de una composición que comprende 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina. Esto comprende la integración de los otros aspectos de la presente invención en una síntesis eficaz, eficiente y económicamente preferible y aislamiento de 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina. Este procedimiento minimiza el número de etapas, en parte no requiriendo la protección del grupo amino exocíclico C-6. Además, la sorprendente preferencia estereoselectiva por el anómero  $\beta$  permite, en parte, la preparación de una composición con una proporción entre los anómeros  $\beta$ : $\alpha$  de al menos 99:1 o, en formas de realización preferidas, es de alrededor de 400:1 o mayor, de alrededor de 500:1 o superior o de alrededor de 1000:1 o superior, sin utilizar una etapa de cromatografía preparativa para la purificación del anómero  $\beta$ . La ausencia de una etapa cromatográfica es una ventaja principal en relación con el procedimiento económicamente preferible a escala comercial.

El procedimiento comprende la reacción de bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo con una sal de potasio de 2-cloroadenina de la fórmula:



En presencia de un disolvente para formar 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina. El grupo amino exocíclico C-6 de la sal de potasio 2-cloroadenina no está protegido durante el procedimiento. A continuación, la 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina se desprotege para formar 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina, que después se aísla para proporcionar una composición que comprende 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina. En algunas formas de realización, en las que la composición producida mediante el procedimiento de múltiples etapas como se ha descrito anteriormente, también comprende 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosil)adenina, la 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina es sustancialmente pura. Para los fines de la presente invención, la 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina sustancialmente pura significa que la proporción entre el  $\beta$ -anómero y el  $\alpha$ -anómero, medida mediante cromatografía líquida de alta presión y análisis espectrofotométrico, es de al menos 99:1.

El procedimiento puede además comprender aislar la 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina antes de la etapa de desprotección. En algunas formas de realización, este aislamiento puede

comprender resuspensión y/o recristalización, que pueden efectuarse mediante el uso de metanol o mediante el uso de una mezcla de acetato de butilo y heptano. En otras formas de realización, el aislamiento de 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro-(3-D-arabinofuranosil)adenina también comprende recristalización. En algunas formas de realización, la recristalización se hace en metanol.

En algunas formas de realización, la sal de potasio de 2-cloroadenina se prepara *in situ* mediante la reacción de una base de potasio con 2-cloroadenina en un disolvente inerte adecuado. En formas de realización preferidas, la base es *t*-butóxido de potasio o *t*-amilato de potasio. Entre los disolventes inertes adecuados se incluyen alcohol *t*-butílico, acetonitrilo, diclorometano, dicloroetano, alcohol *t*-amílico, tetrahidrofurano o mezclas de los mismos. En formas de realización preferidas, el disolvente es una mezcla de alcohol *t*-butílico y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-butílico y dicloroetano, o una mezcla de dicloroetano y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-amílico y dicloroetano, o una mezcla de alcohol *t*-amílico y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-amílico y acetonitrilo y diclorometano, o una mezcla de alcohol *t*-amílico, acetonitrilo y dicloroetano.

### Breve descripción de las figuras

Las figuras siguientes forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar más ciertos aspectos de la presente invención. La invención puede entenderse mejor por referencia a una o más de estas figuras en combinación con la descripción detallada de formas de realización específicas presentadas en la presente memoria descriptiva.

Fig. 1. Esquema que representa la potencial justificación del efecto del potasio en la producción estereoselectiva de nucleósidos de 2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-adenina.  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^5$  son como se ha definido anteriormente.

Fig. 2. Esquema de las conformaciones previstas de los protones relevantes y átomos de flúor para la 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-halo- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina (clofarabina) (21) y 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosil)adenina (epiclofarabina) (22).

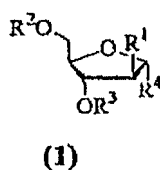
Fig. 3. RNM 1H parcial de 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina (clofarabina) (21).

Fig. 4. RNM 1H parcial de 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosil)adenina (epiclofarabina) (22).

### Descripción detallada de la invención

#### 1. Reacciones De acoplamiento usando bases púricas con grupos amino exocíclicos no protegidos

Un aspecto de la presente invención proporciona la preparación de nucleósidos de  $\beta$ -adenina mediante el acoplamiento de un derivado de adenina con un grupo amino exocíclico C-6 no protegido y un derivado de arabinofuranosilo bloqueado, en presencia de una base y de disolvente. El derivado de arabinofuranosilo bloqueado puede estar representado por la estructura:

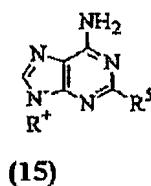


$R^1$  es hidrógeno, halógeno o -OR<sup>6</sup>, en el que R<sup>6</sup> es un grupo protector de hidroxilo. Los halógenos incluyen bromo, cloro, flúor y yodo.  $R^2$  y  $R^3$  son grupos protectores de hidroxilo. Los grupos protectores de hidroxilo se conocen en la técnica como grupos químicos funcionales a los que se puede unir selectivamente y que se pueden eliminar de una funcionalidad hidroxilo presente en un compuesto químico, para convertir tal funcionalidad inerte en las condiciones de la reacción química a la que el compuesto es expuesto. Los grupos protectores de hidroxilo se describen en Green y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2ª edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991, e incluyen formilo, acetilo, propionilo, arilalilo (p. ej., benzoilo y benzoilo sustituido), tritilo o monometoxitritilo, bencilo o bencilo sustituido, derivados de carbonato (p. ej., fenoxycarbonilo, etoxycarbonilo y *t*-butoxycarbonilo) y sililo trisustituido, incluido trialkilsililo (p. ej., dimetil-*t*-butilsililo) o difenilmethylsililo. En formas de realización preferidas, los grupos protectores son, de forma independiente, benzoilo o acetilo.

$R^4$  es un grupo saliente, ejemplos adecuados del cual incluyen halógeno, alkilsulfonilo y arilsulfonilo. Entre los halógenos se incluyen cloro, flúor, yodo y, en una forma de realización preferida, bromo. Los haluros de  $\alpha$ -arabinofuranosilo bloqueados se pueden preparar mediante varios procedimientos conocidos en la técnica empleando procedimientos estándar de uso habitual por un experto en la técnica, por ejemplo bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (que se muestra como ejemplo en el Ejemplo 1; Tann y col., *J. Org. Chem.*, 50: 3644, 1985, que se incorpora en la presente memoria descriptiva por referencia); el bromuro de 3-O-acetil-5-O-bencil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (Fox y col., *Carbohydrate Res.*, 42-233, 1975, que se incorpora en la

presente memoria descriptiva por referencia); cloruro de 2,3,5-O-tribencil- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (patente de EE.UU. n° 5.110.919, que se incorpora en la presente memoria descriptiva por referencia); y cloruro de 3,5-di-*p*-toluil-2-desoxi- $\alpha$ -arabinofuranosilo (Bhattacharya y col., J. Org. Chem., 28: 428, 1963; Nuhn y col., Pharmazie, 24: 237, 1969, ambas incorporados en la presente memoria descriptiva por referencia). La preparación de derivados de  $\alpha$ -arabinofuranosilo bloqueados sustituidos en la posición C-1 con alquilsulfonatos y arilsulfonatos se describe en la patente de EE.UU. n° 5.401-861 y la patente de EE.UU. N° 5.744.579, ambas incorporadas en la presente memoria descriptiva por referencia. Entre los alquilsulfonatos se incluyen metanosulfonato, etilsulfonato y butilsulfonato, y entre los alquilsulfonatos sustituidos se incluyen compuestos tales como sulfonato de trifluorometano y 1,1,1-trifluorometanosulfonato. Entre los arilsulfonatos se incluyen arilsulfonatos sustituidos tales como *p*-nitrobencenosulfonato, *p*-bromobencenosulfonato, *p*-metilbencenosulfonato y similares.

Generalmente, las bases útiles tienen una pKa en agua de 15 o mayor, y son adecuados para la formación de una sal del derivado de adenina (2), como se representa con la fórmula:



R<sup>5</sup> es como se ha definido anteriormente y R<sup>+</sup> es un catión monovalente. La base puede ser una base de metal alcalino y, en formas de realización preferidas, la base de metal alcalino es una base de potasio. En formas de realización preferidas, la base es una base estéricamente impedida, por ejemplo *t*-butóxido de potasio o *t*-amilato de potasio.

Los disolventes útiles en la presente invención son aquéllos que son inertes con respecto a la reacción. Entre los disolventes inertes adecuados se incluyen, entre otros, alcohol *t*-butílico, acetonitrilo, diclorometano, dicloroetano, alcohol *t*-amílico, tetrahidrofurano o mezclas de los mismos.

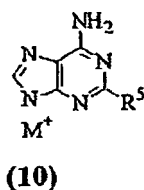
En una forma de realización preferida, la reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente. No obstante, en otras formas de realización, la reacción se lleva a cabo a temperaturas elevadas o menores. Por ejemplo, la reacción se puede llevar a cabo a alrededor de 40°C, o a alrededor de 50°C, o a alrededor de 60°C o en condiciones de reflujo. Como alternativa, la reacción se puede llevar a cabo de alrededor de -25°C a alrededor de 25°C, a alrededor de -20°C o a alrededor de -10°C, o a alrededor de 0°C o a alrededor de 10°C.

Siempre que un grupo amino se describe como “no protegido”, ello significa que el grupo amino no se ha bloqueado con un grupo protector de amino. El uso y los tipos de funcionalidades protectoras de amino son bien conocidos en la técnica. Ejemplos se describen en Green y Wuts Protective Groups in Organic Synthesis, 2ª edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991.

La proporción molar de los reactantes no se considera crítica y, en formas de realización preferidas, se usan equivalentes molares aproximadamente iguales de derivado de arabinofuranosilo bloqueado (1), derivado de adenina (2) y la base. En algunas formas de realización se usa un ligero exceso molar (p. ej., 1,05 a 1,1,5 equivalentes) de derivado de adenina (2) y/o de base. El orden y la forma de adición preferidos para cualquier forma de realización específica se pueden determinar mediante experimentación rutinaria con una visión hacia el rendimiento de la reacción y hacia la ingeniería química y las consideraciones de las producciones.

## 2. Preparación estereoselectiva de nucleósidos de 2-desoxi-purina

Otro aspecto de la invención es la preparación estereoselectiva de nucleósidos de 2-desoxi- $\beta$ -D-adenina. En este procedimiento, un haluro de 2-desoxi- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo bloqueado se acopla a la sal de un derivado de adenina representado por la fórmula:



R<sup>5</sup> y M<sup>+</sup> son como se ha descrito previamente. Sorprendentemente, la identidad del catión tiene un profundo efecto sobre la estereoselectividad de la reacción de acoplamiento. Las sales de potasio produjeron proporciones de

los anómeros  $\beta:\alpha$  mayores que las sales de litio o de sodio. La sal representada por la fórmula (10) se puede producir *in situ* mediante el uso de bases de potasio y derivados de adenina de fórmula (2). Generalmente las bases adecuadas tienen una pKa en agua de 15 o mayor, e incluyen bases de *t*-alcóxido de potasio, hidróxido potásico, y las bases impedidas incluyen diisopropilamida de potasio, bis(trimetilsilil)amida de potasio, hexametildisililazida de potasio, hidruro de potasio y similares. En formas de realización preferidas, la base es una base estéricamente impedida, por ejemplo *t*-butóxido de potasio o *t*-amilato de potasio.

No queriendo estar limitado por ninguna teoría, la estereoselectividad preferencial observada con potasio puede deberse, por ejemplo, cuando  $R^8$  es flúor y  $R^7$  es bromo, a una atracción electrostática entre el átomo de flúor electronegativo y el catión de potasio duro, lo que conduce a un ataque preferencial en el lado  $\beta$ , como se representa en la Fig. 1. La ausencia de selectividad del litio y sodio puede deberse a una asociación más covalente del catión con la base púrica. La presente invención también abarca otros cationes, tales como cesio, que pueden reemplazar al potasio como catión duro.

El disolvente empleado también posee un efecto marcado sobre la proporción de los anómeros  $\beta:\alpha$ . Generalmente, los disolventes con una constante dieléctrica menor favorecen la producción del anómero  $\beta$ . Pero la elección del disolvente no viene dictada simplemente por la constante dieléctrica, en cuanto a que existe una tendencia por una relación inversa entre incrementar la proporción de anómeros  $\beta:\alpha$  y el rendimiento de los anómeros  $\beta$  y  $\alpha$ . Presumiblemente, este efecto se relaciona con la solubilidad de los reactantes y/o los productos intermedios. Entre los disolventes adecuados se incluyen alcohol *t*-butílico, acetonitrilo, diclorometano, dicloroetano, alcohol *t*-amílico, alcohol isoamílico, tetrahidrofurano o mezclas de los mismos. En formas de realización preferidas, el disolvente es una mezcla de alcohol *t*-butílico y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-butílico y dicloroetano, o una mezcla de dicloroetano y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-amílico y dicloroetano, o una mezcla de alcohol *t*-amílico y acetonitrilo, o una mezcla de alcohol *t*-amílico, acetonitrilo u diclorometano, o una mezcla de alcohol *t*-amílico, acetonitrilo u dicloroetano. En las mezclas de dos componentes, los dos disolventes se pueden combinar en el intervalo de alrededor de 1:4 a alrededor de 1:1 v/v. En mezclas de tres componentes, los tres disolventes pueden estar combinados en proporciones de alrededor de 2:3:1 o de alrededor de 2:1:1 o de alrededor de 1:1:1.

En una forma de realización preferida, la reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente. En otras formas de realización se usan temperaturas elevadas o menores. La disminución de la temperatura de la reacción, como en el intervalo de la temperatura ambiente a alrededor de  $-25^{\circ}\text{C}$ , puede conducir a un incremento de la proporción de anómeros  $\beta:\alpha$ . Las temperaturas elevadas se pueden usar en el intervalo de la temperatura ambiente a las condiciones de reflujo.

En algunas formas de realización se añade hidruro de calcio. La adición de hidruro de calcio generalmente aumenta la proporción de anómeros  $\beta:\alpha$ . Este efecto puede deberse, en parte, a la eliminación de restos de agua del disolvente.

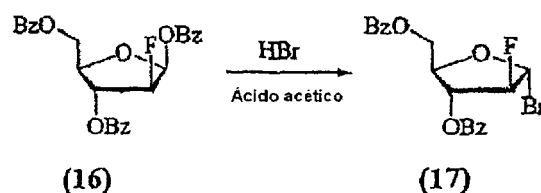
La proporción molar de los reactantes no se considera crítica y, en formas de realización preferidas en las que la sal derivada de adenina (10) se produce *in situ*, se usan equivalentes molares aproximadamente iguales de derivado de arabinofuranosilo bloqueado (9), derivado de adenina (2) y la base, y, cuando se añade, hidruro de calcio. En algunas formas de realización se usa un ligero exceso molar (p. ej., 1,05 a 1,15 equivalentes) de derivado de adenina (2) y/o de base. El orden y la forma de adición preferidos para cualquier forma de realización específica se pueden determinar mediante experimentación rutinaria con una visión hacia el rendimiento de la reacción y hacia la ingeniería química y las consideraciones de las producciones.

### Ejemplos de la invención

Sin más elaboración, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción precedente, utilizar la presente invención en toda su extensión. Con los siguientes ejemplos específicos se pretende meramente ilustrar la invención y no limitar de ninguna manera el alcance de la descripción o el alcance de las reivindicaciones.

#### Ejemplo 1

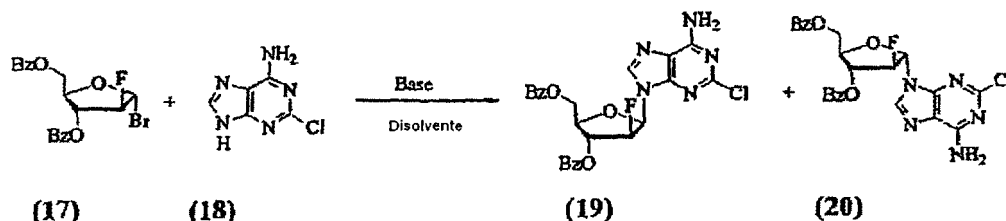
Preparación de bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo



Un matraz de fondo redondo de una boca (100 ml) se equipó con una barra de agitación y un adaptador de entrada de nitrógeno. El matraz se cargó con diclorometano (10,4 ml) y 1,3,5-O-tribenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosilo (16) (2,6 g, Sigma, St. Louis, MO) a temperatura ambiente. La solución se introdujo en atmósfera de nitrógeno. Se cargó una solución al 33% de bromuro de hidrógeno en ácido acético (0,96 g) y la mezcla resultante se agitó durante 18 h. El disolvente se eliminó mediante evaporación rotatoria para dar un residuo naranja. Esto se disolvió en diclorometano (30 ml) u se inactivó con salmuera de bicarbonato sódico (30 ml), con lo que el pH fue de 7-8. La fase orgánica se repartió y lavó con salmuera de bicarbonato sódico (30 ml). La fase orgánica se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y se filtró. La eliminación del disolvente mediante evaporación rotatoria y alto vacío dio bromuro de 3,5-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (17) en forma de una goma viscosa amarilla.

## Ejemplo 2

### Preparación de 2-cloro-9-(3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosilo)adenina



Se preparó 2-cloro-9-(3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosil)adenina (19) (Borregaard) utilizando diferentes bases y numerosos sistemas disolventes y la adición opcional de hidruro de calcio. En los ejemplos siguientes se describen tres preparaciones con detalle y otras preparaciones se resumen en la Tabla 1.

#### A. Preparación I

Un matraz de fondo redondo de tres bocas se equipó con un controlador de la temperatura, entrada de nitrógeno y tubos de salida, tabiques y una barra de agitación magnética. Se cargó cloroadenina (18) (0,45 g) en forma de sólido y bajo atmósfera de nitrógeno, seguido por *t*-butoxido de potasio (0,34 g), acetonitrilo (2,3 ml) y alcohol *t*-butílico (6,9 ml). Después de agitar durante 1 hora a 24°C-26°C, se añadió bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (17) (1,21 g). La suspensión naranja resultante se agitó a 24°C-26°C durante 16 horas. El análisis HPLC de una muestra control durante el procedimiento mostró una conversión del 96,6% y una proporción de anómero  $\beta$  (19) y anómero  $\alpha$  (20) de 10,7:1. El análisis HPLC usó un sistema de fase inversa con una columna Zorbax-SB-C18 y una fase móvil de 80:20 de acetonitrilo/agua con 15% v/v de ácido trifluoroacético a un caudal de 1 ml/min a 30°C. La detección se realizó mediante análisis espectrofotométrico a 263 nm. La conversión se expresa en forma de valores del área bajo la curva (a.u.c) de  $(19) + (20)/(18) + (19) + (20) \times 100$ . El disolvente se evaporó para dar 1,79 g de un residuo naranja. A esto se añadió acetato de etilo (34 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,25 h y, después, se filtró a través de papel de filtro y el papel se enjuagó dos veces con 5 ml de acetato de etilo. La evaporación de la solución filtrada dio 1,28 h de cristales de color naranja claro (86,8% mediante HPLC, área de los anómeros combinados). Este material todavía contenía una cantidad pequeña de 2-cloroadenina (13) mediante HPLC. La proporción anomérica fue de 11,8:1. Los cristales se disolvieron con 33 ml de acetato de etilo a temperatura ambiente, para dar una solución ligeramente opaca. Esto se filtró a través de una hoja de celite y el filtrado se evaporó para dar 1,16 g de cristales. Este material todavía contenía una cantidad pequeña de (13). El problema se remedió mediante una filtración más eficiente. Los cristales se disolvieron en 25 ml de acetato de etilo durante la noche a temperatura ambiente, para dar una solución ligeramente turbia. Esto se filtró a través de un filtro de jeringa Whatman de nylon de 0,45  $\mu\text{m}$  y se evaporó para dar 1,13 g. este material no contenía (18), mediante análisis HPLC, y tenía una proporción anomérica de 11,9:1 y un rendimiento de 83% con una pureza del 98,1% (a.u.c.). Considerando la producción de los anómeros (19) y (20), no se produjo una formación sustancial de un aducto subproducto formado por la reacción de bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (17) con el grupo amino exocíclico no protegido de la 2-cloroadenina (18). Además, el análisis HPLC reveló la ausencia de formación considerable de subproductos.

#### B. Preparación II

Un matraz de fondo redondo de tres bocas se equipó con una barra de agitación magnética, un controlador de la temperatura y una entrada de nitrógeno y se cargó con 2-cloroadenina (18) (0,29 g), seguido por acetonitrilo (1,6 ml), alcohol *t*-amílico (3,3 ml), terc-butoxido de potasio (0,2 g) e hidruro de calcio (0,069 g). Esta mezcla se agitó a 25°C durante 30 minutos antes de cargar bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (17) (0,68

g) disuelto en diclorometano (3,25 ml). La solución naranja se agitó durante dos días, tras lo cual el análisis HPLC mostró una proporción anomérica  $\beta:\alpha$  de 18,8:1 y una conversión de aproximadamente el 67%. El calentamiento a 40°C durante aproximadamente 4,5 h tuvo como resultado una proporción anomérica  $\beta:\alpha$  de 18,7:1 y una disminución de la conversión aparente a 63%. La mezcla de reacción se filtró al vacío y la torta de filtrado se lavó con diclorometano (2x12 ml). El filtrado se pasó a través de un filtro de jeringa de nylon y después se concentró mediante evaporación rotatoria y bomba de alto vacío para dar 0,72 g de material con una proporción anomérica  $\beta:\alpha$  de 19:1, y una pureza de 88% mediante HPLC (a.u.c.), dando un rendimiento de los anómeros (19) y (20) del 77%. En cuanto que hubo una conversión de aproximadamente un 77% de la cloroadenina, no hubo una formación sustancial ni significativa de un aducto subproducto formado mediante la reacción de bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (17) con el grupo amino exocíclico no protegido de 2-cloroadenina (18). Además, el análisis HPLC reveló ausencia de formación sustancial o significativa de subproductos.

### C. Preparación III

Un matraz de fondo redondo de tres bocas se equipó con una barra de agitación magnética, un controlador de la temperatura y una línea de entrada de nitrógeno y se cargó con alcohol *t*-amílico:acetonitrilo (9 ml) a una proporción de 2:1, seguido por 2-cloroadenina (18) (0,63 g), *t*-amilato de potasio (0,47 g) e hidruro de calcio (0,15 g). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de la adición de bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (17) (1,5 g) disuelto en alcohol *t*-amílico:acetonitrilo (97 ml) en una proporción de 2:1. La solución se agitó durante 17 horas, tras lo cual el análisis mediante HPLC mostró una conversión de alrededor del 79% y una proporción anomérica de  $\beta:\alpha$  de 14,5:1. La mezcla de reacción se filtró al vacío y el residuo se lavó con 2 x 5 ml de acetonitrilo. El filtrado se volvió a filtrar a través de un filtro de nylon de 0,45  $\mu$  y después se concentró. El residuo concentrado se disolvió en acetato de butilo (5 ml). Se añadió heptano (35 ml) y los cristales resultantes se recogieron mediante filtración al vacío y se sometieron a alto vacío. El análisis HPLC de los cristales indicó una proporción anomérica de  $\beta:\alpha$  de 19,4:1 y un rendimiento del 63% de material con una pureza del 90% (a.u.c.). En cuanto a que se produjo una conversión de alrededor del 79% de la cloroadenina, no se produjo una formación sustancial de un aducto subproducto formado por la reacción de bromuro de 3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo (17) con el grupo amino exocíclico no protegido de la 2-cloroadenina (18). Además, el análisis HPLC no reveló una formación sustancial de subproductos.

### D. Resumen de los procedimientos preparativos

Los resultados de los ejemplos preparativos además de los ejemplos anteriores indicados en las preparaciones I, II y III, se resumen en la Tabla 1. Normalmente, los procedimientos preparativos usaron equivalentes molares aproximadamente iguales de (17) y (18) e hidruro de calcio y un ligero exceso molar de base.

TABLA 1

| Disolventes†            | Base* | CaH <sub>2</sub> | Tiempo (horas) | Prop. $\beta:\alpha$ (19)/(20) | % Conversión † | Rendimiento aislado (%) |
|-------------------------|-------|------------------|----------------|--------------------------------|----------------|-------------------------|
| 2:1<br>tBuOH/DCE        | KOtBu | +                | 14             | 17                             | 54             | ND††                    |
| 1:2<br>DCE/tAmOH        | KOtBu | +                | 14             | 20,1                           | 60             | ND                      |
| 1:4<br>DCE/tAmOH        | KOtBu | +                | 14             | 20,5                           | 58             | ND                      |
| 1:2:2<br>MeCN/DCE/tAmOH | KOtBu | +                | 14             | 22,1                           | 74             | ND                      |

|                                                                                                                                                                                                                                              |                |   |    |      |    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---|----|------|----|----|
| 52% tBuOH<br>48% MeCN                                                                                                                                                                                                                        | KOtBu          | + | 26 | 10,7 | 90 | 42 |
| 52% tBuOH<br>48% MeCN                                                                                                                                                                                                                        | KOtBu          | - | 22 | 10,7 | 84 | 77 |
| 52% tBuOH<br>48% MeCN                                                                                                                                                                                                                        | KOtBu          | - | 21 | 11   | 86 | 79 |
| 51% alcohol amílico<br>49% MeCN                                                                                                                                                                                                              | KOtBu          | - | 17 | 13,1 | 80 | 83 |
| 2:2:1<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :tAmOH:MeCN                                                                                                                                                                                         | KOtBu          | + | 85 | 18,7 | 71 | 80 |
| 2:1 tAmOH:MeCN                                                                                                                                                                                                                               | KOtBu          | + | 85 | 12,7 | 70 | 84 |
| 2:1 tAmOH:MeCN                                                                                                                                                                                                                               | KOtBu          | + | 85 | 13,1 | 77 | 89 |
| 2:2:1<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :tAmOH:MeCN                                                                                                                                                                                         | KOtBu          | + | 69 | 13,9 | 73 | 41 |
| 2:1 tAmOH:MeCN                                                                                                                                                                                                                               | t-amilato de K | - | 18 | 19,6 | 76 | 80 |
| 1:1 tAmOH:MeCN                                                                                                                                                                                                                               | t-amilato de K | - | 18 | 13,3 | 79 | 84 |
| 1:2 tAmOH:MeCN                                                                                                                                                                                                                               | t-amilato de K | - | 18 | 6,73 | 92 | ND |
| 2:2:1<br>tAmOH:MeCN:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                                                                                                                                                                          | KOtBu          | + | 16 | 20,3 | 79 | 48 |
| ‡tBuOH= alcohol <i>t</i> -butílico; DCE= dicloroetano; tAmOH= alcohol <i>t</i> -amílico; MeCN= acetonitrilo.<br>*KOtBu= <i>t</i> -butóxido de potasio.<br>†%Conversión= a.u.c. de (19)+(20)/(18) + (19) + (20)x100.<br>††ND= No determinado. |                |   |    |      |    |    |

## Ejemplo 3

*Purificación de 2-cloro-9-(3,5-O-dibenzoil-2-desoxi-2-fluoro-β-D-arabinofuranosil)adenina mediante resuspensión*

Para purificar el compuesto (19) se usó una etapa de re-suspensión utilizando reflujo con metanol. Si es necesario, el pH deberá ajustarse a 6,0 antes de esta etapa, para prevenir la desprotección durante la etapa de re-suspensión. Dado que la resuspensión debe implicar un equilibrio entre las fases de sólido y de solución se requiere un periodo de tiempo para que este equilibrio se establezca bajo un grupo dado de condiciones experimentales. Por tanto, se investigaron los tiempos requeridos para el equilibrio mediante monitorización de la composición anomérica de pastas a diferentes proporciones de disolventes y temperaturas. Tres características salientes se pusieron de manifiesto: (1) una resuspensión caliente tuvo como resultado cantidades mayores de (19) en la solución en equilibrio; (2) la cantidad de (19) en la fase de solución aumenta con el tiempo a medida que se acerca al equilibrio para la resuspensión en caliente y disminuye con el tiempo para una resuspensión a temperatura ambiente; y (3) el equilibrio se alcanza esencialmente

a las 5 horas en condiciones de resuspensión en caliente o a temperatura ambiente, aunque se observa un ligero cambio en condiciones de temperatura ambiente en agitación durante la noche. La resuspensión a temperatura ambiente produjo un mayor incremento anomérico. Se concluyó que una resuspensión a temperatura ambiente durante al menos 5 horas, seguida por 1 hora de enfriamiento y filtración tiene como resultado la mejor recuperación y proporción anomérica. Los resultados de este procedimiento se muestran en la Tabla 2 para ciclos de 20 g realizados en un reactor de 1 l.

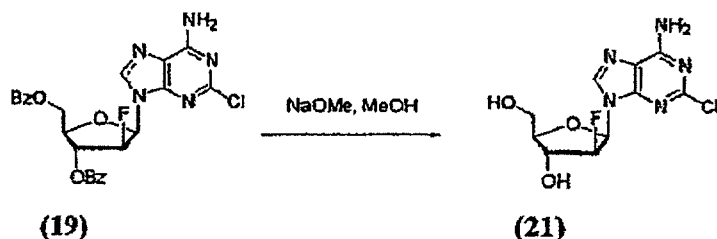
TABLA 2

| Condiciones † | Proporción inicial (19)/(20)‡ | Proporción final (19)/(20) | Recuperación de masa* |
|---------------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| A             | 19                            | 79                         | 62                    |
| B             | 20                            | 39                         | 69                    |
| B             | 24                            | 66                         | 74                    |

†Condiciones: A: 10 ml MeOH por gramo de producto bruto (19), 0,5 h a reflujo, después Temp.. amb. Durante 19 h, B: temp. Amb. Durante 5 días.  
 ‡ se refiere a la proporción anomérica que se somete a la etapa de resuspensión con metanol.  
 \*se refiere a la recuperación de masa sólo en la etapa de resuspensión con metanol.

## Ejemplo 4

*Hidrólisis del producto de condensación para dar 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosilo)adenina*



Dado que el benzoato de metilo es un líquido y fácilmente soluble en muchos disolventes orgánicos, se prefirió la escisión de los grupos bencilo con metóxido de sodio. Un matraz de 250 ml con varias bocas y equipado con un termopar, un agitador magnético, un purgador de nitrógeno y condensador de reflujo, se cargó con (19) (8,42 g, 16,45 mmol) y 15 ml de metanol a temperatura ambiente. Se inició la agitación y la mezcla se calentó hasta 38°C. La reacción se cargó con metóxido sódico (62 µl, 0,329 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 38°C durante 7 horas, después se detuvo el calentamiento y la mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El pH se ajustó hasta 5,0 con ácido acético. El matraz de reacción se enfrió en un baño de hielo durante 2 horas y la mezcla de reacción se filtró y el matraz y la torta de filtrado se lavaron con 9,5 ml de metanol. Un matraz de 250 ml y múltiples bocas, equipado con un termopar, un agitador magnético, un purgador de nitrógeno y un condensador de flujo se cargó el sólido húmedo y 105 ml de metanol, se agitó y se calentó hasta reflujo. La solución caliente se filtró y el filtrado se transfirió al matraz de reacción original, en la que la mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente. La mezcla se enfrió en un baño de hielo/agua durante 0,5 h y la mezcla se filtró y el matraz y la torta de filtro se enjuagó con 9,8 ml de metanol. El sólido húmedo se secó en una estufa de vacío para producir (21) a un rendimiento de 69,4% con una pureza de 99,14 (a.u.c.). No se detectó ningún anómero α mediante HPLC.

## ES 2 306 783 T3

Otros Ejemplos del procedimiento de desprotección con condiciones variables se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3

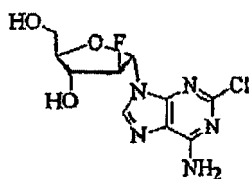
| Mmol<br>(19) | NaOMe<br>(eq.) | MeOH<br>ml/kg | Temp<br>°C | %<br>Recuperación<br>de masa | Proporción<br>anométrica | Área<br>HPLC<br>(%) |
|--------------|----------------|---------------|------------|------------------------------|--------------------------|---------------------|
| 1,68         | 0,015          | 4             | 25         | 68,8                         | 338/1                    | 98,0                |
| 2,05         | 0,100          | 20            | 25         | 58,9                         | 415/1                    | 99,6                |
| 2,11         | 0,010          | 20            | 25         | 58,4                         | 469/1                    | 93,7                |
| 2,09         | 0,010          | 4             | 25         | 64,2                         | 248/1                    | 99,0                |
| 2,03         | 0,100          | 4             | 25         | 68,2                         | 126/1                    | 98,6                |
| 2,82         | 0,055          | 12            | 38         | 60,2                         | 330/1                    | 99,1                |
| 3,07         | 0,055          | 12            | 38         | 66,9                         | 521/1                    | 99,0                |
| 2,94         | 0,055          | 12            | 38         | 64,9                         | ∞/1                      | 99,6                |
| 2,01         | 0,100          | 4             | 50         | 62,6                         | 1657/1                   | 99,4                |
| 2,07         | 0,010          | 4             | 50         | 64,3                         | 521/1                    | 98,9                |
| 1,97         | 0,010          | 20            | 50         | 59,3                         | 432/1                    | 99,4                |
| 1,99         | 0,100          | 20            | 50         | 61,0                         | 397/1                    | 61,0                |
| 17,05        | 0,020          | 8             | 25         | 53,5                         | 988/1                    | 98,8                |

### Ejemplo 5

#### Designaciones RMN para clofarabina y epiclofarabina

Preparaciones agrupadas de mezclas anométricas de (19) y (20) se agruparon y desprotegieron a través de la eliminación de los grupos benzoilo mediante tratamiento con metóxido de sodio y metanol. Las clofarabina y epiclofarabina resultantes se aislaron mediante HPLC preparativa. En un ciclo típico, 60 mg de muestra bruta se disolvieron en 1,4 ml de fase móvil, es decir acetonitrilo/agua en una proporción de 1:9 /v/v), para su inyección en una columna Phenomenex Progidy C18, 10  $\mu$  ODS, 250 x 21,2 mm y un caudal de 12 ml/min. Las fracciones agrupadas se sometieron a evaporación rotatoria para eliminar el acetonitrilo y se liofilizaron. Las muestras purificadas se sometieron a análisis RMN.

La Fig. 2 muestra las conformaciones previstas de los protones relevantes y de los átomos fluoruro para 2-cloro-9-(2'-desoxi-2-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosilo)adenina (clofarabina) (21) y 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro- $\alpha$ -D-arabinofuranosilo)adenina (epiclofarabina):



(22)

## ES 2 306 783 T3

Según estas suposiciones conformacionales y la relación de Karpus, las constantes de acoplamiento previstas del anómero  $\beta$  (21) y del anómero  $\alpha$  (22) deberán cumplir la relación siguiente:

- a)  $J_{H_2F}$  será grande para ambos anómeros,  $\alpha$  o  $\beta$
- b)  $(J_{H_1F})_\beta < (J_{H_1F})_\alpha$
- c)  $(J_{H_1H_2})_\beta > (J_{H_1H_2})_\alpha$
- d)  $J_{H_2H_3}$  será pequeño para ambos anómeros,  $\alpha$  o  $\beta$

Estas predicciones están avaladas por el análisis RMN de los anómeros purificados, como se muestra en la Tabla 2, Fig. 3 y Fig. 4. Es notable el hecho de que los protones  $N_6$  exocíclicos se producen en un desplazamiento químico predecible (7,8-8,0 ppm) para clofarabina (21) y epiclofarabina (22). Se han comunicado desplazamientos químicos  $N_6$  para otros derivados de adenina (Reid y col., Helv. Chim. Acta, 72: 1597-1606, 1989).

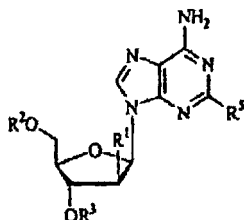
TABLA 2

| Desplazamientos químicos relevantes y constantes de acoplamiento para los anómeros† |                                        |                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------|
| Compuesto                                                                           | $H_2\delta$ (ppm)                      | $H_1\delta$ (ppm)                    |
| Clofarabina                                                                         | 5,76 (dt, 1H, $J = 63$ Hz, $J = 5$ Hz) | 6,31 (dd, $J = 15$ Hz, $J = 5$ Hz)   |
| Epiclofarabina                                                                      | 5,61 (dt, $J = 57$ Hz, $J = 4$ Hz)     | 6,19 (dd, $J = 19,5$ Hz, $J = 4$ Hz) |
| †HRMN datos recogidos a 250 MHz en DMSO—d6                                          |                                        |                                      |

La presente invención se ha mostrado tanto mediante descripción como mediante ejemplos. Los ejemplos son únicamente ejemplos y no pueden interpretarse como que limitan el alcance de la invención. Un experto en la técnica preverá equivalentes del procedimiento de la invención descrito mediante las reivindicaciones siguientes que entran dentro del alcance de la invención reivindicada.

# REIVINDICACIONES

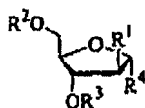
1. Un procedimiento para la preparación de un  $\beta$  nucleósido de la fórmula:



en la que

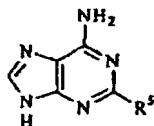
- $R^1$  es hidrógeno, halógeno o  $-OR^6$ ,
- $R^6$  es un grupo protector de hidroxilo,
- $R^2$  y  $R^3$  son, de forma independiente, grupos protectores de hidroxilo, y
- $R^5$  es un halógeno o  $-NH_2$ ,

en la que el procedimiento comprende la etapa de hacer reaccionar un derivado de  $\alpha$ -arabinofuranosilo de la fórmula:



en la que  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son como se ha definido antes y  $R^4$  es un grupo saliente seleccionado de halógeno, alquilsulfonilo y arilsulfonilo,

con un derivado de adenina de la fórmula:



En la que  $R^5$  es como se ha definido en lo que antecede y el grupo amino exocíclico C-6 de dicho derivado de adenina no está protegido, en presencia de un disolvente y una base, en la que dicha base tiene una pKa en agua de alrededor de 15 o mayor, y en la que no hay una producción sustancial o significativa de aductos formados mediante la adición de dicho derivado de  $\alpha$ -arabinofuranosilo con dicho grupo amino exocíclico C-6 de dicho derivado de adenina.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que  $R^5$  es  $-NH_2$  (no protegido) y no hay una producción sustancial de aductos formados mediante la adición de dicho derivado de  $\alpha$ -arabinofuranosilo con dicho grupo  $-NH_2$ .

3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que  $R^1$  es flúor o en el que  $R^5$  es cloro.

4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que  $R^1$  es flúor y  $R^5$  es cloro.

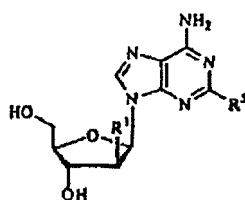
5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que  $R^1$  y  $R^3$  son, de forma independiente, bencilo o acetilo.

6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que  $R^4$  es bromo.

7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicha base es *t*-butoxido de potasio o *t*-amilato de potasio.

8. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho disolvente es mezcla de dos o más de alcohol *t*-butilico, acetonitrilo, dicloroetano, diclorometano, tetrahidrofurano y alcohol *t*-amílico.

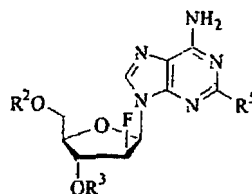
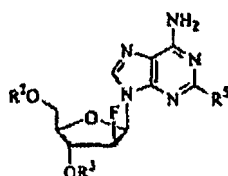
9. El procedimiento de la reivindicación 1 ó 4, en el que el procedimiento además comprende la etapa de desproteger dicho  $\beta$ -nucleósido para formar un  $\beta$ -nucleósido de la fórmula:



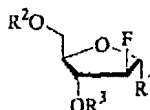
en la que  $R^1$  y  $R^5$  son como se ha definido en lo que antecede.

10. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que dicha base es *t*-butóxido de potasio y dicho disolvente es una mezcla de alcohol *t*-butílico y acetonitrilo.

11. Un procedimiento para la preparación estereoselectiva de un 2'-desoxi- $\beta$ -nucleósido de la fórmula:

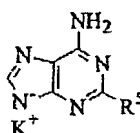


en la que  $R^2$  y  $R^3$  son, de forma independiente, grupos protectores de hidroxilo, y  $R^5$  es un halógeno o  $-NH_2$ , en el que el procedimiento comprende la etapa de hacer reaccionar un derivado 2'-desoxi- $\alpha$ -arabinofuranosilo de la fórmula:

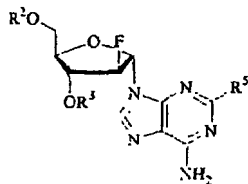


en la que  $R^7$  es un halógeno y  $R^2$  y  $R^3$  son como se ha definido en lo que antecede,

con una sal del derivado de adenina de la fórmula:



en la que  $R^5$  es como se ha definido en lo que antecede y el grupo amino exocíclico C-6 de dicha sal del derivado de adenina no está protegido, en presencia de un disolvente, en la que dicho 2'-desoxi- $\beta$ -nucleósido se produce en una proporción molar de al menos 10:1 respecto al anómero 2'-desoxi- $\alpha$ -nucleósido representado por la fórmula:



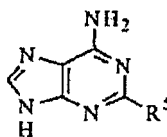
12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que  $R^5$  es cloro y/o en el que  $R^7$  es bromo o cromo.

13. El procedimiento de la reivindicación 12, en el que  $R^5$  es cloro y  $R^7$  es bromo.

14. El procedimiento de la reivindicación 11 ó 13, en el que dicha proporción molar entre dicho 2'-desoxi- $\beta$ -nucleósido y dicho 2'-desoxi- $\alpha$ -nucleósido es de al menos 15:1, preferentemente al menos 20:1.

15. El procedimiento de la reivindicación 11 ó 13, en el que  $R^2$  y  $R^3$  son, de forma independiente, bencilo o acetilo.

16. El procedimiento de la reivindicación 11 ó 13, en el que dicha sal del derivado de adenina se forma *in situ* en dicho disolvente mediante la reacción de una base de potasio con un derivado de adenina de la fórmula:



17. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que dicha base de potasio es *t*-butóxido de potasio o *t*-amilato de potasio.

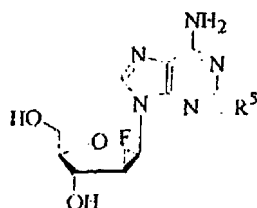
18. El procedimiento de la reivindicación 11 ó 13, en el que dicho disolvente se selecciona de alcohol *t*-butílico, una mezcla de alcohol *t*-butílico y acetonitrilo, una mezcla de alcohol *t*-butílico y dicloroetano, una mezcla de alcohol *t*-amílico y dicloroetano, una mezcla de alcohol *t*-amílico y acetonitrilo, una mezcla de alcohol *t*-amílico, acetonitrilo y diclorometano y una mezcla de *t*-amílico, acetonitrilo y dicloroetano.

19. El procedimiento de la reivindicación 11 ó 13, en el que no hay una producción sustancial o significativa de aductos formados mediante la adición de dicho derivado de 2'-desoxi- $\alpha$ -arabinofuranosilo con dicho grupo amino exocíclico C-6 de dicha sal de derivado de adenina.

20. El procedimiento de la reivindicación 11 ó 13, que además comprende la etapa de purificar dicho  $\beta$ -nucleósido mediante recristalización o preparación de una suspensión en un disolvente inerte.

21. El procedimiento de la reivindicación 20, en el que dicha purificación de dicho  $\beta$ -nucleósido comprende la resuspensión en metanol o la recristalización de la mezcla de acetato de butilo y heptano.

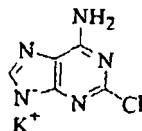
22. El procedimiento de la reivindicación 11 ó 13, que además comprende la etapa de desprotección de dicho 2'-desoxi- $\beta$ -nucleósido para formar un 2'-desoxi- $\beta$ -nucleósido de la fórmula:



en la que  $R^5$  es como se ha definido en lo que antecede.

23. Un procedimiento para la preparación de una composición que comprende 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina, en el que el procedimiento comprende las etapas de:

- (1) hacer reaccionar bromuro de 3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-fluoro-α-D-arabinofuranosilo con una sal de potasio de 2-cloroadenina de la fórmula:



en la que el grupo amino exocíclico de dicha sal de potasio de 2-cloroadenina no está protegido, en presencia de un disolvente para formar 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)adenina;

- (2) desproteger dicha 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)adenina para formar 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)adenina; y
- (3) aislar dicho 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina para formar una composición que comprende 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina.

24. El procedimiento de la reivindicación 23, en el que dicha composición comprende 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina sustancialmente pura, es decir, la proporción de dicho 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina con su anómero α medido mediante cromatografía de líquido de alta presión y análisis espectrofotométrico es al menos 99:1.

25. El procedimiento de la reivindicación 23, en el que el procedimiento comprende además la etapa de

- (4) aislar dicha 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina antes de desproteger dicha 2-cloro-9-(3',5'-O-dibenzoil-2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina, en particular en la que dicha etapa de aislamiento (4) comprende un procedimiento de resuspensión.

26. El procedimiento de la reivindicación 23, en el que dicha etapa de aislamiento (3) comprende la recrystalización de dicha 2-cloro-9-(2'-desoxi-2'-flúor-β-D-arabinofuranosil)adenina.

27. El procedimiento de la reivindicación 23, en el que dicha sal de potasio de 2-cloroadenina se forma *in situ* en dicho disolvente mediante la reacción de una base de potasio con 2-cloroadenina.

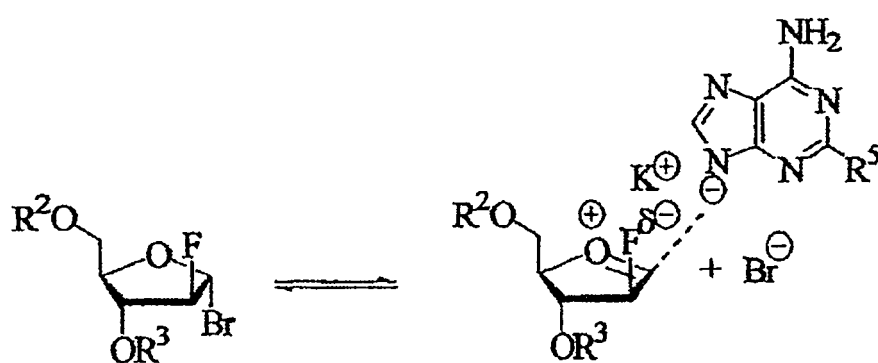
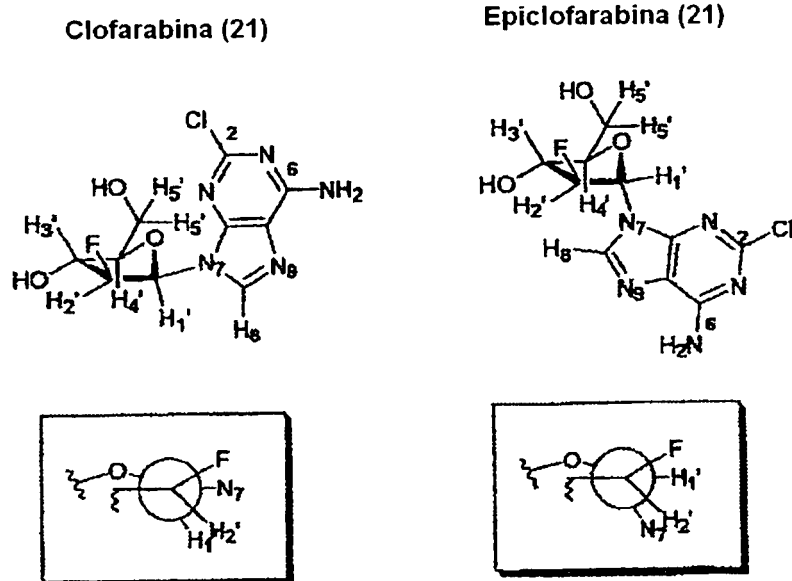
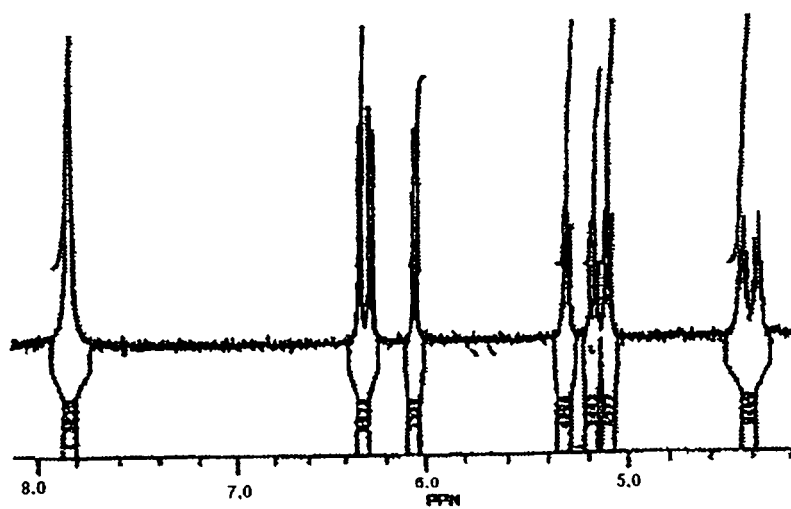


FIG. 1



**FIG. 2**



**FIG. 3**

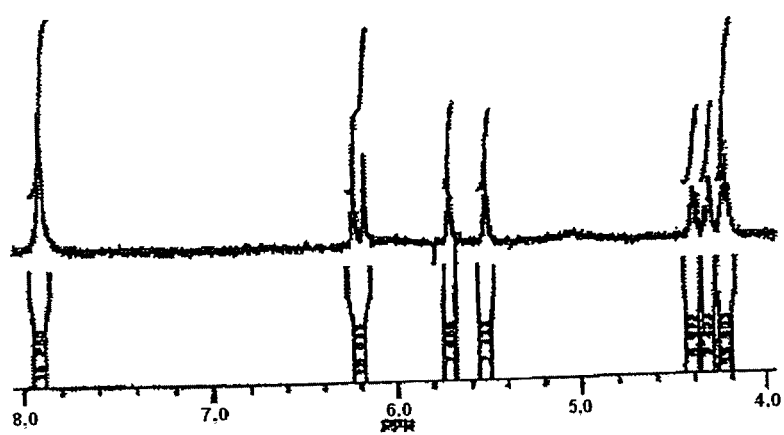


FIG. 4