

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 438 720**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2011 E 11174646 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2013 EP 2409978**

54 Título: **Un procedimiento novedoso para la síntesis de sal disódica de pemetrexed**

30 Prioridad:

**22.07.2010 IT MI20101351**

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

**20.01.2014**

73 Titular/es:

**CHEMI SPA (100.0%)  
Via Dei Lavoratori, 54  
20092 Cinisello Balsamo (MI), IT**

72 Inventor/es:

**CIAMBECCHINI, UMBERTO;  
DE FERRA, LORENZO;  
TURCHETTA, STEFANO;  
ZENONI, MAURIZIO y  
BRANDI, PAOLO**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

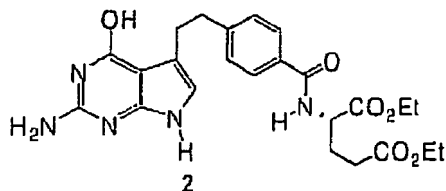
**ES 2 438 720 T3**

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).

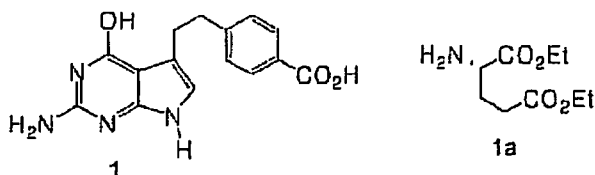
**DESCRIPCIÓN**

Un procedimiento novedoso para la síntesis de sal disódica de pemetrexed

La presente invención se refiere a un procedimiento novedoso para la preparación de éster dietílico de pemetrexed **2**



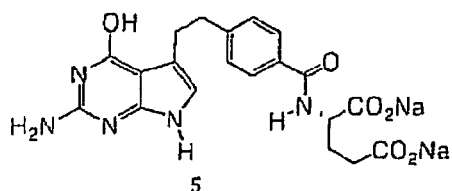
- 5 que comprende la etapa de purificar la mezcla obtenible haciendo reaccionar los compuestos **1** y **1a** en presencia de un agente químico que puede promover la formación de un enlace peptídico en un disolvente orgánico aprótico



caracterizado por que se somete la mezcla a las siguientes etapas:

- a) lavado con una solución básica acuosa;
- 10 b) concentración de la fase orgánica;
- c) adición de un disolvente orgánico polar y/o una mezcla disolventes orgánicos polares;
- d) precipitación del éster dietílico de pemetrexed **2**.

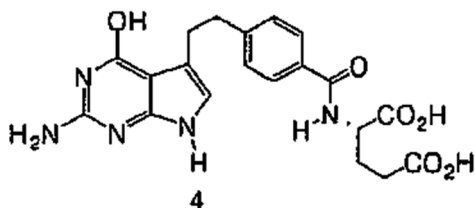
La presente invención también se refiere a un procedimiento para la preparación de la sal disódica **5**



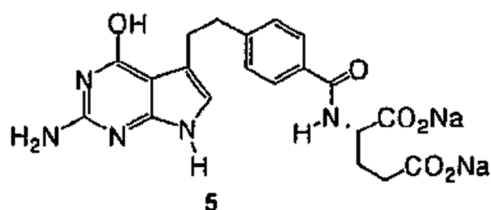
- 15 que comprende el procedimiento mencionado anteriormente para la preparación del éster dietílico de pemetrexed **2**.

**Descripción de la invención**

Pemetrexed es la denominación común internacional (DCI) del ingrediente activo ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico, compuesto **4**:



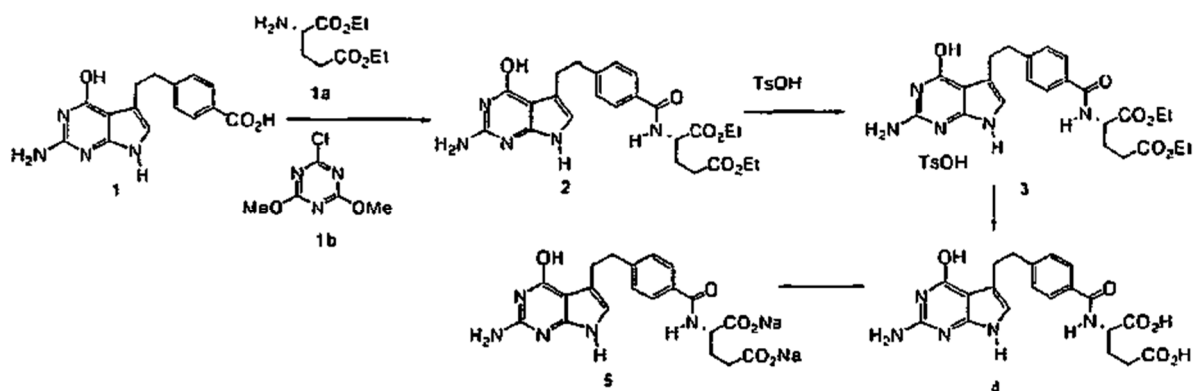
- 20 La sal disódica relacionada, el compuesto **5**,



es el ingrediente activo contenido en la especialidad farmacéutica ALIMTA® que se usa ampliamente en el tratamiento de carcinoma de pulmón no microcítico (NSCLC) y mesotelioma pleural maligno y está siendo investigado para su aplicación en el tratamiento de otras patologías oncológicas.

- 5 Pemetrexed pertenece a la clase de los antifolatos multi dirigidos, es decir, los ingredientes activos antitumorales que actúan en el nivel de varios sistemas de enzimas dependientes de folato implicados en la biosíntesis de purinas y pirimidinas, el punto de partida para la biosíntesis de ADN y ARN.

Se describió la síntesis de pemetrexed por primera vez en el documento US 5.344.932. Esa síntesis comienza a partir del compuesto 2-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ol que, después de la protección del grupo amina y la posterior yodinación del anillo pirrol, se hace reaccionar con 2-(4-etinilbenzamido)pentanodioato de (S)-dimetilo. El producto de esta reacción, después de una secuencia de reacciones simples, se convierte en pemetrexed. De acuerdo con el documento US 5.416.211 más reciente, que está incorporado en el presente documento por referencia, pemetrexed se puede sintetizar a partir de ácido 4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoico de fórmula 1, obtenido a partir de precursores simples, de acuerdo con el siguiente esquema 1:



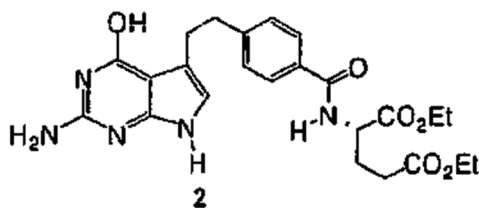
15

Esquema 1

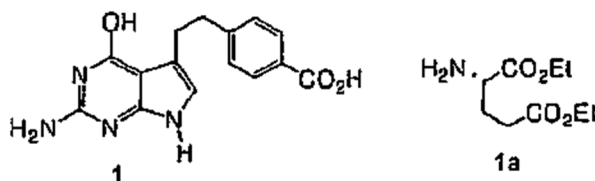
Parece que también este segundo procedimiento se usa para la preparación industrial del ingrediente activo. De hecho, también se describe el mismo tipo de esquema de síntesis en C. J. Barnett, T. W. Wilson y M. E. Kobierski, Org. Proc. Res. & Develop., 1999, 3, 184-188, en el que los ejemplos experimentales se refieren a una escala del orden de decenas de kg.

En el transcurso de los experimentos destinados a optimizar y mejorar la metodología de síntesis del esquema 1, sorprendentemente ahora se ha descubierto que se puede aislar el éster dietílico de pemetrexed 2 con rendimientos altos en forma cristalina con un alto grado de pureza. Este resultado experimental es totalmente inesperado porque los únicos ejemplos de la literatura que informan del aislamiento del éster dietílico de pemetrexed 2 como un sólido se refieren a preparaciones analíticas en las que el compuesto en bruto se purifica de forma cromatográfica, se recoge en solución y a continuación se aísla por la evaporación del disolvente (E. C. Taylor y B. Liu, J. Org. Chem. 2003, 68, 9938-9947 en la página 9945, síntesis del compuesto 25a, p.f. 84-86 °C, con caracterización IR; C. J. Barnett, T. W. Wilson y M. E. Kobierski, Org. Proc. Res. & Develop., 1999, 3, 184-188 en la página 188, síntesis del compuesto 13, p.f. 169-171).

30 Por lo tanto, la presente invención se refiere a un procedimiento novedoso para la preparación de éster dietílico de pemetrexed 2



que comprende la etapa de purificar la mezcla obtenible haciendo reaccionar los compuestos **1** y **1a** en presencia de un agente químico que puede promover la formación de un enlace peptídico en un disolvente orgánico aprótico



- 5 caracterizado por que se somete la mezcla a las siguientes etapas:
- lavado con una solución básica acuosa y posterior separación de la fase acuosa de la fase orgánica así obtenida;
  - concentración de la fase orgánica;
  - adición de un disolvente orgánico polar y/o una mezcla disolventes orgánicos polares;
  - precipitación del éster dietílico de pemetrexed **2**.
- 10 De acuerdo con la invención, el agente químico que puede promover la formación de un enlace peptídico se selecciona preferentemente de CDMT (2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina), DCC (N,N'-diciclohexilcarbodiimida), HOBT (hidroxibenzotriazol), EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida), más preferentemente CDMT (2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina).
- 15 De acuerdo con la invención, el disolvente orgánico aprótico se selecciona preferentemente de dimetilformamida, dimetilacetamida, diclorometano, cloroformo, acetato de etilo y/o una mezcla de los mismos, y más preferentemente es una mezcla de dimetilformamida y diclorometano.
- De acuerdo con la invención, preferentemente la solución acuosa básica es una solución de hidróxidos, fosfatos, carbonatos o bicarbonatos de metales alcalinos o metales alcalinotérreos, más preferentemente de bicarbonato de sodio.
- 20 La solución básica acuosa tiene un pH de desde 7 hasta 10, preferentemente mayor de 7 y menor de o igual a 8.
- De acuerdo con la invención, preferentemente el disolvente orgánico polar es un alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, una cetona alifática o aromática, dimetilsulfóxido o mezclas de los mismos, más preferentemente etanol.
- Preferentemente, se usan de 5 a 15 volúmenes de disolvente orgánico polar (ml), más preferentemente de 8 a 12, para 1 parte en peso del éster de pemetrexed **2** titrado en el residuo obtenido después de concentrar la fase orgánica (g).
- 25 De acuerdo con la invención, la precipitación se efectúa calentando la mezcla obtenida en la etapa c) hasta una temperatura de desde 50 hasta 80 °C, preferentemente de desde 60 hasta 65 °C, y a continuación enfriándola hasta una temperatura de desde 0 hasta 10 °C, preferentemente hasta aproximadamente 5 °C; preferentemente esta temperatura se mantiene durante un periodo de desde 1 hasta 10 horas, preferentemente 4 horas.
- 30 En un modo de realización preferente de la presente invención, la precipitación tiene lugar a una temperatura de desde 30 hasta 60 °C, preferentemente a aproximadamente 45 °C.
- Preferentemente, el éster dietílico de pemetrexed **2** en forma cristalina se caracteriza por una pureza mayor de un 99,0 % en peso.
- La pureza del éster dietílico de pemetrexed **2** se puede evaluar por procedimientos conocidos en la técnica.
- 35 A modo de ejemplo, a continuación se da un procedimiento de HPLC usado durante el desarrollo del procedimiento de acuerdo con la presente invención.
- También se informa de las condiciones experimentales para obtener el espectro PXRD, PT-1R y DSC/TGS.

## ES 2 438 720 T3

### Condiciones de funcionamiento

Instrumento:	<ul style="list-style-type: none"><li>• SHIMADZU HPLC: LC-10AD</li><li>• Detector UV: SPD 10AVP</li><li>• automuestreador: SIL-ADVP</li></ul>
Longitud de onda:	254 nm
Columna:	<ul style="list-style-type: none"><li>• columna: Halo CIS</li><li>• longitud: 150 mm</li><li>• Diámetro interior: 4,6 mm</li><li>• tamaño de partícula: 2,7 µm</li></ul> (HALO, n.º cat. 92814-702 o equivalente)
Volumen de inyección:	5 µl
Temperatura de columna:	30 ± 1 °C
Temperatura de muestra:	Temperatura ambiente
Flujo:	0,4 ml/min
Fases móviles:	Eluyente A: ácido trifluoroacético al 0,3 % v/v en agua para HPLC Eluyente B: acetonitrilo
Tiempo de funcionamiento:	45 minutos (incluido reacondicionamiento)
Diluyente:	acetonitrilo-agua para HPLC =1:1
Blanco:	sólo se usa inyección de diluyente como blanco
Funcionamiento:	gradiente

### Programa de gradiente:

PROGRAMA DE GRADIENTE		
Tiempo (min)	Eluyente A % (v/v)	Eluyente B % (v/v)
00	85	15
2	85	15
15	60	40
30	60	40
35	85	15
36	85	15
45 (fin de func.)	85	15

## ES 2 438 720 T3

### DRXP (Difracción de rayos X de polvo)

#### Condiciones experimentales

	Tipo de instrumento:	X'Pert PRO PANalytical
	Tipo de medida:	Un barrido
5	Longitud de onda de medida:	Cu K $\alpha$
	Material que constituye el ánodo:	Cu
	Voltaje del tubo de rayos X:	40
	Corriente el tubo de rayos X (tnA):	40
	Tipo de movimiento de la muestra:	Rotación
10	Tiempo de rotación de la muestra (s):	1,0
	Grosor del filtro (mm):	0,020
	Material del filtro:	Ni
	Nombre del detector:	X'Celerator
	Tipo de detector:	Detector RTMS
15	Eje de barrido:	Gonio
	Intervalo de barrido (°):	3,0000 - 39,9987
	Amplitud del intervalo de medida (D):	0,0167
	N° de puntos:	2214
	Modo de barrido:	Continuo
20	Tiempo de recuento (s):	12,700
	Prog. informático de aplicación:	X'Pert Data Collector vs. 2.2d
	Prog. informático de control de instrumento:	XPRT-PRO vs. 1.9B
	Temperatura:	Temperatura ambiente

### 25 FT-IR (ATR)

#### Condiciones experimentales

	Tipo de instrumento:	Nicolet FT-IR 6700 ThermoFischer
	Intervalo espectral (estándar):	7800 - 350 cm <sup>-1</sup>
	Intervalo espectral (Option, Csl Optics):	6400 - 200 cm <sup>-1</sup>
30	Intervalo espectral (Option, Extended-Range Optics):	11000 - 375 cm <sup>-1</sup>
	Intervalo espectral (Option, Multi-Range Optics):	27000 - 15 cm <sup>-1</sup>
	Resolución óptica:	0,09 cm <sup>-1</sup>
	Ruido de fondo entre picos (barrido de 1 minuto):	< 8,68 x 10 <sup>-6</sup> AU*
	Ruido de fondo RMS (barrido de 1 minuto):	< 1,95 x 10 <sup>-6</sup> AU*
35	Linealidad de ordenadas:	0,07 %T
	Precisión de longitud de onda:	0,01 cm <sup>-1</sup>
	Velocidad de barrido lineal mínima:	0,158 cm/s

## ES 2 438 720 T3

	Velocidad de barrido lineal máxima:	6,33 cm/s
	Número de velocidad de barrido:	15
	Barrido rápido (espectros/segundo a 16 cm <sup>-1</sup> , 32 cm <sup>-1</sup> ):	65,95
	Número de barridos de muestra:	32
5	Número de barridos de fondo:	32
	Resolución:	4,000 cm <sup>-1</sup>
	Aumento de muestra:	8,0
	Velocidad óptica:	0,6329
	Abertura:	100,00
10	<u>Detector:</u>	DTGS KBr
	Deflector de rayo:	KBr
	Fuente:	1R

### DSC/TGA

15	Condiciones experimentales	
	Tipo de instrumento:	STA 409 PC Luxx® Netzsch
	Velocidad de calentamiento y enfriamiento:	0,01 K/min ... 50 K/min
	Resolución TG:	hasta un 0,00002 %
	Resolución DSC:	< 1 µW (K sensor)
20	Sensibilidad DSC:	8 µV/mW (sensor IC)
	Atmósfera:	Inerte (nitrógeno)
	Control del flujo de gas:	2 gas de descarga y 1 gas de protección
	Gas de descarga:	Nitrógeno
	Velocidad del gas de descarga:	60 ml/min
25	Gas de protección:	Nitrógeno
	Velocidad del gas de protección:	20 ml/min
	Crisol:	DSC/TG, bandeja Al
	Velocidad de calentamiento:	10 °C/min
	DSC, rampa de calentamiento:	de 30 °C a 250 °C
30	TGA, rampa de calentamiento:	de 40 °C a 500 °C

La figura 1 muestra el perfil de pureza de HPLC obtenido analizando el éster dietílico de pemetrexed 2 obtenido de acuerdo con el procedimiento de la presente invención por medio del procedimiento analítico descrito anteriormente.

Preferentemente, el éster dietílico de pemetrexed 2 en forma cristalina también se caracteriza por un difractograma de PXRD, del que los picos característicos se dan en la tabla 1.

Tabla 1

Pos. [°2Th.]	Altura [cm]	FWHM [°2Th.]	espacio d [Å]	Int. Rel. [%]
3,4828	7322,70	0,1673	25,36968	100,00
4,3175	2851,38	0,2676	20,46636	38,94
6,3201	165,18	0,2007	13,98519	2,26
6,8751	581,56	0,0836	12,85747	7,94
7,8339	724,89	0,1338	11,28584	9,90
8,5069	433,23	0,2676	10,39445	5,92
9,2030	2302,68	0,0836	9,60968	31,45
9,3205	2917,11	0,1171	9,48880	39,84
10,3643	5158,79	0,2342	8,53536	70,45
10,8300	306,65	0,1004	8,16942	4,19
11,5531	279,84	0,1004	7,65966	3,82
12,8317	264,06	0,1338	6,89914	3,61
13,8636	742,97	0,2676	6,38787	10,15
14,8857	424,56	0,2007	5,95146	5,80
15,7007	102,17	0,2676	5,64434	1,40
16,6393	769,08	0,1004	5,32799	10,50
17,4957	437,48	0,1673	5,06907	5,97
18,5451	807,29	0,2342	4,78454	11,02
19,7584	894,19	0,1338	4,49339	12,21
21,2950	406,77	0,1673	4,17249	5,55
21,7516	506,19	0,3011	4,08593	6,91
22,8449	285,82	0,2342	3,89281	3,90
23,5787	166,50	0,2676	3,77330	2,27
24,4555	172,28	0,2676	3,63996	2,35
24,9439	141,55	0,2007	3,56979	1,93
25,3845	135,00	0,2007	3,50881	1,84
26,6139	297,79	0,2342	3,34946	4,07
28,8597	71,07	0,4015	3,09372	0,97
29,5835	615,24	0,1004	3,01965	8,40
31,0042	66,51	0,2007	2,88445	0,91
33,3343	25,21	0,6691	2,68796	0,34
35,3382	28,02	0,5353	2,53999	0,38

En particular, el éster dietílico de pemetrexed **2** en forma cristalina se caracteriza por un difractograma de PXRD que comprende los siguientes picos principales: 3,48; 4,32; 6,32; 6,88; 7,83; 8,51; 9,25; 10,36; 11,55; 13,86; 14,89; 16,64; 17,50; 18,55; 19,76; 21,30; 21,75; 29,58 ± 0,1 2theta, preferentemente por un difractograma de PXRD como se muestra en la figura 2. El éster dietílico de pemetrexed **2** en forma cristalina también se caracteriza por un perfil de



FT-IR que comprende los siguientes picos principales: 3456; 3440; 3321; 3193; 2981; 2931; 2910; 2875; 2807; 2763; 1731; 1673; 1634; 1609; 1582; 1530; 1505; 1480; 1445; 1374; 1355; 1318; 1202; 1187; 1167; 1158; 1104; 1023; 833,6; 783,4; 762,2; 725,5; 679,2  $\pm$  2 cm<sup>-1</sup>, preferentemente por un perfil de FT-IR como se muestra en la figura 3.

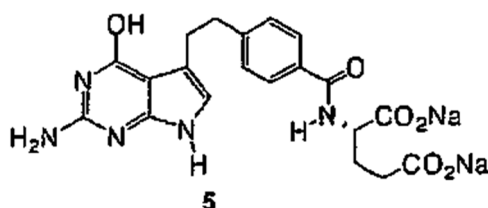
- 5 El éster dietílico de pemetrexed **2** en forma cristalina se caracteriza además por un perfil de DSC que muestra un pico exotérmico a 143,2 °C con un inicio a 135,7 °C; un pico endotérmico a 151,7 °C con un inicio a 148,4 °C; un pico exotérmico a 174,0 °C con un inicio a 170,7 °C; preferentemente por un perfil de DSC como se muestra en la figura 4 y/o por un perfil de TGA preferentemente como se muestra en la figura 5.

- 10 Sorprendentemente, entonces se descubrió que la producción, por medio del procedimiento de la invención, de éster dietílico de pemetrexed **2** en forma cristalina con una pureza mayor de un 99,0 % en peso, permite que se use para la producción de la sal disódica de pemetrexed **5**; esto es, sin tener que purificarlo, como es conocido en la técnica, por la preparación de derivados o sales, tales como, por ejemplo, la sal de ácido p-toluensulfónico.

De forma inesperada, entonces se descubrió que la disponibilidad del éster dietílico de pemetrexed **2** en forma cristalina con un alto grado de pureza permite que se obtenga la sal disódica de pemetrexed **5** por una única etapa de síntesis, con una calidad que cumple con los requisitos demandados de un ingrediente activo.

- 15 En los procedimientos descritos en la literatura, comenzando con éster dietílico de pemetrexed en forma de una sal de ácido p-toluensulfónico, en primer lugar, se aísla el pemetrexed en forma de ácido **4** y a continuación se aísla la sal disódica de pemetrexed **5**, como se indica en el esquema 1. En el procedimiento para la producción de la sal disódica de pemetrexed **5** de acuerdo con la presente invención, el hecho de que no se use el ácido p-toluensulfónico es una ventaja sobre la técnica anterior porque permite que se evite la formación de ésteres de ácido p-toluensulfónico como posibles subproductos. De hecho, los ésteres de ácidos arilsulfónico y alquilsulfónico, tales como los del ácido para-toluensulfónico, son sustancias alquilantes clasificadas como genotóxicas que se forman a partir de los respectivos ácidos por reacción con alcoholes. Su contenido se reduce hasta unos límites muy bajos en un ingrediente activo farmacéutico (véase Genotoxic and carcinogenic impurities in drug substances: recommended approaches FDA 2008).

- 25 Por lo tanto, otro objetivo de la presente invención es un procedimiento para la preparación de la sal disódica **5**



que comprende el procedimiento mencionado anteriormente para la preparación del éster dietílico de pemetrexed **2**.

En un modo de realización preferente de la presente invención, el procedimiento para la preparación de la sal disódica **5** comprende las siguientes etapas:

- 30 e) disolver el éster dietílico de pemetrexed **2** en un disolvente orgánico polar prótico y/o una mezcla de disolventes orgánicos polares próticos y  
f) hidrólisis posterior.

De acuerdo con la invención, preferentemente el disolvente orgánico polar prótico es un alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, más preferentemente etanol.

- 35 De acuerdo con la invención, preferentemente la hidrólisis es una hidrólisis básica, más preferentemente una hidrólisis básica llevada a cabo con una solución acuosa de una sal sódica básica, aún más preferentemente de hidróxido de sodio.

A disolución acuosa tiene un pH de preferiblemente desde 10 a 13, más preferiblemente desde 12 a 13.

- 40 Se puede evaluar la pureza de la sal disódica de pemetrexed **5** por medio de procedimientos conocidos en la técnica. A modo de ejemplo, es posible el uso del mismo procedimiento de HPLC que el dado anteriormente para analizar el éster dietílico de pemetrexed **2**.

La figura 6 muestra el perfil del cromatograma que se obtiene analizando la sal disódica de pemetrexed **5** obtenida por medio del procedimiento de acuerdo con la presente invención por el procedimiento de HPLC descrito.

- 45 De acuerdo con un aspecto preferente de la invención, se usan de 5 a 8 volúmenes de disolvente orgánico polar prótico (ml), preferentemente de 6 a 7, para 1 parte en peso del éster dietílico de pemetrexed **2** (g).

De acuerdo con otro aspecto preferente de la invención, se usan de 0,5 a 2 volúmenes de solución básica acuosa (ml), preferentemente de 0,7 a 1,3, por volumen de disolvente orgánico polar (ml).

5 La capacidad para obtener la sal disódica de pemetrexed **5** de una calidad adecuada para un ingrediente activo en una única etapa comenzando a partir del éster dietílico de pemetrexed **2** permite que se cree un procedimiento más breve con menos operaciones que impliquen el manejo de compuestos citotóxicos y una reducción en la probabilidad de que surjan fenómenos que degraden el producto (que es sensible al aire), que puedan tener un efecto perjudicial en la calidad del mismo.

Los siguientes ejemplos proporcionan una ilustración detallada del procedimiento al que se refiere la presente invención y de ningún modo constituyen una limitación del mismo.

## 10 Ejemplos

### Ejemplo 1

Preparación de éster dietílico de pemetrexed **2** (éster dietílico del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico)

15 Se añadieron 200 ml de dimetilformamida, seguido de 200 ml de diclorometano y 18,5 g de N-metilmorfolina, a 50 g de ácido 4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoico introducidos en un matraz de 2000 ml mantenido en una atmósfera de nitrógeno. Se llevó la temperatura de la mezcla obtenida hasta  $5 \pm 2$  °C y a ella se le añadió una solución preparado por separado compuesta de 31,7 g de 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina, 100 ml de dimetilformamida y 200 ml de diclorometano durante un periodo de aproximadamente una hora, manteniendo mientras la temperatura a  $5 \pm 2$  °C. A continuación, se mantuvo la temperatura a  $5 \pm 2$  °C durante otra hora y, aún manteniéndola a  $5 \pm 2$  °C, se le añadió una solución compuesta de 43,5 g de clorhidrato del éster dietílico del ácido L-glutámico en 100 ml de dimetilformamida durante un periodo de aproximadamente 40 minutos. Inmediatamente después de esta adición, se vertieron 18,5 g de N-metilmorfolina en la mezcla de reacción. Se dejó que la temperatura aumentara hasta  $20 \pm 2$  °C durante un periodo de aproximadamente 30 minutos, manteniéndose estas condiciones durante tres horas. A continuación se añadieron 500 ml de diclorometano a la mezcla de reacción y se vertió la mezcla obtenida en una solución compuesta de 500 ml de agua desionizada y 500 ml de una solución de bicarbonato de sodio al 10 %, durante un periodo de aproximadamente 15 minutos. Se agitó la totalidad a  $20 \pm 2$  °C durante 10 minutos, y a continuación se dejó que las fases se separaran. Se lavó la fase orgánica inferior en secuencia con 500 ml de agua desionizada, 500 ml de solución de bicarbonato de sodio acuoso al 10 % y 1000 ml de agua desionizada. Se evaporó la fase orgánica obtenida para dar un aceite fácilmente agitable (peso del residuo 390 g). Se añadieron 1000 ml de etanol absoluto al residuo y se destiló el disolvente para dar un aceite fácilmente agitable (peso del residuo 185 g). Se vertieron 640 ml de etanol absoluto en este residuo y se calentó la mezcla hasta 60-65 °C para dar una solución transparente. Durante un periodo de aproximadamente 2 horas, se enfrió la solución desde 60-65 °C hasta 5 °C, manteniéndose la agitación a esa temperatura durante 4 horas. A aproximadamente 45 °C, un sólido blanco comenzó a precipitar. Cuando se finalizó con el mantenimiento a 5 °C, se separó por filtración el sólido obtenido sobre un filtro Gooch y se lavó con dos porciones de 50 ml de etanol absoluto a 5 °C. Después de secar a 60 °C a vacío (1 mbar) durante 16 horas, se obtuvieron 48,3 g del producto esperado (rendimiento de un 63 %).

Se analizó el producto obtenido por PXRD, DSC, TGA y IR y los datos obtenidos se pueden superponer sobre los de las figuras 1, 2, 3 y 4, con relación a la forma cristalina del éster dietílico del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico. La pureza de HPLC del producto obtenido era mayor de un 99,0 %.

### Ejemplo 2

Preparación de la sal disódica de pemetrexed **5** (sal disódica del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico)

45 Se introdujeron 56 g del éster dietílico del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico y 360 ml de etanol absoluto desgasificado en un matraz de 2000 ml.

Se colocó la mezcla en agitación a  $20 \pm 2$  °C y se le añadieron 360 ml de una solución de hidróxido de sodio acuoso 1 M (preparada a partir de agua desionizada desgasificada y perlas de hidróxido de sodio) durante un periodo de aproximadamente 10 minutos.

50 Se mantuvo la mezcla en agitación a  $20 \pm 2$  °C durante tres horas, observándose la completa solubilización del sólido, y a continuación, aún a  $20 \pm 2$  °C, se añadió una solución de HCl acuosa 1 M hasta que el pH de la mezcla alcanzó un valor de  $8,1 \pm 0,1$  (aproximadamente 100 ml). Se filtró la mezcla sobre un filtro de 0,45 micrómetros y se añadieron 900 ml de etanol absoluto desgasificado y 125 ml de agua desionizada desgasificada al filtrado. Se calentó el filtrado hasta 55 °C y se mantuvo en estas condiciones durante 10 minutos. A continuación, se enfrió la solución hasta  $20 \pm 2$  °C durante un periodo de aproximadamente una hora y se mantuvo la suspensión así obtenida en agitación durante 16 horas adicionales. A continuación, se separó por filtración el precipitado y se lavó con dos porciones de 200 ml de etanol absoluto desgasificado. Se descargó el sólido y se secó a vacío (1 mbar) a 60 °C durante 3 horas. De este

modo, se obtuvieron 54 g de sal disódica de pemetrexed **5** (rendimiento del 90 %).

La pureza del producto evaluada por HPLC era mayor de un 99,7 %.

### Ejemplo 3

5 Preparación del éster dietílico del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol[2,3-d]-pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico

10 A 60 g de ácido 4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol[2,3-d]-pirimidin-5-il)etil]benzoico cargados en un reactor de 3000 ml mantenido en una atmósfera de nitrógeno, se le añadieron 240 ml de dimetilformamida, seguido de 240 ml de diclorometano y 22,3 g de N-metilmorfolina. Se llevó la temperatura de la mezcla hasta  $5 \pm 2$  °C y se le añadió una solución preparada por separado a partir de 38,7 g de 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina, 120 ml de dimetilformamida y 240 ml de diclorometano en aproximadamente 30 minutos, manteniendo mientras la temperatura interna de  $5 \pm 2$  °C. Se mantiene la mezcla a  $5 \pm 2$  °C durante otra hora, y a la misma temperatura se añade una solución de 52,8 g de clorhidrato de éster dietílico del ácido L-glutámico en 120 ml de dimetilformamida en aproximadamente 10 minutos. Inmediatamente después de esta adición, se añaden 22,3 g de N-metilmorfolina a la mezcla de reacción. A continuación, se eleva la temperatura en aproximadamente 30 minutos hasta  $20 \pm 2$  °C, manteniendo estas condiciones durante tres horas. A continuación, a la mezcla de reacción se le añaden 600 ml de diclorometano y se vierte esta mezcla sobre 1200 ml de una solución de bicarbonato de sodio al 5 %, en aproximadamente 15 minutos. Se agita la mezcla a  $20 \pm 2$  °C durante 10 minutos, a continuación se deja que las fases se separen. Se lava dos veces la fase orgánica inferior con 600 ml de agua desionizada. Se destila la fase orgánica así obtenida a 40 °C (se obtienen aproximadamente 700 ml de destilado) para dejar un residuo agitable al que se le añaden 1800 ml de etanol absoluto. Se destila la mezcla a  $T = 78$  °C (se recuperan aproximadamente 900 ml de disolvente). A continuación, se añaden 900 ml adicionales de etanol absoluto y se destilan aproximadamente 900 ml de disolvente a  $T = 78$  °C. Se enfría la solución obtenida hasta 5 °C, y se mantiene a esta temperatura durante 4 horas. A aproximadamente 45 °C, un sólido blanco comienza a precipitar. Se filtra el sólido obtenido en un Gooch y se lava con dos porciones de 60 ml de etanol absoluto a 5 °C. Después de secar a 60 °C a vacío (1 mbar) durante 16 horas, se obtienen 74 g del producto esperado (rendimiento de un 80%).

Se analiza el producto obtenido por PXRD, DSC, TGA e IR. Los datos obtenidos son comparables con los de las figuras 1, 2, 3 y 4, con relación a la forma cristalina A del éster dietílico del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol[2,3-d]-pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico.

La pureza de HPLC del producto obtenido es  $> 99,5$  %.

### 30 Ejemplo 4

Preparación de la sal disódica del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol[2,3-d]-pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico (pemetrexed disodio)

En un matraz de 2000 ml se cargan 70 g de éster dietílico del ácido N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol[2,3-d]-pirimidin-5-il)etil]benzoil]-L-glutámico y 460 ml de etanol absoluto desgasificado.

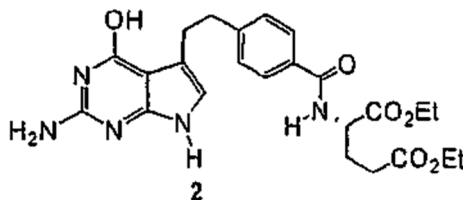
35 Se lleva la mezcla en atmósfera inerte hasta una temperatura de  $10 \pm 2$  °C y se le añaden 760 ml de una solución acuosa de 0,6 M de hidróxido de sodio (preparada a partir de agua desionizada desgasificada y perlas de hidróxido de sodio).

40 Se eleva la temperatura de la mezcla hasta 20 °C en aproximadamente 30 minutos y a continuación se mantiene durante 1 hora. A continuación, se añade una solución acuosa de HCl 1 M a la mezcla hasta que el pH de la mezcla alcanza el valor de  $7,9 \pm 0,1$  (aproximadamente 100 ml). Se calienta la mezcla hasta  $55 \pm 2$  °C, a continuación se filtra a través de un filtro de 0,45 micrómetros y al filtrado se le añaden 1130 ml de etanol absoluto desgasificado a  $T = 55$  °C y se mantiene la mezcla en dichas condiciones durante 10 minutos. Se enfría la solución hasta  $20 \pm 2$  °C en aproximadamente una hora y la suspensión obtenida se mantiene en agitación durante otras 4 horas. A continuación, se filtra el precipitado obtenido y se lava con dos porciones de 200 ml de etanol absoluto desgasificado. Se descarga el sólido y se seca a vacío (1 mbar) a 35 °C durante 3 horas, después a 50 °C durante 3 horas. De esta forma, se obtienen 64 g de sal disódica de pemetrexed (rendimiento del 86 %).

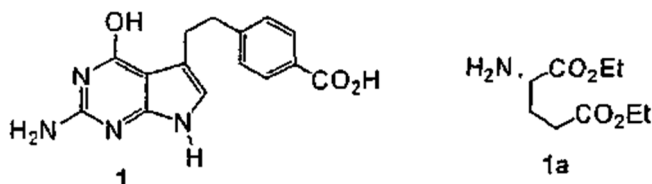
La pureza del producto evaluada por HPLC es  $> 99,8$  %.

## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de éster dietílico de pemetrexed **2**

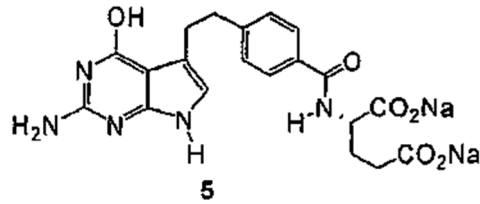


- 5 que comprende la etapa de purificar la mezcla obtenible haciendo reaccionar los compuestos **1** y **1a** en presencia de un agente químico que puede promover la formación de un enlace peptídico en un disolvente orgánico aprótico



caracterizado por que se somete la mezcla a las siguientes etapas:

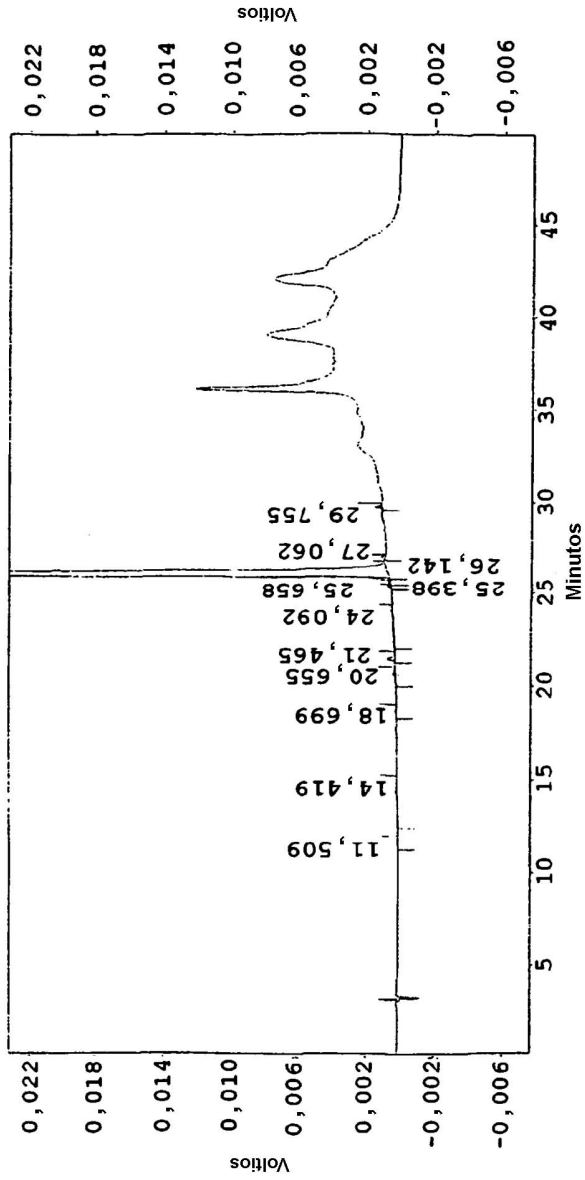
- a) lavado con una solución básica acuosa que tiene un pH de desde 7 hasta 10;
- 10 b) concentración de la fase orgánica;
- c) adición de un disolvente orgánico polar y/o una mezcla de disolventes orgánicos polares;
- d) precipitación del éster dietílico de pemetrexed **2** calentando la mezcla obtenida en la etapa c) hasta una temperatura de desde 50 hasta 80 °C y a continuación enfriándola hasta una temperatura de desde 0 hasta 10 °C.
- 15
2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la solución acuosa básica tiene un pH mayor de 7 y menor de o igual a 8.
3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el disolvente orgánico polar es un alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, una cetona alifática o aromática, dimetilsulfóxido o mezclas de los mismos.
- 20 4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por que dicho alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> es etanol.
5. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la precipitación se efectúa calentando la mezcla obtenida en la etapa c) hasta una temperatura de desde 60 hasta 65 °C, y a continuación enfriándola hasta una temperatura de aproximadamente 5 °C.
- 25 6. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la precipitación tiene lugar a una temperatura de desde 30 hasta 60 °C.
7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado por que la precipitación tiene lugar a aproximadamente 45 °C.
8. Un procedimiento para la preparación de la sal disódica **5**



que comprende un procedimiento para la preparación de éster dietílico de pemetrexed **2** de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

- 5 9. Un procedimiento para la preparación de la sal disódica **5** de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende las siguientes etapas:
- e) disolver el éster dietílico de pemetrexed **2** en un disolvente orgánico polar prótico y/o una mezcla de disolventes orgánicos polares próticos y
- f) hidrólisis posterior.
- 10 10. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado por que dicho disolvente orgánico polar prótico es un alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.
11. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado por que dicho alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> es etanol.
12. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado por que la hidrólisis es una hidrólisis básica.
13. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado por que dicha hidrólisis básica se obtiene con una solución acuosa que tiene un pH de desde 10 hasta 13.
- 15 14. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizado por que dicha solución acuosa tiene un pH de desde 12 hasta 13.
- 15 15. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado por que dicha hidrólisis se logra poniendo en contacto 0,46 volúmenes de una solución de etanol 0,145 M de éster dietílico de pemetrexed **2** con 0,76 volúmenes de una solución acuosa 0,6 M de hidróxido de sodio a una temperatura de 10 ± 2 °C.

20



Resultados del canal A

PICO	TR	AREA	AREA %	Nom.
1	11,51	1122	0,024	
2	14,42	4709	0,102	
3	18,70	883	0,019	
4	20,66	2091	0,046	
5	21,47	4239	0,092	
6	24,09	3518	0,077	
7	25,40	1187	0,026	
8	25,66	692	0,015	
9	26,14	571033	99,494	
10	27,06	1947	0,042	
11	29,75	2845	0,062	
Totales:		4594266	100,000	

Figura 1

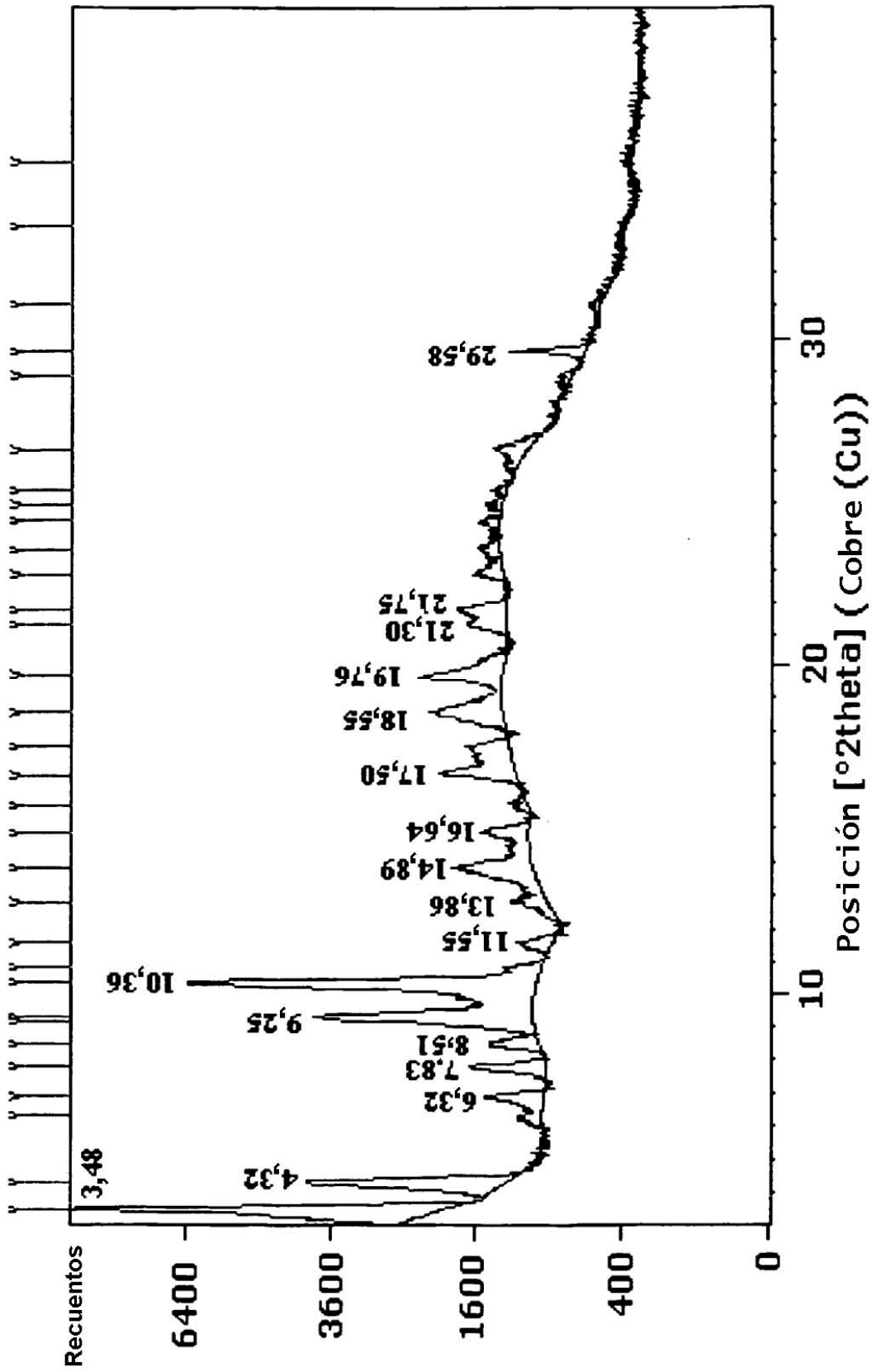


Figura 2

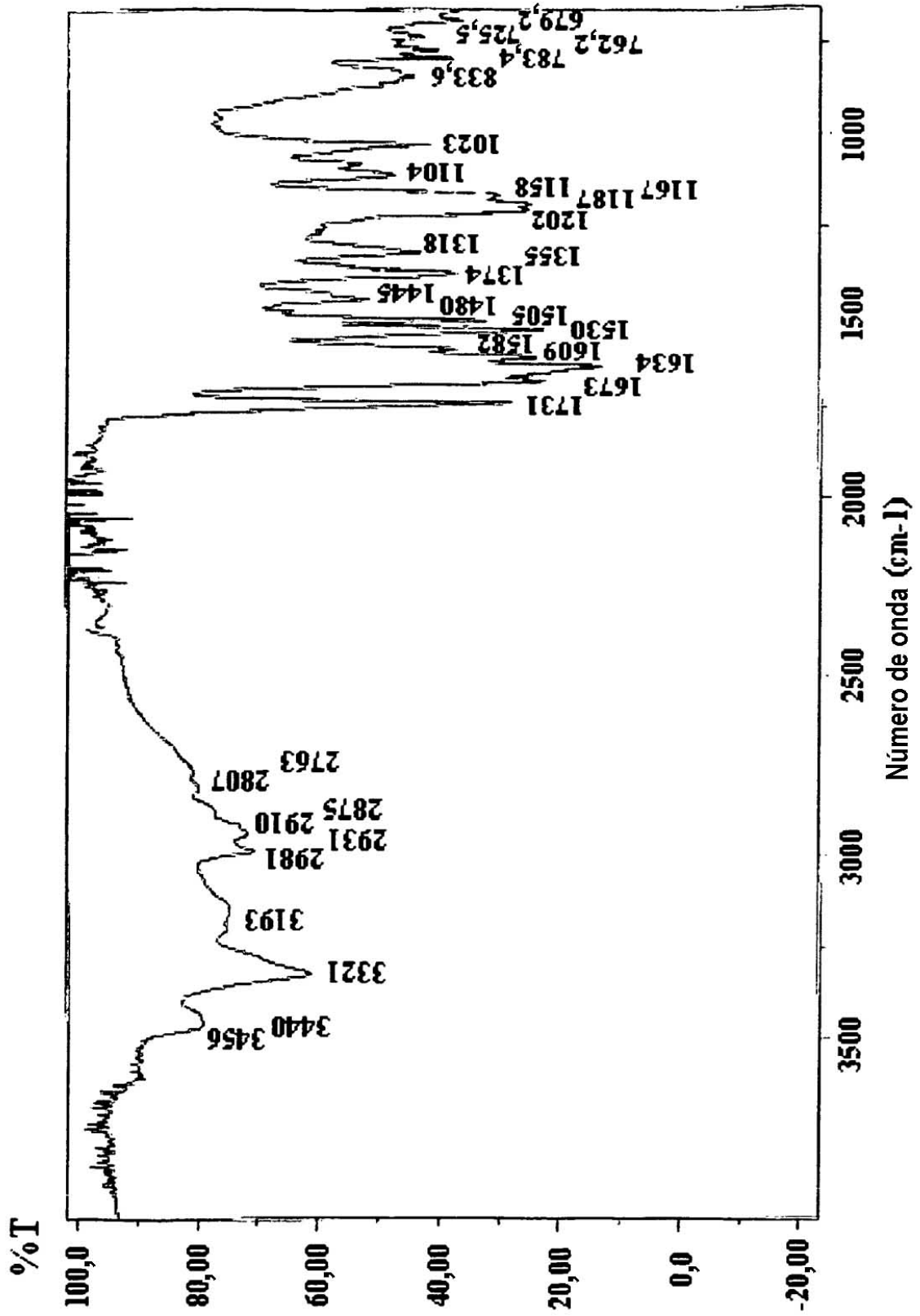


Figura 3



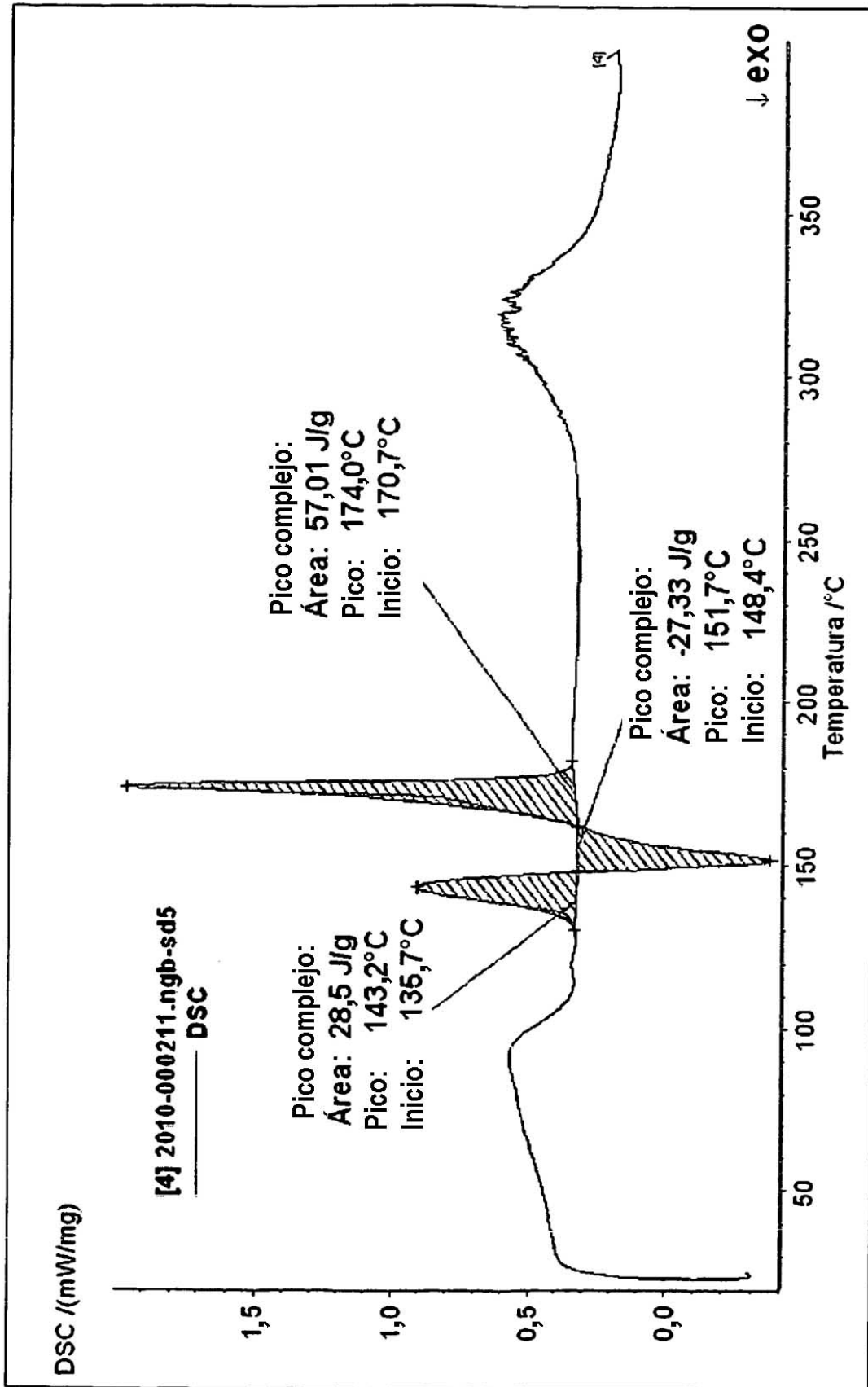


Figura 4

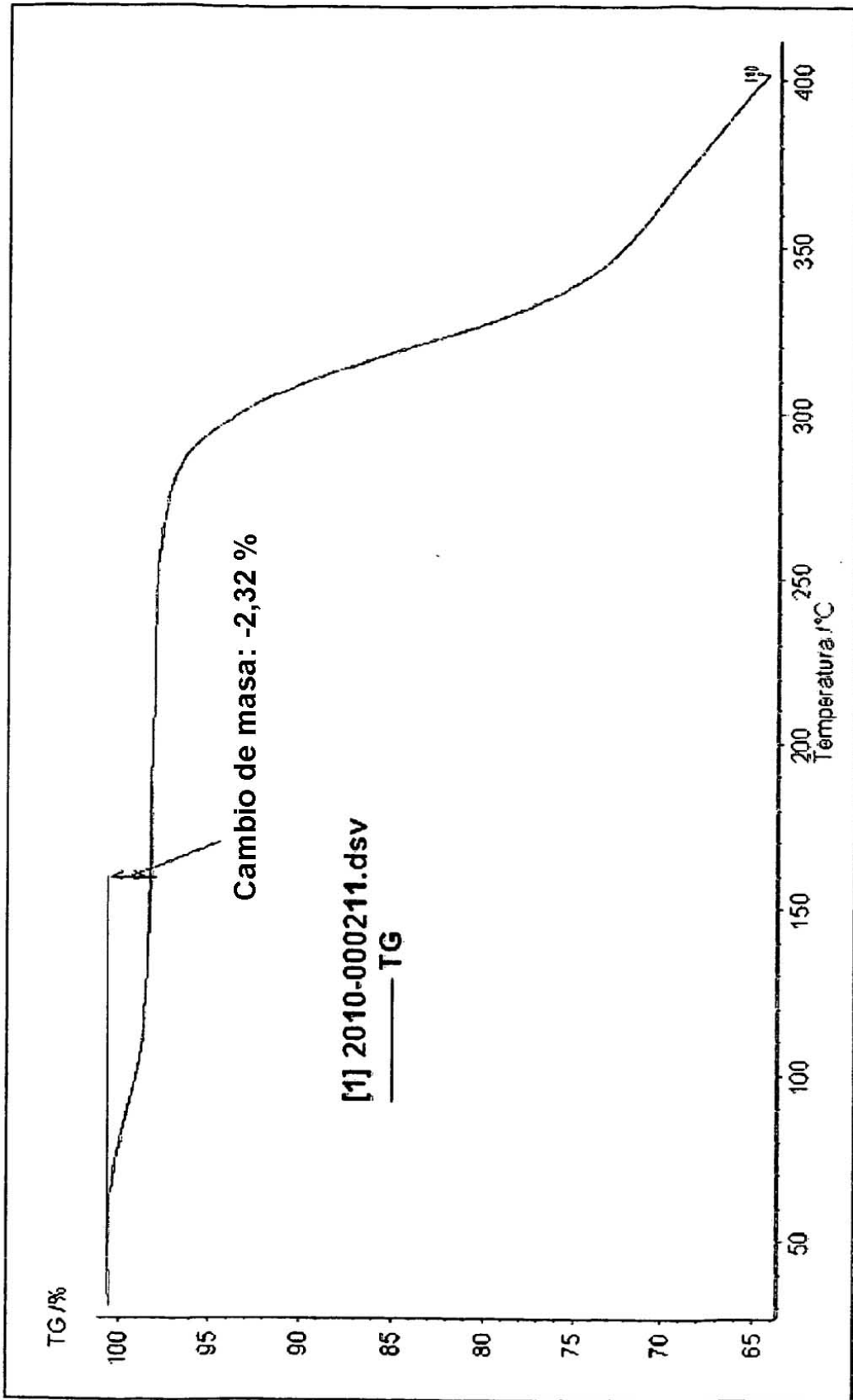
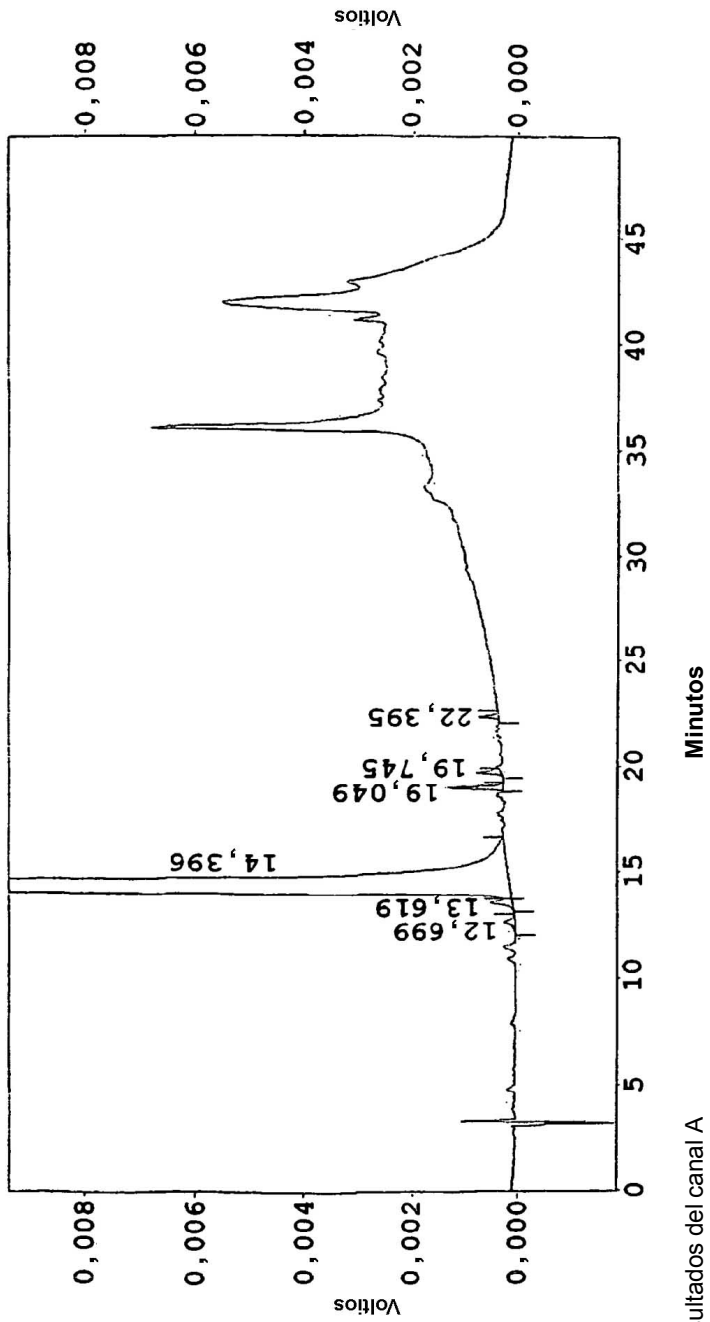


Figura 5



Resultados del canal A

PICO	TR	ÁREA	ÁREA %	Nom.
1	12,70	3492	0,035	
2	13,62	5201	0,053	
3	14,40	9828144	99,752	
4	19,05	8632	0,088	
5	19,75	4079	0,041	
6	22,40	3019	0,031	
Totales:		9852567	100,000	

Figura 6