

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 059**

51 Int. Cl.:

C07K 7/54

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2009 E 09762722 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **13.04.2011 EP 2307445**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de caspofungina y sus compuestos intermedios**

30 Prioridad:

13.06.2008 US 138488

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.01.2013

73 Titular/es:

**XELLIA PHARMACEUTICALS APS (100.0%)
Dalslandsgade 11
2300 Copenhagen S, DK**

72 Inventor/es:

**HEGSELUND, AUDUN;
KVERNENES, OLE HEINE y
BJØRNSTAD, VIDAR**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 394 059 T3

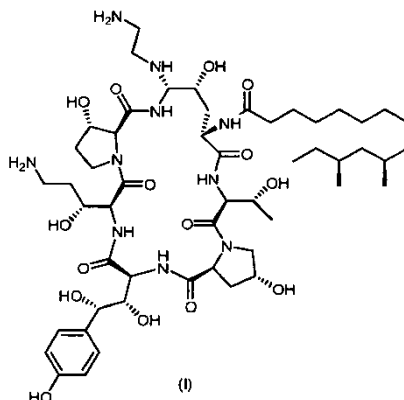
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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 preparación de caspofungina y sus compuestos intermedios.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un procedimiento mejorado para la preparación de caspofungina representada por la fórmula I:

**Antecedentes**

La caspofungina es el primero de una nueva clase de agentes antifúngicos semisintéticos que pertenecen a la clase de equinocandinas. El fármaco se prepara por modificación sintética de neumocandina B₀ que se obtiene por fermentación del hongo *Glarea lozoyensis*. Caspofungina inhibe la biosíntesis β - (1-3)-D-glucano, componente integral de la pared celular de los hongos, y está indicada para el tratamiento de la aspergilosis invasiva en pacientes que son resistentes o intolerantes a otras terapias, así como en la terapia empírica para presuntas infecciones fúngicas en pacientes neutropénicos febriles. Merck & Co. comercializa la caspofungina en forma de su sal diacetato, con la denominación comercial de Cancidas®.

La caspofungina como compuesto se reivindica en la patente US nº 5.378.804 de por Merck & Co. El fármaco se preparó en una secuencia sintética larga con un rendimiento global del 0,7% en neumocandina B₀. Los dos primeros pasos de síntesis fueron objeto de la solicitud de patente EP 0 535 967 A2. La reducción de la amida primaria se efectuó en dos pasos, es decir, deshidratación con cloruro cianúrico dando un nitrilo intermedio que se redujo con borohidruro de sodio en presencia de cloruro de cobalto (II). La cadena lateral amínica se introdujo por sustitución de 2-aminoetanotiol por la función hidroxí hemiamínica, la oxidación a la sulfona, seguida de sustitución con 1,2-diaminoetano.

El producto de reducción de la neumocandina B₀, compuesto de fórmula III en el Esquema 1, se reivindica como un compuesto en la patente US nº 5.939.384.

Journet y colaboradores describen una reducción mejorada en dos etapas de la amida primaria en un análogo de equinocandina próximo (Journet *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1999, 64, 2411-2417). Cuando la deshidratación de cloruro cianúrico se realizó a -30°C con un control cuidadoso del contenido de agua se obtuvo una reacción muy eficiente. La función nitrilo resultante se redujo después en condiciones de hidrogenación catalítica con alto rendimiento.

La reducción de la amida primaria con complejos de borano en una etapa directamente a la amina correspondiente se describe en la patente US nº 5.552.521. Al tratar neumocandina B₀ con el complejo de borano-sulfuro de dimetilo en THF seco a 0°C en exceso se obtuvo el producto de reducción con 43% de rendimiento. El proceso mejoró más cuando 2-aminoetanotiol se sustituyó por tiofenol. Se omite una etapa de reacción ya que el grupo tiofenol puede sustituirse con 1,2-diaminoetano directamente sin oxidación previa del sulfuro a la sulfona. Sin embargo, tiofenol es muy maloliente y bastante tóxico.

La utilización de la protección del éster de boronato en la síntesis de caspofungina se describe en la patente US nº 5.936.062. Antes de la reducción de la amida primaria con borano, los dos sistemas de diol adyacentes están protegidos como los ésteres de fenilboronato. La preparación ácida de la mezcla de reacción libera entonces neumocandina B₀ reducida con 61% de rendimiento. La patente reivindica el derivado bis(fenilboronato) de neumocandina B₀.

Cuando se hace reaccionar neumocandina B₀ con ácido fenilbórico antes del tratamiento con tiofenol bajo catálisis ácida, se puede minimizar algunas impurezas del proceso, véase la patente US nº 7.214.768. La epimerización de la posición bencílica, así como la sustitución de la función hidroxí bencílica, se suprime cuando el alcohol bencílico se modifica como un éster de boronato.

Además, en el documento WO 2007/057141, se da a conocer todavía otro procedimiento para la síntesis de caspofungina. El procedimiento se basa en la reducción de dos etapas de la amida primaria a la amina a través del nitrilo correspondiente e incluye nuevos compuestos intermedios.

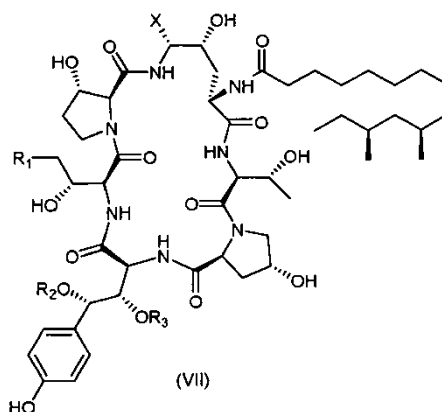
Leonard y colaboradores en Merck Research Laboratories proporcionan una descripción detallada de la elaboración de la síntesis de caspofungina, y el procedimiento presentado se dice que es el proceso real de fabricación, Leonard *et al.*, *J. Org. Chem.* 2007, 72, 2335-2343. La protección del éster de fenilboronato está incluida en la reducción de la amida primaria, así como durante la inserción del tiofenol bajo catálisis ácida. El rendimiento global de caspofungina a partir de neumocandina B₀ se comunica que es del 45%. El procedimiento consta de tres etapas de reacción química y dos purificaciones cromatográficas.

Como la sustitución de la función hidroxí hemiamínica directamente con el 1,2-diaminoetano ha resultado ser difícil (Leonard *et al.*), una secuencia de dos etapas ha sido necesaria en la introducción de la cadena lateral de la etilendiamina. Según el procedimiento general descrito en la técnica anterior, se han utilizado nucleófilos con azufre tales como tiofenol como grupos auxiliares ya que se sustituyen fácilmente por la función hidroxí hemiamínica y pueden ser expulsados por un segundo nucleófilo (es decir, 1,2-diaminoetano) directamente o después de la oxidación. En particular, tiofenol ha tenido éxito como un grupo auxiliar en la síntesis de caspofungina. Sin embargo, tiofenol es muy tóxico y maloliente, y su utilización en la producción a escala requiere equipo especial. Por lo tanto, un procedimiento que no depende de la utilización de tiofenol es favorable tanto desde el punto de vista económico como medioambiental.

Como los procedimientos generales de producción de caspofungina implican muchas etapas de síntesis y purificación, y una cantidad sustancial de material se pierde durante el proceso, continúa habiendo necesidad de un procedimiento mejorado de producción de caspofungina. Además, los procedimientos más eficientes disponibles se basan en la utilización de tiofenol muy maloliente y tóxico como grupo auxiliar.

Sumario de la invención

Los presentes inventores han descubierto que la caspofungina se puede preparar utilizando un nuevo compuesto intermedio de fórmula VII como se muestra a continuación que permite evitar la utilización de tioles, tales como tiofenol para la introducción de un grupo auxiliar adecuado

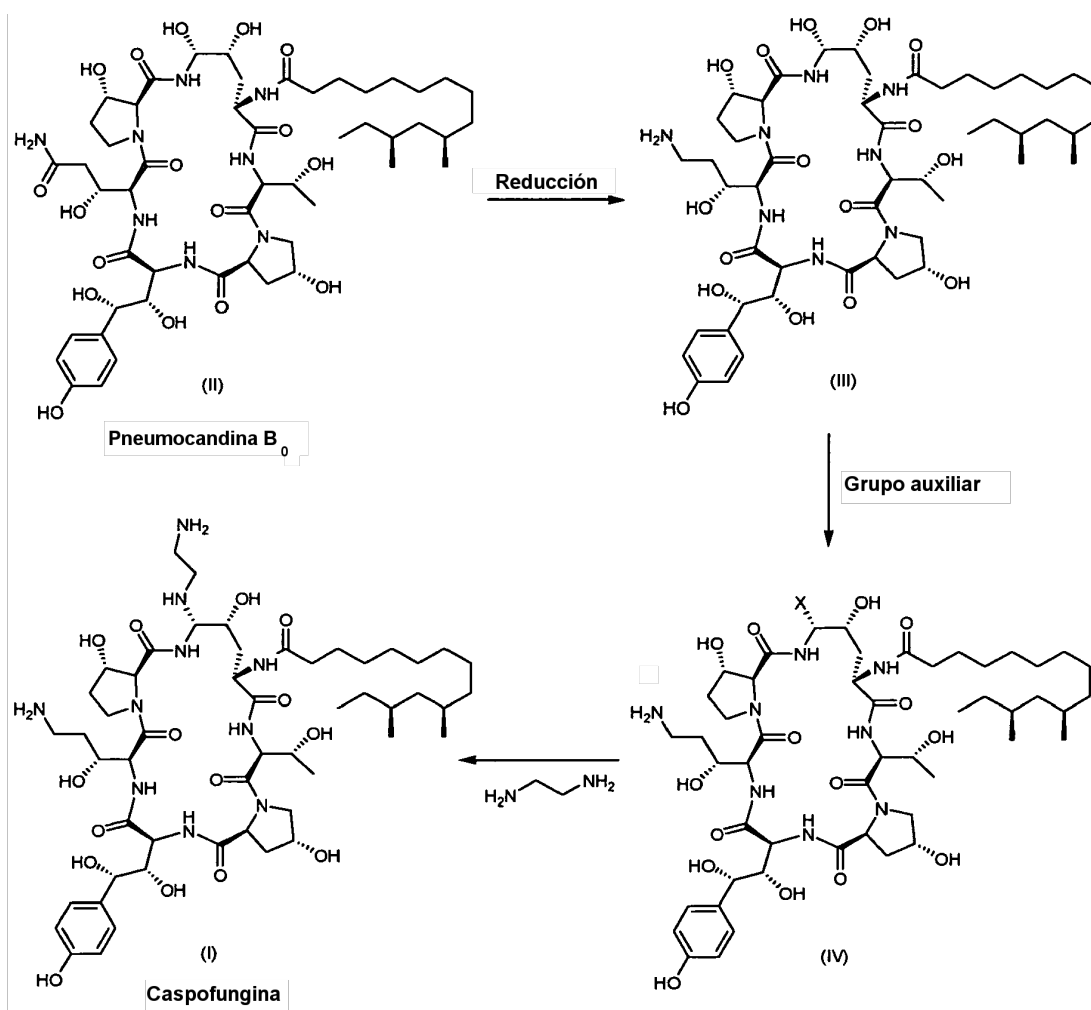


o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo, en la que R₁ es -(CO)NH₂, -CH₂NH₂ o -CN;

R₂ = R₃ = H o R₂ y R₃ juntos forman un boronato o éster de borato cíclico;

X es un grupo auxiliar seleccionado de entre el grupo que consta de i) un anillo aromático heterocíclico de cinco o seis eslabones que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imino, en el que dicho átomo de N forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, y ii) tetrazolilo para el que un átomo de nitrógeno forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico.

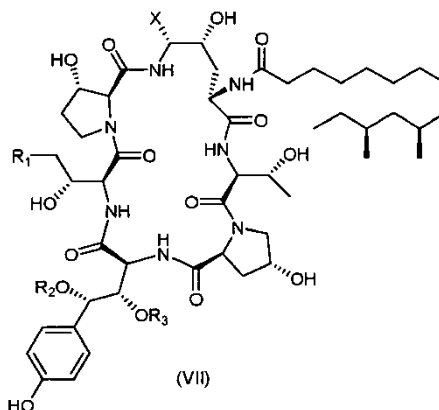
Según un aspecto de la invención, el producto de reducción de neumocandina B₀ de fórmula III se hace reaccionar con un reactivo para la introducción de un grupo auxiliar X, proporcionando un compuesto intermedio IV después de la sustitución de la función hidroxí hemiamínica, véase el Esquema 1.



Esquema 1

5 Cuando el compuesto de fórmula IV se trata con 1,2-diaminoetano, se libera caspofungina después de la sustitución del grupo auxiliar X y la eliminación de los posibles grupos protectores.

La presente invención por lo tanto proporciona un compuesto de fórmula VII



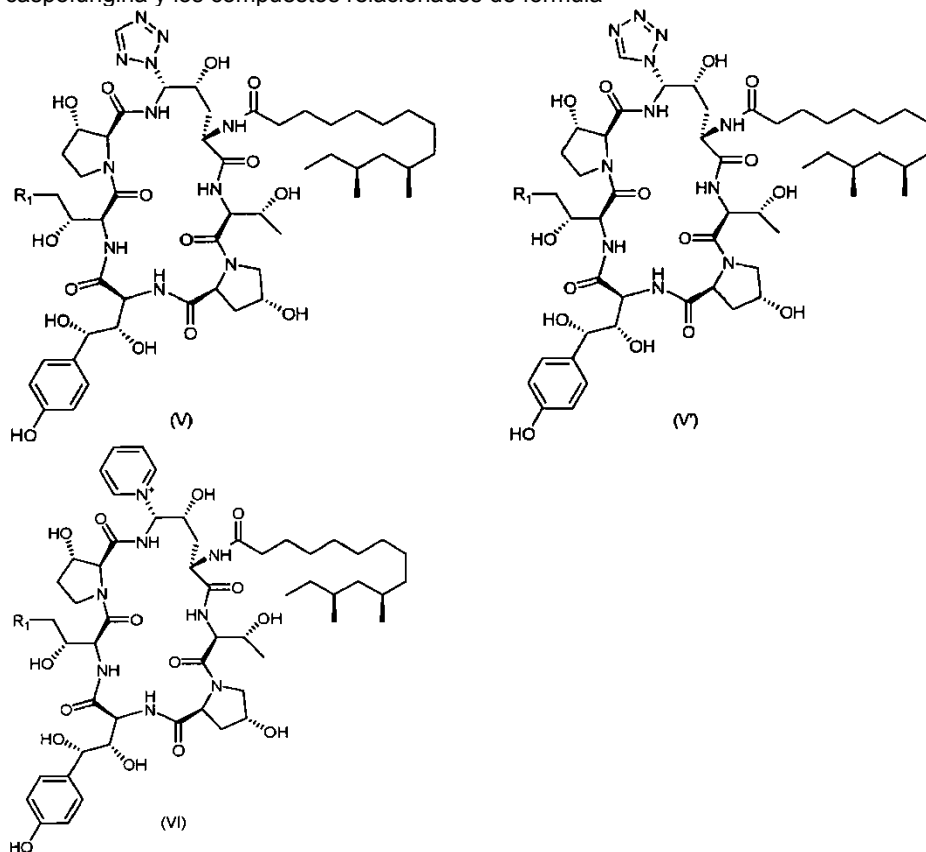
10 o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo, en la que R₁ es -(CO)NH₂, -CH₂NH₂ o -CN;

R₂ = R₃ = H o R₂ y R₃ juntos forman un boronato o éster de borato cíclico;

X es un grupo auxiliar seleccionado de entre el grupo que consiste en i) un anillo aromático heterocíclico de cinco o seis eslabones que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imina, en el que dicho átomo de N forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, y ii) tetrazolilo para los que un átomo de nitrógeno forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico.

Los compuestos de fórmula VII son particularmente útiles como intermedios en la síntesis de caspofungina y compuestos relacionados.

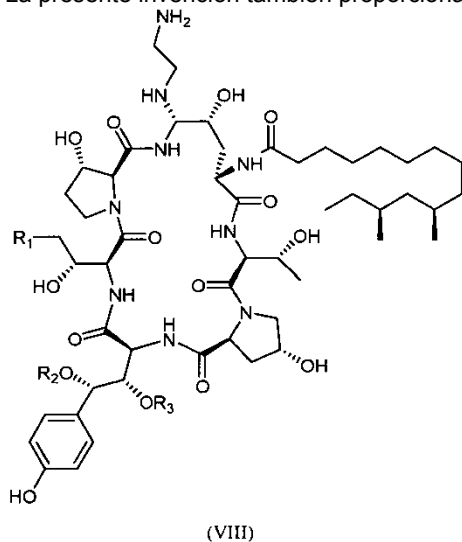
Según todavía otro aspecto, se proporcionan compuestos intermedios que son útiles en la preparación de caspofungina y los compuestos relacionados de fórmula



o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo, en el que R_1 es $-(CO)NH_2$, $-CH_2NH_2$ o $-CN$.

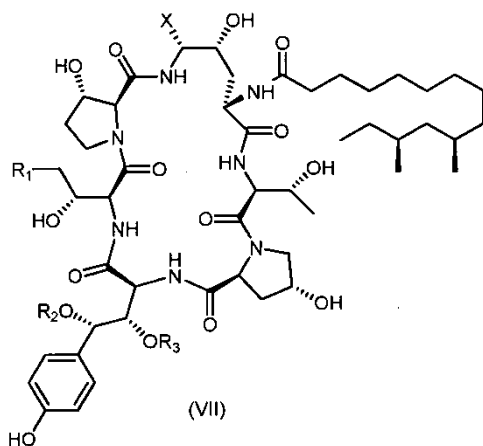
Según otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (VII), (V), (V') y (VI), en las que R_1 es $-CH_2NH_2$.

La presente invención también proporciona un procedimiento para producir un compuesto de fórmula VIII



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende las etapas siguientes

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula VII o una sal de adición de ácido del mismo



en la que R_1 es $-(CO)NH_2$, $-CH_2NH_2$ o $-CN$;

$R_2 = R_3 = H$ o R_2 y R_3 juntos forman un boronato o éster de borato cíclico;

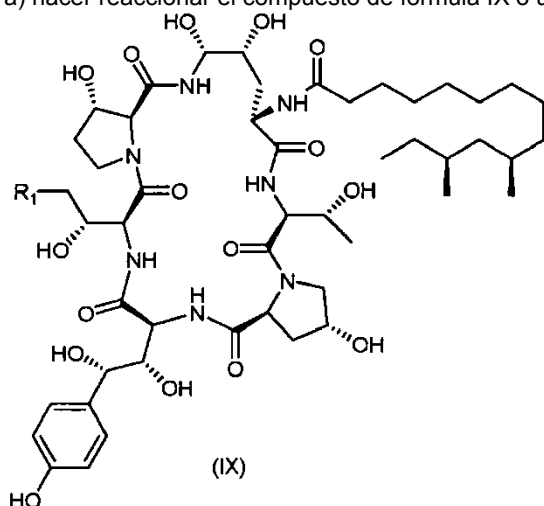
X es un grupo auxiliar seleccionado de entre el grupo que consta de i) un anillo de cinco o seis eslabones aromático heterocíclico que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imina, en el que dicho átomo de N forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, y ii) tetrazolilo para el que un átomo de nitrógeno forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, con 1,2-diaminoetano para obtener un compuesto de fórmula VIII o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

y

b) opcionalmente aislar el compuesto de fórmula VIII o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se obtuvo en la etapa a).

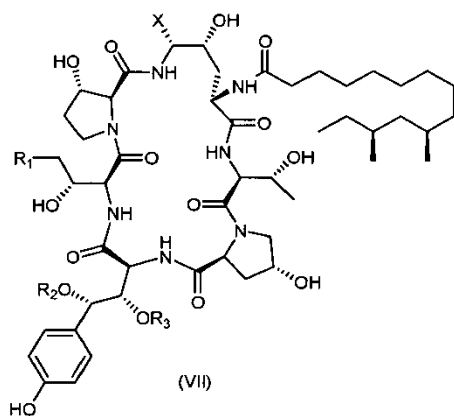
Según otro aspecto todavía, se proporciona un procedimiento para la producción de caspofungina (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en el que dicho procedimiento comprende las etapas siguientes

a) hacer reaccionar el compuesto de fórmula IX o una sal de adición de ácido del mismo



en la que R_1 es $-(CO)NH_2$, $-CH_2NH_2$ o $-CN$ o $-CN$ con i) un compuesto aromático heterocíclico de cinco o seis eslabones que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imina, o ii) tetrazol

para formar un compuesto de fórmula VII

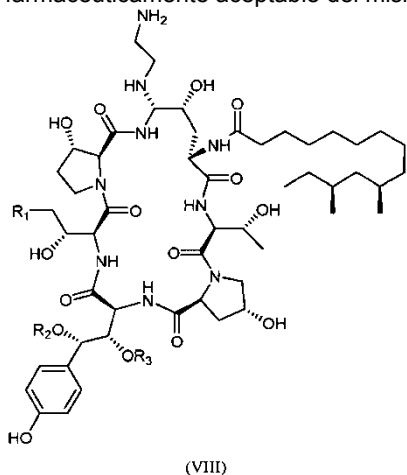


en la que R_1 y X son como se han definido anteriormente;

5

$R_2 = R_3 = H$ o R_2 y R_3 juntos forman un boronato o éster de borato cíclico;

b) seguido de la sustitución de X con 1,2-diaminoetano para obtener un compuesto de fórmula VIII o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



10

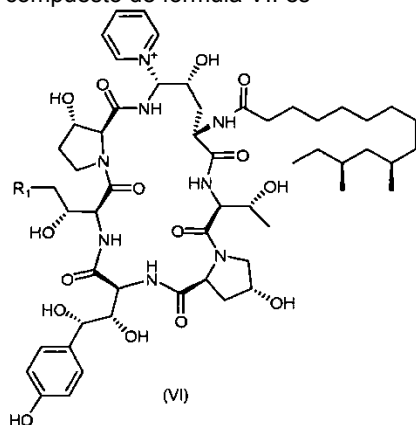
c) aislar opcionalmente el compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a condición de que si R_1 en la fórmula IX es $-(CO)NH_2$ o $-CN$ se lleve a cabo una reducción antes o después de la etapa a) o b), respectivamente para proporcionar el compuesto de fórmula I como producto final.

15

Según otro aspecto, el procedimiento según la presente invención se puede realizar como un procedimiento resumido en un solo recipiente en el que la caspofungina es la forma sintetizada neumocandina B_0 sin aislamiento de algunos compuestos intermedios.

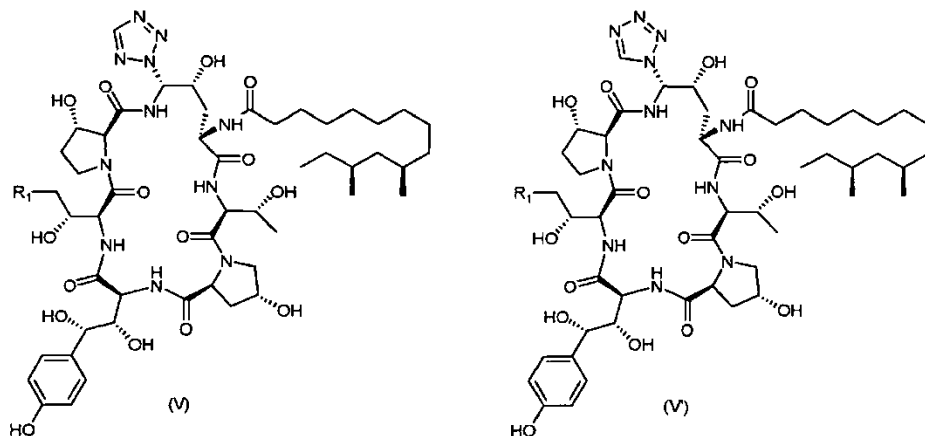
20

Según un aspecto del procedimiento de la presente invención, X se introduce en la reacción con piridina y el compuesto de fórmula VII es



o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo.

Según aún otro aspecto del procedimiento de la presente invención, X se introduce en la reacción con tetrazol y el compuesto de fórmula VII es



o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo.

Descripción detallada de la invención

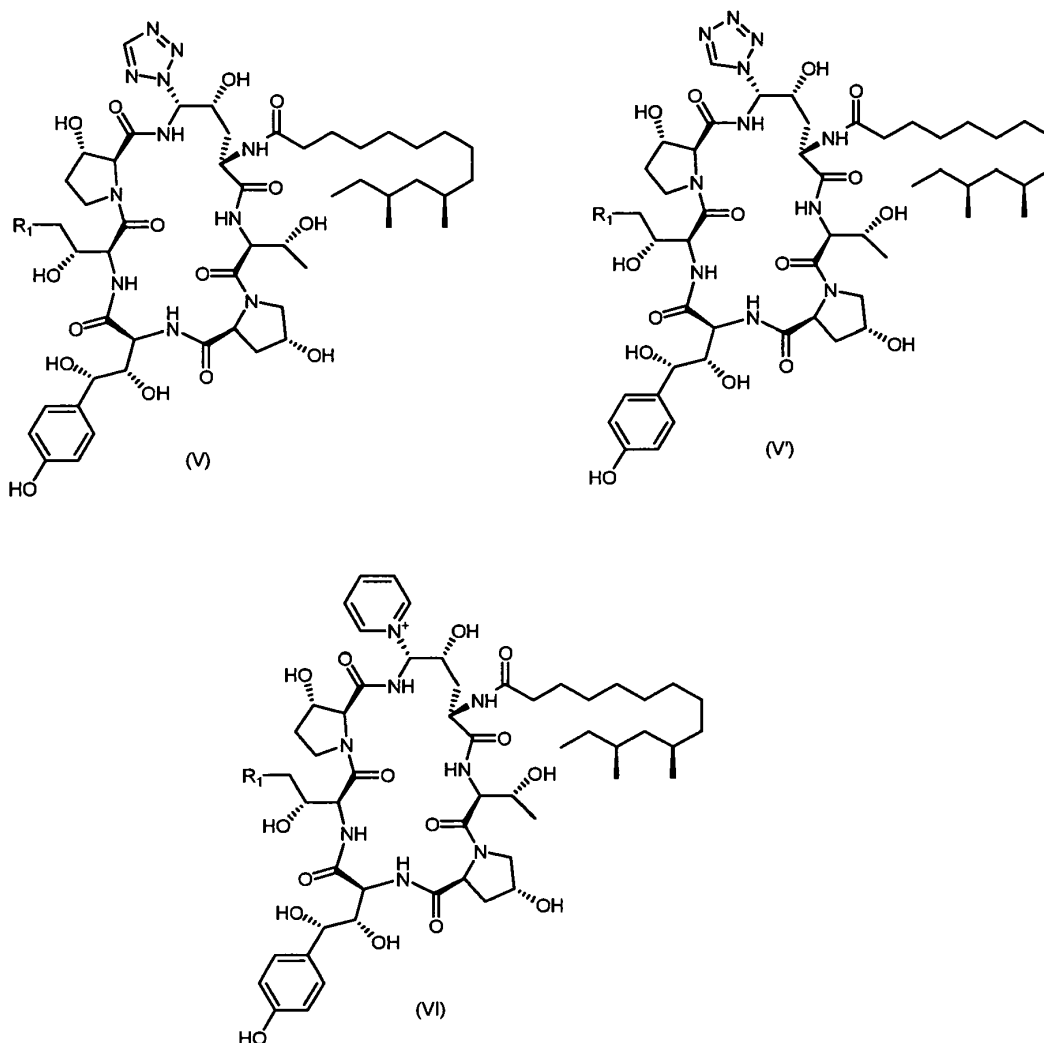
La presente invención se describirá a continuación con más detalle con respecto a las figuras y ejemplos. La descripción y ejemplos siguientes pretenden ilustrar la presente invención, y de ninguna manera deberían considerarse restrictivos. Además, la persona experta reconocerá que varias modificaciones pueden introducirse sin apartarse del alcance de la invención. En consecuencia, otras formas de realización de la presente invención que están dentro de las capacidades de la persona experta se sobreentiende que están dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Se ha descubierto que determinados nucleófilos de nitrógeno pueden sustituir al tiofenol como grupo auxiliar en la introducción de la cadena lateral amínica de la caspofungina. La expresión "grupo auxiliar" indicada por X en la fórmula VII se selecciona de entre el grupo que consta de i) un anillo aromático heterocíclico de cinco o seis eslabones y derivados del mismo que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imina, en el que dicho átomo N forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, y ii) tetrazolilo para el que un átomo de nitrógeno forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico.

La expresión "anillo ciclohexapeptídico" tal como se usa en la presente memoria significa el anillo macrocíclico de 21 eslabones que constituye el esqueleto del péptido de los compuestos que pertenecen a la familia equinocandina, en particular caspofungina.

La utilización de un grupo auxiliar X según la presente invención resuelve los problemas de la utilización de tiofenol en el procedimiento de síntesis para la preparación de caspofungina descrito en la de la técnica anterior.

Algunos compuestos aromáticos heterocíclicos que contienen nitrógeno han resultado ser eficaces en la transformación de neumocandina B₀ en caspofungina. Ejemplos no restrictivos de nucleófilos de nitrógeno útiles para la introducción de grupos auxiliares son tetrazol y piridina. Tetrazol puede sustituirse por la función hidroxihemiamínica a -10°C en presencia de un ácido tal como el ácido triflico, mientras que la piridina requiere temperaturas elevadas en presencia de p. ej. ácido triflico o triflato de piridinio. Cuando el tetrazol se sustituye por la función hidroxihemiamínica, se produce el compuesto neutro V o V', mientras que el compuesto intermedio catiónico VI se forma cuando la piridina se introduce como grupo auxiliar, Esquema 2.



Esquema 2

Los grupos auxiliares derivados de tetrazol y piridina se sustituyen fácilmente con 1,2-diaminoetano con la introducción de la cadena lateral amínica de caspofungina, ya sea directamente en un procedimiento resumido o como una etapa independiente después del aislamiento del compuesto intermedio, que da la caspofungina.

Debe sobreentenderse que también otros sustituyentes distintos de 1,2-diaminoetano pueden sustituirse con X utilizando los compuestos intermedios de fórmula VII según la presente invención. Los ejemplos no restrictivos de otros sustituyentes útiles pueden encontrarse p. ej. en el documento WO 2007/057141 y en la patente US n° 5.552.521.

Otra ventaja de la presente invención es que el número de procesos discontinuos en la síntesis de caspofungina es reducido en comparación con la técnica anterior. El procedimiento de la presente invención también es adecuado para una síntesis resumida de caspofungina en un solo recipiente a partir de neumocandina B₀. Una síntesis de un solo recipiente es favorable en general, ya que a menudo produce una mayor eficiencia y una operación más económica de una planta de producción química. Se evita de este modo largos procesos de separación y etapas purificación de compuestos intermedios. Una síntesis en un solo recipiente es por lo tanto también preferida debido al ahorro resultante de tiempo, costes y equipos. La neumocandina B₀ puede de este modo según la presente invención protegerse por reacción con ácido fenilbórico, seguido por reducción de la amida primaria con borano en THF. Después de la terminación de la reacción, puede añadirse piridina y THF purificado. La sustitución de la función hidroxi hemiamínica con piridina y la introducción del grupo auxiliar puede efectuarse al añadir ácido triflico, y por último, la cadena lateral objetivo puede introducirse mediante la adición de 1,2-diaminoetano a la mezcla de reacción. La preparación de caspofungina se realizó de este modo en un procedimiento resumido en un solo recipiente según la presente invención.

En función de la preparación y el procedimiento de purificación el producto se puede aislar en forma de base libre o en forma de sal de adición de ácido. Cualquier sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable se puede utilizar según la presente invención. Hay que reconocer que el experto en la materia basándose en lo dado a conocer en la presente invención y en su conocimiento general es capaz de seleccionar una sal farmacéuticamente adecuada. En algunos de los ejemplos enumerados a continuación la secuencia de doble sustitución se ha realizado en presencia de ácido triflórico, y la mezcla de reacción se enfría con ácido acético acuoso. La variación de las condiciones de purificación cromatográfica permiten el aislamiento del producto, ya sea como sal de adición de ácido acético, sal del ácido triflórico o como una mezcla. Un intercambio de sal también se puede llevar a cabo como operación química por separado.

Ejemplos

La presente invención se describirá a continuación con más detalle haciendo referencia a ejemplos, que no han de considerarse como restrictivos o que limitan el alcance de la presente invención y las reivindicaciones adjuntas.

Los análisis de HPLC se realizaron con una columna Waters Symmetry C18, 250 x 4,6 mm, 100 Åm5 temperatura de la columna: 45°C; fase móvil: Solución A: de ácido perclórico acuoso al 0,1% v/v, solución B: acetonitrilo, gradiente de elución de 67/33 A:B a 35/65 A:B; caudal: 1,5 ml/min, Detección: 205 nm; ajuste del integrador: % de área de pico; solución disolvente: acetonitrilo/agua 1:1. Los espectros de masas se obtuvieron con ionización por electropulverización, y el instrumento se hizo funcionar en modo positivo. Los analitos se han detectado en la forma protonada.

Ejemplo 1

Compuesto de Fórmula VIII, $R_1 = -(CO)NH_2$, $R_2 = R_3 = H$

Pneumocandina B₀ (2,02 g, 1,90 mmol) y ácido triflórico (3,0 ml, 5,09 g, 33,9 mmol) se disolvieron en piridina (30 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 80°C y se agitó durante 12 h en atmósfera inerte. Después de enfriar a 0°C, se añadió 1,2-diaminoetano (1,00 ml, 0,90 g, 15,0 mmol) y la mezcla se agitó durante toda la noche. La reacción se enfrió añadiendo la mezcla de reacción a una mezcla de agua (100 ml) y ácido acético (21 ml, 22,0 g, 0,37 mol), dando como resultado una solución con un pH de 5,0. La solución se cargó en una columna de cromatografía C18 de 10 mm eluyendo con un gradiente desde 20% de acetonitrilo/80% de agua hasta 25% de acetonitrilo/75% de agua. La evaporación del disolvente orgánico y la liofilización de los cortes ricos que proporcionaron 534 mg (22% de rendimiento) del compuesto del título como sal de adición de ácido triflórico. Pureza, HPLC: 87,8%

¹H RMN (600 MHz, CD₃OD): δ 7,13 (2H, d, J 8,6 Hz), 6,74 (2H, d, J 8,6 Hz), 5,08 (1H, d, J 4,0 Hz), 5,02 (1H, d, J 3,5 Hz), 4,80 (1H, d, J 1,9 Hz), 4,56-4,52 (m), 4,37 (1H, dt, J 9,4, 3,9 Hz), 4,34 (1H, s), 4,31-4,25 (m), 4,21 (1H, d, J 3,8 Hz), 3,99-3,95 (m), 3,80-3,75 (m), 3,09 (1H, ddd, J 12,9, 6,5, 5,3 Hz), 2,98 (1H, ddd, J 13,0, 6,8, 5,3 Hz), 2,88 (1H, ddd, J 14,9, 6,7, 5,1 Hz), 2,81 (1H, ddd, J 13,4, 6,7, 5,2 Hz), 2,73 (1H, dd, J 15,4, 3,8 Hz), 2,46 (1H, dd, J 15,4, 9,5 Hz), 2,42 (1H, dd, J 13,4, 7,1 Hz), 2,26-2,18 (m), 2,10-2,03 (m), 1,97-1,90 (m), 1,63-1,52 (m), 1,51-1,46 (m), 1,45 a 1,39 (m), 1,38 a 1,20 (m), 1,14 (d, J 6,2 Hz), 1,12-1,03 (m), 0,91 (1H, dt, J 13,5, 7,0 Hz), 0,87 (3H, d, J 7,4 Hz), 0,85 (6H, d, J, 6,6 Hz); ¹³C RMN (150 MHz, CD₃OD): δ 177,0, 175,8, 173,94, 173,92, 173,4, 172,8, 172,6, 169,0, 158,5, 133,1, 129,7, 121,8 (q, ¹J_{C-F} 316 Hz), 116,2, 77,1, 75,8, 75,1, 71,3, 70,6, 70,3, 69,5, 68,1, 63,9, 62,6, 58,6, 57,2, 56,1, 55,3, 50,9, 47,1, 45,9, 43,1, 40,0, 39,7, 38,5, 38,1, 36,8, 36,4, 34,6, 32,9, 31,2, 31,1, 30,8, 30,6, 30,33, 30,32, 28,0, 27,0, 20,7, 20,2, 19,5, 11,6.

Ejemplo 2

Compuesto de Fórmula VIII, $R_1 = -(CO)NH_2$, $R_2 = R_3 = H$

Pneumocandina B₀ (100 mg, 0,094 mmol) se disolvió en piridina (2 ml) y se añadió triflato de trietilsililo (107 µl, 125 mg, 0,47 mmol). La mezcla se agitó a 80°C, mientras la reacción avanzaba se hizo el seguimiento por HPLC. Después de agitar durante la noche, la HPLC indicó 72% de conversión a un compuesto nuevo (compuesto VI con $R_1 = -(CO)NH_2$). LC-MS devolvió la masa m/z 1126,4 para el producto principal, confirmando la sustitución de piridina. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se añadió 1,2-diaminoetano (2 ml). 15 min después se demostró por HPLC la conversión completa del aducto de piridina a otro nuevo producto para el cual LC-MS devolvió la masa m/z 1107,6 que es la masa esperada para el compuesto del título. El producto no se aisló.

Ejemplo 3

Compuesto de Fórmula III

Una mezcla de neumocandina B₀ (1,80 g, 1,69 mmol), ácido fenilbórico (0,433 g, 3,55 mmol) y THF (20 ml) se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a vacío, y el material residual se disolvió en THF (50 ml). Este proceso se repitió dos veces, y después el residuo en polvo se secó a 50°C al vacío durante 19 h. El polvo se disolvió en THF anhidro (75 ml), y se añadió N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) (1,3 ml, 4,89 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, y se enfrió a 0°C. Una solución de complejo de borano-THF (1,0 M en THF, 10 ml, 10 mmol) se añadió durante 5 min, y la mezcla fue se agitó a esta temperatura

durante 16 h. Se añadió ácido clorhídrico acuoso (2,0 M, 9 ml, 18 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 2 h. Se añadió agua (100 ml), y el producto se aisló por cromatografía en una columna C18 de 21 mm, utilizando 26% de acetonitrilo/74% de agua como eluyente, después de lavar la columna con 15% de acetonitrilo/85% de HCl 0,014 M después de la carga. Los cortes ricos se agruparon y se liofilizaron después de eliminar el disolvente orgánico. Rendimiento: 1,0 g (57%) del compuesto del título como sal HCl. Pureza, HPLC: 96,4%.

Ejemplo 4

Compuesto de Fórmula V o V'

Una mezcla de neumocandina B₀ (1,07 g, 1,00 mmol), ácido fenilbórico (0,244 g, 2,00 mmol) y tetrazol 0,45 M en acetonitrilo (10 ml, 4,5 mmol) se enfrió a -10°C. Una solución de ácido triflico (0,453 g, 3,00 mmol) en acetonitrilo (1,5 ml) se añadió durante 15 min. La mezcla de reacción transparente se agitó suavemente a esta temperatura durante 40 h y después se diluyó con acetonitrilo (15 ml). Se añadió lentamente una solución de acetato de sodio trihidratado (0,408 g, 3,00 mmol) en agua, y el precipitado se recogió mediante filtración por aspiración y se lavó con acetonitrilo frío (2 x 5 ml). El secado a presión reducida proporcionó 1,07 g (96% de rendimiento) del compuesto deseado como sólido blanco. Pureza, HPLC: 69,3%. La sustitución de tetrazol se confirmó por análisis LC-MS que devolvió m/z 1117,59 para el producto principal.

Ejemplo 5

Sal de caspofungina de ácido triflico

El compuesto de fórmula III como sal de HCl (100 mg, 0,095 mmol), preparado según el Ejemplo 3 se disolvió en piridina (2 ml) a temperatura ambiente. Se añadió triflato de piridinio (640 mg, 2,86 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a 80°C y se agitó durante 8 h. La mezcla se enfrió a 0°C, y se añadió 1,2-diaminoetano (51 µl, 0,76 mmol). Cuando se completó la reacción (HPLC), se añadió agua (15 ml), y se eliminaron los disolventes al vacío. Se añadió otra porción de agua (15 ml), y el pH se ajustó a pH ~ 5. Se añadió una pequeña cantidad de metanol para mantener el producto disuelto. La solución se cargó en una columna C18 de 10 mm, y el producto se eluyó utilizando 25% acetonitrilo/0,15% de ácido acético como eluyente. Se combinaron los cortes ricos, y se eliminó el disolvente orgánico. La liofilización de la solución acuosa resultante proporcionó 41 mg (32% de rendimiento) de sal de adición de ácido triflico de caspofungina. Pureza, HPLC: 96,2%.

¹H RMN (600 MHz, CD₃OD): δ 7,11 (2H, d, J 8,5 Hz), 6,75 (2H, d, J 8,6 Hz), 4,99 (1H, d, J 3,3 Hz), 4,91 (1H, d, J 5,7 Hz), 4,69 (1H, d, J 2,1 Hz), 4,61-4,55 (m), 4,54 (1H, dd, J 11,6, 7,1 Hz), 4,49 (1H, dd, J 12,9, 4,3 Hz), 4,33-4,27 (m), 4,22 (1H, dd, J 8,0, 1,5 Hz), 4,17 (1H, d, J 4,9 Hz), 4,8-4,1 (m), 3,97 (1H, dd, J 11,1, 3,1 Hz), 3,84-3,76 (m), 3,8-3,5 (m), 3,01-2,95 (m), 2,94-2,88 (m), 2,84 a 2,77 (m), 2,43 (1H, dd, J 13,0, 6,8 Hz), 2,30-2,19 (m), 2,22-1,94 (m), 1,89-1,80 (m), 1,65-1,52 (m), 1,52-1,46 (m), 1,46-1,39 (m), 1,38-1,20 (m), 1,19-1,14 (m), 1,13-1,03 (m), 0,91 (1H, dt, J 13,8, 7,1 Hz), 0,87 (3H, d, J 7,4 Hz), 0,85 (6H, d, J 6,6 Hz); ¹³C RMN (150 MHz, CD₃OD): δ 176,4, 174,1, 173,7, 173,5, 172,72, 172,71, 168,8, 158,6, 133,0, 129,5, 121,8 (q, ¹J_{C-F} 316,5 Hz), 116,2, 77,4, 75,5, 75,1, 72,3, 71,3, 70,2, 69,3, 68,3, 64,3, 62,7, 58,3, 57,1, 56,1, 56,0, 51,2, 47,0, 45,9, 43,4, 40,3, 39,1, 38,5, 38,1, 36,9, 35,9, 34,6, 32,9, 31,2, 31,1, 30,8, 30,62, 30,57, 30,34, 30,31, 28,0, 27,1, 20,7, 20,2, 19,9, 11,6.

Ejemplo 6

Compuesto de Fórmula III

Se añadió ácido fenilbórico (2,30 g, 18,9 mmol) a una suspensión de neumocandina B₀ (10,0 g, 9,39 mmol) en THF (500 ml). La mezcla se calentó a la temperatura de reflujo durante toda la noche y se secó pasando el reflujo a través de un extractor Soxhlet que contenía tamices moleculares (3 Å, 55 g). La temperatura se redujo a 20°C. y se añadió BSTFA (5,0 ml, 18,8 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h a 20°C y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota complejo borano-THF (1,0 M en THF, 75,0 ml, 75,0 mmol) durante 30 min, y la mezcla se agitó a 0°C durante 19 h. Se añadió ácido clorhídrico acuoso (2,0 M, 50 ml, 100 mmol) durante 15 min, y la temperatura se elevó a 5°C. Se añadió agua (550 ml) de una vez, y la mezcla se agitó durante 30 min. El producto se aisló por cromatografía en una columna C18 de 21 mm, eluyendo con 26% de acetonitrilo/agua, después un lavado con 20% de acetonitrilo/HCl 0,014 M. Se combinaron los cortes ricos, y se eliminó el disolvente orgánico. La liofilización de la solución acuosa proporcionó 3,89 g (38% de rendimiento) del compuesto del título como sal HCl. Pureza, HPLC: 87,9%. LC-MS: m/z del producto principal 1052,10, correspondiente a [M + H⁺].

Ejemplo 7

Sal de caspofungina de ácido acético

Una mezcla del compuesto de fórmula III como sal de HCl (10,0 g, 9,20 mmol) preparada según el Ejemplo 6, ácido fenilbórico (2,48 g, 20,3 mmol), tetrazol en acetonitrilo (0,45 M, 92 ml, 41,4 mmol) y THF (40 ml) se enfrió a -10°C. Una solución de ácido triflico (4,14 g, 27,6 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se añadió a la mezcla de reacción a un caudal de 0,5 ml/min. La mezcla se agitó durante 23 h y se añadió metanol (75 ml). Se añadió gota a gota 1,2-diaminoetano (46 ml, 0,69 mol) durante 30 min. La temperatura se aumentó a 30°C, y la mezcla se concentró a presión reducida hasta aproximadamente 120 ml. La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante 17 h. La mezcla se

enfrió por adición simultánea de la mezcla de reacción y ácido acético (64 ml, 1,12 mol) a un segundo reactor cargado con ácido acético (20 ml, 0,35 mol) y agua (600 ml) en proporciones de adición adecuadas para mantener el pH en el intervalo de 3,8-5,2. La mezcla se cargó en una columna C18, y la columna se lavó con 10% de acetonitrilo/ácido acético 0,1 M, seguido de 10% de acetonitrilo/0,15% de ácido acético. El producto se eluyó con 22% de acetonitrilo/0,15% de ácido acético. Se combinaron los cortes ricos, y se eliminó el disolvente orgánico. La liofilización proporcionó 3,62 g (32% de rendimiento) de caspofungina como sal de adición de ácido acético. Pureza, HPLC: 97,9%. LC-MS: m/z del producto principal 1094,09, correspondiente a $[M + H]^+$.

Ejemplo 8

Caspofungina, procedimiento en un solo recipiente

Se puso en suspensión neumocandina B₀ (200 mg, 0,19 mmol) en THF (3,0 ml) y se añadió ácido fenilbórico (23 mg, 0,19 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El agua se eliminó como azeótropo por destilación de THF en el matraz, adición de THF anhidro y se continuó la destilación a sequedad. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió THF anhidro (3,0 ml), seguido por BSTFA (56 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y se enfrió a 0°C. Se añadió lentamente complejo borano-DMS (0,11 ml, 1,13 mmol), y la mezcla se agitó durante 3 h. Se añadió más complejo borano-DMS (0,06 ml, 0,62 mmol), y la mezcla de reacción se agitó durante otras 4 h. Se añadió THF (5,0 ml), y la mezcla se agitó durante la noche a 0°C. Se añadió piridina (10 ml) y ácido clorhídrico acuoso (2,0 M, 1,00,2 mmol), y la mezcla se concentró a presión reducida hasta aproximadamente 3 ml. Se añadió ácido triflico (0,3 ml, 3,38 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 5 h. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadió 1,2-diaminoetano (0,40 ml, 6,0 mmol). La mezcla se agitó a continuación durante la noche a 0°C. En los experimentos de enriquecimiento con caspofungina a la HPLC se verificó la presencia del compuesto deseado en la mezcla de reacción. La pureza de caspofungina en la mezcla de reacción fue del 18%.

Ejemplo 9

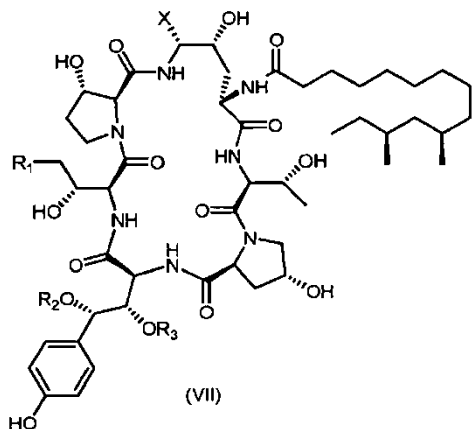
Cristalización de diacetato de caspofungina

Una parte del material liofilizado obtenido en el Ejemplo 7 (413 mg, 0,34 mmol) se disolvió en una mezcla de etanol (5,5 ml), agua (0,52 ml) y ácido acético (26 µl, 0,46 mmol) a temperatura ambiente. Se añadió gota a gota acetato de etilo hasta que se formó una suspensión estable, 6,5 ml. La mezcla se agitó durante 1 h, se añadió otra porción de acetato de etilo (3,5 ml), y la mezcla se envejeció durante 1 h más. El material sólido se recogió por filtración con aspiración, se secó sobre el filtro durante 30 min, y se continuó secando a 30°C al vacío durante 2 h. Rendimiento: 236 mg (57%). LC-MS: m/z del producto principal 1093,97, correspondiente a $[M + H]^+$.

¹H RMN (600 MHz, CD₃OD): δ 7,12 (2H, d, J 8,6 Hz), 6,74 (2H, d, J 8,6 Hz), 4,97 (1H, d, J 3,2 Hz), 4,92 (1H, d, J 5,8 Hz), 4,66 (1H, d, J 2,1 Hz), 4,60 (1H, dd, J 3,3, 6,2 Hz), 4,56-4,50 (m), 4,48 (1H, dd, J 4,4, 12,8 Hz), 4,33-4,27 (m), 4,22 (1H, dd, J 1,6, 8,0 Hz), 4,18 (1H, d, J 4,8 Hz), 4,08-4,04 (m), 4,03-3,99 (m), 3,98 (1H, dd, J 3,1, 11,1 Hz), 3,88-3,78 (m), 3,76 (1H, d, J 10,5 Hz), 3,05 (2H, t, J 7,1 Hz), 3,03-2,92 (m), 2,92-2,85 (m), 2,82-2,76 (m), 2,41 (1H, dd, J 6,7, 13,1 Hz), 2,30-2,18 (m), 2,11-2,01 (m), 2,01-1,92 (m), 1,90 (6H, s), 1,87-1,79 (m), 1,65-1,52 (m), 1,52-1,45 (m), 1,45-1,39 (m), 1,39-1,20 (m), 1,16 (3H, d, J 6,2 Hz), 1,13-1,01 (m), 0,95-0,89 (m), 0,89-0,83 (m); ¹³C RMN (150 MHz, CD₃OD): δ 180,1, 176,3, 174,2, 173,7, 173,5, 172,8 (2C), 168,9, 158,5, 133,0, 129,6, 116,2, 77,3, 75,6, 75,1, 72,1, 71,3, 70,1, 69,3, 68,2, 64,4, 62,8, 58,4, 57,2, 56,2, 56,0, 51,2, 47,1, 45,9, 43,9, 40,3, 39,0, 38,5, 38,1, 36,9, 35,7, 34,6, 32,9, 31,23, 31,16, 30,80, 30,78, 30,6, 30,4, 30,3, 28,0, 27,1, 24,2, 20,7, 20,2, 19,9, 11,6.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula VII



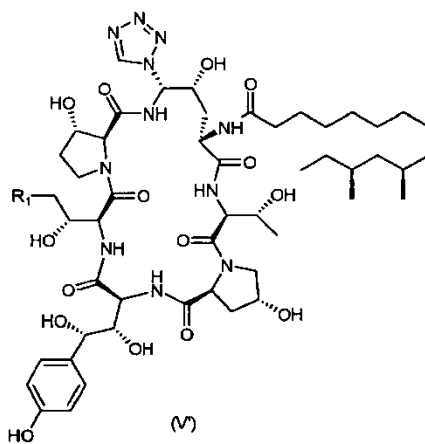
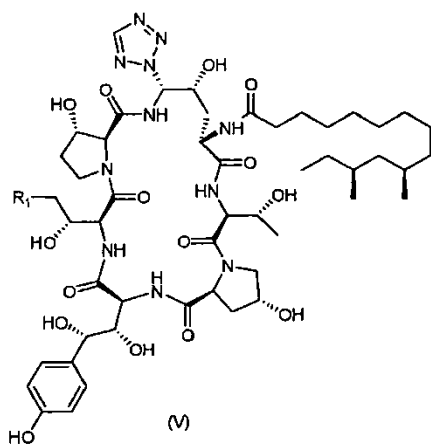
o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo, en el que R_1 es $-(CO)NH_2$, $-CH_2NH_2$ o $-CN$;

$R_2 = R_3 = H$ o R_2 y R_3 juntos forman un boronato o éster de borato cíclico;

X es un grupo auxiliar seleccionado de entre el grupo que consiste en i) un anillo aromático heterocíclico de cinco o seis eslabones que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imina, en el que dicho átomo de N forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, y ii) tetrazolilo para el cual un átomo de nitrógeno forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R_1 es $-CH_2NH_2$.

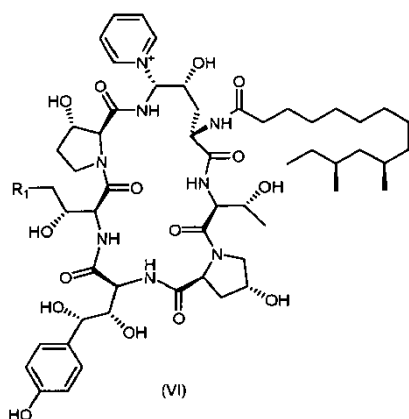
3. Compuesto de fórmula V o V'



o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo, en el que R_1 es $-(CO)NH_2$, $-CH_2NH_2$ o $-CN$.

4. Compuesto según la reivindicación 3, en el que R_1 es $-CH_2NH_2$.

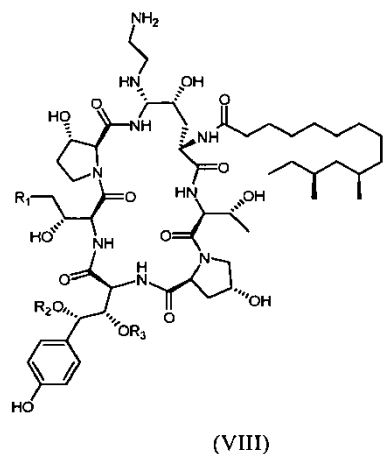
5. Compuesto de la fórmula (VI)



o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo, en el que R_1 es $-(CO)NH_2$, $-CH_2NH_2$ o $-CN$.

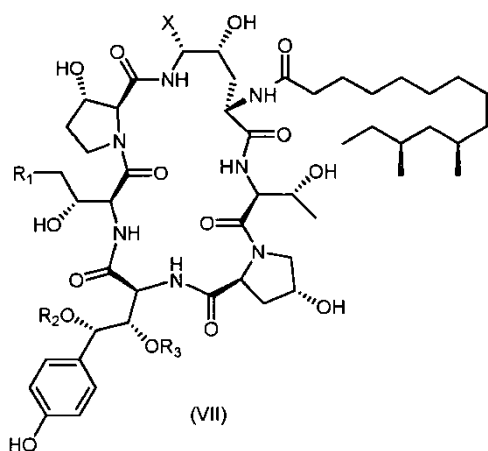
- 5 6. Compuesto según la reivindicación 5, en el que R_1 es $-CH_2NH_2$ o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo.

7. Procedimiento de producción de un compuesto de fórmula VIII



- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende las etapas siguientes

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula VII o una sal de adición de ácido del mismo



en el que R_1 es $-(CO)NH_2$, $-CH_2NH_2$ o $-CN$;

15

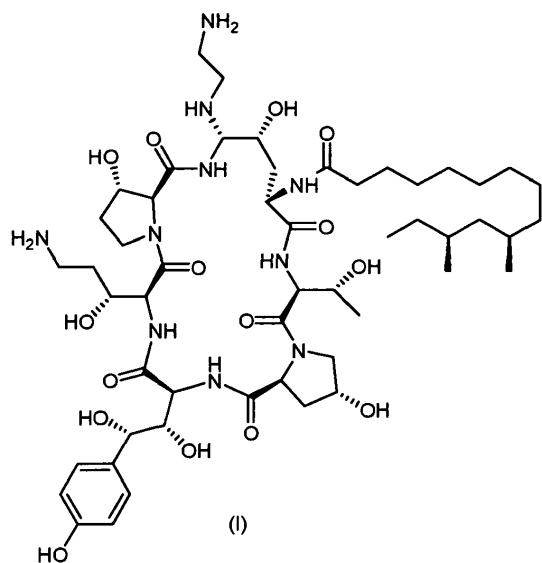
$R_2 = R_3 = H$ o R_2 y R_3 juntos forman un boronato o éster de borato cíclico;

X es un grupo auxiliar seleccionado de entre el grupo que consiste en i) un anillo aromático heterocíclico de cinco o seis eslabones que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imina, en el que dicho átomo de N forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, y ii) tetrazolilo para el cual un átomo de nitrógeno forma el punto de conexión al anillo ciclohexapeptídico, con 1,2-diaminoetano para obtener un compuesto de fórmula VIII o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

y

b) opcionalmente aislar el compuesto de fórmula VIII o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se obtuvo en la etapa a).

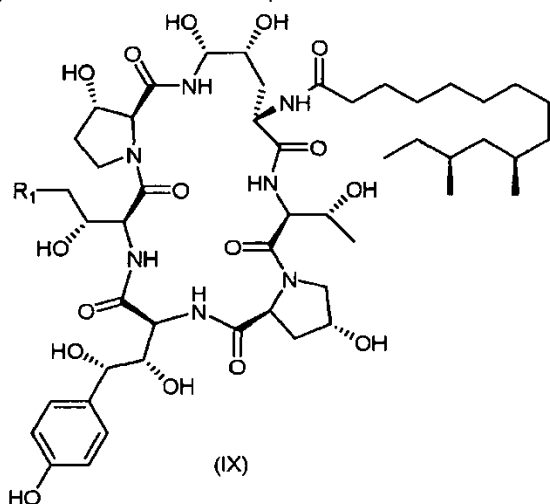
8. Procedimiento de producción de caspofungina (I)



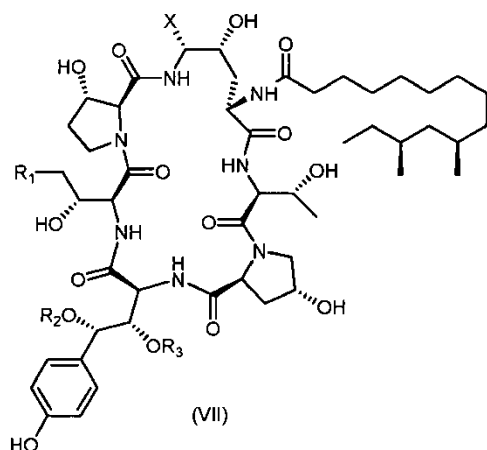
Caspofungina

o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma que comprende las etapas siguientes

a) hacer reaccionar el compuesto de fórmula IX o una sal de adición de ácido del mismo



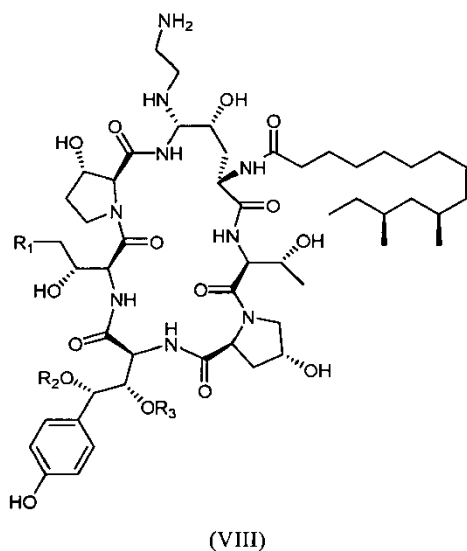
en la que R₁ es -(CO)NH₂, -CH₂NH₂ o -CN con i) un compuesto aromático heterocíclico de cinco o seis eslabones que comprende por lo menos un átomo de N que forma parte de un grupo imina, o ii) tetrazol para formar un compuesto de fórmula VII



en la que R_1 y X son como se han definido anteriormente;

- 5 $R_2 = R_3 = H$ o R_2 y R_3 juntos forman un boronato o éster de borato cíclico;

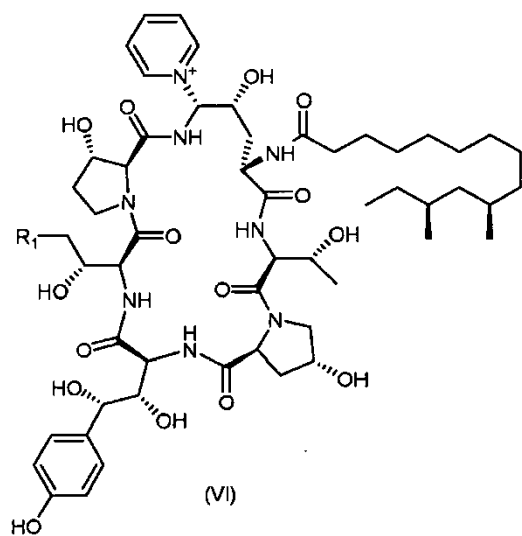
b) seguido de la sustitución de X por 1,2-diaminoetano para obtener un compuesto de fórmula VIII o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



- 10 c) opcionalmente aislar el compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a condición de que si R_1 en la fórmula IX es $-(CO)NH_2$ o $-CN$, se lleve a cabo una reducción antes o después de la etapa a) o b), respectivamente para proporcionar el compuesto de fórmula I como producto final.

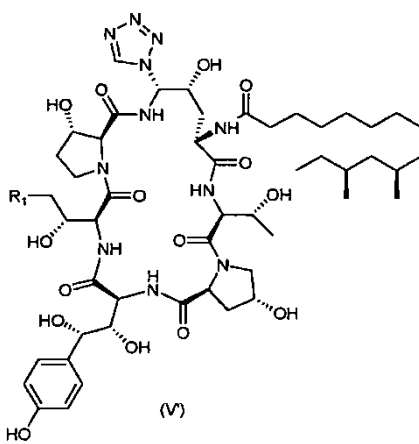
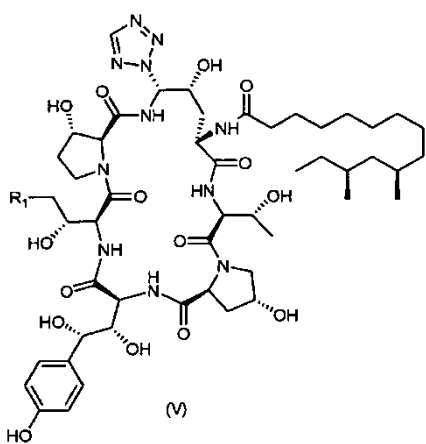
- 15 9. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que la etapa a) a c), incluyendo la reducción de R_1 , se realizan como un procedimiento resumido en un solo recipiente.

10. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que X se introduce en la reacción con piridina y el compuesto de fórmula VII es



o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo.

- 5 11. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que X se introduce en la reacción con tetrazol y el compuesto de fórmula VII es



o una sal de adición de ácido o un solvato del mismo.