



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 298 998**

51 Int. Cl.:
C07H 19/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **05701948 .1**

86 Fecha de presentación : **19.01.2005**

87 Número de publicación de la solicitud: **1709057**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **11.10.2006**

54 Título: **Síntesis de espongosina.**

30 Prioridad: **21.01.2004 GB 0401292**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2008

73 Titular/es: **Cambridge Biotechnology Ltd.**
P.O. Box 230
Cambridge CB2 1XJ, GB

72 Inventor/es: **Ouzman, Jacqueline, Valerie, Anne**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 298 998 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).

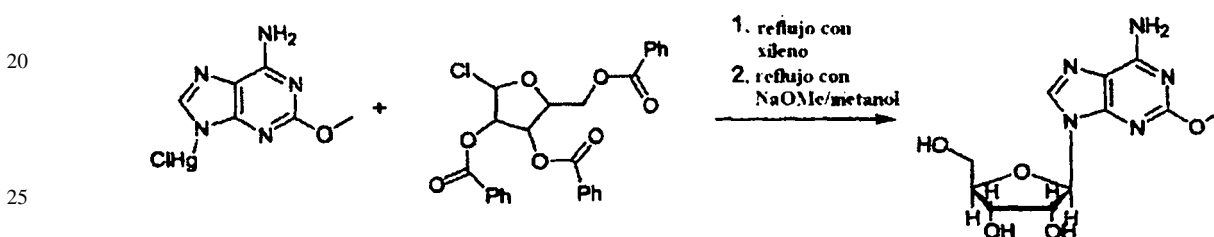
DESCRIPCIÓN

Síntesis de espongosina.

5 Esta invención se relaciona con la síntesis de espongosina (también conocida como 9-(β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, o 2-metoxiadenosina) y con la síntesis de intermediarios para el uso en la síntesis de espongosina.

10 El producto natural espongosina fue aislado primero a partir de una esponja, *Cryptotethia crypta*, recogida de las costas de la Florida en 1945 (Bergmann y Feeney, J. Org. Chem. 1951, 16, 981; *Ibid.* 1956, 21, 226). La espongosina fue considerada un nucleósido inusual ya que no fue únicamente la primera metoxipurina en ser encontrada en la naturaleza sino también uno de los primeros compuestos O-metilo en ser aislados de tejidos animales.

15 Un método de sintetizar espongosina es descrito por Bergmann y Stempien (J. Org. Chem. 1957, 22, 1575). Este método incluye las etapas de someter a reflujo a la cloromercuri-2-metoxiadenina con cloruro de 2,3,5-tri-O-benzoil-D-ribofuranosilo en xileno para formar 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, extrayendo con cloroformo, y sometiendo a reflujo con metóxido de sodio en metanol:



30 La espongosina producida fue obtenida con un rendimiento crudo del 31%, y luego recristalizada a partir de agua caliente para producir espongosina que exhibió un punto de fusión de 191-191,5°C y una rotación óptica de -43,5°C (NaOH).

35 Una desventaja de este método es que la espongosina no es producida con alto rendimiento. Una desventaja adicional es que el método es improbable que sea adecuado para la síntesis a gran escala de la espongosina debido a los problemas asociados con la remoción segura de los residuos de mercurio.

Se han hecho varias mejoras a este método que permiten la síntesis de espongosina con alto rendimiento y pureza, y a gran escala.

40 Se ha encontrado que la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina puede ser obtenida por medio de la reacción de la 2-metoxiadenina con 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa. Esta reacción puede producir 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina con un rendimiento superior al método descrito por Bergmann y Stempien. Además, la reacción no produce ningún residuo de mercurio, y puede ser llevada a cabo a temperatura ambiente. Esto permite que la reacción sea más fácilmente llevada a una escala superior que el método de Bergmann y Stempien.

45 De este modo, de acuerdo a un primer aspecto de la invención se provee un método para sintetizar espongosina, que comprende la reacción de la 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa con 2-metoxiadenina para formar 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, y desproteger a la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina para formar espongosina.

50 También se provee un método de acuerdo con la invención para sintetizar 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, que incluye la reacción de 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa con 2-metoxiadenina.

55 Además se provee el uso de 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa en la síntesis de espongosina, ó 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina.

60 Preferiblemente, la reacción de 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa con 2-metoxiadenina se lleva a cabo por medio de la suspensión o mezcla de estos reactivos en acetonitrilo anhidro y el tratamiento de la suspensión o la mezcla con trimetilsilil trifluorometilsulfonato (TMSOTf), preferiblemente a temperatura ambiente.

65 La 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina producida es luego preferiblemente aislada. Esto puede ser logrado por medio del contacto de la mezcla de reacción con clorometano, y preferiblemente lavando la mezcla (por ejemplo con hidróxido de sodio acuoso y salmuera), luego precipitando la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina a partir de la fase orgánica (preferiblemente después del secado con sulfato de magnesio y el filtrado). El precipitado es luego preferiblemente filtrado, lavado (por ejemplo, con metil t-butil éter), y secado.

ES 2 298 998 T3

Un método preferido para formar a la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadeninaes mostrado en la etapa 3 del Esquema 2 más abajo. Un método preferido para formar y aislar a la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina es descrito en el Ejemplo más abajo.

5 Preferiblemente, se desprotege a la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina para formar espongosa por medio del tratamiento con metóxido de sodio/metanol.

En el método de Bergmann y Stempien, se trata al producto del acoplamiento del cloromercuri-2-metoxiadenina y el cloruro de 2,3,5-tri-O-benzoil-D-ribofuranosilo con metóxido de sodio en metanol y se lo somete a reflujo. Sin embargo, se ha encontrado que los grupos benzoilo de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina se pueden remover por medio de tratamiento con una solución metanólica de metóxido de sodio a temperatura ambiente. Se puede obtener al producto deseado con alto rendimiento y pureza utilizando éste método. En el Ejemplo más abajo la pureza es del 98% (por medio del área generada por LC), y el rendimiento es del 86%.

15 De esta forma, preferiblemente se desprotege a la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina para formar espongosa por medio del tratamiento con metóxido de sodio/metanol a temperatura ambiente.

De acuerdo con un segundo aspecto se provee un método para sintetizar espongosa, que comprende el tratamiento de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina con metóxido de sodio/metanol a temperatura ambiente para producir espongosa.

De acuerdo con el método de Bergmann y Stempien, se aisló al producto de la reacción de acoplamiento entre el cloromercuri-2-metoxiadenina y el cloruro de 2,3,5-tri-O-benzoil-D-ribofuranosilo, se lo disolvió en metanol anhidro, y se lo sometió a reflujo con una solución de metóxido de sodio en metanol. Se secó luego la solución al vacío, y se trituró el residuo semisólido con éter. La espongosa cruda restante fue luego disuelta en agua caliente, se tornó la solución ligeramente básica con hidróxido de sodio, y se decantó a partir de un residuo aceitoso de color marrón. Se aciduló luego al extracto con ácido clorhídrico, y se removió todo el líquido por medio de secado por congelación. Se extrajo el sólido residual de color marrón con cloroformo, y se evaporó el extracto hasta sequedad para dejar un residuo de color blanco de espongosa (rendimiento del 31%).

30 Se ha encontrado que se obtiene espongosa con alto rendimiento y pureza si la espongosa producida por medio de desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina por tratamiento con metóxido de sodio/metanol se obtiene por medio de contacto de la espongosa con, o suspendiendo la espongosa en, ácido acético (preferiblemente a temperatura ambiente), y luego aislar la espongosa.

35 De esta forma, preferiblemente se obtiene la espongosa producida por medio de desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina por contacto de la espongosa con, o suspendiendo al espongosa en, ácido acético y luego aislando la espongosa.

40 De acuerdo con un tercer aspecto se provee un método para sintetizar espongosa, que comprende la desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina para formar espongosa, y obtener la espongosa por medio del contacto de la espongosa con, o suspendiendo la espongosa en, ácido acético y luego aislando la espongosa.

45 La espongosa puede ser aislada por filtración (preferiblemente después de concentrar la mezcla de reacción), lavado (por ejemplo, con metil t-butil cetona), y secado.

Un método preferido de desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina se observa en la etapa 4 del Esquema 2 más abajo. Un método preferido de desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina y de obtener la espongosa producida es descrito en el Ejemplo más abajo.

Se ha encontrado que el rendimiento y la pureza de la espongosa también se mejoran por medio de la disolución de la espongosa en un ácido orgánico, y luego cristalización de la espongosa disuelta a partir del ácido orgánico.

55 De esta forma, preferiblemente la espongosa obtenida después de la desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina se disuelve en un ácido orgánico, y luego se la cristaliza a partir del ácido orgánico.

60 De acuerdo a un cuarto aspecto se provee un método para sintetizar espongosa, que comprende la desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina para formar espongosa, disolviendo la espongosa en ácido orgánico, luego cristalizar la espongosa disuelta a partir del ácido orgánico.

Preferiblemente, la espongosa se disuelve en el ácido y se la cristaliza después de que ha sido puesta en contacto con, o suspendida en, ácido acético y se la aísla de acuerdo con un método del tercer aspecto. Sin embargo, en algunas modalidades de la invención, puede ser deseable disolver la espongosa producida por medio de la desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina en ácido orgánico, y luego cristalizar la espongosa sin tener que llevar a cabo primero un método del tercer aspecto.

ES 2 298 998 T3

La espongosina puede ser cristalizada a partir del ácido orgánico por medio del contacto del ácido orgánico con un alcohol orgánico en el cual es parcialmente soluble la espongosina. Un alcohol orgánico preferido es el etanol, aunque se cree que se podría utilizar alternativamente isopropanol. Un ácido orgánico adecuado es el ácido acético.

5 Se puede disolver la espongosina en ácido acético por medio de la formación de una suspensión de espongosina en ácido acético, calentando la suspensión (por ejemplo a 70°C), luego, si es necesario, se pone en contacto ácido acético adicional con la suspensión calentada hasta que se forma una solución. Se puede cristalizar entonces la espongosina a partir de la solución, poniendo en contacto a la solución con etanol, y enfriando hasta temperatura ambiente.

10 Se puede aislar la espongosina cristalizada a partir del ácido acético/alcohol orgánico utilizando cualquier método adecuado. Un método preferido es por medio de filtración, lavando con metil t-butil cetona, luego secando.

Un método preferido de cristalizar espongosina es mostrado en la etapa 5 del Esquema 2 más abajo. Un método preferido de disolver espongosina en ácido acético, y de cristalizar luego aislando la espongosina es descrito en el Ejemplo más abajo.

De acuerdo con el método de Bergmann y Stempien, la 2-metoxiadenina se forma por calentamiento de una mezcla de 2-cloroadenina, una solución de sodio en metanol absoluto, y una cantidad adicional de metanol absoluto a 150°C durante 5 horas, y luego extrayendo la 2-metoxiadenina producida. Sin embargo, el rendimiento de 2-metoxiadenina fue relativamente bajo (50%).

Se ha desarrollado una forma mejorada de elaboración que incluye ajustar el pH hasta 9,5 ($\pm 0,5$) y la filtración del producto.

25 De esta forma, preferiblemente se calienta una mezcla de 2-cloroadenina y metóxido de sodio/metanol para formar 2-metoxiadenina, luego se ajusta el pH de la mezcla en 9,5 ($\pm 0,5$), y luego se aísla la 2-metoxiadenina.

De acuerdo con un quinto aspecto, se provee un método de sintetizar espongosina, que comprende calentar una mezcla de 2-cloroadenina y metóxido de sodio/metanol para formar 2-metoxiadenina, luego se ajusta el pH de la mezcla en 9,5 ($\pm 0,5$), aislando la 2-metoxiadenina, y formando espongosina a partir de la 2-metoxiadenina aislada.

Se provee también un método para sintetizar 2-metoxiadenina, que comprende calentar una mezcla de 2-cloroadenina y metóxido de sodio/metanol para formar 2-metoxiadenina, ajustando el pH de la mezcla en 9,5 ($\pm 0,5$), y aislando la 2-metoxiadenina.

35 Preferiblemente, se calienta la mezcla de 2-cloroadenina y metóxido de sodio/metanol al menos a 150°C, más preferiblemente a 100°C. Preferiblemente, se enfría la mezcla y se la diluye con agua. Preferiblemente, se ajusta el pH de la mezcla en 9,5 ($\pm 0,5$) utilizando ácido clorhídrico (preferiblemente se calienta la mezcla a 60°C). Se puede aislar la 2-metoxiadenina por medio de filtración, lavando (por ejemplo, con agua y luego con metanol), luego secando.

40 Un método preferido para sintetizar 2-metoxiadenina es mostrado en la etapa 2 del Esquema 2 más abajo. Un método preferido para sintetizar y aislar 2-metoxiadenina es descrito en el Ejemplo más abajo. Este método produce 2-metoxiadenina con alto rendimiento y es adecuado para síntesis a gran escala (hasta 150 g).

45 La espongosina se puede formar a partir de la 2-metoxiadenina aislada por medio de cualquier método adecuado. Preferiblemente, se forma la espongosina de acuerdo con los métodos de la invención como se describió anteriormente por medio de la reacción de la 2-metoxiadenina con 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa para producir 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, luego desproteger la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina para producir espongosina, y preferiblemente cristalizar luego la espongosina producida.

50 También se provee un método para sintetizar espongosina, que comprende el calentamiento de la 2-cloroadenina con metóxido de sodio/metanol al menos a 150°C (preferiblemente a 100°C) para formar 2-metoxiadenina, y luego formar espongosina a partir de la 2-metoxiadenina.

55 Se provee además un método para sintetizar espongosina 2-metoxiadenina, que comprende el calentamiento de la 2-cloroadenina con metóxido de sodio/metanol al menos a 150°C (preferiblemente a 100°C).

60 Preferiblemente, se sintetiza la 2-cloroadenina a partir de la 2,6-dicloropurina, por ejemplo por medio de aminación. La aminación de la 2,6-dicloropurina hasta 2-cloroadenina es descrita por Brown y Weliky (J.O.C. 1958, Vol. 23, página 125). Se calentó la 2,6-dicloropurina con 50 volúmenes de metanol saturado con amoníaco a 100°C durante 17 horas. Se observaron cristales después del enfriamiento. Se evaporó el sobrenadante y se disolvieron el residuo y los cristales en NaOH 1 N. Se filtró la solución y se la aciduló con ácido acético para dar el producto deseado. Sin embargo, los intentos por repetir este procedimiento resultaron en pobres rendimientos debido a las dificultades para disolver el residuo en NaOH 1 N. Se han desarrollado métodos mejorados de síntesis de la 2-cloroadenina.

65 Se provee un método para sintetizar 2-cloroadenina, que comprende el tratamiento de la 2,6-dicloropurina con amoníaco metanólico saturado para formar 2-cloroadenina, diluyendo con agua, y luego aislando la 2-cloroadenina producida.

ES 2 298 998 T3

Se provee también de acuerdo con un sexto aspecto, un método para sintetizar espongósina, que comprende convertir la 2,6-dicloropurina en 2-cloroadenina por medio del tratamiento de la 2,6-dicloropurina con amoníaco metanólico saturado, diluyendo con agua, aislando la 2-cloroadenina producida, y luego formando espongósina a partir de la 2-cloroadenina aislada.

5

La espongósina se puede formar a partir de la 2-cloroadenina aislada utilizando cualquier método adecuado, pero utilizando preferiblemente métodos de acuerdo con la invención.

De acuerdo con un aspecto adicional, se provee un método para sintetizar 2-metoxiadenina, que comprende convertir la 2,6-dicloropurina en 2-cloroadenina por medio del tratamiento de la 2,6-dicloropurina con amoníaco metanólico saturado, diluyendo con agua, aislando la 2-cloroadenina producida, y luego formando 2-metoxiadenina a partir de la 2-cloroadenina aislada.

De acuerdo con un aspecto adicional, se provee un método para sintetizar 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, que comprende convertir a la 2,6-dicloropurina en 2-cloroadenina por medio del tratamiento de la 2,6-dicloropurina con amoníaco metanólico saturado, diluyendo con agua, aislando la 2-cloroadenina producida, y luego formando 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina a partir de la 2-cloroadenina aislada.

Preferiblemente, se calientan la 2,6-dicloropurina y el amoníaco metanólico saturado, preferiblemente a 100°C. Preferiblemente se trata la 2,6-dicloropurina al menos con 50 volúmenes, preferiblemente 10 volúmenes, de amoníaco metanólico saturado.

Un método preferido para sintetizar la 2-cloroadenina es mostrado en la etapa 1 del Esquema 2 más abajo.

La 2-cloroadenina se puede aislar por medio de filtración, lavando (por ejemplo con metanol), y secando. Un método preferido para sintetizar y aislar a la 2-cloroadenina es descrito en el Ejemplo más abajo. Este procedimiento fue realizado exitosamente sobre 877 g de 2,6-dicloroadenosina, y produjo 725 g (92% de mol) del producto con una pureza del 96% (área del pico generado por LC).

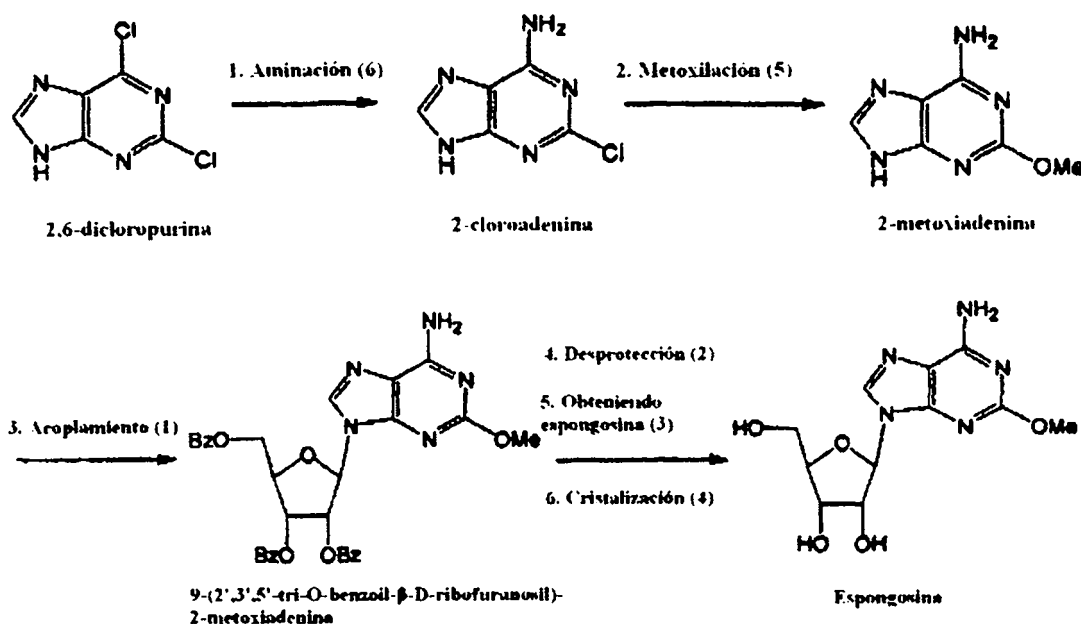
También se provee un método para sintetizar espongósina que comprende convertir la 2,6-dicloropurina en 2-cloroadenina, y luego formar espongósina a partir de 2-cloroadenina.

Se provee además, de acuerdo con la invención, el uso de la 2,6-dicloropurina en la síntesis de la espongósina.

El Esquema 1 más abajo muestra las etapas consecutivas en la síntesis de espongósina a partir de la 2,6-dicloropurina. El número entre paréntesis después de cada etapa de síntesis en el esquema corresponde al aspecto particular de la invención que está asociado con una mejora para esa etapa.

Esquema 1

Etapas en la síntesis de la espongósina



65

ES 2 298 998 T3

En tanto que se prefiere que la espongosina sea producida por medio de un método que incorpore mejoras de acuerdo con el primer aspecto de la invención, y el segundo, tercero, cuarto, quinto, y sexto aspectos, se apreciará que las mejoras en el rendimiento de la espongosina con relación al método de Bergmann y Stempien se pueden obtener por medio del uso de uno cualquiera de los diferentes aspectos, o por medio de cualquier combinación de dos o más de los diferentes aspectos. Si un método no incorpora todos los seis aspectos, la(s) etapa(s) restante(s) se puede(n) llevar a cabo como lo escriben Bergmann y Stempien, o por medio de un método(s) alternativo(s).

Por ejemplo, la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina se puede formar por medio de un método del primer aspecto de la invención, y este intermediario protegido se desprotege después utilizando el método descrito en Bergman y Stempien. La espongosina producida por desprotección podría ser obtenida luego por medio de un método del tercer aspecto, y opcionalmente cristalizada por medio de un método del cuarto aspecto.

En otras modalidades, puede preferirse llevar a cabo la síntesis de la espongosina comenzando con 2-cloro adenina, 2-metoxiadenina, ó 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, en vez de 2,6-dicloropurina. Nuevamente, se prefiere que las etapas posteriores para la síntesis de la espongosina (mostradas en el Esquema 1) sean todas realizadas de acuerdo con aspectos apropiados. Sin embargo, cualquiera de los diferentes aspectos, o cualquier combinación de dos o más de los diferentes aspectos, puede ser utilizada y la(s) etapa(s) restante(s) llevada(s) a cabo como lo describen Bergmann y Stempien, o por medio de cualquier método(s) alternativo(s).

De esta forma, se pueden utilizar los diferentes aspectos en cualquiera de las siguientes combinaciones:

$1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}}$; $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}}$; $1^{\text{ero}} + 4^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 6^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}}$; $2^{\text{do}} + 4^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 5^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 6^{\text{o}}$; $3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}}$; $3^{\text{ero}} + 5^{\text{o}}$; $3^{\text{ero}} + 6^{\text{o}}$; $4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; ó $5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$;
 $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 4^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 6^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}} + 6^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 5^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 6^{\text{o}}$;
 $2^{\text{do}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $3^{\text{ero}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; ó $4^{\text{o}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$;
 $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 6^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$;
 $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; $2^{\text{do}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; ó
 $3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$;
 $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}}$; $1^{\text{ero}} + 2^{\text{do}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$; ó $1^{\text{ero}} + 3^{\text{ero}} + 4^{\text{o}} + 5^{\text{o}} + 6^{\text{o}}$

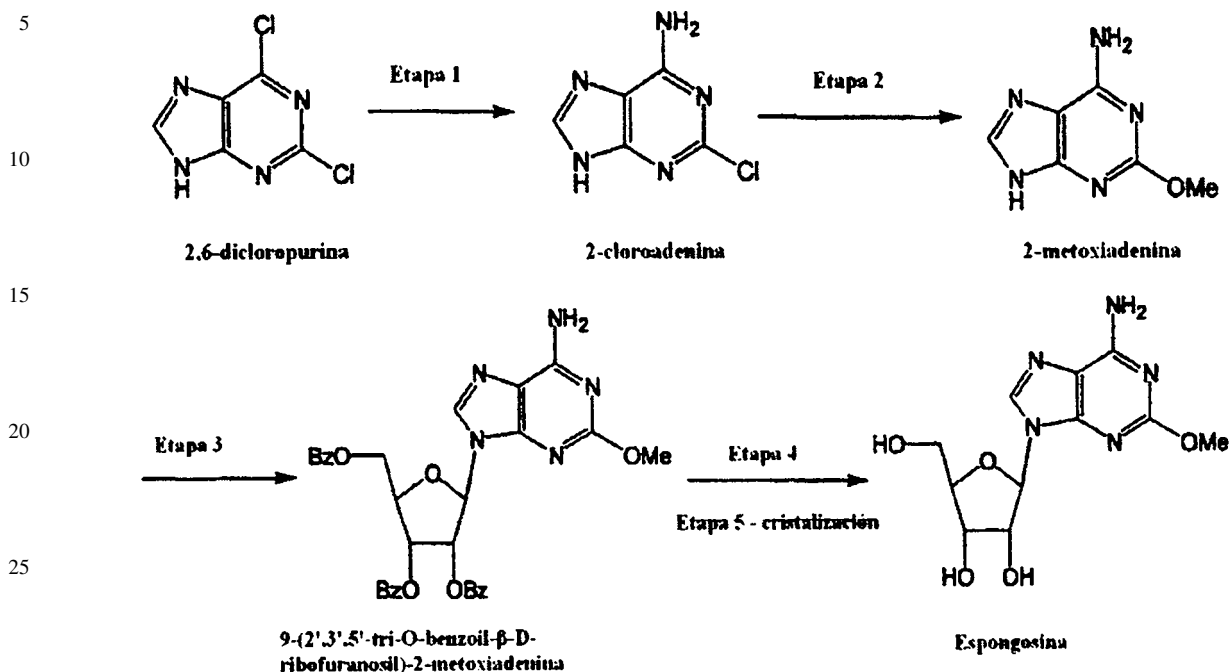
Los métodos de la invención son considerablemente más simples de llevar a cabo que el método de Bergmann y Stempien, proveen espongosina con gran rendimiento, y pueden ser utilizados para síntesis a gran escala de espongosina (o de un intermediario para la síntesis de espongosina).

Las modalidades de la invención se describen ahora, a manera de ejemplo únicamente, con referencia al Esquema 2 acompañante que muestra la síntesis de espongosina de acuerdo a una modalidad preferida de la invención.

(Esquema pasa a página siguiente)

Ejemplo

Síntesis de espongosina



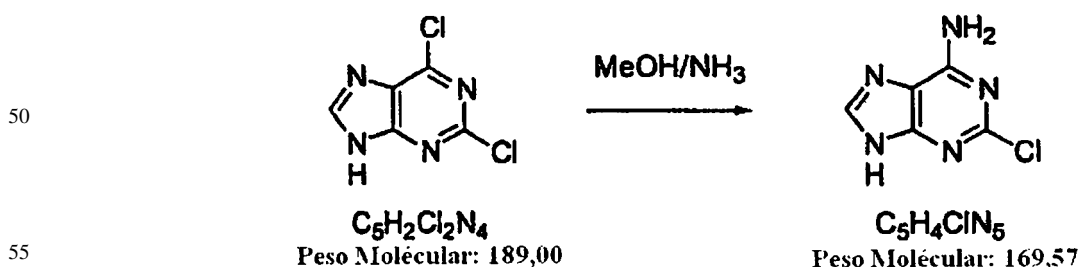
Reactivos y condiciones:

1. MeOH/NH₃, 100°C (autoclave), 16 h
2. NaOMe, MeOH, 100°C (autoclave), 24 h
3. 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosa, TMSOTf, MeCN, rt, 4 h
4. NaOMe, MeOH, rt, 16 h
5. AcOH, EtOH, 70°C

Esquema 2

Síntesis de espongosina

Preparación de 2-cloroadenina



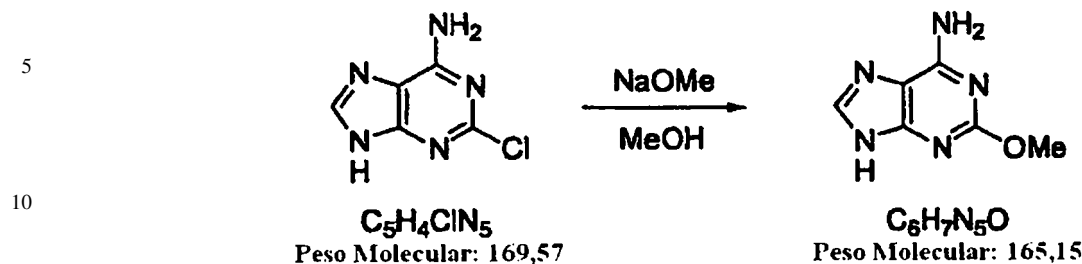
Se colocó la 2,6-dicloropurina (0,877 kg, 4,64 moles) en un autoclave de 20 L y se la trató con amoníaco metanólico (7,0 N, 6,95 kg). Una vez sellado el autoclave se inició la agitación y se calentó la mezcla y hasta una temperatura interna de 100°C. Se mantuvo la mezcla de reacción a 100°C durante 17 h, antes de enfriar a temperatura ambiente. Una vez completamente frío, se abrió la cámara del autoclave y se diluyó la mezcla de reacción con agua (3,5 kg). Se recogió la suspensión sólida resultante por medio de filtración con succión y se lavó la torta del filtrado con metanol (2 x 0,7 kg) antes de secar hasta peso constante en un horno de vacío a 40°C. Se aisló la 2-cloroadenina como un sólido de color amarillo pálido (0,725 kg, 4,28 moles, 92%).

δ_H (250 MHz; d_6 -DMSO); 7.67 (2H, s, NH₂), 8.15 (1H, s, CH), 12.40 (1H, br s, NH).

LC 96% por medio del área del pico.

ES 2 298 998 T3

Preparación de la 2-metoxiadenina



15 Se secó la 2-cloroadenina (100 g, 0,59 mmoles) por medio de evaporación conjunta con tolueno anhidro (2 x 200 mL) y luego se la colocó en un autoclave de 2,0 L y se la trató con metóxido de sodio (25% p/p, 1000 mL, 4,63 moles). Una vez sellado el autoclave se inició la agitación y se calentó la mezcla y hasta una temperatura interna de 100°C. Se mantuvo la mezcla de reacción a 100°C durante 24 h, antes de enfriar a temperatura ambiente. Una vez completamente frío, se abrió la cámara del autoclave y se diluyó la suspensión con agua (1000 mL). Se evaporó la solución resultante a presión reducida para producir un volumen final de 1400 mL; a esta solución se le añadió agua (600 mL) para producir un volumen final de 2000 mL. Se transfirió la solución a un balón de 3 bocas de 3,0 L equipado con un agitador en la parte superior, un peachímetro y un termómetro. Se calentó la solución a 60°C (temperatura interna) y se añadió ácido clorhídrico acuoso al 50% a una velocidad controlada para ajustar el pH en 9,5 (± 0,5). Se agitó la suspensión resultante a 60°C durante 1 h y se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas más. Se filtró la suspensión utilizando papel filtro Whatman No. 3 y se lavó la torta del filtrado con agua (200 mL) y metanol (2 x 200 mL). Se secó el sólido al vacío a 50°C para producir 2-metoxiadenina (71 g, 73% de mol) como un sólido completamente blanco.

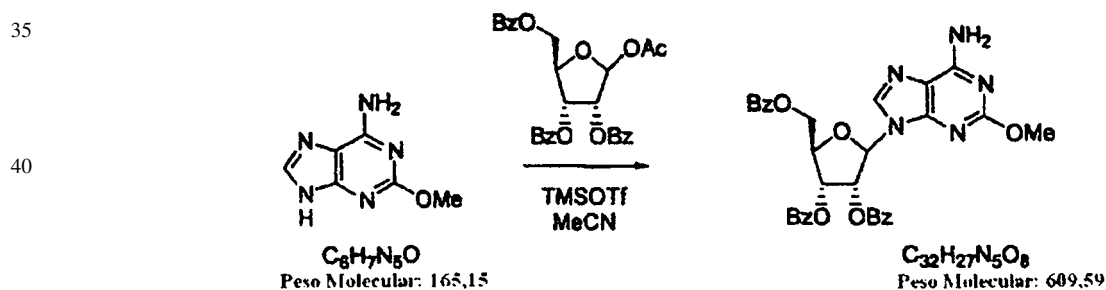
20

25

δ_H (250 MHz; d₆-DMSO); 3.79 (3H, s, OCH₃), 7.18 (2H, br s, NH₂), 7.92 (1H, br s, CH).

30 LC 97% por medio del área del pico.

Preparación 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina



Se secó una mezcla de 2-metoxiadenina (11 g, 68 mmol) y 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosa (41 g, 81 mmol) por medio de evaporación conjunta con acetonitrilo anhidro (2 x 60 mL). A esta mezcla en acetonitrilo anhidro (328 mL) se le añadió gota a gota, trimetilsililo trifluorometilsulfonato (29 mL, 36 g, 162 mmol) durante 10 minutos (se observó una pequeña liberación de calor de 24-27°C). Se observó que el material suspendido se solvató gradualmente durante la adición. Una vez se completó la adición, se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas. Se diluyó luego la mezcla de reacción con diclorometano (328 mL) y se lavó con hidróxido de sodio acuoso 1 N (200 mL) y salmuera (200 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de magnesio (20 g) y se filtró. Se concentró luego la solución a presión reducida aproximadamente hasta un cuarto de su volumen original donde comenzó a formarse un precipitado. Después de permanecer durante 1 h se filtró el precipitado y se lavó la torta del filtrado con metil t-butil éter (2 x 100 mL). Se secó el sólido a temperatura ambiente para producir 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina (31 g, 75% de mol) como un sólido de color blanco.

50

55

δ_H (250 MHz; CDCl₃); 3.92 (3H, s, OCH₃), 4.64-4.72 (1H, m, CH), 4.79-4.88 (2H, m, 2 x CH), 5.79 (2H, br s, NH₂), 6.29 (1H, d J 3.0, CH anomérico), 6.38-6.46 (2H, m, 2 x CH), 7.35-7.43 (6H, m, 6 x CH), 7.52-7.60 (3H, m, 3 x CH), 7.78 (1H, s, CH), 7.95-8.00 (6H, m, 6 x CH).

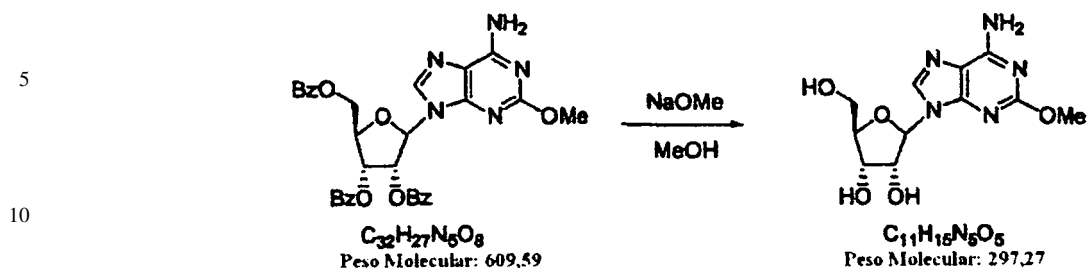
60

LC 97% por medio del área del pico.

65

ES 2 298 998 T3

Preparación de 9-(β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenine (espongosina)



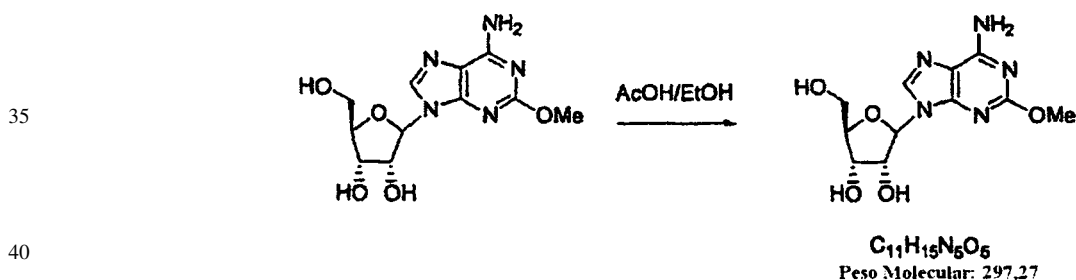
15 Se trató una suspensión de 9-(2',3',5'-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina (39,6 g, 65 mmoles) en metanol anhidro (400 mL) con metóxido de sodio (378 mg, 7 mmoles, 0,1 equivalentes). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 24 h, después de lo cual se añadió ácido acético (1 g) y se agitó la suspensión durante 10 minutos. Se concentró la mezcla a presión reducida hasta la mitad del volumen, y se filtró el precipitado. Se lavó la torta filtrada con metil t-butil cetona (2 x 40 mL) y se secó para producir 9-(β-D-furanosil)-2-metoxiadenina (16,7 g, 86% de mol) como un sólido de color blanco.

20 δ_H (250 MHz; CD_3OD); 3.73 (1H, dd J 12.4, 3.4, CH_{ab}), 3.86 (1H, dd J 12.4, 3.4, CH_{ab}), 3.92 (3H, s, OCH_3), 4.12 (1H, dd J 6.0, 3.0, CH), 4.34 (1H, dd J 5.0, 3.3, CH), 4.75 (1H, t J 5.5, CH), 5.90 (1H, d J 6.0, CH), 8.13 (1H, s, CH)

25 δ_H (250 MHz; d_6 -DMSO); 3.55 (1H, m, CH), 3.65 (1H, m, CH), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.94 (1H, m, CH), 4.16 (1H, m, CH), 4.63 (1H, m, CH), 5.19 (2H, m, OH), 5.43 (1H, d J 6.1, OH), 5.80 (1H, d J 6.1, CH), 7.35 (2H, bs, NH), 8.16 (1H, s, CH).

LC superior al 98% por medio del área del pico.

30 Cristalización de la 9-(β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina (espongosina)



45 Se suspendió 9-(β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina (3 g, 10 mmoles) en AcOH (6 mL) y se calentó a 70°C. Se añadieron 6 mL adicionales de AcOH para producir una solución clara ligeramente amarilla; se añadió etanol (48 mL) y se le permitió a la solución enfriarse hasta temperatura ambiente. Después de permanecer durante 16 h se filtró el sólido y se lo lavó con metil t-butil cetona (30 mL). Se secó al sólido a temperatura ambiente para producir 9-(β-D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina (2,6 g, 86% de mol) como un sólido blanco con una pureza superior al 99% y una impureza única no superior al 0,5%.

50 NB: El análisis por medio de RMN 1H mostró que la muestra contenía etanol residual (0,24% en peso) y ácido acético (0,29% en peso).

Referencias citadas en la descripción

55 Este listado de referencias citado por el solicitante es únicamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento europeo de la patente. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación, no se pueden excluir los errores o las omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad en este sentido.

Literatura citada en la descripción que no es de patente

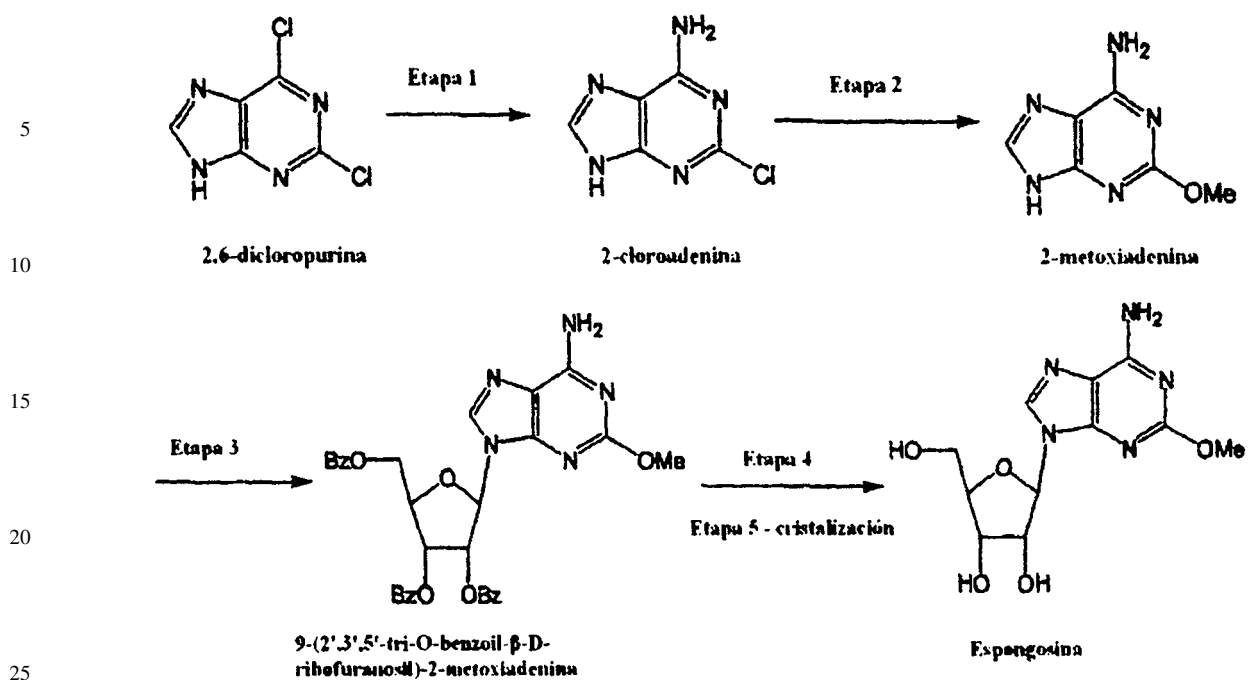
- 60
- BERGMANN; FEENEY. *J. Org. Chem.*, 1951, vol. 16, 981 [0002]
 - *J.ORG.CHEM.*, 1956, vol. 21, 226 [0002]
 - 65 • BERGMANN; STEMPIEN. *J. Org. Chem.*, 1957, vol. 22, 1575 [0003]
 - BROWN; WELIKY. *J.O.C.*, 1958, vol. 23, 125 [0042].

ES 2 298 998 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para sintetizar espongósina, que comprende la reacción de 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa con 2-metoxiadenina para formar 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, luego la desprotección de la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina para formar espongósina.
- 10 2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la 9-(2',3',5'-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina es desprotegida por medio de tratamiento con metóxido de sodio/metanol a temperatura ambiente.
- 15 3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o la 2, que comprende además suspender la espongósina en ácido acético, aislando luego la espongósina.
- 20 4. Un método de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende además disolver la espongósina aislada en ácido orgánico, cristalizando luego la espongósina disuelta a partir del ácido orgánico.
- 25 5. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o la 2, que comprende además disolver la espongósina en ácido orgánico, cristalizando luego la espongósina disuelta a partir del ácido orgánico.
- 30 6. Un método de acuerdo con la reivindicación 4 o la 5, en donde el ácido orgánico es ácido acético.
- 35 7. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde la espongósina se cristaliza a partir del ácido orgánico por medio del contacto del ácido orgánico con un alcohol orgánico en el cual es parcialmente soluble la espongósina.
- 40 8. Un método de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, que comprende además calentar 2-cloroadenina con metóxido de sodio/metanol al menos a 150°C, preferiblemente a 100°C, para formar la 2-metoxiadenina.
- 45 9. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende además calentar una mezcla de 2-cloroadenina y metóxido de sodio/metanol para formar 2-metoxiadenina, ajustando el pH de la mezcla a un pH de 9,5 ($\pm 0,5$), y aislar la 2-metoxiadenina antes de hacer reaccionar a la 2-metoxiadenina aislada con la 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa.
- 50 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la mezcla se calienta al menos a 150°C, preferiblemente a 100°C.
- 55 11. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8-10, que comprende además convertir la 2,6-dicloropurina a la 2-cloroadenina.
- 60 12. Un método de acuerdo con la reivindicación 11 en el cual se convierte a la 2,6-dicloropurina en 2-cloroadenina por medio del tratamiento de la 2,6-dicloropurina con amoníaco metanólico para producir 2-cloroadenina, diluyendo la 2-cloroadenina producida con agua, y aislando luego a la 2-cloroadenina.
- 65 13. Un método para sintetizar espongósina de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende las siguientes etapas:

(Esquema pasa a página siguiente)



Reactivos y condiciones:

1. MeOH/NH₃, 100°C (autoclave), 16 h
2. NaOMe, MeOH, 100°C (autoclave), 24 h
3. 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosa, TMSOTf, MeCN, rt, 4 h
4. NaOMe, MeOH, rt, 16 h
5. AcOH, EtOH, 70°C

14. Un método para sintetizar 9-(2',3',5'-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina, que comprende la reacción de la 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosa para formar 9-(2',3',5'-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosil)-2-metoxiadenina.

15. El uso de la 2,6-dicloropurina en la síntesis de espongósina.