



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 872**

51 Int. Cl.:  
**C07D 305/14** (2006.01)  
**A61K 31/337** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06724105 .9**  
96 Fecha de presentación : **07.04.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1885707**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.02.2008**

54 Título: **Procedimiento para la purificación de 10-desacetilbacatina III de 10-desacetil-2-desbenzoil-2-penteno-ilbacatina III.**

30 Prioridad: **12.04.2005 IT MI05A0614**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.05.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.05.2011**

73 Titular/es: **INDENA S.p.A.**  
**Viale Ortles, 12**  
**20139 Milano, IT**

72 Inventor/es: **Gabetta, Bruno y**  
**Gambini, Andrea**

74 Agente: **Lazcano Gainza, Jesús**

ES 2 358 872 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la purificación de 10-desacetilbacatina III de 10-desacetil-2-desbenzoil-2-pentenoilbacatina III.

La presente invención se refiere a la preparación de 10-desacetilbacatina III libre de 10-desacetil-2-desbenzoil-2-pentenoilbacatina III.

- 5 La eliminación de esta impureza se lleva a cabo transformando 10-desacetilbacatina III en el correspondiente 7,10-bis-tricloroacetato, seguido por purificación cromatográfica y desbloqueo de los grupos hidroxilo. La 10-desacetilbacatina III purificada según este método puede usarse convenientemente para la semisíntesis de medicamentos antitumorales con esqueleto de taxano, evitando purificaciones problemáticas de los correspondientes análogos de 2-desbenzoil-2-pentenoilo.

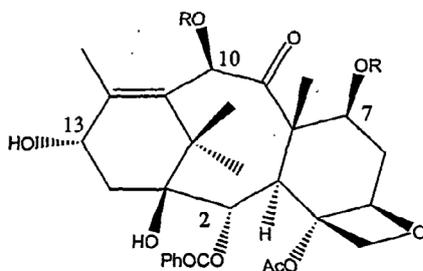
10 **Introducción**

- 10-Desacetilbacatina III (I) es el producto de partida para la semisíntesis de medicamentos con potente actividad antitumoral, tales como docetaxel y paclitaxel. 10-Desacetilbacatina III se aísla mediante extracción a partir de plantas del género *Taxus*. El producto de extracción también contiene una cantidad variable de compuestos relacionados (véase la tabla), que dependen del origen del material vegetal. En general, las impurezas contenidas
- 15 en 10-desacetilbacatina III disponible comercialmente tienen un grupo hidroxilo adicional en la posición 14 ó 19 o tienen una configuración opuesta en la posición 7 y 13.

- Otras impurezas están sustituidas en la posición 13 con un residuo fenilisoserina, cuya función amina está unida a un residuo propiónico, butírico, tíglico o benzoico. Además, 10-desacetilbacatina III contiene un metabolito (II) adicional que, en lugar de una función benzoilo en la posición 2, porta un residuo pentenoilo, identificado en
- 20 particular como un residuo ácido tíglico (B. Gabetta *et al.*, J. Nat. Prod. 58, 1508, 1995). Habitualmente esta impureza, que no puede eliminarse a través de cristalización debido a su tendencia a cristalizar conjuntamente con 10-desacetilbacatina III, está contenida en cantidades del 0,3-1% en 10-desacetilbacatina III comercial. Además, purificaciones cromatográficas costosas permiten sólo una reducción parcial e insatisfactoria de su contenido.

- 25 Cuando se prepara un fármaco antitumoral a partir de 10-desacetilbacatina III, esta impureza experimenta el mismo proceso de semisíntesis que 10-desacetilbacatina III, dando lugar al correspondiente derivado de 2-desbenzoil-2-pentenoilo, cuya eliminación es extremadamente problemática.

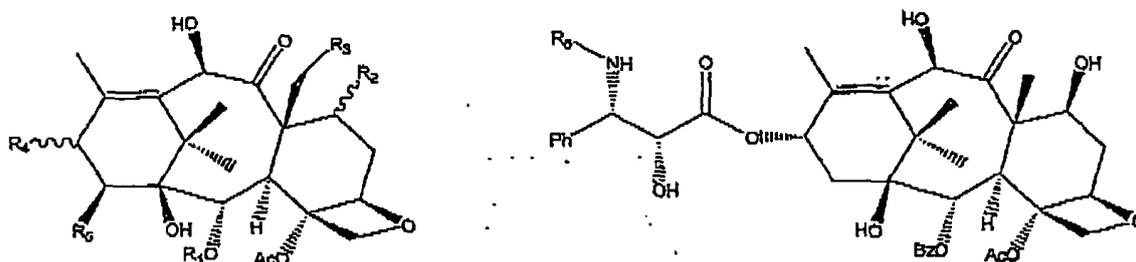
Por este motivo, por ejemplo, la farmacopea americana permite la presencia de cantidades relevantes (hasta el 0,7%) de 2-desbenzoil-2-pentenoilpaclitaxel en paclitaxel semisintético.



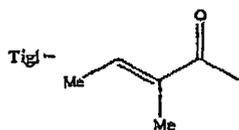
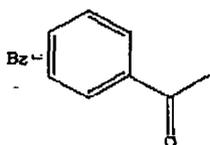
(I) R = H

(III) R = CCl<sub>3</sub>CO

Tabla - Principales impurezas contenidas en 10-desacetilbacatina comercial



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>		R <sub>6</sub>
Ia	Bz	β-OH	OH	α-OH	H	In	EtCO
Ib	Bz	α-OH	OH	α-OH	H	Ib	PrCO
Ic	Bz	β-OH	H	β-OH	H	Ic	Tigl
Id	Bz	β-OH	H	α-OH	OH	Id	Bz
Ie	Bz	α-OH	H	α-OH	H		
If	Tigl	β-OH	H	α-OH	H		



5 Se dan a conocer procedimientos para la preparación de derivados de taxano a partir de 10-desacetilbacatina III que comprende la etapa de protección simultánea de los hidroxilos en las posiciones 7 y 10 de 10-desacetilbacatina III con grupos tricloroacetilo en los documentos WO02/44161, WO02/12215 y WO00/52003.

**Descripción de la invención**

10 La presente invención se refiere a un procedimiento para la purificación de 10-desacetilbacatina III de 10-desacetil-2-desbenzoil-2-pentenoilbacatina III (II), en el que el residuo pentenoilo es un residuo ácido tíglico. Por tanto, 10-desacetilbacatina III purificada según la invención permite obtener medicamentos antitumorales con esqueleto de taxano libres de las correspondientes impurezas que tienen un residuo pentenoilo en lugar de un residuo benzoilo en la posición 2.

15 10-Desacetilbacatina III puede transformarse fácilmente en el derivado de 7,10-bis-tricloroacetilo (III). La conversión puede llevarse a cabo mediante tratamiento con derivados activados de ácido tricloroacético, según métodos de esterificación conocidos. Preferiblemente, se obtiene III mediante reacción con cloruro de tricloroacetilo a una temperatura de aproximadamente 0°C, preferiblemente de -5 a +5°C, usando piridina o una mezcla de piridina -

diclorometano como disolvente. El análisis de HPLC muestra que (III) contiene, como impurezas, aproximadamente el 2% de los correspondientes productos 10- y 7-monoacilados, así como la impureza (II) 7,10-bis-tricloroacetato, en una cantidad proporcional a la de (II) en la 10-desacetilbacatina III usada como material de partida.

5 Se ha encontrado sorprendentemente que el derivado de bis-tricloroacetilo de esta última impureza (II) tiene un comportamiento cromatográfico notablemente diferente del de bis-tricloroacetil-10-desacetilbacatina III (III).

10 De hecho, cuando los productos de tricloroacetilación se someten a cromatografía en columna en pequeñas cantidades de gel de sílice, preferiblemente 10-20 partes en peso, más preferiblemente 15 partes en peso, y se eluyen con diclorometano o una mezcla de diclorometano-acetato de etilo, se eluye 7,10-bis-tricloroacetil-10-desacetilbacatina III (III), mientras que el correspondiente análogo de 2-desbenzoil-2-pentenoilo se retiene en la fase estacionaria junto con productos monoacilados. Estas impurezas pueden recuperarse usando un disolvente con polaridad superior que el diclorometano, por ejemplo acetona o metanol.

15 La 7,10-bis-tricloroacetilbacatina III (III) resultante obtenida con una pureza cromatográfica superior al 99% puede usarse como tal para la semisíntesis de medicamentos antitumorales mediante esterificación de la posición 13 con una cadena lateral adecuadamente activada. De hecho, su ventaja consiste en la presencia de grupos protectores tricloroacetilo tanto en la posición 7 como en la 10, además de la ausencia del análogo de 2-desbenzoil-2-pentenoilo. Esto evita esterificaciones adicionales y no deseadas en las posiciones 7 y/o 10 con la cadena lateral seleccionada, y la formación de impurezas que de otra manera no podrían eliminarse fácilmente. Por tanto, la esterificación de la posición 13 con una cadena lateral adecuada seguida por la eliminación de los grupos protectores de la posición 7 y 10 y de la cadena lateral permite obtener docetaxel o sus precursores (que tiene una

20 cadena lateral protegida adecuada) libre de análogos de di(fenilisoserinil).

Por otra parte, puede regenerarse 10-desacetilbacatina III libre del análogo de 2-desbenzoil-2-pentenoilo y otras impurezas a partir del producto (III), (purificado tal como se describió anteriormente) a través de tratamiento alcalino, preferiblemente mediante reacción con hidróxido de amonio en un disolvente adecuado tal como metanol, o una mezcla de metanol - diclorometano o tetrahidrofurano. Mediante cristalización en un disolvente adecuado, tal como acetoneitrilo, acetona o metanol, se obtiene 10-desacetilbacatina III con pureza cromatográfica superior al 99% y libre de compuesto (II) como impureza.

25

Por tanto, la 10-desacetilbacatina III resultante obtenida puede usarse convenientemente para la preparación de paclitaxel semisintético libre de 2-desbenzoil-2-pentenoil-paclitaxel. Puede obtenerse paclitaxel por medio de cualquier método que permita transformar 10-desacetilbacatina III en N-desbenzoilpaclitaxel, seguido por

30 benzoilación. Un método conveniente para la preparación de N-desbenzoilpaclitaxel se da a conocer por ejemplo en el documento US 20050049297.

La invención se ilustra en mayor detalle en los ejemplos notificados a continuación.

#### Ejemplo 1 - 10-Desacetil-7,10-bis-tricloroacetilbacatina III (III)

35 Se trata 10-desacetilbacatina III (15 g), que contiene el 0,4% de análogo de 2-desbenzoil-2-pentenoilo como impureza, con 6,6 ml de cloruro de tricloroacetilo en 60 ml de piridina a 0-5°C durante una hora con agitación. Se diluye la mezcla con 100 ml de cloruro de metileno y 100 ml de ácido clorhídrico 4 N. Se separan las fases y se lava la orgánica con 100 ml de ácido clorhídrico 4 N y luego con 500 ml de agua saturada con cloruro de sodio. Se concentra la fase orgánica hasta sequedad y se lleva el residuo a 100 ml de tolueno. Se recupera el sólido (24,9 g) mediante filtración, se vuelve a disolver en 125 ml de cloruro de metileno y se purifica mediante cromatografía en

columna sobre 375 g de Kieselgel 60 Merck, eluyendo con cloruro de metileno. Se recogen las fracciones que contienen III y se les añade tolueno; se separa por filtración el precipitado resultante y se seca a vacío a 50°C, dando 17,8 g de III con una pureza de HPLC superior al 99%. El análisis de HPLC-EM no muestra la presencia de (II) bis-tricloroacetato.

5 Ejemplo 2 - 10-Desacetilbacatina III libre de análogo de 2-desbenzoil-2-pentenoílo

Se disuelve 10-desacetil-7,10-bis-tricloroacetilbacatina III (17,8 g), obtenida tal como se describe en el ejemplo 1, bajo una atmósfera inerte en 36 ml de tetrahidrofurano y se trata con agitación durante treinta minutos con 3,9 ml de hidróxido de amonio concentrado. Se diluye la disolución con acetonitrilo y entonces se concentra hasta una cristalización incipiente, después de eso se filtra el producto y se recrystaliza en acetona, para dar 10 g de 10-desacetilbacatina III con una pureza de HPLC superior al 99% y libre de 2-desbenzoil-2-pentenoilbacatina III.

10 Ejemplo 3 - Paclitaxel libre de análogo de 2-desbenzoil-2-pentenoílo

Se prepara N-desbenzoilpaclitaxel (700 g) tal como se describe en los ejemplos V - VII del documento US 2005/0049297 A1, partiendo de 10-DAB III purificada según el ejemplo 2 anterior (por tanto libre del análogo de 2-desbenzoil-2-pentenoílo), después de eso se disuelve en 14 l de acetonitrilo, se le añaden 120 ml de trietilamina y se trata con 107 ml de cloruro de benzoílo.

15 Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante media hora y se diluye con 21 l de agua que contiene el 0,1 % de ácido acético.

Se filtra el material sólido, se lava con 3 l de una mezcla de agua-acetonitrilo 3:2 y se seca a vacío a 50°C. Se obtienen aproximadamente 700 g de material sólido seco, a partir del cual, mediante cristalización en ciclohexano-acetona 2:1 y secado a vacío, se obtienen 600 g de paclitaxel libre de 2-desbenzoil-2-pentenoilpaclitaxel.

20

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de 10-desacetilbacatina III con una pureza superior al 99% y libre de 10-desacetil-2-desbenzoil-2-pentenoilbacatina III que comprende las siguientes etapas:
  - a) tratamiento de 10-desacetilbacatina III bruta con un derivado activado de ácido tricloroacético;
  - 5 b) cromatografía en gel de sílice y elución de 7,10-bis-tricloroacetil-10-desacetilbacatina III con diclorometano o una mezcla de diclorometano-acetato de etilo;
  - c) someter 10-desacetil-7,10-bis-tricloroacetilbacatina III a tratamiento alcalino seguido por cristalización.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la etapa a) se lleva a cabo mediante reacción con cloruro de tricloroacetilo a una temperatura de -5 a +5°C en piridina o en una mezcla de piridina - diclorometano.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, en el que la cromatografía del producto de tricloroacetilación se lleva a cabo usando desde 10 hasta 20 partes en peso de gel de sílice con respecto al peso de 7,10-bis-tricloroacetil-10-desacetilbacatina III sin procesar obtenida como en las reivindicación 1 ó 2.
- 15 4. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que a la etapa b) le sigue la recuperación de la correspondiente impureza de 2-desbenzoil-2-pentenoilo y los productos de monoacilación usando un disolvente con polaridad superior que el diclorometano seleccionado de acetona o metanol.
5. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el tratamiento alcalino de la etapa c) se lleva a cabo mediante reacción con hidróxido de amonio en un disolvente seleccionado de metanol, una mezcla de metanol - diclorometano o tetrahidrofurano.
- 20 6. Procedimiento según la reivindicación 1 ó 5, en el que la cristalización de 10-desacetilbacatina III se lleva a cabo con un disolvente seleccionado de acetonitrilo, acetona o metanol.
7. Procedimiento para la preparación de paclitaxel que comprende la preparación de 10-desacetilbacatina III según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y su conversión en N-desbenzoilpaclitaxel, seguido por benzoilación.