

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0616385-8 A2**

(22) Data de Depósito: 12/09/2006
(43) Data da Publicação: 21/06/2011
(RPI 2111)



(51) *Int.Cl.:*

C07H 19/09 2006.01
C07H 19/073 2006.01
C07H 19/167 2006.01
C07H 19/067 2006.01
C07H 19/173 2006.01

(54) Título: **O-ACILAÇÃO SELETIVA DE NUCLEOSÍDEOS**

(30) Prioridade Unionista: 22/09/2005 US 60/719,776

(73) Titular(es): F HOFFMANN-LA ROCHE AG

(72) Inventor(es): Keshab Sarma

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2006066257 de 12/09/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/039413 de 12/04/2007

(57) Resumo: O-ACILAÇÃO SELETIVA DE NUCLEOSÍDEOS. A presente invenção refere-se a um processo de uma etapa para a O-acilação seletiva dos grupos hidróxi de um nucleosídeo sob condições básicas, utilizando DMAP e um anidrido de ácido carboxílico em mistura heterogênea de solvente aquoso.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "O-
ACILAÇÃO SELETIVA DE NUCLEOSÍDEOS".

A presente invenção refere-se a um processo de uma etapa para a O-acilação seletiva dos grupos hidróxi de um nucleosídeo em uma mistura heterogênea de solventes aquosos sob condições básicas, utilizando
5 DMAP e um anidrido do ácido carboxílico.

Os nucleosídeos são compostos formados por uma porção de açúcar, tipicamente ribose ou 2-desoxirribose em nucleosídeos que ocorrem naturalmente, e uma base heterocíclica, sendo esta tipicamente adenina,
10 guanidina, citosina, timina ou uracila. Muitos nucleosídeos contêm uma substituição amino básica na base heterocíclica, exibindo reatividade química característica de aminoálcoois. O átomo de nitrogênio e aminoálcoois são freqüentemente o grupo funcional mais reativo e pronto a se tornar acilado.

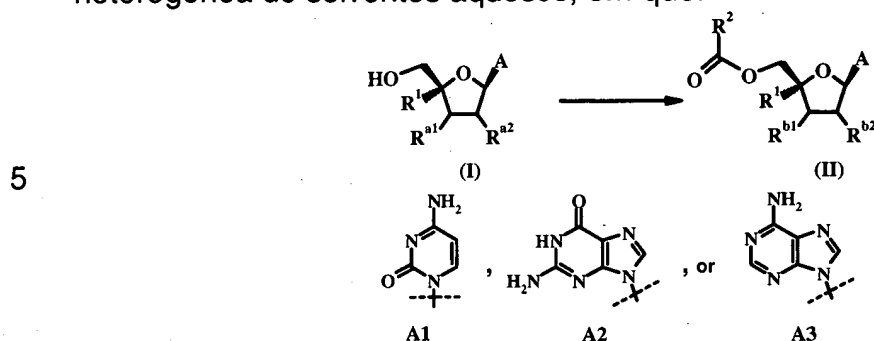
Os compostos de nucleosídeos e derivados dos mesmos assumiram um papel importante na quimioterapia de doenças virais e neoplásicas (vide, por exemplo, P. L. Sarma *et al.*, *Curr. Top. Med. Chem.* 2004 4:895-919; W. B. Parker *et al.*, *Curr. Opin. Invest. Drugs* 2004 5(6):592-596). Embora derivados de nucleosídeos sejam freqüentemente agentes quimioterápicos potentes, o uso clínico dos mesmos é muitas vezes limitado por suas
15 propriedades físicas subótimas que resultam em perfis farmacocinéticos ineficientes. Pró-fármacos de nucleosídeos exibem, às vezes, mais potência, biodisponibilidade e estabilidade que resultam em liberação melhorada de quantidades terapeuticamente efetivas da porção ativa para o alvo celular. A alquilação, acilação ou outra modificação lipofílica de grupos funcionais no
20 nucleosídeo, em muitos casos, melhora a difusão passiva através da parede intestinal (transporte transcelular). Alternativamente, os grupos funcionais podem estar ligados, tornando-se substratos para sistemas de transportes mediados por veículo, resultando em transporte ativo do pró-fármaco. J.-L. Kraus *et al.*, *Curr. Med. Chem.* 2003 10(18):1825-1846; P. Etmayer *et al.*, *J. Med Chem.*, 2004 47(10):2393-2404; K. Beaumont *et al.*, *Curr. Drug Metab.* 2003 4:461-485; H. Bundgaard, *Design of Prodrugs: Bioreversible derivatives for various functional groups and chemical entities in Design of Prodrugs*, H.
25
30

Bundgaard (ed) Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1985; G. M. Pauletti *et al.*, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1997 27:235-256; e K. Beaumont *et al.*, *Curr. Drug Metab.* 2003 4:461-485).

Uma abordagem para desenho de pró-fármaco, aplicável a nucleosídeos, é a acilação dos substituintes hidroxilas na porção de açúcar. Foi relatada tri-acilação seletiva dos resíduos de açúcar de uridinas (H. B. Lissan *et al.*, *Nucleoside Nucleotides* 1998 17(9-11):1851-1856 e C.-T. Chen *et al.*, *Org. Lett.* 2001 3(23):3729-3732.). Foi relatada O-acilação seletiva de grupos hidróxi dos nucleosídeos timidina e uridina, sob condições de transferência de fase (M. Sekine, *Nat. Prod. Lett.* 1993 1(4):251-256). Nucleosídeos substituídos com bases heterocíclicas são menos propensos a estas transformações seletivas. O preparo de hidrocloreto de 1-(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-arabinofuranosil)citosina (*ara-C* HCl) utiliza um processo de duas etapas, compreendendo per-acetilação e hidrólise seletiva da N-acetila com $ZnBr_2$ anidro, MeOH e $CHCl_3$ (M. Bobeck *et al.*, *J. Med. Chem.* 1987 30(11):2154-2157). Uma abordagem similar para o preparo de tri-O-acil-derivados da 4-amino-1-((2R,3R,4S,5R)-5-azido-3,4-dihidróxi-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-il)-1H-pirimidin-2-ona foi relatada por J. A. Martin *et al.* na patente U.S. Nº 6 846 810, depositada em 19 de novembro de 2003. Foi relatado que a O-acilação seletiva dos substituintes do açúcar de nucleosídeos contendo citosina, sob condições ácidas, resulta em O-acilação da citidina, 2'-desoxicitidina e *ara-C*, R. G. Breiner *et al.*, *J. Med. Chem.* 1990 33(9):2596-2602; A.P. Martinez *et al.*, *J. Med. Chem.* 1966 9(2):268). Embora sem desejar ser limitado por uma hipótese mecanicista, essas transformações foram realizadas sob condições ácidas, resultando em prótons acrescentados ao amino substituinte, presente na base, e suprimindo, dessa forma, N-acilação. Foi relatada a O-acilação seletiva dos nucleosídeos guanosina e desoxiguanosina com anidrido acético, na presença de MeCN/TEA/DMAP (quantidade catalítica) (A. Matsuda *et al.*, *Synthesis* 1986 385-386). Foi relatada a O-acilação seletiva de citidina, sob condições similares (M. A. Zinni *et al.*, *J. Mol. Cat. B* 2004 29:129-132). Embora estas condições resultem em algum produto seletivo O-acilado, o rendimento obtido de produtos O-acilados não

é aceitável.

A presente invenção provê um processo para a O-acilação seletiva de um nucleosídeo da fórmula I, sob condições básicas, em uma mistura heterogênea de solventes aquosos, em que:



A é A1, A2 ou A3

R^1 é hidrogênio, azido, C_{1-6} alquila ou C_{1-3} acila;

R^{a1} e R^{a2} são, independentemente, hidrogênio ou hidroxila;

10 R^{b1} e R^{b2} são hidrogênio ou $-O_2CR^2$; e

R^2 é C_{1-10} alquila ou fenila;

processo este que compreende as etapas de:

(i) dissolução de I e DMAP em mistura heterogênea de solventes aquosos e acréscimo de base aquosa para ajuste de pH de 7 para 13;

15 (ii) opcionalmente, acréscimo suficiente de NaCl aquoso saturado para produzir uma mistura de reação bifásica;

(iii) acréscimo de um agente de acilação e de base adicional suficiente para manter o pH de 7 para 13;

20 (iv) monitoração da reação, descontinuando o acréscimo do referido agente de acilação e da referida base, quando a conversão atingir um nível satisfatório;

(v) opcionalmente, o contacto dos O-acil-nucleosídeos com um ácido, farmacologicamente aceitável, para permitir o isolamento de um sal ácido adicional do O-acil-nucleosídeo.

25 Nucleosídeos acilados são pró-fármacos úteis que permitem a liberação eficiente de quantidades terapêuticamente efetivas de nucleosídeos biologicamente ativos para pacientes. Ademais, derivados O-acilados de nucleosídeos são freqüentemente intermediários químicos úteis para o

preparo de análogos de nucleosídeos. A acilação seletiva de nucleosídeos naturais, ou de derivados dos mesmos, é muitas vezes problemática pela pluralidade de sítios reativos em muitos nucleosídeos. Esta pluralidade ocorre principalmente em derivados de nucleosídeos com um substituinte amino

5 básico na base heterocíclica, sendo este freqüentemente o grupo funcional mais reativo na molécula. A reatividade química dos substituintes limita às vezes os reagentes que podem ser utilizados para transformações químicas. A substituição de ribose por azido deu origem a vários novos compostos farmacologicamente ativos. Infelizmente, o grupo azido pode ficar instável em

10 meio ao ácido e o substituinte azido é termicamente lábil e, por conseguinte, apresentar risco de explosão. Além disso, a substituição adicional, na porção do açúcar, pode alterar substancialmente a reatividade observada em nucleosídeos naturais que não possuem a referida substituição. As condições para acilação seletiva em temperatura baixa sob condições não-ácidas são, por

15 conseguinte, desejáveis. A produção em larga escala de compostos químicos impõe ainda limitações sobre os reagentes que podem ser utilizados. São vantajosas as reações que podem ser realizadas em solventes não inflamáveis que possam ser facilmente reciclados ou descartados como resíduos. Ademais, são desejáveis processos que limitem o número de etapas

20 químicas e de operações isoladas distintas, as quais podem ambas aumentar os custos de produção. Dessa forma, processos que não requerem a introdução de grupos de proteção são desejáveis. O presente processo demonstrou ser uma via efetiva e geral para a O-acilação seletiva de nucleosídeos.

25 Em uma concretização da presente invenção, é provido um processo para O-acilação de compostos nucleosídeos compreendendo a dissolução do composto nucleosídeo a ser acilado em uma mistura heterogênea de solventes orgânicos aquosos e, opcionalmente, o acréscimo suficiente de salmoura para formar uma mistura de duas fases, se necessário para produ-

30 zir duas fases, e a adição de DMAP à mistura bifásica. A solução resultante é resfriada até aproximadamente 5° C, sendo acrescentada base suficiente para ajustar o pH para entre aproximadamente 7 e aproximadamente 13,

além de um agente de acilação. A reação é monitorada por uma técnica conveniente e agente de acilação adicional até que a reação atinja o objetivo final desejado. Base adicional é acrescentada, conforme exigido para manter o pH na faixa desejada. Durante a finalização da reação, o produto pode ser
5 posto opcionalmente em contato com um ácido farmacologicamente aceitável para permitir o isolamento de um sal ácido adicional do O-acil nucleosídeo. Nos exemplos ilustrativos, neste pedido, o agente de acilação é o anidrido de um ácido alcanóico baixo; no entanto, um versado na técnica apreciará que várias alternativas de acilação são conhecidas e estas podem ser utili-
10 zadas alternadamente nas presentes condições de reação.

Solventes aquosos, úteis no presente processo, incluem THF aquoso, dioxano aquoso, acetonitrila aquosa, terc-butil éter de metila aquoso e EtOAc aquoso.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um
15 processo, conforme aqui descrito acima, para a O-acilação seletiva de derivados de ribose ou arabinose, de acordo com a fórmula I, em que R^{a1} e R^{a2} são OH. Um versado na técnica apreciará que todas as concretizações incluam também os compostos desoxirribose e desoxiarabinose (em que R^{1a} e/ou R^{a2} são hidrogênio). Cabe também esclarecer que, se R^{1a} e/ou R^{2a}
20 for/forem hidrogênio, então, R^{1b} e/ou R^{2b} será/serão também, respectivamente, hidrogênio.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, para a O-acilação seletiva de derivados de ribose ou arabinose, de acordo com a fórmula I, em que R^1 é hidrogênio ou azido e R^{a1} e R^{a2} são OH.
25

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, para a O-acilação seletiva de derivados de ribose ou arabinose, de acordo com a fórmula I, em que R^1 é azido e R^{a1} e R^{a2} são OH.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, para a O-acilação seletiva de derivados de ribose ou arabinose, de acordo com a fórmula I, em que R^1 é alqui-
30

la ou acila e R^{a1} e R^{a2} são OH.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, para a acilação seletiva de um derivado de ribose ou arabinose, de acordo com a fórmula I, em que R^1 é hidrogênio ou azido, R^{a1} e R^{a2} são OH e A é A1 (4'-azido-citidina ou 4'azido-*araC*), A2 (4'-azido-guanosina) ou A3 (4'-azido-adenosina).

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que a mistura heterogênea de solvente orgânico aquoso é um éter aquoso. Em ainda outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que a mistura heterogênea de solvente orgânico aquoso é THF aquoso.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que a referida faixa de pH é de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 12. Em ainda outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que a referida faixa de pH range é de aproximadamente 8 a aproximadamente 10.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que a base é hidróxido de metal alcalino aquoso, bicarbonato de metal alcalino aquoso ou carbonato de metal alcalino aquoso.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que a base é hidróxido de potássio ou sódio aquoso.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que o agente de acilação é o um cloreto de ácido carboxílico, um anidrido de ácido carboxílico ou um acilamidazol.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que o agente de acilação é o anidrido butírico, anidrido isobutírico, anidrido hexanóico, anidrido pentanóico ou anidrido benzóico.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que o agente de acilação é o anidrido isobutírico.

5 Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que o nucleosídeo é 4'-azido-citidina ou 4'-azido-*araC*, o solvente orgânico aquoso é THF aquoso, a base aquosa é NaOH aquoso, a faixa de pH é de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 e o agente de acilação é o anidrido isobutírico.

10 Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que o nucleosídeo é 4'-azido-citidina ou 4'-azido-*araC*, o solvente orgânico aquoso é THF aquoso, a base aquosa é NaOH aquoso, a faixa de pH é de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 e o agente de acilação é o anidrido isobutírico, sendo que este processo compreende ainda a etapa do contato do nucleosídeo O-
15 acilado com um ácido farmacêuticamente aceitável para produzir um sal ácido adicional.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo, conforme aqui descrito acima, em que o nucleosídeo é 4'-azido-citidina ou 4'-azido-*araC*, o solvente orgânico aquoso é THF aquoso, a base
20 aquosa é NaOH aquoso, a faixa de pH é de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 e o agente de acilação é o anidrido isobutírico, sendo que este processo compreende ainda a etapa do contato do nucleosídeo O-acilado com ácido clorídrico ou ácido metanossulfônico para produzir um sal do ácido metanossulfônico adicional. Embora esta concretização refira-se ao
25 sal de uma O-acil 4'-azido-citidina ou 4'-azido-*araC*, a formação de um sal é um processo geral que pode se aplicar a outros O-acil nucleosídeos.

Em outra concretização da presente invenção, é provido um processo para a acilação de derivados de nucleosídeos, em que a base é uridina ou timina opcionalmente substituída, compreendendo a dissolução do
30 composto nucleosídeo a ser acilado em uma mistura heterogênea de solvente orgânico aquoso e, opcionalmente, o acréscimo de salmoura suficiente para formar uma mistura de duas fases, se necessária para formar as duas

fases, e a adição de DMAP à mistura bifásica. A solução resultante é resfriada até aproximadamente 5° C, sendo acrescentada base suficiente para ajustar o pH para entre aproximadamente 7 e aproximadamente 13, além de um agente de acilação. A reação é monitorada por uma técnica conveniente e agente de acilação adicional até que a reação atinja o objetivo final desejado. Base adicional é acrescentada, conforme exigido para manter o pH no intervalo desejado. Durante a finalização da reação, o produto pode ser posto opcionalmente em contato com um ácido farmacologicamente aceitável para permitir o isolamento de um sal ácido adicional do O-acil nucleosídeo.

5

10 Nos exemplos ilustrativos no presente, o agente de acilação é o anidrido de um ácido alcanóico baixo; no entanto, um versado na técnica apreciará que vários agentes de acilação alternativos (por exemplo, cloretos de ácido alcanóico baixo) ou processos para ativar um ácido alcanóico são conhecidos e estes podem ser utilizados alternadamente nas presentes condições de reação. A acilação de derivados de uridina e de timidina é acompanhada, às vezes, por formação de subprodutos, provenientes da O- e/ou N-acilação da uridina e timidina, sendo que esta não é observada nas presentes condições.

15

O termo "uma" entidade, conforme aqui utilizado, refere-se a uma ou mais daquelas entidades; por exemplo, um composto refere-se a um ou mais compostos, ou pelo menos um composto. Dessa forma, os termos "um" (ou "uma"), "um ou mais" e "pelo menos um" podem ser utilizados alternadamente neste pedido.

20

A frase "conforme aqui definido acima" refere-se à definição mais ampla de cada grupo ou etapa do processo, conforme fornecida no sumário da Invenção ou na concretização mais geral da invenção.

25

"Opcional" ou "opcionalmente" significa que um evento descrito subsequente pode, porém não precisa, ocorrer, e que a descrição inclui exemplos em que o evento ou circunstância ocorre e exemplos em que este não ocorre.

30

O termo "agente de acilação", conforme utilizado neste pedido, refere-se a um anidrido, haleto ácido, cloro-carbonil-alcóxido (por exemplo,

cloroformato de etila) ou um derivado ativado de α -aminoácidos N-protegidos. O termo "anidrido", conforme aqui utilizado, refere-se a compostos com a estrutura geral $RC(O)-O-C(O)R$, em que R é conforme definido na reivindicação 1. O termo "haleto ácido", conforme aqui utilizado, refere-se a

5 composto com a estrutura geral $RC(O)X$, em que X é um halogênio. O termo "acil imidazol" refere-se a um composto com a estrutura geral $RC(O)X$, em que X é N-imidazolila. O termo "derivado ativado" de um composto, conforme aqui utilizado, refere-se a uma configuração provisoriamente reativa do composto original que o torna ativo em uma reação química desejada, na

10 qual o composto original é somente moderadamente reativo ou não reativo. A ativação é obtida pela formação de um derivado ou um grupamento químico dentro da molécula com um teor de energia livre mais alto do que o composto original, sendo que esta torna a configuração ativada mais susceptível a reagir com outro reagente. No contexto da presente invenção, a ativação

15 do grupo carbóxi é de particular importância, e os agentes ou grupamentos correspondentes de ativação que ativam o grupo carbóxi são descritos mais detalhadamente abaixo. De particular interesse para a presente invenção, são os anidridos de ácidos carboxílicos e cloretos de ácidos carboxílicos. O processo pode ser utilizado para introduzir derivados de α -aminácidos, no

20 qual o agente de acilação é um N-carboxianidrido, anidridos N-uretano N-carbóxi (UNCA's) (W. D. Fuller *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **1990** 112:7414-7416, o qual é aqui incorporado por referência).

O termo "ácido alcanóico", conforme aqui utilizado, refere-se a um composto $RC(O)OH$, em que R é um grupo alquila, conforme aqui definido.

25 do. O termo "ácido alcanóico baixo" refere-se ao grupo em que R é um alquila baixo, conforme aqui definido.

O termo "alquila", conforme aqui utilizado, indica um resíduo de hidrocarboneto monovalente, saturado de cadeia não ramificada ou ramificada, contendo de 1 a 10 átomos de carbono. O termo "alquila baixo" indica

30 um resíduo de hidrocarboneto de cadeia linear ou ramificada, contendo de 1 a 6 átomos de carbono. " C_{1-10} alquila", conforme aqui utilizado, refere-se a um alquila composto de 1 a 10 carbonos. Um ou mais dos átomos de carbo-

no podem ser opcionalmente substituídos por oxigênio, enxofre, átomo(s) de nitrogênio substituído ou não substituído. Exemplos de grupos alquila incluem, entre outros, grupos alquila baixo, incluindo, metila, etila, propila, *i*-propila, *n*-butila, *i*-butila, *t*-butila ou pentila, isopentila, neopentila, hexila, heptila e octila.

O termo "acila", conforme aqui utilizado, indica um grupo com a fórmula $-C(=O)R$, em que R é hidrogênio ou um alquila baixo, conforme aqui definido. O termo "alquilcarbonila", conforme aqui utilizado, indica um grupo com a fórmula $C(=O)R$, em que R é um alquila, conforme aqui definido.

O termo "azido", conforme aqui utilizado, refere-se a um grupo N_3 ($N^-=N^+=N^-$).

A frase "mistura heterogênea de solvente aquoso", conforme utilizada no presente, refere-se a uma mistura de água e um co-solvente orgânico que produz uma mistura com duas fases ou heterogênea. Esta mistura heterogênea de solvente aquoso pode resultar de um co-solvente com solubilidade aquosa limitada ou a potência iônica do componente aquoso pode ser ajustada (por exemplo, pela adição de salmoura) para limitar a solubilidade do co-solvente na fase aquosa e, desse modo, produzir um sistema heterogêneo.

O termo "anidrido de ácido carboxílico", conforme aqui utilizado, refere-se a um composto com a fórmula geral $(RCO)_2O$, em que R é um alquila, conforme aqui definido, ou fenila.

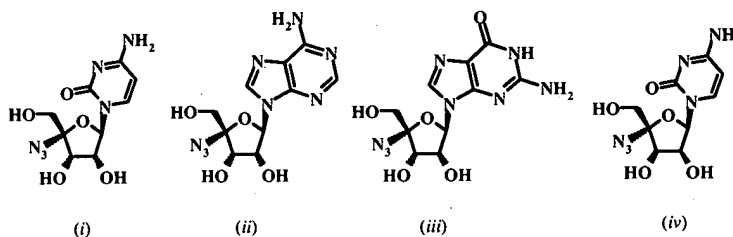
O termo "hidróxido de metal alcalino" refere-se a um composto com a fórmula MOH , em que M é lítio, sódio, potássio ou célio, "bicarbonato de metal alcalino" refere-se a um grupo $MHCO_3$, em que M é sódio ou potássio, e "carbonato de metal alcalino" refere-se a um grupo M_2CO_3 , em que M é sódio ou potássio. Um versado na técnica apreciará que outras bases podem ser utilizadas para manter o pH na faixa desejada, e as outras bases estão incluídas no escopo da invenção.

O termo "nucleosídeo", conforme aqui utilizado, refere-se a um composto unido a uma base purina ou pirimidina, ligada à posição 1 (carbono anomérico) de um carboidrato. Ribose e arabinose, e derivados desóxi e

didesóxi dos mesmos, são componentes carboidratos comuns de nucleosídeos.

Os termos "4'-azido-citidina", "4'-azido-adenosina", "4'-azido-guanosina" e "4'-azido-araC referem-se aos compostos (i)-(iv), respectivamente.

5



A frase "sal farmacologicamente aceitável" de um composto significa um sal que é farmacologicamente aceitável e que possui a atividade farmacológica desejada do composto original. Estes sais incluem: (1) sais
 10 ácidos adicionais, formados com ácidos inorgânicos, como ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico e similar, ou formados com ácidos orgânicos como ácido acético, ácido propiônico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiônico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malônico, ácido succínico, ácido málico, ácido maléico, ácido
 15 do fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzóico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido metanosulfônico, ácido etanosulfônico, ácido 1,2-etano-dissulfônico, ácido 2-hidroxietanosulfônico, ácido benzenossulfônico, ácido 4-clorobenzenossulfônico, ácido 2-naftalenossulfônico, ácido 4-
 20 toluenossulfônico, ácido canforsulfônico, ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptônico, ácido 3-fenilpropionico, ácido trimetilacético, ácido terciário butilacético, ácido lauril sulfúrico, ácido glucônico, ácido glutâmico, ácido hidroxinaftóico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucônico e similar; ou (2) sais formados quando um próton ácido, presente
 25 no composto original, é substituído por um íon de metal, por exemplo, um íon de metal alcalino, um íon de metal alcalino-terroso ou um íon de alumínio; ou co-ordena com uma base orgânica como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina e similar.

As abreviações que podem ser encontradas neste pedido de

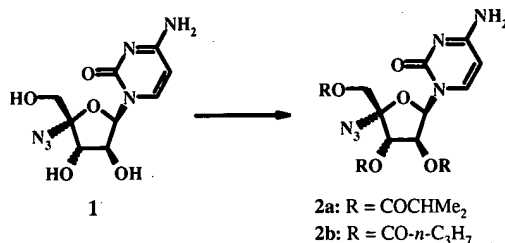
patente incluem: acetila (Ac), ácido acético (HOAc), 1-N-hidroxibenzotriazol (HOBT), atmosferas (Atm), cromatografia líquida de alto desempenho (H-PLC), metila (Me), *terc*-butoxicarbonila (Boc), acetonitrila (MeCN), pirocarbonato de di-*terc*-butila ou boc anidrido (BOC₂O), cloridrato de 1-(3-
5 dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI), benzila (Bn), butila (Bu), metanol (MeOH), benziloxycarbonila (cbz ou Z), ponto de fusão (mp), carbonil diimidazol (CDI), MeSO₂⁻ (mesil ou Ms), 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO), espectro de massa (ms), metil *t*-butil éter (MTBE), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
10 (DBU), N-metilmorfolina (NMM), N-metilpirrolidona (NMP), 1,2-dicloroetano (DCE), N,N'-diclohexilcarbodiimida (DCC), dicromato de piridínio (PDC), diclorometano (DCM), propila (Pr), libras por polegada quadrada (psi), diisopropiletilamina (DIPEA, Base de Hunig), piridina (pir), temperatura ambiente, ta ou TA, N,N-dimetil acetamida (DMA), *terc*-butildimetilsilil ou *t*-BuMe₂Si,
15 (TBDMS), 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP), trietilamina (Et₃N ou TEA), N,N-dimetilformamida (DMF), dimetil sulfóxido (DMSO), ácido trifluoracético (TFA), cromatografia em camada delgada (TLC), acetato de etila (EtOAc), tetrahydrofurano (THF), dietil éter (Et₂O), trimetilsilila ou Me₃Si (TMS), etila (Et), ácido *p*-toluenossulfônico monohidratado (TsOH ou *p*TsOH), 4-Me-
20 C₆H₄SO₂⁻ ou tosila (Ts), *isopropila* (*i*-Pr), N-uretano-N-carboxianidrido (UNCA), etanol (EtOH). A nomenclatura convencional, incluindo os prefixos *normal* (*n*), *iso* (*i*-), *secundário* (*sec*-), *terciário* (*terc*-) e *neo*, possui o seu significado habitual, quando utilizada junto a um grupo alquila. (J. Rigaudy e D. P. Klesney, *Nomenclature in Organic Chemistry*, IUPAC 1979 Pergamon Press,
25 Oxford.).

Exemplos de processos representativos, abrangidos pela presente invenção e incluídos no escopo da invenção, são fornecidos nos Exemplos a seguir. Estes exemplos são fornecidos para possibilitar que aqueles versados na técnica possam entender mais claramente e praticar a presente invenção. Eles não devem ser considerados como um limite ao escopo da invenção, porém simplesmente para fins ilustrativos e representativos da mesma.

30

EXEMPLO 1

Ácido isobutírico (2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-il)-2-azido-3,4-bis-isobutirilóxi-tetrahidro-furan-2-ilmetil éster



5 Uma solução de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-3, 4-dihidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-il)-1H-pirimidin-2-ona (1; 2,0 g; 7,04 mmols), THF (12 ml), água (8 ml) e DMAP (0,09 g; 0,70 mmol) foi tratada com salmoura suficiente para produzir uma solução de duas fases (aproximadamente, 2 ml). A mistura resultante de duas fases foi resfriada para ca. 5

10 °C e anidrido isobutírico (3,56 g; 22,52 mmols) e KOH aquoso a 50% foram acrescentados simultaneamente em uma medida que manteve o pH da mistura da reação em aproximadamente 8,5. O progresso da reação foi seguido por cromatografia e o material inicial foi consumido após o acréscimo de 3,2 equivalentes do anidrido. EtOAc (50 ml) foi acrescentado e a fase orgânica

15 foi lavada duas vezes com salmoura diluída. As lavagens aquosas combinadas foram lavadas duas vezes com EtOAc (15 ml). As duas lavagens de EtOAc foram combinadas e lavadas mais uma vez com água. Todo o material extraído com EtOAc foi combinado, secado (Na₂SO₄) e concentrado *in vacuo*. O resíduo em IPA (10 ml) foi triturado com ácido metanossulfônico (ca.

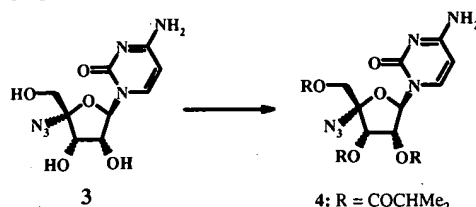
20 0,7 g). Heptano (10 ml) foi acrescentado e a mistura, solidificada, sob agitação em RT. Foi acrescentada uma solução de heptano/IPA, a mistura foi aquecida até 60 °C e deixada para resfriar lentamente até a RT. O sólido resultante foi filtrado, lavado com IPA/heptano e secado em uma estufa a vácuo a 60 °C, dando origem a 3,35 g (80,5%, teoricamente, de 2a: mp 167-

25 169 °C).

Ácido butírico (2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-il)-2-azido-3,4-bis-butirilóxi-tetrahidro-furan-2-ilmetil éster (2b, R = CO-*n*-C₃H₇; 1,45 g; 83.3%, teoricamente) foi preparado de modo similar, exceto que o anidrido *iso*-butírico foi substituído por anidrido butírico.

EXEMPLO 2

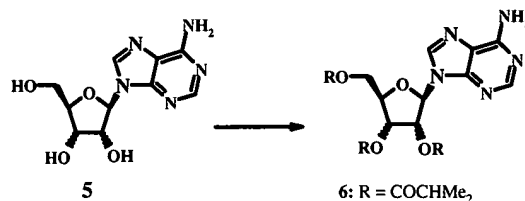
Ácido isobutírico 5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-il)-2-azido-3,4-bis-isobutirilóxi-tetrahidro-furan-2-ilmetil éster



5 Uma pasta fluida de 3 (12,0 kg) e DMAP (0,46 kg), em THF (48 litros) e água (36 litros), é tratada com KOH aquoso a 50% para ajustar o pH para aproximadamente 8,5. A mistura resultante é resfriada até 10 °C e tratada com anidrido isobutírico (21,6 kg), enquanto que o pH é mantido em aproximadamente 8-11 (pela adição simultânea de KOH a 50%) e a temperatura em aproximadamente 10-15 °C. A reação foi monitorada por HPLC e, depois que a reação foi concluída, EtOAc (35 litros) foi acrescentado, sendo o lote filtrado através de CELITE®. O filtrado foi separado em duas fases e a fase líquida foi extraída com EtOAc (2 x 30 litros). As fases combinadas de EtOAc foram lavadas com salmoura diluída e o EtOAc foi destilado e substituído por IPA. A solução resultante foi diluída com heptano, resultando na precipitação de 4. A pasta fluida resultante foi deixada em repouso em aproximadamente 0 °C e o sólido foi isolado por filtração, lavado com uma mistura de heptano-IPA e secado em uma estufa a vácuo a aproximadamente 50 °C para dar origem a 17,01 kg (89%, teoricamente) de 4 com 99,3 % de pureza na análise por HPLC.

EXEMPLO 3

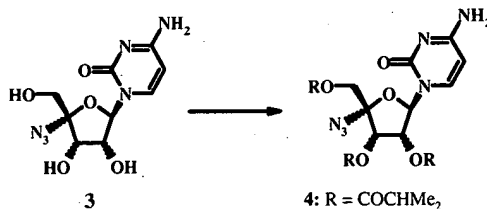
Ácido isobutírico 2-(6-amino-purin-9-il)-4-isobutirilóxi-5-isobutiriloximetil-tetrahidro-furan-3-il éster



25 O composto do título foi preparado como descrito para o exemplo 1, a partir de adenosina (5, 10g; 37,42 mmols), DMAP (0,46 g; 3,74 mmols), THF (40 ml) e H₂O (30,0 ml). Foram necessários, no total, 5,8 equi-

valentes de anidrido do ácido isobutírico para conversão completa que deu origem a 17,8 g (100%, teoricamente) de **6**.

EXEMPLO 4



5 ACILAÇÃO COM UM CLORETO ÁCIDO

Uma solução de 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-3, 4-dihidróxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-il)-1H-pirimidin-2-ona (**3**; 6,0 g; 18,01 mmols), THF (35 ml), salmoura (10 ml) e DMAP (0,2 g) foi tratada com salmoura suficiente para produzir uma solução de duas fases (aproximada-

10 mente 2 ml). A mistura de duas fases resultante foi resfriada para ca. 5 °C e cloreto de isobutiroila e KOH a 50% foram acrescentados simultaneamente em uma medida que manteve o pH da mistura da reação em aproximada-

15 mente 8,5. A mistura foi monitorada por HPLC e a adição continuou até o consumo completo de todo o material inicial. A análise por HPLC indicou a presença de produtos de tri e tetraacila. O pH da mistura da reação foi ajustado para ca. 1,5 com H₂SO₄ diluído e a mistura, agitada durante a noite, resultou na hidrólise de todos os produtos tetra-acilados. O produto foi extra-

20 ido em EtOAc e os extratos combinados foram lavados cuidadosamente com água, sendo o pH ajustado para ca. 1,5 ml. A solução resultante de EtOAc foi secada (MgSO₄), filtrada e evaporada para dar origem a 7,8 g de **4** que foi analisado para 85,3%.

ACILAÇÃO COM CARBONIL DIIMIDAZOL E ÁCIDO ISOBUTÍRICO

A uma mistura de **3** (1,0 g; 3,00 mmols), DMAP (37 mg), THF (1,0 ml) e água (4,0 ml) foi acrescentado NaOH a 50% até que o pH chegasse a 7-8 e, em seguida, ajustada para pH 9,5 com NaHCO₃ saturado. Foi acrescentado carbonildiimidazol (1,3 g; 9,0 mmols) a uma solução de ácido isobutírico (0,8 g; 9,00 mmols), em THF (10 ml), e a agitação continuou até que não houvesse mais efervescência. A última solução foi acrescentada lentamente à pasta fluida contendo **3** em RT. O pH foi mantido em ca. 9, pe-

25

lo acréscimo de base. A análise por HPLC revelou uma mistura de produtos mono, di e triacilados, na qual os últimos dois predominavam. A reação prosseguirá até que concluída, se acilimidazol adicional for acrescentado e todo material tiver sido convertido para o produto.

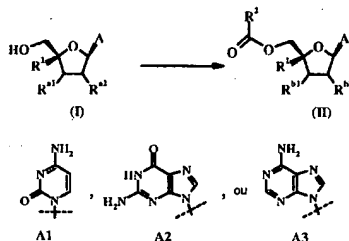
5 As características descritas na descrição precedente, ou as reivindicações seguintes, expressadas em suas formas específicas ou em termos de um meio para executar a função descrita, ou um método ou processo para se obter o resultado descrito, conforme apropriado, poderão, separadamente ou em qualquer combinação destas características, ser utilizadas
10 para realização da invenção em diversas formas da mesma.

A invenção precedente foi descrita em alguns detalhes, por meio de ilustração e exemplo, visando objetividade e entendimento. Será evidente para qualquer pessoa versada na técnica que alterações e modificações podem ser praticadas dentro do escopo das reivindicações anexadas. Por conseguinte, deverá ser entendido que a descrição acima pretende ser ilustrativa e não restritiva. O escopo da invenção deve, por conseguinte, ser determinado não em referência à descrição acima, porém deve, ao invés, ser determinada em referência às reivindicações seguintes anexadas, juntamente com o escopo completo de equivalentes aos quais estas reivindicações fazem jus.
15
20

Todas as patentes, os pedidos de patentes e publicações, citados neste pedido de patente, são aqui incorporados, em sua totalidade, por referência neste pedido, para todos os fins e na mesma medida conforme se cada um destes, patente, pedido de patente ou publicação, tivessem sido
25 assim indicados individualmente.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para a O-acilação seletiva de um nucleosídeo I para dar origem a um O-acil nucleosídeo II, em reação sob condições básicas



5

em que:

A é A1, A2 ou A3

R¹ é hidrogênio, azido, C₁₋₆ alquila ou C₁₋₃ acila;

R^{a1} e R^{a2} são, independentemente, hidrogênio ou hidroxila;

10

R^{b1} e R^{b2} são hidrogênio ou -O₂CR²; e

R² é C₁₋₁₀ alquila ou fenila;

cujo processo compreende as etapas de:

(i) dissolução de I e DMAP em uma mistura heterogênea de solvente aquoso e acréscimo de base aquosa para ajustar o pH de 7 para 13;

15

(ii) opcionalmente, adição suficiente de NaCl aquoso saturado para produzir uma mistura de reação bifásica;

(iii) acréscimo de um agente de acilação e base adicional suficiente para manter o pH de 7 para 13;

20

(iv) monitoração da reação, descontinuando o acréscimo do referido agente de acilação e da referida base quando a conversão atingir um nível satisfatório;

(v) opcionalmente, o contato do O-acil nucleosídeo com um ácido farmacologicamente aceitável para permitir o isolamento de um sal ácido adicional do O-acil nucleosídeo.

25

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, em que R^{a1} e R^{a2} são ambos OH e R^{b1} e R^{b2} são ambos -O₂CR².

3. Processo de acordo com a reivindicação 2, em que R¹ é H ou N₃.
4. Processo de acordo com a reivindicação 3, em que R¹ é N₃.
5. Processo de acordo com a reivindicação 4, em que o referido nucleosídeo da fórmula I é 4'-azido-citidina, 4'-azido-guanosina, 4'-azido-adenosina ou 4'-azido-*ara*-C.
6. Processo de acordo com a reivindicação 1, em que o referido solvente orgânico aquoso heterogêneo é um éter aquoso.
7. Processo de acordo com a reivindicação 6, em que o referido solvente orgânico aquoso heterogêneo é tetrahidrofurano aquoso.
8. Processo de acordo com a reivindicação 1, em que a referida faixa de pH é de 7,5 a 12.
9. Processo de acordo com a reivindicação 8, em que a referida faixa de pH é de 8 a 10.
10. Processo de acordo com a reivindicação 1, em que a referida base é um hidróxido de metal alcalino, um bicarbonato de metal alcalino ou um carbonato de metal alcalino.
11. Processo de acordo com a reivindicação 9, em que a referida base é KOH.
12. Processo de acordo com a reivindicação 1, em que o referido reagente de acilação é um anidrido de ácido carboxílico, cloreto de acila ou um acilimidazol.
13. Processo de acordo com a reivindicação 12, em que o referido reagente de acilação é o anidrido isobutírico, hexanóico, tripentanóico, butírico ou benzóico.
14. Processo de acordo com a reivindicação 13, em que o referido reagente de acilação é o anidrido isobutírico.
15. Processo de acordo com a reivindicação 1, em que o referido nucleosídeo da fórmula I é 4'-azido-citidina ou 4'-azido-*ara*C, o referido solvente orgânico aquoso é um solvente bifásico de tetrahidrofurano aquoso, a referida base é NaOH, a referida faixa de pH é de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 e o referido reagente de acilação é o anidrido isobutíri-

co.

16. Processo de acordo com a reivindicação 14, em que o referido processo compreende ainda a etapa de contato do referido O-acil nucleosídeo com um ácido farmacêuticamente aceitável para a produção de um sal ácido adicional.

17. Processo de acordo com a reivindicação 15, em que o referido ácido inorgânico ou orgânico farmacêuticamente aceitável é o ácido clorídrico ou metanossulfônico.

2006/0315-8

RESUMO

Patente de Invenção: "**O-ACILAÇÃO SELETIVA DE NUCLEOSÍDEOS**".

A presente invenção refere-se a um processo de uma etapa para a O-acilação seletiva dos grupos hidróxi de um nucleosídeo sob condições básicas, utilizando DMAP e um anidrido de ácido carboxílico em mistura heterogênea de solvente aquoso.

5