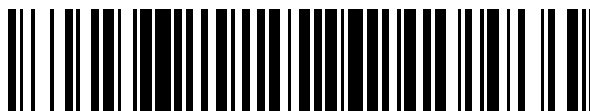


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 421 233**

51 Int. Cl.:

**C07H 13/08** (2006.01)

**C07H 19/12** (2006.01)

**A01N 43/04** (2006.01)

**A61K 31/70** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2009 E 09818570 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013 EP 2341772**

54 Título: **Síntesis de Decitabina**

30 Prioridad:

**03.10.2008 US 102571 P**

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

**29.08.2013**

73 Titular/es:

**SCINOPHARM TAIWAN LTD. (100.0%)  
1, Nan-Ke 8th Road Tainan Science-Based  
Industrial Park  
Tainan County 741, TW**

72 Inventor/es:

**HENSCHKE, JULIAN PAUL;  
ZHANG, XIAOHENG;  
YU, JIANBO;  
HU, KUN y  
MEI, LIJUN**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO FACES, José**

**ES 2 421 233 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Síntesis de Decitabina.

5 **ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

Esta invención se refiere a la síntesis de la Decitabina (también conocida como 2'-desoxi-5azacitidina; 5-aza-2'-desoxicitidina; DAC; API (ingrediente farmacéutico activo) 4-amino-1-(2-desoxi-β-D-eritro-pentofuranosil)-1,3,5-triazin-2(1H)-ona) que una vez formulado se usa en forma inyectable para el tratamientos de síndromes mielodisplásicos (MDS). Además, está bajo investigación el uso de la Decitabina en otras enfermedades como AML, CML, trasplantes de células madre, anemia de células falciformes y talasemia.

La presente invención es un proceso para la síntesis de Decitabina. Específicamente, en una realización de la invención está relacionada con un conjunto de condiciones de reacción que se pueden utilizar para la síntesis de un precursor de la Decitabina (**p-Cl-Bz-IM4**) que en sí mismo tiene una cierta calidad que lo hace útil para la síntesis de la Decitabina en rendimientos más altos que los que se pueden conseguir usando métodos de la bibliografía de la técnica anterior que utilizan metodología sintética relacionada. El proceso de la invención proporciona la sustancia farmacológica Decitabina adecuada para uso humano que está libre de residuos metálicos, que es un defecto de otros métodos publicados, y es industrialmente económica.

Una ventaja de esta invención sobre otras de la bibliografía (por ejemplo, J. Org. Chem., 1974, 39, 3672-3674, J. Org. Chem., 1986, 51, 3211-3213 y EP 2048151 A) para la preparación del precursor último de la Decitabina (**p-Cl-Bz-IM4**) es el uso del TMS-triflato del ácido de Lewis no metálico o el ácido trifílico del ácido de Bronsted en lugar de tetracloruro de estaño, que es tóxico en sí mismo, en el paso de acoplamiento del carbohidrato clave (derivado de 2-desoxi-ribosa protegido) y la base (5-azacitosina protegida). El uso del tetracloruro de estaño, que es el ácido de Lewis estándar en este tipo de proceso de acoplamiento puede llevar a que la sustancia farmacológica final esté contaminada con residuos de estaño y produce dificultad al disponer los flujos de residuos. Otra ventaja de esta invención sobre otros procesos de Decitabina en la bibliografía (J. Org. Chem., 1970, 35, 491-495) es que el uso de estos catalizadores permite que la reacción del paso de acoplamiento del carbohidrato clave y la base se realice en un periodo de tiempo más corto. Además, el proceso tampoco requiere el uso de cromatografía en columna, cromatografía en capa fina preparatoria o cristalización fraccional para la purificación para obtener la sustancia farmacológica producto o productos intermedios.

Hay varias razones por las que no desarrollamos un proceso basado en el estado de la técnica descrito en la bibliografía que utiliza tetracloruro de estaño o usa un sistema completamente no catalizado. DE forma más significativa el uso de tetracloruro de estaño como un catalizador de acoplamiento (para el acoplamiento de sistemas de 1-halo-2-desoxiribosa o 1-O-acetil-2-desoxiribosa con la base - ver J. Org. Chem., 1974, 39, 3672-3674 y J. Org. Chem., 1986, 51, 3211-3213) o sin ningún catalizador en absoluto (para los sistemas de 1-halo-2-desoxiribosa - ver J. Org. Chem., 1970, 35, 491-495) llevan a mezclas de aproximadamente 1:1 de los anómeros α- y β- brutos del precursor último de la Decitabina (**p-Cl-Bz-IM4**). Encontramos crucialmente que es difícil obtener buena calidad y un buen rendimiento del β-anómero de la Decitabina, que está en la forma de fármaco activo, por la desprotección del precursor último (**p-Cl-Bz-IM4**) cuando su proporción anomérica está cercana a 1:1. Descubrimos que el rendimiento aislado (calculado en base al β-anómero del precursor último **p-Cl-Bz-IM4**) de la β-Decitabina (es decir, el API) es más alto, la mayor proporción de los dos anómeros del precursor último bruto de la β/α-Decitabina y que esto es una relación no lineal. Es decir, el rendimiento es más alto y más alto cuanto más enriquecido esté el β-anómero del precursor protegido de la β-Decitabina (**p-Cl-Bz-IM4**), incluso cuando el rendimiento se calcula en base a la cantidad del β-anómero en la mezcla. Por lo tanto concluimos que la proporción de anómeros del precursor de la Decitabina protegida es muy importante para un proceso viable para hacer Decitabina.

50 **RESUMEN DE LA INVENCIÓN**

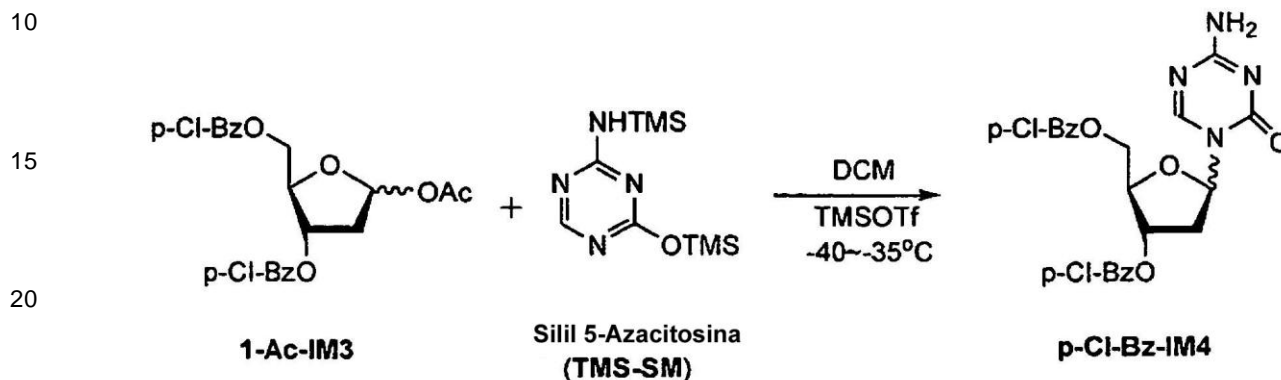
En nuestro proceso obtenemos consistentemente al menos una mezcla 1:2 de anómero α- y β- bruto del precursor último de la Decitabina (**p-Cl-Bz-IM4**) que proporciona una buena calidad y un buen rendimiento del β-anómero de la Decitabina después de los pasos de desprotección y purificación. Para conseguir esto descubrimos que la reacción de acoplamiento debe ser realizada a baja temperatura y que el TMS-triflato catalizador del acoplamiento o el TfOH debe ser desactivado con una base a baja temperatura en el punto final de la reacción y antes de que se realice el paso de tratamiento acuoso. Esto se hace para evitar el equilibrado de los anómeros α- y β- protegidos de la Decitabina (**p-Cl-Bz-IM4**) que tiene lugar más y más rápidamente cuanto más alta es la temperatura y finalmente resulta en una proporción más baja de los dos anómeros. La reacción también debe realizarse en un solvente orgánico no polar para inhibir la por otro lado disminución significativamente rápida de la proporción anomérica α- y β- del precursor último de la Decitabina (**p-Cl-Bz-IM4**).

Nuestro proceso puede obtener Decitabina de grado API económicamente que tiene una calidad igual a la del innovador de la Decitabina.

Nuestro proceso combina una serie de diferentes variables (temperatura, uso de desactivación catalítica, solvente, concentración de la reacción, cantidad de catalizador) para obtener una cantidad más alta del  $\beta$ -anómero, que es de otro modo posible usando condiciones estándar, que es necesario para un rendimiento más alto de la Decitabina.

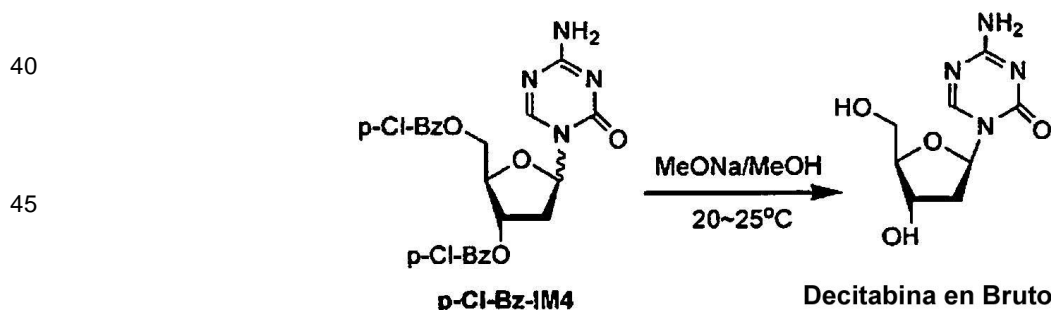
## 5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

### EJEMPLO 1 - Preparación de 3,5-di-O-(p-clorobenzoil)-Decitabina



25 Se enfriaron 1-O-Acetil-3,5-di-O-(p-clorobenzoil)-2-deoxil-D-ribofuranosa (500 g, 90% HPLC equivalente puro a 0.99 mol), diclorometano DCM (5.93 Kg) and silil 5-azacitosina (254 g, 0.99 mol) a  $-45$  -  $-40^\circ\text{C}$  y se añade TMSOTf (231 g, 1.04 mol) y la solución se agita a  $-40^\circ\text{C}$  ~  $-35^\circ\text{C}$  durante 9 horas. Se añadió un 33% de  $\text{MeNH}_2$  en MeOH (97,6 g, 1.04 mol) a la solución de la reacción a de  $-40^\circ\text{C}$  a  $-35^\circ\text{C}$  y entonces se diluyó con DCM (5,93 Kg). Se permitió que la solución calentase a  $20$  ~  $25^\circ\text{C}$  y se añadió una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (8,3 kg) a  $20$  ~  $25^\circ\text{C}$  y se agitó durante  $30$  ~  $40$  minutos. Se separa la fase orgánica, se seca sobre tamices moleculares 4A y se filtra y se usa DCM extra (3,7 kg) para aclararlos tamices moleculares 4A. El filtrado se combina y se evapora hasta la sequedad. El sólido se seca al vacío a  $50^\circ\text{C}$ , después se muele en un polvo fino, y se seca de nuevo a  $50^\circ\text{C}$  al vacío. se obtuvieron 460 g del compuesto del título como a una mezcla del 15-30%: 40-60% del  $\alpha$ -anómero y del  $\beta$ -anómero como se indica por el análisis HPLC.

### 35 EJEMPLO 2- Decitabina en Bruto



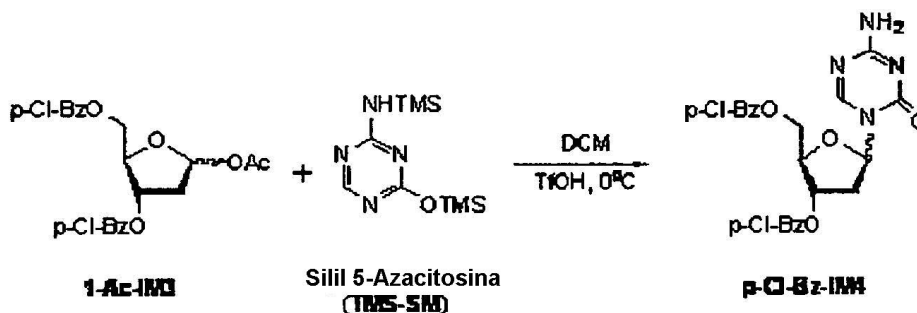
50 Se agitaron MeOH (1,8 Kg) y 3,5-di-O-(p-clorobenzoil)-Decitabina (455 g, 63,9 HPLC equivalente puro a 0,58 mol) a  $20$ - $25^\circ\text{C}$ . Se añadió a la solución un 29% de MeONa en solución de MeOH (42,8 g, 0,23 mol) a la mezcla que se agitó después a  $20$ - $25^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. Se filtró el sólido, se lavó tres veces con *n*-heptano (120 mL cada una) y después se secó a  $50^\circ\text{C}$  al vacío para dar 42,5 g de Decitabina en bruto en una pureza del 93,6% como se indicó por el análisis HPLC.

### 55 EJEMPLO 3 -Purificación de Decitabina en bruto con MeOH.

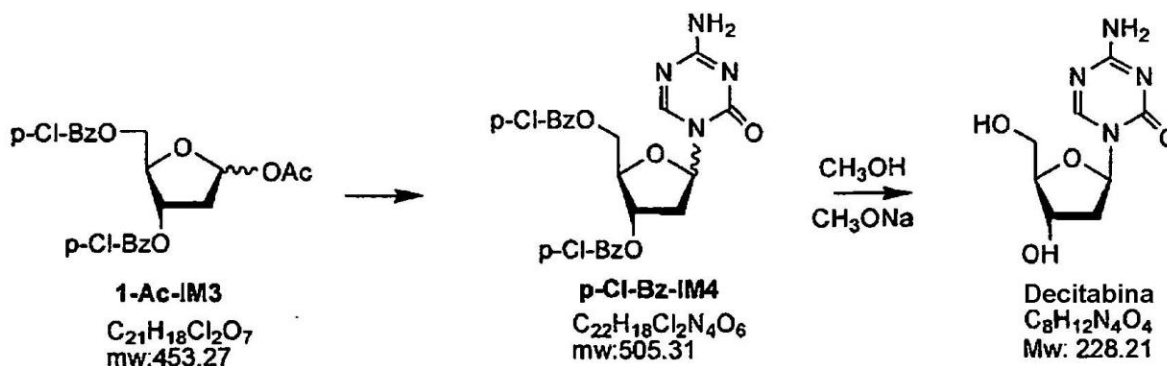
60 Se agitaron y se calentaron a reflujo Decitabina en Bruto (42,5 g) y MeOH (2,85 kg) hasta que la mezcla se disolvió casi completamente. La solución se filtró en caliente para eliminar el material insoluble. El filtrado se agitó y se enfrió y el cristal se empieza a formar a alrededor de  $40^\circ\text{C}$ . El puré resultante se agitó durante 1 hora en el punto de turbidez y se enfrió lentamente después adicionalmente. El puré se agitó a  $10$ - $25^\circ\text{C}$  durante  $4$  ~  $8$  horas y después se filtró. La torta del filtrado se lavó tres veces con MeOH (40 mL cada una) y se secó a  $50^\circ\text{C}$  al vacío durante 8 horas para dar 27,5 g de Decitabina pura en un rendimiento del 64,7%.

**EJEMPLO 4 - Purificación de Decitabina en bruto con DMSO y MeOH**

Se agitaron y calentaron a reflujo Decitabina en bruto (1,5 g, 90,6 de pureza por HPLC) y MeOH anhidro (29 mL) durante 30 minutos. Se añadió lentamente DMSO (9,3 mL) a la solución resultando en la casi disolución completa en el solvente mezclado a 60–65° C. La mezcla se filtró, y el filtrado se enfrió lentamente. La Decitabina se cristalizó de la solución a 4° C, el puré se filtró y la torta del filtrado se lavó tres veces con MeOH (3 mL) y se secó al vacío a 50° C para dar Decitabina de grado API seca (0,9 g, 99,82 pura como se indicó por análisis HPLC).

**EJEMPLO 5 - Preparación de 3,5-di-O-(p-clorobenzoil)-Decitabina**

Se enfrió una mezcla de 1-O-Acetil-3,5-di-O-(p-clorobenzoil)-2-desoxil-D-ribofuranosa (5g de 90% HPLC material puro que es equivalente a 9,9 mmol), DCM (50 mL) y silil 5-azacitosina (2,5 g, 9,9 mmol) a alrededor de 0° C y se añadió TfOH (1,1 g, 6,9 mmol) a la solución. La solución se agitó durante 5 horas a alrededor de 0° C y después se diluyó con DCM (100 mL) seguido por la adición de una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (75 mL) a 20–25° C. Se separa la fase orgánica, se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro y se filtra. El MgSO<sub>4</sub> se lava con DCM (40 mL) y los filtrados se combinan y evaporan hasta la sequedad a 20–40° C bajo presión reducida para dar 4,5 g del compuesto del título que se demostró por análisis HPLC que estaba compuesto de un 29,0% del α-anómero y un 37,4% del β-anómero.

**EJEMPLO 6 - Catalizador TfOH de la Reacción de Acoplamiento.****A. Preparación de p-Cl-Bz-IM4**

Se añadieron a un matraz de cuatro bocas secado **1-Ac-IM3** (20,0 g, pureza: 96,0 % de área por HPLC, 42,4 mmol) y **TMS-SM** (11,4 g, 44,5 mmol) seguido por MeCN (300 mL, 15P). La mezcla se enfrió a -15° C ~ -20° C bajo una atmósfera de N<sub>2(g)</sub>. Se cargó TfOH (3,2 g, 21,3 mmol) en el matraz y la mezcla se agitó a esta temperatura hasta que el análisis HPL indicó que no había cambios en la cantidad de **1-Ac-IM3** (alrededor de 44 h). La mezcla se agitó entonces a entre 0 a 10° C hasta que el análisis HPLC indicó que no permanecía un % de área de más de 3 de **1-Ac-IM3** por el análisis HPLC. La mezcla de la reacción se diluyó con DCM (600 mL, 30 P) y se lavó con bicarbonato sódico saturado acuoso (900 mL, 45 P) a 25° C durante 15 minutos. La capa orgánica se secó usando tamices moleculares 4A (180 g) a 25° C durante 5 horas. Esta se evaporó hasta la sequedad bajo vacío a 40° C y después se secó a 40° C durante 16 horas. Se obtuvieron 15,7 g de un sólido de color amarillo claro. El análisis HPLC mostró 18,5% de α-**p-Cl-Bz-IM4** y 44,1% de β-**p-Cl-Bz-IM4**. El rendimiento fue del 45,9%.

**B. Desprotección.**

A un matraz de cuatro cuellos secado se la añadió MeOH (78,5 mL, 5 P) y 29% de MeONa/MeOH (1,45 g, 7,78 mmol) y la mezcla se calentó a 25° C. Se cargó **p-Cl-Bz-IM4** (15,7 g, pureza: 62,6 % de área por HPLC, 19,4

mmol) en el matraz y se mantuvo a 25° C durante 2 horas y después se filtró. La torta de filtrado se lavó tres veces con MeOH y se secó a 40° C para dar cristales blancos de Decitabina en bruto (1,51 g, rendimiento del 45,9%, pureza 95,2 % de área por HPLC). C. Recristalización.

- 5 La Decitabina en bruto se disolvió en MeOH (128,3 mL, 85P) a temperatura de reflujo y se enfrió después despacio a alrededor de 10° C/hora. Cuando apareció el sólido la mezcla se mantuvo a esta temperatura durante 1 hora y después se enfrió a temperatura ambiente (25° C) durante 8 horas, y después se filtró. La torta de filtrado se lavó tres veces con MeOH y se secó a 40° C para dar Decitabina (0,78 g, rendimiento del 53,7% , pureza >99 % de área por HPLC).

## REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una IM4 protegida  $\beta$ -enriquecida que comprende los pasos de:
- 5           acoplar 1-O-AAcetil-3,5-di-O(p-clorobenzoil)-2-desoxi-D-ribofuranosa y una 5-azacitosina protegida en presencia de un solvente orgánico y un catalizador que comprende un ácido de Lewis no metálico o un ácido Brønsted, y  
             realizar la reacción de acoplamiento a una temperatura de 0° c o inferior para producir la IM4 protegida; y  
             extinguir la reacción de acoplamiento con una amina orgánica a una temperatura de 0° C o inferior.
- 10   2. El método de la reivindicación 1 en donde la reacción de acoplamiento se realiza a una temperatura de 0° a -80° C.
3. El método de la reivindicación 1 en donde la reacción de acoplamiento se realiza a una temperatura de alrededor de -40° C.
- 15   4. El método de la reivindicación 1 en donde la IM4 protegida es p-Cl-Bz-IM4.
5. El método de la reivindicación 1 en donde el ácido de Lewis no metálico es trimetilsililtrifluorometilsulfonato (TMSOTf).
- 20   6. El método de la reivindicación 1 en donde el ácido de Brønsted es ácido triflico (TfOH).
7. El método de la reivindicación 1 en donde la amina orgánica es MeNH<sub>2</sub> o EtNH<sub>2</sub>.
- 25   8. El método de la reivindicación 1 en donde el solvente orgánico es no polar.
9. El método de la reivindicación 8 en donde el solvente orgánico es DCM.
- 30   10. El método de la reivindicación 1 comprendiendo además el paso de secar la IM4 protegida después del paso de extinción.
11. El método de la reivindicación 1 comprendiendo además el paso de desproteger la IM4 protegida para producir Decitabina.
- 35   12. El método de la reivindicación 11 en donde el paso de desproteger la IM4 protegida es en presencia de un alcóxido.
13. El método de la reivindicación 12 en donde el alcóxido es metóxido de sodio.
- 40   14. El método de la reivindicación 11 comprendiendo además el paso de lavar la Decitabina con un solvente orgánico.
15. El método de la reivindicación 11 comprendiendo además el paso de recristalizar la Decitabina en una solución de alcohol o una mezcla de alcohol y DMSO.
- 45   16. El método de la reivindicación 15 en donde el alcohol es metanol.
17. El método de la reivindicación 1 en donde la amina orgánica es una amina primaria.