

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 503 265**

51 Int. Cl.:

**C07D 305/14** (2006.01)

**C07D 493/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.08.2003** **E 03767262 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.07.2014** **EP 1537094**

54 Título: **Métodos para convertir amidas de taxano en paclitaxel u otros taxanos**

30 Prioridad:

**04.08.2002 US 401191 P**

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

**06.10.2014**

73 Titular/es:

**PHYTON HOLDINGS, LLC (100.0%)**  
**2711 Centerville Road, Suite 400**  
**Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

**JOHNSON, JAMES H.;**  
**GALLEGHER, REX T.;**  
**WANG, DASHENG y**  
**JUCHUM, JOHN S.**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 503 265 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

Métodos para convertir amidas de taxano en paclitaxel u otros taxanos

5 I. Campo de la invención

La invención se refiere a nuevos procesos y composiciones para convertir amidas de taxano en paclitaxel u otros taxanos. El proceso de esta invención también proporciona nuevos compuestos taxano que son útiles en la producción de taxanos.

10

II. Antecedentes de la invención

Se ha identificado que los taxanos, como paclitaxel, y otros compuestos derivados de biomasa o semisintéticamente tienen importantes propiedades antineoplásicas. Debido a la actividad clínica promisorio de ciertos taxanos (p. ej. paclitaxel) contra diversos tipos de cáncer, existe una necesidad constante de diferentes métodos para preparar paclitaxel y otras moléculas de taxano, que incluyen los derivados y análogos de paclitaxel. Se cree que la preparación de derivados y análogos de paclitaxel puede dar lugar a la síntesis de compuestos con una potencia comparable o mayor, una biodisponibilidad superior y/o menores efectos secundarios que el paclitaxel. La interconversión de una molécula de taxano o mezclas de moléculas de taxano en otra molécula de taxano es una vía para proporcionar diversos derivados y análogos de paclitaxel para el estudio posterior de sus propiedades biológicas.

Además, el suministro y el costo de la obtención de paclitaxel y otras moléculas de taxano siempre han sido motivo de preocupación. Existen tres métodos generales para producir paclitaxel. El primero, es mediante aislamiento de paclitaxel natural de una fuente de biomasa como la especie *Taxus* o de diversos caldos de fermentación. El segundo, es mediante semisíntesis partiendo de un compuesto taxano natural relacionado, y el tercero es mediante síntesis total. Sólo los dos primeros métodos son económicamente viables. El segundo método se puede dividir además en múltiples métodos dependiendo del compuesto taxano de partida. En cualquier caso, es de suma importancia contar con un método mejor para producir paclitaxel u otros taxanos.

Murray *et al.* describen un proceso para convertir taxol A, taxol B y taxol C en taxol A o docetaxel (patentes de Estados Unidos Nº 5,679,807 y 5,808,113). El proceso incluye generalmente la desoxigenación reductora del grupo amida de C-3' de una molécula de taxano totalmente protegida utilizando reactivo de Schwartz para formar una imina, seguido de hidrólisis de la imina para obtener una amina primaria. La acilación subsiguiente de la amina primaria con cloruro de benzoilo o anhídrido tert-butiloxicarbonilo puede producir taxol A o docetaxel, respectivamente.

En otro ejemplo, Kingston *et al.* describen la conversión de taxol B en paclitaxel por sustitución del grupo 2-metil-2-butenilo del C-13 de la cadena lateral de taxol B por un grupo benzoilo (patente de Estados Unidos Nº 5,319,112). La metodología incluye generalmente, en orden secuencial: hidrogenación del grupo 2-metil-2-butenilo, benzoilación del grupo hidroxilo de C-2', protección del grupo hidroxilo de C-7 como su grupo tricloroetiloxicarbonilo, reacción de la funcionalidad amida de C-3' con cloruro de oxalilo seguida de adición de agua, reacción con difenilcarbodiimida para crear una amina libre en la posición C-3' seguida de migración del acilo del grupo benzoilo desde el grupo hidroxilo de C-2' y eliminación del grupo tricloroetiloxicarbonilo.

Aún en otro ejemplo, la solicitud internacional Nº de serie PCT/US03/10557 titulada "Conversión de moléculas de taxano" presentada el 5 de abril de 2003, describe métodos y composiciones para la desoxigenación reductora de un grupo amida en una posición C-3' de una molécula de taxano seguida de migración de un grupo acilo desde la posición C-2' a la posición C-3'. Dichos métodos incluyen generalmente el paso de acilar el hidroxilo 2'; desoxigenar reductoramente las moléculas de taxano para formar un compuesto imina; hidrolizar el compuesto imina para formar un compuesto amina primaria; y después poner en contacto el compuesto amina primaria con una base para efectuar la migración del acilo.

WO 96/23780 se refiere a un proceso para convertir un taxano que contiene un grupo amida para producir la imina o la amina primaria.

WO 01/94328 se refiere a la síntesis de un análogo marcado isotópicamente de un compuesto taxano y al uso del análogo marcado isotópicamente como un compuesto estándar interno en el análisis de estándares biológicos.

EP 0693485 se refiere a la preparación de derivados de bacatina, que son productos intermedios sintéticos de derivados de taxol y derivados de taxol con actividad antitumoral.

WO 00/69840 se refiere a un proceso de cristalización para preparar paclitaxel y análogos de paclitaxel de gran calidad a partir de taxanos.

65

WO 99/57105 se refiere a un proceso para preparar paclitaxel o análogos de paclitaxel mediante un producto intermedio de bacatina III protegido.

WO 94/14787 se refiere a un proceso para preparar taxanos que tienen oxazolina en la cadena lateral.

WO 02/085878 se refiere a un proceso para preparar paclitaxel y análogos de paclitaxel a partir de un éster intermedio acoplado protegido.

Por lo tanto, todavía existe la necesidad de otras metodologías de síntesis para convertir moléculas de taxano en otras moléculas de taxano, que puedan ser compuestos antineoplásicos más potentes.

También existe la necesidad de compuestos químicos, incluidas las moléculas de taxano, sus análogos y productos intermedios que sean útiles en la producción de paclitaxel u otros taxanos.

Por consiguiente, la presente invención apunta a un método mejorado de convertir las amidas de taxano en paclitaxel o otros taxanos incluidos los taxanos que se muestran en la figura 16. El proceso de esta invención también produce nuevos compuestos intermedios taxano, que incluyen las sales de sulfato de amina de taxano, que son útiles en la producción de taxanos.

### III. Resumen de la invención

En una realización, la invención proporciona un método para convertir una molécula de taxano en una amida de taxano que tiene la fórmula que se muestra en la figura 1, en la que  $R_1$  es hidrógeno;  $R_2$  es hidrógeno, un grupo acilo o un grupo protector de hidroxilo;  $R_4$  es un grupo acetato;  $R_7$  es hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo, un grupo éster, un grupo éter, un grupo glucósido, un grupo oxo, un grupo protector de hidroxilo;  $R_{10}$  es hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo, un grupo éster, un grupo éter, un grupo protector de hidroxilo;  $R_2'$  es un hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo, un grupo alquilo, un grupo arilo, un éster, un grupo éter, o un grupo vinilo;  $R_N$  es un hidrógeno o un grupo alquilo;  $R_{AC}$  es un grupo alcoxi, un grupo alquilo, un grupo arilo, un grupo arilalquilo, un grupo éter, un grupo heterocíclico, un grupo acilo o un grupo vinilo; en otra molécula de taxano que tiene la fórmula que se muestra en la figura 2, en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_7$ ,  $R_{10}$ ,  $R_2'$ ,  $R_N$  y  $R_{AC}$  son los definidos antes.

Los grupos  $R_{AC}$  preferidos son los de los compuestos taxano conocidos y sus derivados, p. ej., fenilo, 1-metil-1-propenilo, n-pentilo, n-propilo, 1-metilpropilo, bencilo, 2-furanilo y tert-butoxi. Además, los compuestos taxano preferidos incluyen los que tienen la fórmula ilustrada antes, en la que  $R_1$  es hidrógeno;  $R_2$  es un grupo benzoilo;  $R_4$  es un acetato;  $R_7$  es hidrógeno;  $R_{10}$  es hidrógeno o un grupo acetato; y  $R_N$  es hidrógeno.

El método incluye generalmente uno más de los pasos siguientes: (i) desoxigenación reductora del compuesto amida de taxano o una mezcla de compuestos amida de taxano, con o sin protección del grupo hidroxilo, para formar un compuesto imina; (ii) hidrólisis del compuesto imina para formar una sal amina de taxano; y (iii) reacción del grupo amino de la amina para formar un compuesto amida de taxano nuevo o único. Preferentemente, la conversión de la molécula de taxano se produce sin aislamiento de uno o más de los productos intermedios, es decir, el compuesto imina y la sal de amina de taxano, proporcionando así una metodología de síntesis eficiente y económica para producir paclitaxel u otros taxanos.

En una realización alternativa, la desoxigenación reductora se lleva a cabo preferentemente utilizando un compuesto hidruro de circonio como un hidrocloreto de circonoceno (hidrocloreto de bis(ciclopentadienil)circonio), comúnmente conocido como reactivo de Schwartz.

Preferentemente, se usan aproximadamente 3 o más equivalentes molares de hidrocloreto de circonoceno y/o la temperatura de reacción se mantiene a menos de aproximadamente 15 °C.

En una realización alternativa, la presente invención apunta a un proceso para convertir taxanos que contienen un grupo funcional amida en paclitaxel u otras moléculas de taxano. En una realización alternativa, la presente invención se lleva a cabo poniendo primero en contacto al menos un taxano protegido en el OH o sin proteger, o una mezcla de taxanos que contienen un grupo funcional amida, en un primer solvente, preferentemente tetrahidrofurano, con una cantidad reductoramente desoxigenante de un reductor de un metal de transición, preferentemente hidrocloreto de circonoceno (reactivo de Schwartz). Esta reacción produce una imina protegida en el OH o sin proteger. Se deben eliminar cantidades importantes de sales de circonio remanentes en la solución poniendo en contacto la solución con una cantidad adecuada de un quelante, preferentemente bicina. También se pueden utilizar otros quelantes, como EDTA, ácido nitrilotriacético y Tiron®.

Después la imina resultante se hidroliza por contacto con una cantidad hidrolizante de un ácido, preferentemente ácido sulfúrico, para producir una sal de amina de taxano. Esta sal se puede solidificar agregando una cantidad adecuada de un segundo solvente, menos polar o un anti-solvente, preferentemente metil tert-butil éter. Según se usa en este documento, la expresión "solvente menos polar" o "anti-solvente" significa un solvente menos polar que

el utilizado para convertir la amida de taxano en una imina de taxano. También se pueden utilizar otros solventes menos polares como diclorometano, heptano, hexano, tolueno o trifluorotolueno.

5 El paso de solidificación sirve para purificar la sal de amina de taxano en cuanto a que prácticamente todos los compuestos neutros y otras impurezas de la mezcla de reacción permanecen en solución. La amina de taxano se puede convertir en paclitaxel u otros taxanos poniéndola en contacto con un agente de benzoilación, preferentemente cloruro de benzoilo. Agentes de benzoilación adecuados se describen en la solicitud de patente de Estados Unidos N° de serie 60/444,847, presentada el 4 de febrero de 2003.

10 En una realización alternativa, los procesos de la presente invención pueden proporcionar taxanos sustancialmente purificados. En una realización alternativa, el taxano resultante puede ser al menos 70% puro, 70% a 90% puro, 75% a 95% puro o 90% a 95% puro. Si se desea, el taxano resultante se puede purificar posteriormente por otros medios conocidos en el área.

15 Las características y ventajas precedentes y otras de la invención se comprenderán a partir de la descripción, las figuras y las reivindicaciones que siguen.

#### IV. Descripción de las figuras

20 La figura 1 muestra un ejemplo de taxano para utilizar en la presente invención.

La figura 2 muestra un ejemplo de taxano producido mediante la presente invención.

25 Las figuras 3 a 5 muestran ejemplos de compuestos que tienen una estructura básica de bacatina III.

Las figuras 6 a 8 muestran ejemplos de taxanos para utilizar en la presente invención.

Las figuras 9 a 10 muestran ejemplos de iminas y compuestos iminio de taxano de la presente invención.

30 La figura 11 muestra un ejemplo de sal de amina de taxano de la presente invención.

La figura 12 muestra una realización alternativa para proteger al menos un grupo hidroxilo de una molécula de una amida de taxano.

35 La figura 13 muestra una realización alternativa de reducción de una amida de taxano protegida con hidroclicloruro de circonoceno (reactivo de Schwartz).

La figura 14 muestra una realización alternativa de hidrólisis de una amida de taxano protegida.

40 La figura 15 muestra una realización alternativa de benzoilación de una amina de taxano.

La figura 16 muestra moléculas de taxano producidas mediante la presente invención.

45 La figura 17 muestra una realización alternativa de la presente invención.

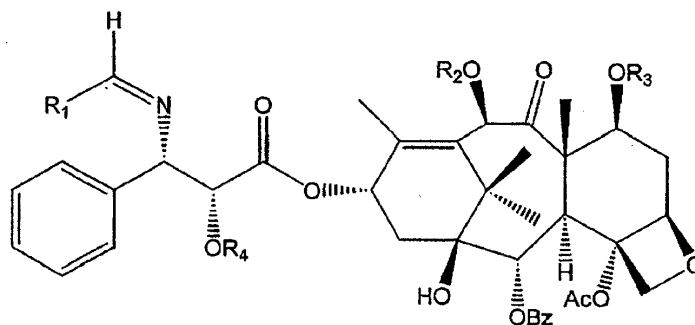
La figura 18 muestra ejemplo de análogos de Schwartz para utilizar en la presente invención.

50 La figura 19A muestra un espectro de masas de ionización por electronebulización de una sal de amina primaria con ácido sulfúrico.

La figura 19B muestra un espectro de masas ES-MS/MS de una sal de amina primaria con ácido sulfúrico.

#### V. Descripción detallada de la invención

55 La invención se refiere a un método para formar una sal de amina de taxano que comprende los pasos de: (i) convertir una amida de taxano en una imina de taxano en presencia de un solvente, (ii) poner en contacto la imina de taxano con un ácido para formar una sal de amina de taxano y (iii) solidificar la sal de amina de taxano agregando una cantidad adecuada de un segundo solvente que sea menos polar que el solvente utilizado en el paso (i) y donde el segundo solvente utilizado en el paso (iii) se elige entre metil tert-butil éter, diclorometano, heptano, hexano, tolueno o trifluorotolueno; donde dicha imina de taxano tiene la fórmula:



en la que,  $R_1$  = alquilo, arilo, carbonilo o un grupo éter;  
 $R_2$  = H, alquilo, arilo, éster, éter o un grupo protector;  
 $R_3$  = H, alquilo, arilo, éter, éster, xilosilo o un grupo protector;  
 $R_4$  = H o un grupo protector.

La invención se basa, en parte, en el descubrimiento de una ruta de síntesis eficiente para la interconversión de moléculas de taxano que se puede realizar usando desoxigenación reductora, hidrólisis y acilación. En particular, el método de la invención tiene la utilidad de transformar mezclas de moléculas de taxano en una molécula de taxano específica.

Según se usa en este documento, un "grupo alcoxi" significa un hidrocarburo saturado lineal, ramificado o cíclico, unido a un átomo de oxígeno. Preferentemente, un grupo alcoxi tiene entre uno y seis átomos de carbono. Un grupo alcoxi también se refiere a grupos alcoxi sustituidos que pueden incluir sustituyentes como grupos alcanoiloxi, grupos alquenilo, grupos alquilo, grupos alquilsililo, grupos alquilsulfonilo, grupos alquilsulfoxi, grupos alquiltio, grupos alquinilo, grupos amino como grupos mono- y di-alquilamino y grupos mono- y di-arilamino, grupos amida, grupos arilo, grupos arilalquilo, grupos carboxi, grupos carboxialcoxi, grupos carboxiamida, grupos carboxilato, grupos haloalquilo, halógenos, grupos hidroxilo, grupos nitrilo, grupos nitro, grupos fosfato, grupos siloxi, grupos sulfato, grupos sulfonamida, grupos sulfoniloxi y combinaciones de éstos. Los ejemplos preferidos de grupos alcoxi incluyen, entre otros, metoxi, etoxi, propoxi, ciclopropoxi, isopropoxi, *n*-butoxi, isobutoxi, *sec*-butoxi, *tert*-butoxi, ciclobutoxi, pentoxi, isopentoxi, neo-pentoxi, ciclopentoxi, hexoxi y ciclohexoxi.

Según se usa en este documento, un "grupo alquilo" significa un hidrocarburo saturado lineal, ramificado o cíclico. Preferentemente, un grupo alquilo tiene entre uno y seis átomos de carbono. Un grupo alquilo también se refiere a grupos alquilo sustituidos que pueden incluir sustituyentes como grupos alcanoiloxi, grupos alquenilo, grupos alquilo, grupos alquilsililo, grupos alquilsulfonilo, grupos alquilsulfoxi, grupos alquiltio, grupos alquinilo, grupos amino como grupos mono- y di-alquilamino y grupos mono- y di-arilamino, grupos amida, grupos arilo, grupos arilalquilo, grupos carboxi, grupos carboxialcoxi, grupos carboxiamida, grupos carboxilato, grupos haloalquilo, halógenos, grupos hidroxilo, grupos nitrilo, grupos nitro, grupos fosfato, grupos siloxi, grupos sulfato, grupos sulfonamida, grupos sulfoniloxi y combinaciones de éstos. Los sustituyentes preferidos son grupos alcoxi, grupos amino como grupos dialquilamino, grupos diarilamino, grupos que contienen ácido carboxílico, grupos haloalquilo, halógenos, grupos hidroxilo, grupos nitrilo, grupos nitro y grupos ácidos sulfónico. Los ejemplos de grupos alquilo preferidos incluyen, metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *tert*-butilo, ciclobutilo, pentilo, isopentilo, neo-pentilo, 1-etilpropilo, ciclopentilo, hexilo y ciclohexilo.

Según se usa en este documento, un "grupo arilo" significa un grupo fenilo o un grupo naftilo, que está opcionalmente sustituido. Los ejemplos de sustituyentes de los grupos arilo incluyen, pero no exclusivamente, grupos alcanoiloxi, grupos alquenilo, grupos alcoxi, grupos alquilsililo, grupos alquilsulfonilo, grupos alquilsulfoxi, grupos alquiltio, grupos alquinilo, grupos amino como grupos mono- y di-alquilamino y grupos mono- y di-arilamino, grupos amida, grupos arilo, grupos arilalquilo, grupos carboxi, grupos carboxialcoxi, grupos carboxiamida, grupos carboxilato, grupos haloalquilo, halógenos, grupos hidroxilo, grupos nitrilo, grupos nitro, grupos fosfato, grupos siloxi, grupos sulfato, grupos sulfonamida, grupos sulfoniloxi y combinaciones de éstos. Los sustituyentes preferidos son grupos alcoxi, grupos alquilo, grupos amino como grupos dialquilamino y grupos diarilamino, grupos que contienen ácido carboxílico, grupos haloalquilo, halógenos, grupos hidroxilo, grupos nitrilo, grupos nitro y grupos ácidos sulfónico.

Según se usa en este documento, un "grupo arilalquilo" significa un grupo arilo unido a un grupo alquilo. Un ejemplo de un grupo arilalquilo es un grupo bencilo.

Según se usa en este documento, una "estructura básica de bacatina III" significa un compuesto que tiene la fórmula que se muestra en la figura 3, en la que cada uno de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_7$ ,  $R_{10}$  y  $R_{13}$  es independientemente hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo acilo, un grupo arilo, un grupo arilalquilo, un grupo vinilo, un grupo éter, un grupo éster, un grupo glucósido, un grupo oxo o un grupo protector de hidroxilo. Incluidas en la definición de estructura de bacatina III se encuentran la bacatina III, que tiene la fórmula que se muestra la figura 4, y 10-desacetilbacatina III, que tiene

la fórmula que se muestra en la figura 5, en la que Ac es un grupo acetilo o acetato ( $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$ ) y Bz es un grupo benzoilo ( $\text{PhC}(\text{O})-$  o  $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}(\text{O})-$ ).

Según se usa en este documento, un "grupo éster" significa un sustituyente lineal, ramificado o cíclico que tiene una funcionalidad éster, es decir,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ . Los ejemplos de grupos éster incluyen grupos acilo como actilo y benzoilo, que están unidos a un grupo hidroxilo.

Según se usa en este documento, un "grupo éter" significa un sustituyente lineal, ramificado o cíclico que tiene una funcionalidad éter, es decir,  $-\text{COC}-$ . Los ejemplos de un grupo éter incluyen,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OC}(\text{CH}_2\text{OH})\text{H}-$ .

Según se usa en este documento, un "grupo glucósido" o un "grupo glucosilo" significa cualquiera de una serie de derivados de azúcares que contiene un grupo no azúcar unido a un átomo de oxígeno o de nitrógeno y que al hidrolizarse produce un azúcar como glucosa. Un ejemplo de un grupo glucosilo preferido es xilosilo.

Según se usa en este documento, un "halógeno" significa flúor, cloro, bromo y/o yodo.

Según se usa en este documento, un "grupo heterocíclico" es un compuesto cíclico saturado, insaturado o aromático que contiene al menos un átomo diferente de carbono, por ej., oxígeno, nitrógeno o azufre, en un anillo. Los ejemplos de grupos heterocíclicos incluyen furilos como 2-furano, morfolino, piperadino, piperazino, N-metilpiperazino, pirrolilo, piridilo y tiofeno.

Según se usa en este documento, "grupo protector de hidroxilo" significa un sustituyente de un grupo hidroxilo que se emplea para bloquear o proteger la funcionalidad hidroxilo, a menudo mientras están reaccionando otros grupos funcionales de la molécula, pero no siempre. Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo son bien conocidos en el área y se describen en J. W. Barton, "Protecting Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, ed., Plenum Press, Nueva York, NY, 1973, y en T. W. Green y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999.

Según se usa en este documento, un "grupo oxo" significa un sustituyente derivado de la oxidación de un grupo glucósido como un xilósido como se describe en la patente de Estados Unidos N° 5,356,928.

Según se usa en este documento, "taxano o molécula de taxano" significa una molécula que contiene una estructura básica de bacatina III con un grupo  $(2\text{R},3\text{S})-\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}(\text{Rx})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})-$  que forma un éster con el grupo hidroxilo ubicado en la posición C-13 de la estructura básica de bacatina III. El grupo representado por Rx puede ser un grupo amino, una sal de un grupo amino (por ej., una sal de amonio), un grupo amino que esté protegido con un grupo protector de amino o un sustituyente que se pueda convertir en un grupo amino. Diversos isómeros, homólogos y análogos de la estructura básica de bacatina III y del grupo  $(2\text{R},3\text{S})-\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}(\text{R-x})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})-$  también están incluidos en la definición de una molécula de taxano. Por ejemplo, una estructura 10-desacetilbacatina III se contempla dentro del alcance de una molécula de taxano. Incluidos en la definición de un taxano o una molécula de taxano se encuentran taxol A (paclitaxel), taxol B (cefalomanina), taxol C, taxol D, taxol E, taxol F, taxol G y docetaxel (TAXOTERE®), (véase por ej., Figura 16).

Según se usa en este documento, un "grupo vinilo" significa un sustituyente lineal o ramificado que tiene un doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos de grupos vinilo incluyen, 1-metil-1-propenilo ( $\text{CH}_3\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-$ ) y 2-metil-1-propenilo ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-$ ).

En toda la descripción, donde las composiciones se describen como si tuvieran, incluyeran o comprendieran componentes específicos, o donde los procesos se describen como si tuvieran, incluyeran o comprendieran pasos de procesos específicos, se contempla que las composiciones de la presente invención también consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes enumerados, y que los procesos de la presente invención también consisten esencialmente en, o consisten en los pasos de procesamiento enumerados. Además, se debe entender que el orden de los pasos o el orden de realización de ciertas acciones son inmateriales siempre que la invención permanezca operable.

Por otra parte, dos o más pasos o acciones se pueden llevar a cabo simultáneamente.

#### 1. Materiales de partida

Los materiales de partida adecuados para utilizar en la presente invención incluyen cualquier molécula de taxano con una cadena lateral C 13 que contenga un grupo amida. Los taxanos que contienen una cadena lateral fenilisoserina N-acilada en la posición C13 pueden servir como material de partida para esta invención. Además el material de partida puede ser una mezcla de dos o más de estos taxanos. Estos compuestos pueden tener diferentes patrones de sustitución; por ejemplo, la posición C10 puede contener un acetato o un hidroxilo, y la posición C7 puede contener un hidroxilo o un grupo xilosilo. Los ejemplos de estos compuestos se pueden encontrar en la figura 16 y se pueden encontrar más ejemplos en J. Natural Products, 1999, 62, 1448-1472, y Phytochemistry, 1999, 50, 1267-1304. Se debe entender que los posibles materiales de partida no están limitados a los que se

encuentran en esta bibliografía. Los materiales de partida se pueden, o no, purificar o aislar antes de la desoxigenación reductora de la molécula de taxano.

En una realización particular, la invención proporciona un método para convertir una molécula de taxano que tiene la fórmula que se muestra en la figura 1, en la que  $R_1$  es hidrógeno;  $R_2$  es hidrógeno, un grupo acilo o un grupo protector de hidroxilo;  $R_4$  es un grupo acetato;  $R_7$  es hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo, un grupo éster, un grupo éter, un grupo glucósido, un grupo oxo, un grupo protector de hidroxilo;  $R_{10}$  es hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo, un grupo éster, un grupo éter, un grupo protector de hidroxilo;  $R_2'$  es un hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo, un grupo alquilo, y un grupo arilo, un éster, un grupo éter o un grupo vinilo;  $R_N$  es un hidrógeno o un grupo alquilo;  $R_{AC}$  es un grupo alcoxi, un grupo alquilo, un grupo arilo, un grupo arilalquilo, un grupo éter, un grupo heterocíclico, un grupo acilo o un grupo vinilo; en otra molécula de taxano que tiene la fórmula que se muestra en la figura 2, en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_7$ ,  $R_{10}$ ,  $R_2'$ ,  $R_N$  y  $R_{AC}$  son los definidos antes. Otros ejemplos de grupos  $R_{AC}$  incluyen, entre otros, acetilo ( $CH_3C(O)-$ ),  $HOC(O)-$ ,  $CH_3OC(O)-$ ,  $CH_3CH(OH)C(OH)(CH_3)-$  y  $PhNHC(O)-$ .

Un material de partida que se prefiere más de la reacción de interconversión de la invención es una molécula de taxano que tiene la fórmula que se muestra en la figura 6. Otro material de partida preferido de la reacción de interconversión de la invención es una molécula de taxano que tiene la fórmula que se muestra en la figura 7. Otro material de estructura preferida de la reacción de interconversión de la invención es una molécula de taxano que tiene la fórmula que se muestra en la figura 8.

## 2. Protección de los taxanos

Los taxanos de partida utilizados en la presente invención pueden, o no, necesitar protección de  $OH-$ . En algunos casos puede ser deseable la protección del  $OH$  y se puede llevar a cabo de modo que uno o más de los grupos activos, incluidos los grupos  $OH$  en  $C_7$ ,  $C_{10}$  y  $C_2'$ ; se protejan con un grupo protector de hidroxilo. Se ha demostrado que la protección del grupo hidroxilo de  $C_2'$  es especialmente importante porque esto reduce drásticamente la cantidad de escisión de la cadena lateral observada en el paso de desoxigenación reductora subsiguiente.

Se debe entender que en un producto final puede permanecer un grupo protector de hidroxilo. Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo preferidos incluyen acetato (Ac), benzoilo (Bz), trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo (Troc) y éter etoxilético (EE). Los procedimientos para preparar los taxanos protegidos difieren, dependiendo de la elección de los grupos protectores. En una realización preferida, los grupos hidroxilo de  $C_2'$  y  $C_7$  se protegen tratando el taxano de partida en THF anhidro con una base impedida/bloqueada como diisopropiletilamina, seguido de una cantidad catalítica de  $N,N$ -dimetilaminopiridina (DMAP), y después clorotrimetilsilano entre 0 y 25 °C. En otra realización, el taxano de partida en THF anhidro se trata con éter etilvinílico y una cantidad catalítica de para-toluenosulfonato de piridinio. En ambos casos, generalmente se utiliza un ligero exceso de reactivo protector por cada grupo hidroxilo que se va a proteger. Un ejemplo de preparación de amidas de taxano protegidas se muestra la figura 12.

## 3. Desoxigenación reductora de la molécula de taxano

En la presente invención, la amida de taxano desprotegida o protegida en el hidroxilo se desoxigena reductoramente para producir una imina de taxano o un compuesto iminio de taxano protegidos o desprotegidos. Si, en la amida de taxano de partida,  $R_N$  es hidrógeno, entonces se forma una imina de taxano. En una realización alternativa, el compuesto imina tiene generalmente la fórmula que se muestra en la figura 9 en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_7$ ,  $R_{10}$ ,  $R_2'$  y  $R_{AC}$  son los definidos previamente. Si, en la amida de taxano de partida,  $R_N$  es un grupo alquilo, entonces se forma un compuesto de iminio de taxano. En una realización alternativa, el compuesto de iminio tiene generalmente la fórmula que se muestra en la figura 10 en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_7$ ,  $R_{10}$ ,  $R_2'$  y  $R_{AC}$  son los definidos previamente.

En toda esta invención el uso de compuestos de imina de taxano incluye iminas de taxano y compuestos de iminio de taxano, como los descritos antes. En una realización alternativa, esta reacción se puede lograr poniendo en contacto la amida de taxano con un reductor adecuado, un compuesto que contenga un metal de transición. La desoxigenación reductora se puede efectuar usando reactivos conocidos en el área. Por ejemplo, el paso de desoxigenación reductora se lleva a cabo preferentemente usando un compuesto hidruro de circonio como hidrocloreuro de circonoceno (hidrocloreuro de bis(ciclopentadienil)circonio), también conocido como reactivo de Schwartz. Un ejemplo de esta reacción se muestra en la figura 13. Poner en contacto la mezcla de amidas de taxano con un reductor (por ej. un reductor de un metal de transición) proporciona una mezcla que comprende iminas de taxano.

Otros compuesto que contienen metales de transición o reductores de metales de transición incluyen reductores que contienen titanio, reductores que contienen hafnio, reductores que contienen niobio y reductores que contienen molibdeno. También se pueden usar análogos y derivados del reactivo de Schwartz. Los ejemplos de estos reactivos se muestran en la figura 18.

En una realización alternativa, la cantidad de reactivo de Schwartz utilizada puede variar entre aproximadamente 0.1 equivalente molar hasta aproximadamente 10 equivalentes molares por mol de material de partida. Preferentemente, se usan aproximadamente 3 o más equivalentes molares del reactivo de Schwartz. Más específicamente, la reacción de desoxigenación reductora puede consumir 2 equivalentes molares de reactivo de Schwartz y se puede añadir un equivalente adicional para ayudar a conducir la reacción a que se complete. Asimismo, puede ser necesario un equivalente adicional del reactivo de Schwartz si se dejaron grupos hidroxilo sin proteger puesto que los grupos hidroxilo libres reaccionarán y neutralizarán un equivalente del reactivo de Schwartz. En una realización alternativa, el reactivo de Schwartz se puede agregar a la solución de amida de taxano como un polvo seco o como una suspensión en un solvente adecuado. Preferentemente, el solvente es anhidro. Tetrahidrofurano es un solvente preferido. En una realización preferida, la solución de amida de taxano está en THF anhidro y se agrega a una suspensión de reactivo de Schwartz también en THF anhidro.

La desoxigenación reductora se lleva a cabo preferentemente en un ambiente inerte, por ej., en atmósfera de nitrógeno o de argón. En una realización preferida, la suspensión de reactivo de Schwartz y la solución de amida de taxano se enfrían por debajo de la temperatura ambiente antes de ser mezcladas.

La temperatura de la reacción previa suspensión/solución es preferentemente menor de aproximadamente 15 °C y más preferentemente menor de aproximadamente 10 °C.

Luego de la adición de la solución de amida de taxano a la suspensión de reactivo de Schwartz, se puede generar gas de hidrógeno y la solución de reacción se calentará ligeramente porque la reacción es suavemente exotérmica. Luego de la adición completa, la agitación de la solución de reacción continúa a una temperatura reducida hasta que la reacción se considera completa. El tiempo de reacción es habitualmente de aproximadamente 1 a 4 horas, pero puede ser mayor. La reacción se considera completa cuando los materiales de partida se convierten sustancialmente en una imina de taxano. Preferentemente, la reacción se detiene cuando permanece menos de 10% del material de partida basado en el área por HPLC de la amida de taxano de partida y la imina de taxano.

#### 4. Eliminación del metal de transición

Una vez completada la reacción de desoxigenación reductora, la mayor parte del metal de transición y/o de los subproductos del metal de transición pueden ser eliminados antes de proceder con la reacción siguiente. Por ejemplo, en una realización alternativa, todo o prácticamente todo el metal de transición o sus subproductos pueden ser eliminados de modo que la mezcla resultante contenga menos de 10 000 partes/millón, preferentemente menos de 5000 partes/millón, o más preferentemente menos de 1000 partes/millón de metal de transición o subproductos del metal de transición.

Para la presente invención, la eliminación del metal de transición o de cualquier subproducto del metal de transición es opcional.

Se entiende que la eliminación del metal de transición o de cualquiera de sus subproductos se puede realizar por separado o conjuntamente con cualquier otro paso de los descritos en este documento. Asimismo, dicho paso de eliminación se puede realizar en diversos momentos durante el proceso de la presente invención.

Las técnicas para eliminar los compuestos de metal de transición o los subproductos del metal de transición son conocidos en el área e incluyen formación de complejos, precipitación, filtración, quelación, centrifugación, metodología electroquímica, cromatografía o cualquier combinación de éstos. En una realización alternativa, se puede utilizar un quelante que consiste en un quelante eficaz para quelar un metal de transición a fin de eliminar el compuesto del metal de transición o los subproductos de éste. Dichos quelantes pueden ser, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido etilenglicol-bis-(aminoetil éter)-tetraacético (EGTA), ácido 1,2-bis-(o-aminofenoxi)etano-N,N,N',N'-tetraacético (BAPTA), N,N,N',N'-tetrakis-(2-piridilmetil)etilenodiamina (TPEN), ácido nitrilotriacético, TIRON® y análogos y derivados de éstos.

En una realización alternativa, la solución de reacción de desoxigenación reductora enfriada se agrega a un exceso de N,N-bis(2-hidroxietil)glicina (bicina) como una solución acuosa mientras se mantiene la solución a temperatura ambiente. Preferentemente, se pueden usar aproximadamente 2 o más equivalentes de bicina basándose en la cantidad de metal de transición presente. A continuación, se puede desarrollar la reacción, la cual puede incluir un tratamiento adicional de la solución de reacción de desoxigenación reductora original con más solución acuosa de bicina. En una realización preferida, la capa acuosa de bicina se puede retroextraer con un solvente orgánico, preferentemente THF o acetato de etilo, para recuperar toda la imina de taxano de la capa de bicina. Un ejemplo de esta reacción se muestra en la figura 13.

#### 5. Hidrólisis de la imina

Luego de la conversión en un compuesto imina, la hidrólisis de la funcionalidad imina produce una amina o sal de amina en la posición C-3'. Se puede usar cualquier ácido común para efectuar la hidrólisis del compuesto imina. Dichos ácidos pueden incluir: (i) ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico o ácido yodhídrico; (ii) ácido



nítrico u otros ácidos que contengan nitrógeno; (iii) ácido sulfúrico u otros ácidos que contengan azufre; (iv) ácidos carboxílicos, excepto ácido trifluoroacético; (v) ácido fosfórico u otros ácidos que contengan fosfato; (vi) ácido tartárico; (vii) ácido perclórico; (viii) ácido p-toluenosulfúrico; (ix) ácido pícrico. Preferentemente, el ácido es ácido sulfúrico. El ácido puede ser acuoso o estar en solución con un solvente prótico, por ej. etanol y/o metanol. En una realización alternativa de la presente invención, la sal de amina puede tener la fórmula que se muestra en la figura 11 en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_7$ ,  $R_{10}$ ,  $R_2$  y  $R_N$  son los definidos previamente. En este caso, X puede ser un ácido inorgánico desprotonado que contenga un halógeno. Dichos ácidos pueden ser por ejemplo, ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico o ácido yodhídrico. Asimismo, X puede ser: (i) ácido nítrico desprotonado u otros ácidos que contengan nitrógeno; (ii) ácido sulfúrico desprotonado u otros ácidos que contengan azufre; (iii) ácido carboxílico desprotonado, excepto ácido trifluoroacético; (iv) ácido fosfórico desprotonado u otros ácidos que contengan fosfato; (v) ácido tartárico desprotonado; (vi) ácido perclórico desprotonado; (vii) ácido p-toluenosulfúrico desprotonado; (viii) ácido pícrico desprotonado. En una realización alternativa, ácido se deben usar aproximadamente 2 o más equivalentes molares de por cada mol de imina.

La hidrólisis del compuesto imina se puede llevar a cabo a temperatura ambiente o cerca de esta temperatura. Asimismo, la hidrólisis se puede llevar a cabo en una imina de taxano aislada o purificada. Preferentemente, se agrega una solución acuosa de ácido directamente a la solución de reacción de desoxigenación reductora, luego de la eliminación del circonio. El paso de hidrólisis de la amina se puede emplear antes o después de la adición del anti-solvente (véase más adelante) para producir la amina de taxano a partir de la mezcla de reacción.

En una realización, la presencia de la sal de amina se confirma usando espectrometría de masas ES-MS/MS (Micromass Quattro LC Mass Spectrometer) y espectro de masas de ionización por electronebulización. La figura 19A muestra un espectro de masas de ionización por electronebulización de una sal de amina primaria con ácido sulfúrico. Esta sal de amina se produjo mediante el paso de hidrólisis de la amina y después se aisló en el paso de solidificación descrito en este documento. El espectro muestra la masa correcta y el perfil de distribución del pico de isótopo de la sal de amina previsto, que tiene un PM de 847. La figura 19B muestra un espectro de masas ES-MS/MS de una sal de amina primaria con ácido sulfúrico. La sal de amina se produjo durante el paso de hidrólisis de la amina y después se aisló en el paso de solidificación descrito en este documento. El espectro muestra un espectro del ion hijo del ion pseudo molecular,  $[M-H]$  de  $m/z$  846. En este caso, el espectro muestra un único ion hijo intenso  $[HSO_4]$  a  $m/z$  96.8.

Además de hidrolizar la imina de taxano, el ácido también puede servir para eliminar los grupos protectores de hidroxilo si estos grupos protectores utilizados son sensibles a ácido. Los ejemplos de grupos protectores sensibles a ácido incluyen trimetilsililo, trietilsililo y éter etoxietílico. Por consiguiente, se debe tener cuidado en la elección de un reactivo de hidrólisis adecuado para evitar la eliminación indeseada de grupos protectores que pueden estar presentes en la molécula de taxano. Sin embargo, puede ser deseable eliminar ciertos grupos protectores de una molécula de taxano para facilitar la conversión de una molécula de taxano "protegida" en un derivado de taxol conocido, p. ej., la eliminación de un grupo protector sililo o éter de los grupos hidroxilo de C7, C10 y/o C2'. En consecuencia, si un ácido debe realizar funciones adicionales en la reacción, la cantidad de ácido utilizada en la reacción se debe ajustar apropiadamente.

## 6. Solidificación de la sal de amina de taxano

La sal de amina de taxano se puede solidificar agregando una cantidad adecuada de un solvente menos polar, preferentemente metil tert-butil éter. También se pueden utilizar otros solventes como diclorometano, heptano, hexano, tolueno o trifluorotolueno. Una vez solidificada, la sal de amina de taxano se puede filtrar fácilmente lográndose así la purificación. Prácticamente todos los subproductos no amina o el material de partida sin reaccionar permanecen en el filtrado y de esta manera son eliminados.

## 7. Conversión de la sal de amina de taxano en paclitaxel

La sal de amina de taxano se puede convertir en paclitaxel u otros taxanos útiles haciendo reaccionar la amina de diversas maneras. Por ejemplo, la sal de amina adecuada se puede convertir en paclitaxel haciéndola reaccionar con cloruro de benzoilo o algún otro agente de benzoilación. Esto se puede llevar a cabo disolviendo primero la sal de amina en un solvente, preferentemente THF y después neutralizando la sal de amina con una base en exceso, preferentemente una base inorgánica, muy preferentemente carbonato de sodio, seguido de la adición de un ligero exceso de agente de benzoilación, preferentemente cloruro de benzoilo. Un ejemplo de dicha reacción se muestra en la figura 15. Se pueden producir otras amidas de taxano variando el agente acilante.

Se ha demostrado sin embargo, que cuando se sigue el procedimiento de paso de benzoilación se ha encontrado la producción de una impureza específica. La estructura de esta impureza no se ha establecido de forma concluyente pero se encontró que tiene un peso molecular de 1104 Dalton. También se encontró que esta impureza es difícil de eliminar en pasos de purificación posteriores. Se encontró que la formación de esta impureza es dependiente del pH del paso de benzoilación; por lo tanto la moderación de la base utilizada para neutralizar la sal de amina es importante. En una realización alternativa preferida, la sal de amina se disuelve en THF y después se trata con cloruro de benzoilo seguido de tampón de fosfato de aproximadamente pH 7 de modo que el pH final de la solución

de benzoilación sea de aproximadamente 4 a 6. Utilizar el tampón de fosfato en lugar del exceso de base redujo drásticamente la formación de esta impureza.

Una vez que el paso de benzoilación se considera completo (< 2% de amina remanente determinado mediante área por HPLC) se puede preparar el paclitaxel crudo por separación y eliminación de la capa acuosa de fosfato, lavando la capa orgánica con solución saturada de NaCl, secando la capa orgánica con un desecante, preferentemente sulfato de magnesio (MgSO<sub>4</sub>), y precipitando la capa orgánica seca en 4-6 X de hexano o heptano. El precipitado del producto se puede después filtrar y secar fácilmente y es adecuado para la purificación posterior. Siguiendo este procedimiento se encontró que después de secar, se observaba la formación de dos impurezas. Ambas impurezas tenían pesos moleculares de 871 Dalton y se determinó que eran derivados de paclitaxel con el anillo oxetano abierto. Estos derivados son bien conocidos en la bibliografía y se sabe que se forman en presencia de reactivos electrófilos como cloruros de ácido. Por lo tanto, se determinó que cantidades residuales de cloruro de benzoilo eran la causa de estas impurezas.

En una realización alternativa preferida, se agregó aproximadamente 0.5 equivalente molar de aminas, preferentemente aminas primarias, más preferentemente hidróxido de amonio, a la solución de reacción de benzoilación luego de que la reacción se consideró completa, para que reaccionara con cualquier residuo de cloruro de benzoilo. Después la capa acuosa se separó y se eliminó, y la capa orgánica se lavó dos veces más con la amina adecuada seguido de un lavado con solución saturada de NaCl cada vez. A continuación la capa orgánica se secó con un desecante, preferentemente sulfato de magnesio (MgSO<sub>4</sub>) y la capa orgánica seca se precipitó en 4-6 X de hexano o heptano. Siguiendo este protocolo, se redujo drásticamente la formación de impurezas de PM 871

El producto final y/o los productos intermedios aislados se pueden analizar utilizando técnicas analíticas conocidas en el área como espectroscopía infrarroja (IR), espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR), por ej., <sup>1</sup>H-NMR y <sup>13</sup>C-NMR, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), por ej., HPLC de fase reversa y/o espectrometría de masas (MS), por ej., espectrometría de masas de ionización por electronebulización (ES MS) y espectrometría de masas de desorción/ionización con láser asistida por matriz (MALDI-MS). También se pueden utilizar combinaciones de estas técnicas, por ej., HPLC-MS.

En una realización de la metodología descrita antes, la invención apunta a métodos para interconvertir mezclas de moléculas de taxano, por ej., a partir de biomasa o extractos de biomasa, en una molécula de taxano particular, por ej., paclitaxel. La metodología para la interconversión de mezclas de moléculas de taxano en una molécula de taxano específica generalmente es la misma que para la interconversión de una única molécula de taxano en otra única molécula de taxano.

## VI. Ejemplos

### Ejemplo 1

Los materiales siguientes se pueden usar en la presente invención como se describe más adelante:

- HPLC (columna XTerra; gradiente de agua-acetonitrilo con 0.05% de ácido fórmico); detección UV
- Amidas de taxano (500 g);
- 3 Litros de THF seco;
- 7.2 g de 4-(Dimetilamino)piridina (DMAP) [1122-58-3];
- 338 mL (de Base de Hünig) [7175-49-7] N-etildiisopropilamina;
- 165 mL de Clorotrimetilsilano (TMSCl) [75-77-4];
- 469 g de Hidrocloruro de bis(ciclopentadienil)circonio (reactivo de Schwartz);
- Solución de bicina (1 M) [150-25-4];
- 1 litro de Acetato de etilo;
- 350 mL de Solución de ácido sulfúrico al 10%;
- 10 litros de Metil tert-butil éter (MTBE);
- 4 litros de MTBE:THF 4:1;
- 317 g de Bicarbonato de sodio;
- 68 mL de Cloruro de benzoilo [exento de impurezas del anillo bencénico sustituido];
- 15 litros de Heptano; y
- 3 litros de Solución saturada de cloruro de sodio.

Paso 1: A una solución de amidas de taxano (500 g, 586 mmol) en 1.5 L de THF seco en atmósfera de nitrógeno, se le agregaron 7.2 g de DMAP (590 mmol), seguido de 338 mL de N-etildiisopropilamina (base de Hünig; 1.47 mol) y adición lenta de cloruro de TMS (1.47 mol) en el transcurso de aproximadamente una hora. La reacción se agitó durante otra hora a temperatura ambiente. Una HPLC (columna XTerra RP C-18; gradiente de agua-acetonitrilo con 0.05% de ácido fórmico) no debe mostrar taxanos en este tiempo. La reacción se enfrió hasta 0 °C y después se filtró. La sal se lavó con 500 mL de THF seco.

Paso 2: La solución del paso 1 se enfrió hasta 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se agregó lentamente a una suspensión de 469 g (1.97 mol) de hidrocloreto de bis(ciclopentadienil)circonio (reactivo de Schwartz) en 1 L de THF seco en atmósfera de nitrógeno. En ese momento se produce desprendimiento de hidrógeno. Por lo tanto, el recipiente de reacción debe ser suficientemente grande para dar cabida a algo de espuma. La reacción se agitó a 0 °C durante aproximadamente 4 horas mientras se controlaba por HPLC, y después se continuó hasta que se completó casi en el 90%, y se detuvo antes de que se formaran productos secundarios importantes.

Paso 3: La reacción se detuvo con solución acuosa de bicina (1 M; 2.8 L); las capas se separaron y la fase orgánica se lavó con otros 2.8 L de solución de bicina. Las capas acuosas combinadas se extrajeron una vez con 500 mL de acetato de etilo y la fase orgánica combinada se trató con 350 mL de solución de ácido sulfúrico al 10% con buena agitación, durante una hora.

Paso 4: La mezcla hidrolizada del paso 3 se agregó a 10 L de MTBE, se agitó bien durante 30 minutos y se filtró. La sal de amina sólida se lavó con 2 X 2 L de LMTBE:THF 4:1. Las soluciones de LMTBE y LMTBE:THF se conservaron para recuperar los taxanos sin reaccionar. El sólido se disolvió en 2 L de THF, y después se agregaron 200 mL de agua, seguido de 317 g de NaHCO<sub>3</sub> sólido. Precaución: se forma algo de espuma en este punto. Preferentemente, el bicarbonato de sodio se agrega lentamente. La mezcla se agitó bien durante 15 min luego de la adición del bicarbonato de sodio. Después, se agregaron 68 mL de cloruro de benzoilo y la reacción se agitó bien durante 1 hora. Después la reacción se trató con 3 L de solución saturada de cloruro de sodio, y se separaron las capas. La solución saturada de cloruro de sodio se lavó una vez con 500 mL de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron en MgSO<sub>4</sub> y se filtraron. La solución de paclitaxel resultante se agregó después a 15 L de heptano, y el precipitado se filtró y se secó al vacío durante toda la noche, proporcionando un rendimiento de 75-80% (es decir, aproximadamente 375-400 g). El paclitaxel es 70% a 90% puro, o 75% a 95% puro, u 80% a 90% puro, o 90% a 95% puro. Si se desea, el paclitaxel se puede purificar posteriormente.

#### Ejemplo 2

Este ejemplo demuestra la conversión de una mezcla de amidas de taxano compuesta principalmente por taxol C y taxol E en taxol A (paclitaxel)

Una mezcla de amidas de taxano compuesta por 2.6% de taxol A, 4.8% de taxol B, 54.1 % de taxol C, 0.2% de taxol D, 32.0% de taxol E y 4.2% de taxol F (100 g., ~117 mmol) se disolvió en 500 mL de THF anhidro. Después se le agregó reactivo de Schwartz sólido (137 g., 533 mmol) a 5 °C y la reacción se agitó a esa temperatura en atmósfera de nitrógeno y se controló por HPLC. Después de 4 horas la reacción se detuvo agitándola con 800 mL de solución de bicina 1 M durante 30 minutos. La capa orgánica se agitó con otros 800 mL de bicina 1 M durante 30 minutos. Las capas acuosas combinadas se agitaron con 150 mL de acetato de etilo durante 20 minutos. Las capas de THF y acetato de etilo se combinaron y se trataron con 70 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% durante 1 hora seguido de la adición lenta de 1800 mL de metil tert-butil éter (MTBE) y otros 30 minutos de agitación. La sal de amina de taxano se filtró y se lavó con MTBE:THF 3:1 y después se disolvió en 200 mL de THF. Después se agregaron 100 mL de agua, 36 gramos de NaHCO<sub>3</sub> (429 mmol) y 14 mL de cloruro de benzoilo (234 mmol). La reacción se completó después de 1 hora y se lavó con 100 mL de agua, después con 100 mL de solución saturada de NaCl y finalmente se secó con MgSO<sub>4</sub>. A continuación se precipitó la solución filtrada en 1200 mL de heptano. Después de la filtración y el secado al vacío, se obtuvo paclitaxel crudo (51 g, pureza 76.5%, rendimiento 44%).

#### Ejemplo 3

Este ejemplo demuestra la conversión de una mezcla de amidas de taxano compuesta principalmente por taxol A y taxol B en taxol A (paclitaxel) utilizando protección con éter etoxietílico.

Una mezcla de amidas de taxano compuesta por 51.4% de taxol A, 28.2% de taxol B, 7.6% de taxol C, 0.5% de taxol D, 1.7% de taxol E, 3.3% de taxol F y 0.6% de taxol G (481.6 g., ~578.8 mmol) se disolvió en 2.5 L de THF anhidro seguido de la adición de 3.63 gramos de para-toluenosulfonato de piridinio (14.5 mmol) y 138.4 mL de éter etilvinílico (1.45 mol). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se completó después de 16 horas. A continuación la solución de reacción se enfrió hasta 5 °C y se agregaron 2.03 mL de trietilamina seguido de 441.8 g de reactivo de Schwartz sólido (1.72 mol). La reacción se agitó a 5 °C y se controló por HPLC. Después de 4 horas la reacción se detuvo agitándola con 2.58 L de solución de bicina 1 M durante 30 minutos. La capa orgánica se agitó con otros 2.58 L de bicina 1 M durante 30 minutos. Las capas acuosas combinadas se agitaron con 500 mL de acetato de etilo durante 20 minutos. Las capas de THF y acetato de etilo se combinaron y se trataron con 336.7 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% durante 1 hora seguido de la adición lenta de 7.5 L de metil tert-butil éter (MTBE) y 1 hora más de agitación. La sal de amina de taxano se filtró y se disolvió en 1 L de THF. Se agregaron otros 85 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% y se agitó durante 30 minutos seguido de la adición lenta de 3 L de MTBE y luego 30 minutos de agitación. La sal de amina se filtró y se lavó con 3 x 1 L de MTBE:THF 3:1. La sal de amina se disolvió después en 1 L de THF. Después se agregaron con precaución 200 mL de agua seguidos de 212.7 gramos de NaHCO<sub>3</sub> (2.53 mol). A continuación se agregaron 80 mL de cloruro de benzoilo (687 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después la solución de reacción se lavó con agua, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se precipitó en 6 L de heptano. La filtración y el secado al vacío produjeron paclitaxel crudo (507 g, pureza 78.2%, rendimiento 80%).

## Ejemplo 4

Este ejemplo demuestra la conversión de una mezcla de amidas de taxano compuesta principalmente por taxol C y taxol E en taxol A (paclitaxel) utilizando protección con éter etoxietílico.

Una mezcla de amidas de taxano compuesta por 2.6% de taxol A, 4.8% de taxol B, 54.1% de taxol C, 0.2% de taxol D, 32.0% de taxol E y 4.2% de taxol F (10 g, ~ 11.7 mmol) se disolvió en 50 mL de THF anhidro seguido de la adición de 75 mg de para-toluenosulfonato de piridinio (0.3 mmol) y 2.8 mL de éter etilvinílico (29.7 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se completó después de 16 horas. A continuación la solución de reacción se enfrió hasta -5° C y se agregaron 13.7 gramos de reactivo de Schwartz sólido (53.4 mmol). La reacción se agitó a 5 °C y se controló por HPLC. Después de 6 horas la reacción se detuvo agitándola con 80 mL de solución de bicina 1 M durante 30 minutos. La capa orgánica se agitó con otros 80 mL de bicina 1 M durante 30 minutos. Las capas acuosas combinadas se agitaron con 5 mL de acetato de etilo durante 20 minutos. Las capas de THF y acetato de etilo se combinaron y se trataron con 7 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% durante 1 hora seguido de la adición lenta de 150 mL de metil tert-butil éter (MTBE) y 1 hora más de agitación. La sal de amina de taxano se filtró y se disolvió en 20 mL de THF. Se agregaron otros 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% y se agitó durante 30 minutos seguido de la adición lenta de 60 mL de MTBE y luego 30 minutos de agitación. La sal de amina se filtró y se lavó con 3 x 5 mL de MTBE:THF 3:1. La sal de amina se disolvió después en 20 mL de THF. Después se agregaron con precaución 5.2 gramos de NaHCO<sub>3</sub> (61.9 mmol). A continuación se agregaron 1,4 mL de cloruro de benzoilo (12 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después la solución de reacción se lavó con agua, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se precipitó en 120 mL de heptano. La filtración y el secado al vacío produjeron paclitaxel crudo (5.81 g, pureza 76%, rendimiento 43.6%).

## Ejemplo 5

Este ejemplo demuestra la conversión de una mezcla de amidas de taxano compuesta principalmente por taxol B en taxol A (paclitaxel) utilizando protección con éter trimetilsilílico.

Una mezcla de amidas de taxano compuesta por 2.5% de taxol A, 83.1% de taxol B, 1.9% de taxol C, 0.7% de taxol D, 5.8% de taxol E, 0.3% de taxol F y 0.9% de taxol G (10 g, ~12 mmol) se disolvió en 30 mL de THF anhidro seguido de la adición de 72 mg de N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) (0.59 mmol), 5.13 mL de diisopropiletilamina (DIPEA) (29.43 mmol) y 3.72 mL de clorotrimetilsilano (TMS-Cl) (29.31 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se completó después de 1 hora. Después la mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se filtró (para eliminar las sales de clorhidrato de amina). El filtrado se agregó a una suspensión de 8.44 gramos de reactivo de Schwartz (32.83 mmol) en 20 mL de THF anhidro a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de 4 horas la reacción se detuvo agitándola con 50 mL de solución de bicina 1 M durante 30 minutos. La capa orgánica se agitó con otros 50 mL de bicina 1 M durante 30 minutos. Las capas acuosas combinadas se agitaron con 10 mL de acetato de etilo durante 20 minutos. Las capas de THF y acetato de etilo se combinaron y se trataron con 7 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% durante 1 hora seguido de la adición lenta de 210 mL de metil tert-butil éter (MTBE) y otros 30 minutos de agitación. La sal de la amina se filtró y se disolvió en 30 mL de THF y se agregaron con precaución 2 mL de agua seguido de 7.4 gramos de NaHCO<sub>3</sub> (88.1 mmol). A continuación se agregaron 1.36 mL de cloruro de benzoilo (12 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después la solución de reacción se lavó con 20 mL de solución saturada de NaCl, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se precipitó en 120 mL de heptano. La filtración y el secado al vacío produjeron paclitaxel crudo (9.28 g, pureza 87.8%, rendimiento 86.6%).

## Ejemplo 6

Este ejemplo demuestra la conversión de una mezcla de amidas de taxano compuesta principalmente por taxol A en taxol A (paclitaxel) utilizando protección con éter trimetilsilílico.

Una mezcla de amidas de taxano compuesta por 79.2% de taxol A, 17.4% de taxol B, 1.6% de taxol C y 0.3% de taxol E (2.5 g, ~ 2.9 mmol) se disolvió en 7.5 mL de THF anhidro seguido de la adición de 18 mg de N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) (0.13 mmol), 1.54 mL de diisopropiletilamina (DIPEA) (8.8 mmol) y 1.1 mL de clorotrimetilsilano (TMS-Cl) (8.7 mmol). La reacción se agitó a 0 °C y se completó después de 1 hora. A continuación la mezcla de reacción se filtró (para eliminar las sales de clorhidrato de amina). El filtrado se agregó a una suspensión de 2.26 gramos de reactivo de Schwartz (8.8 mmol) en 3.3 mL de THF anhidro a 5 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de 4 horas la reacción se detuvo agitándola con 13 mL de solución de bicina 1 M durante 30 minutos. La capa orgánica se agitó con otros 13 mL de bicina 1 M durante 30 minutos. Las capas acuosas combinadas se agitaron con 2.5 mL de acetato de etilo durante 20 minutos. Las capas de THF y acetato de etilo se combinaron y se trataron con 1.75 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% durante 1 hora seguido de la adición lenta de 65 mL de metil tert-butil éter (MTBE) y otros 30 minutos de agitación. La sal de amina se filtró y se disolvió en 10 mL de THF y se agregaron 0.41 mL de cloruro de benzoilo (3.5 mmol), 2.5 mL de solución saturada de NaCl y 12.5 mL de tampón de fosfato de pH 7 y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. A continuación la solución de reacción se trató con 0.17 mL de hidróxido de amonio concentrado y se agitó durante 15 minutos. Después la solución se lavó con 5 mL de solución saturada de NaCl. La capa orgánica separada se secó en 1.25 gramos de

MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se precipitó en 73 mL de heptano. La filtración y el secado al vacío produjeron paclitaxel crudo (2.3 g, pureza 80.9%, rendimiento 76.5%).

#### Ejemplo 7

5

Este ejemplo demuestra la conversión de N-metil taxol A en N-metil taxol C.

10

15

20

Una muestra de N-metil taxol A (3.5 gramos, 4.0 mmol) se disolvió en 10 mL de THF anhidro seguido de la adición de 30 mg de N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) (0.24 mmol), 2.0 mL de diisopropiletilamina (DIPEA) (11.5 mmol) y 1.4 mL de clorotrimetilsilano (TMS-Cl) (11.4 mmol). La reacción se agitó a 0 °C y se completó después de 1 hora. Después la mezcla de reacción se filtró (para eliminar las sales de clorhidrato de amina). El filtrado se agregó a una suspensión de 3.0 gramos de reactivo de Schwartz (11.8 mmol) en 5 mL de THF anhidro a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de 4 horas la reacción se detuvo agitándola con 18 mL de solución de bicina 1 M durante 30 minutos. La capa orgánica se agitó con otros 18 mL de bicina 1 M durante 30 minutos. Las capas acuosas combinadas se agitaron con 7 mL de acetato de etilo durante 20 minutos. Las capas de THF y acetato de etilo se combinaron y se trataron con 2,2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% durante 1 hora, seguido de la adición lenta de 83 mL de metil tert-butil éter (MTBE) y otros 30 minutos de agitación. La sal de amina se filtró y se disolvió en 12 mL de THF y se le agregaron 0.6 mL de cloruro de hexanoilo (4.0 mmol), 3.1 mL de solución saturada de NaCl y 17 mL de tampón de fosfato de pH 7, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. A continuación la solución de reacción se trató con 0.22 mL de hidróxido de amonio concentrado y se agitó durante 15 minutos. Después la solución se lavó con 6 mL de solución saturada de NaCl. La capa orgánica separada se secó en 1.7 gramos de MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se precipitó en 95 mL de heptano. La filtración y el secado al vacío produjeron paclitaxel crudo (2.83 g, rendimiento 75%).

25

30

En toda la descripción, donde las composiciones se describen como si tuvieran, incluyeran o comprendieran componentes específicos, o donde los procesos se describen como si tuvieran, incluyeran o comprendieran pasos de proceso específicos, se contempla que las composiciones de la presente invención también consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes enumerados, y que los procesos de la presente invención también consisten esencialmente en, o consisten en, los pasos de procesamiento enumerados. Además, se debe entender que el orden de los pasos o el orden de realización de ciertas acciones son inmateriales siempre que la invención permanezca operable.

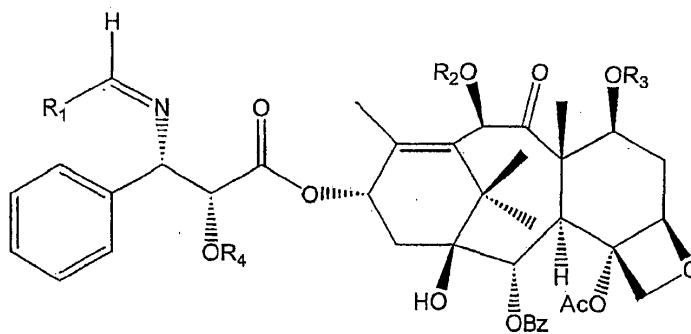
Por otra parte, dos o más pasos o acciones se pueden llevar a cabo simultáneamente.

35

Por lo tanto el alcance de la invención está indicado por las reivindicaciones adjuntas en vez de por la descripción precedente, y todos los cambios que están dentro del significado y el rango de equivalencia de las reivindicaciones pretenden estar comprendidos por dicho alcance.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una sal de amina de taxano que comprende los pasos de: (i) convertir una amida de taxano en una imina de taxano en presencia de un solvente, (ii) poner en contacto la imina de taxano con un ácido para formar una sal de amina de taxano y (iii) solidificar la sal de amina de taxano agregando una cantidad adecuada de un segundo solvente que sea menos polar que el solvente utilizado en el paso (i) y donde el segundo solvente utilizado en el paso (iii) se elige entre metil tert-butil éter, diclorometano, heptano, hexano, tolueno o trifluorotolueno; donde dicha imina de taxano tiene la fórmula:



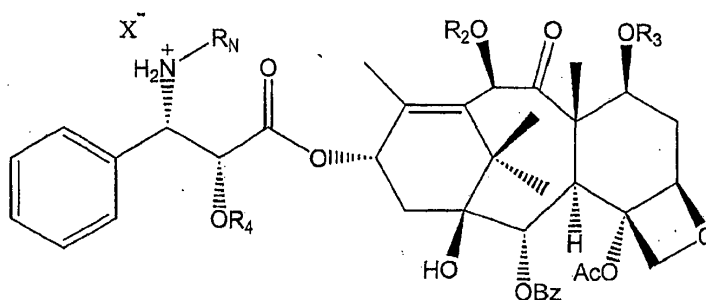
en la que,  $R_1$  = alquilo, arilo, carbonilo o un grupo éter;  
 $R_2$  = H, alquilo, arilo, éster, éter o un grupo protector;  
 $R_3$  = H, alquilo, arilo, éter, éster, xilosilo o un grupo protector;  
 $R_4$  = H o un grupo protector.

2. El método de la reivindicación 1, donde el ácido utilizado en el paso (ii) se elige entre: (i) ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico o ácido yodhídrico; (ii) ácido nítrico u otros ácidos que contengan nitrógeno; (iii) ácido sulfúrico u otros ácidos que contengan azufre; (iv) ácidos carboxílicos, excepto ácido trifluoroacético; (v) ácido fosfórico u otros ácidos que contengan fósforo; (vi) ácido tartárico; (vii) ácido perclórico; (viii) ácido p-toluenosulfúrico; (ix) ácido pícrico.

3. El método de la reivindicación 1, donde el ácido utilizado en el paso (ii) es un ácido que contiene azufre.

4. El método de la reivindicación 1, donde el ácido utilizado en el paso (ii) es un ácido que contiene sulfato.

5. El método de la reivindicación 1, que comprende además el paso de producir un taxano a partir de una sal de amina de taxano de la fórmula siguiente:



en la que,  $R_2$  es H, Ac o un grupo protector;  
 $R_3$  es H, xilosilo o un grupo protector;  
 $R_4$  es H o un grupo protector;  
 $R_N$  es H o un grupo alquilo; y  
 $X^-$  es un ácido nítrico desprotonado u otro ácido que contenga nitrógeno;  
 ácido sulfúrico desprotonado u otro ácido que contenga azufre desprotonado;  
 ácido carboxílico desprotonado, excepto ácido trifluoroacético;  
 ácido fosfórico desprotonado o cualquier ácido que contenga fósforo;  
 ácido tartárico desprotonado;  
 ácido perclórico desprotonado;  
 ácido p-toluenosulfónico desprotonado; o  
 ácido pícrico desprotonado;

donde dicho taxano está  
 en una forma sólida, sustancialmente purificada, siendo el taxano al menos 70% puro;  
 el método comprende la benzoilación de la sal de amina de taxano con una solución de benzoilación que contienen  
 un agente de benzoilación y un tampón de fosfato, de modo que el pH final de la solución de benzoilación sea de  
 5 aproximadamente 4 a 6.

6. El método de la reivindicación 5, donde la sal de amina de taxano se disuelve en un solvente, antes de agregar un  
 agente de benzoilación.

10 7. El método de la reivindicación 6, donde el solvente es THF.

8. El método de la reivindicación 5, donde el taxano es 75% a 95% puro.

9. El método de la reivindicación 5, donde

15  $R_2$  es Ac y  $R_3$  es H;

donde  $R_2$  es H y  $R_3$  es H;

donde  $R_2$  es Ac y  $R_3$  es xilosilo; o

donde  $R_2$  es H y  $R_3$  es xilosilo.

20 10. El método de la reivindicación 5, donde  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  son un grupo protector elegido del grupo que consiste en  
 trietilsililo, trimetilsililo, tricloroetoxicarbonilo o éter etoxietílico.

11. El método de la reivindicación 5, donde  $R_3$  y  $R_4$  son un grupo protector elegido del grupo que consiste en  
 trietilsililo, trimetilsililo, tricloroetoxicarbonilo y éter etoxietílico.

25 12. El método de la reivindicación 5, donde  $R_3$  y  $R_4$  son trimetilsililo.

13. El método de la reivindicación 5, donde  $R_4$  es un grupo protector elegido del grupo que consiste en trietilsililo,  
 trimetilsililo, tricloroetoxicarbonilo y éter etoxietílico.

30 14. El método de la reivindicación 5, donde el taxano formado se elige entre taxol A, 10-desacetiltaxol A, 7-  
 xilosiltaxol A y 7-xilosil-10-desacetiltaxol A.

15. El método de la reivindicación 5, donde el taxano formado es taxol A.

FIGURA 1

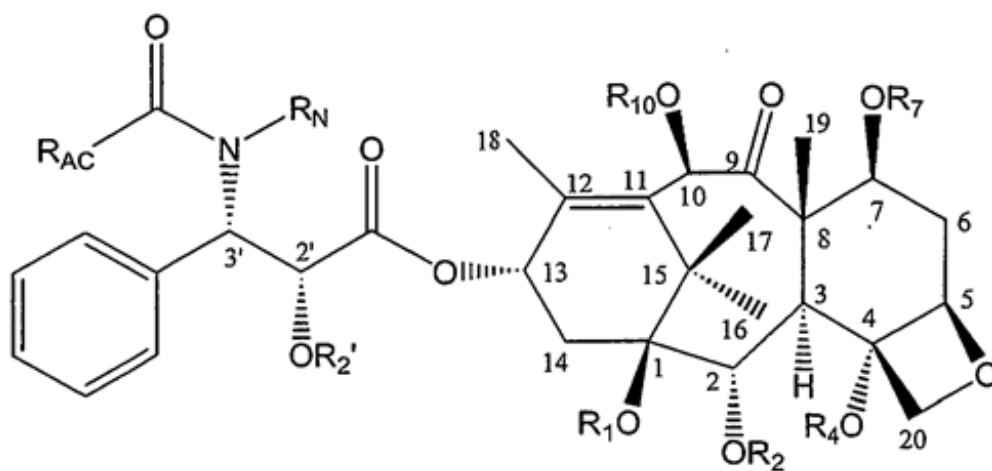
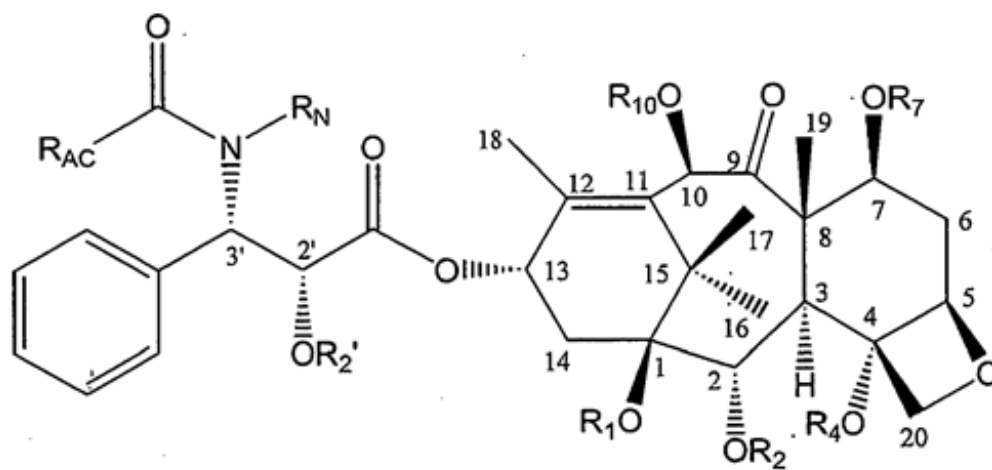
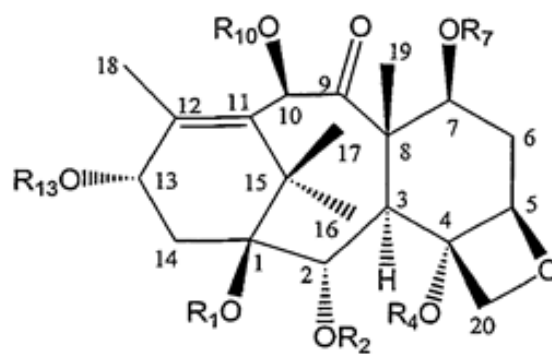


FIGURA 2

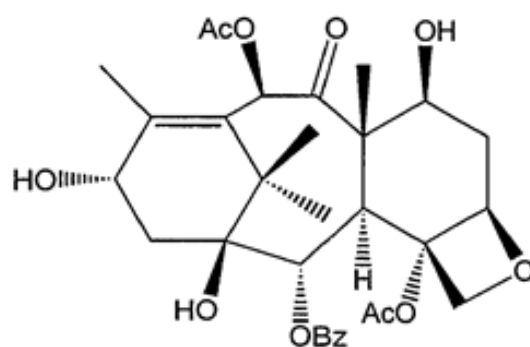




**FIGURA 3**



**FIGURA 4**



**FIGURA 5**

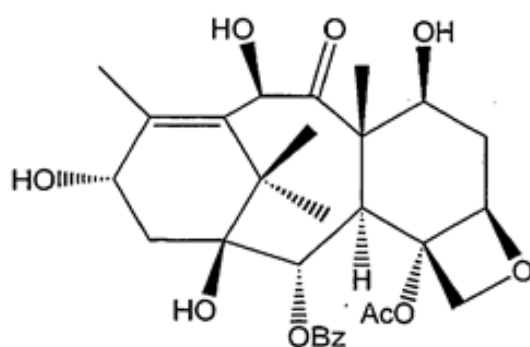


FIGURA 6

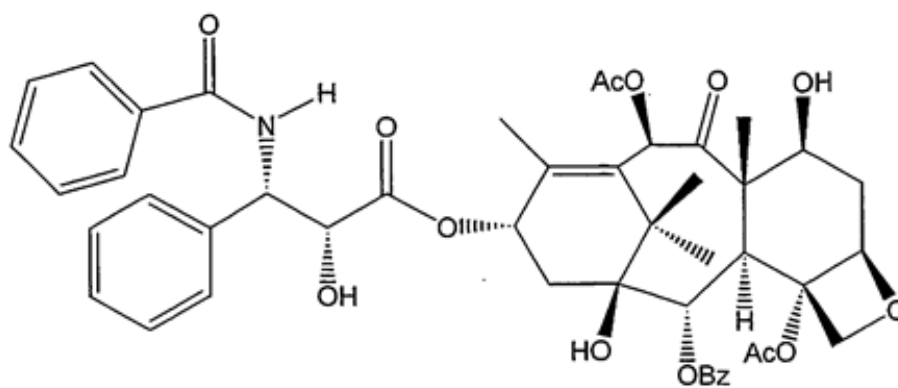


FIGURA 7

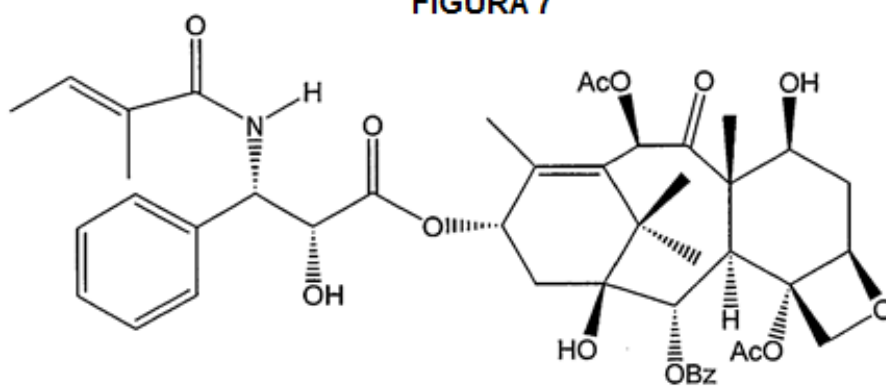
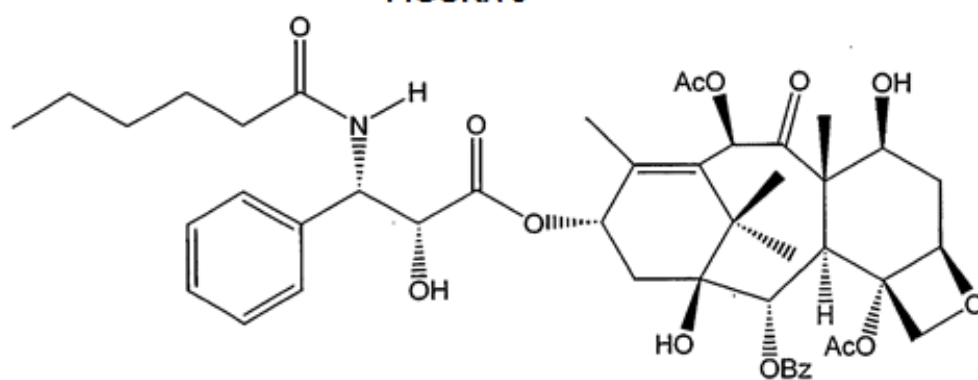
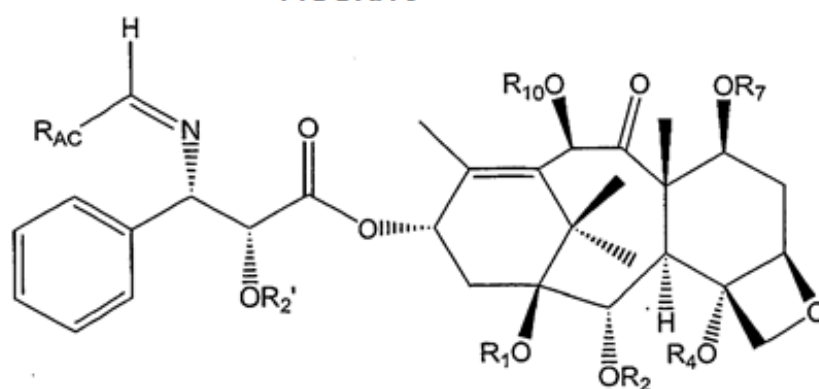


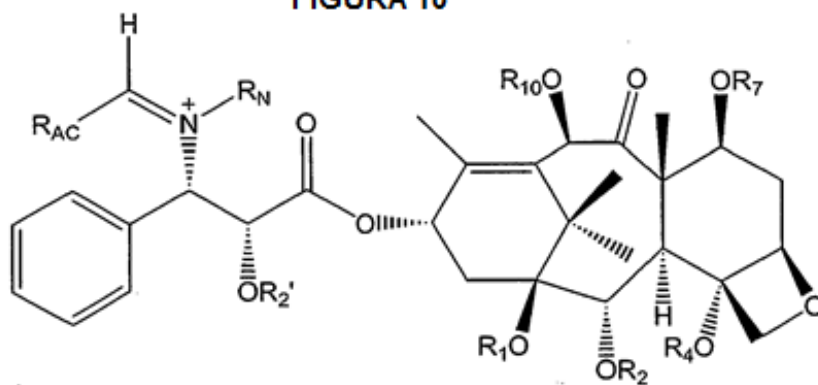
FIGURA 8



**FIGURA 9**



**FIGURA 10**



**FIGURA 11**

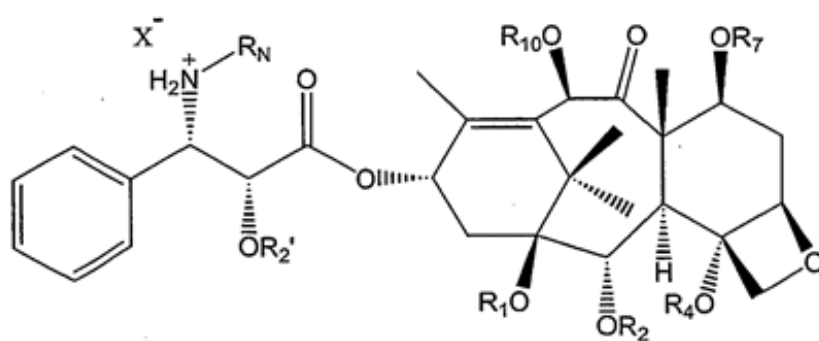


FIGURA 12

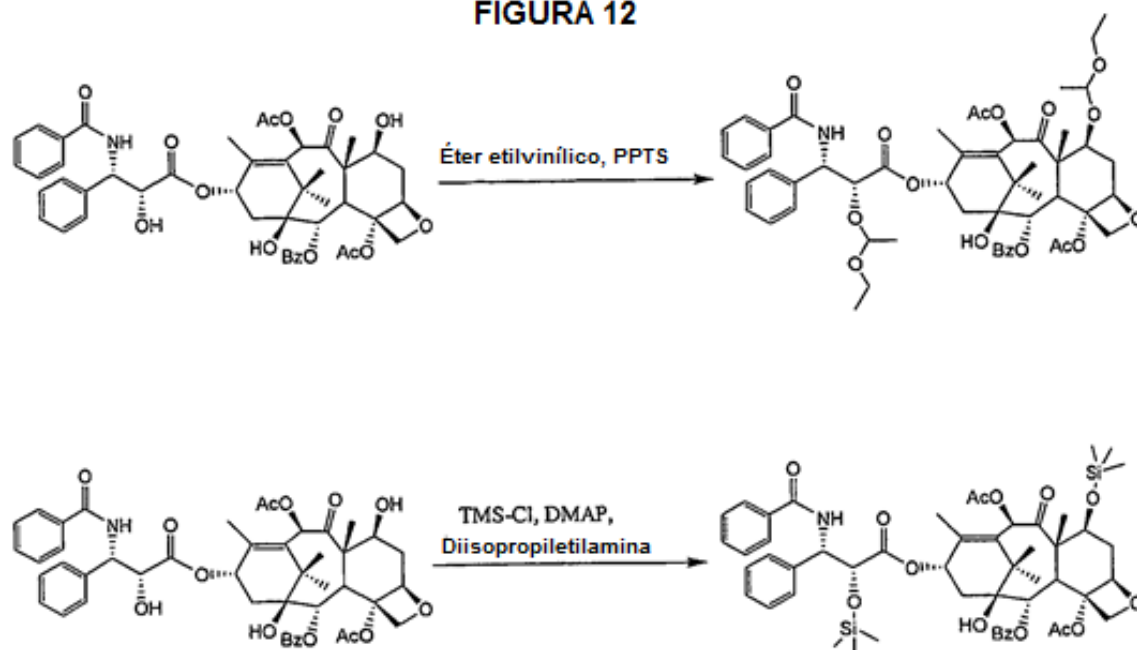


FIGURA 13

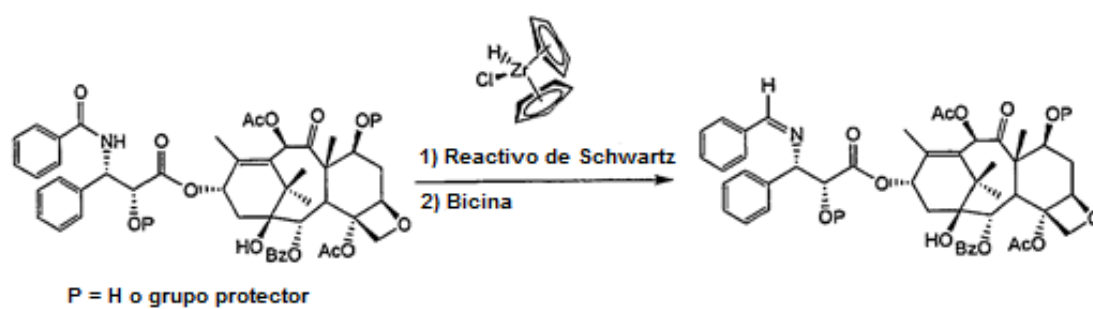


FIGURA 14

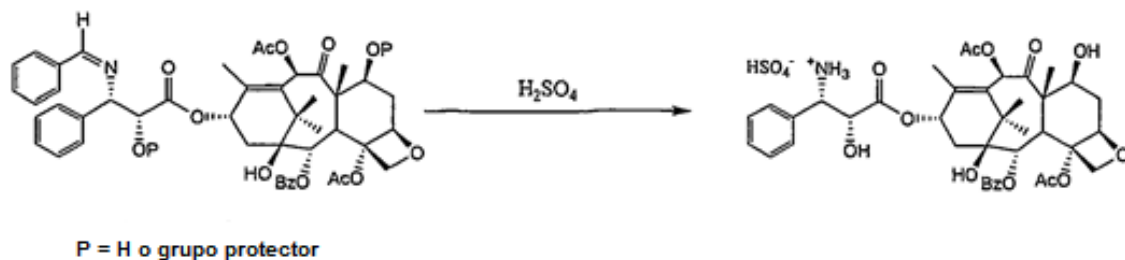
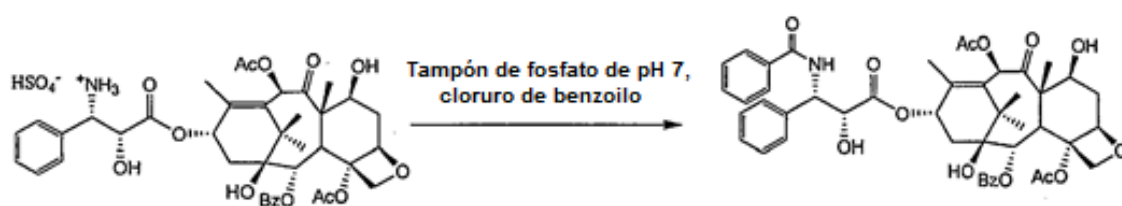
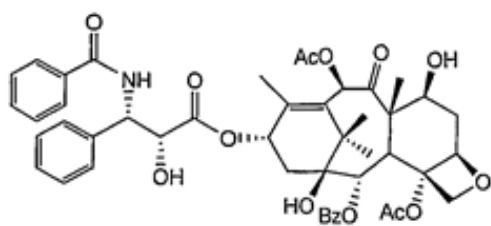


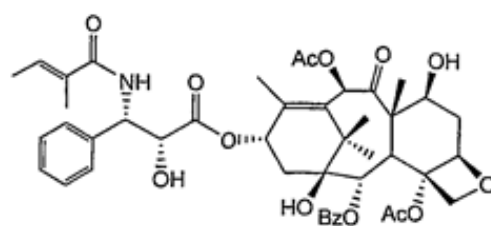
FIGURA 15



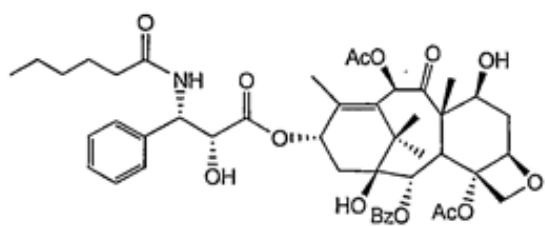
**FIGURA 16**



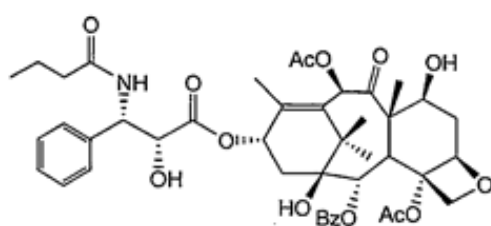
Taxol A  
(Paclitaxel)



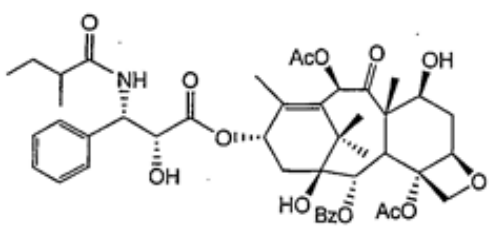
Taxol B  
(Cefalomanina)



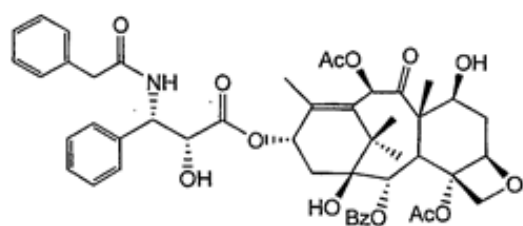
Taxol C



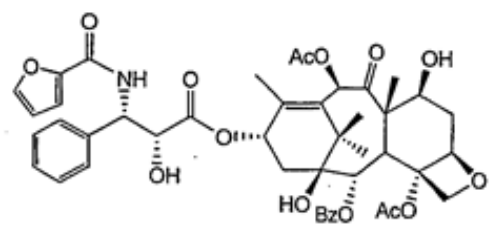
Taxol D



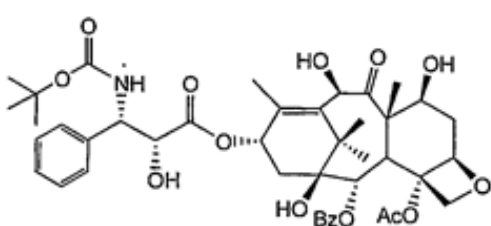
Taxol E



Taxol F

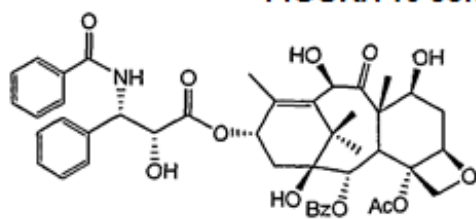


Taxol G

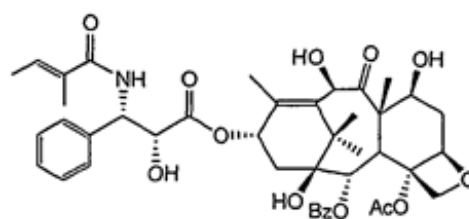


Docetaxel

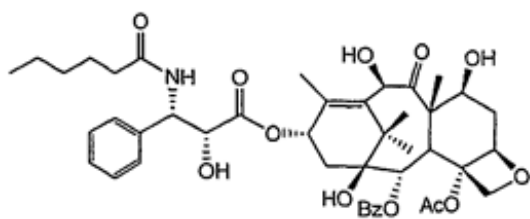
**FIGURA 16 cont.**



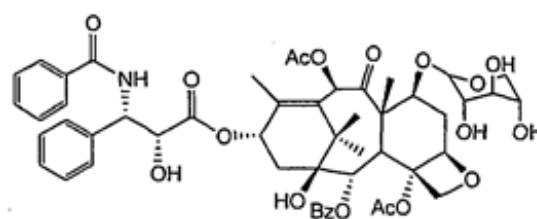
**10-Desacetiltaxol A**



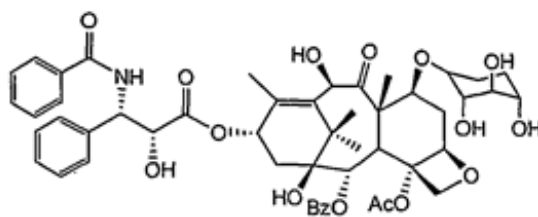
**10-Desacetiltaxol B**



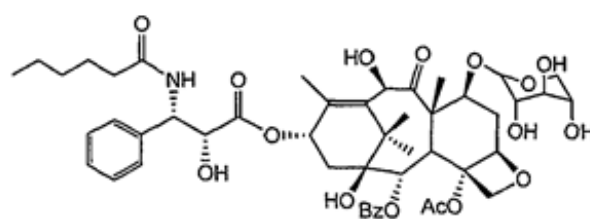
**10-Desacetiltaxol C**



**7-Xilosiltaxol A**

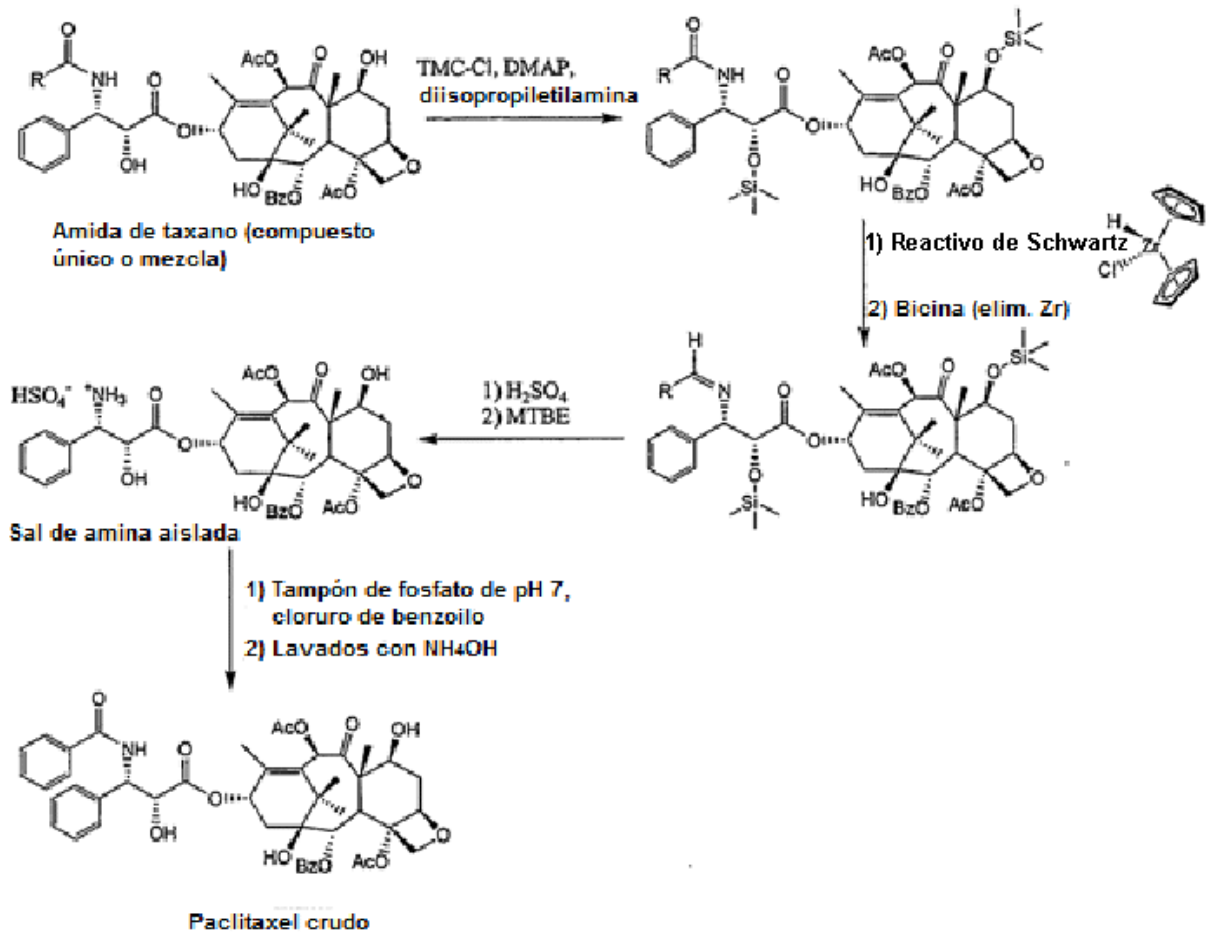


**7-Xilosil, 10-desacetiltaxol A**



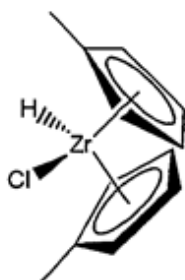
**7-Xilosil, 10-desacetiltaxol C**

**FIGURA 17**

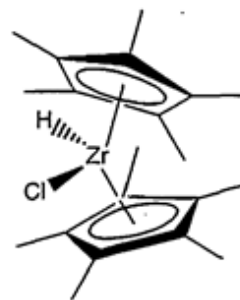




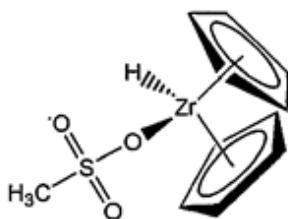
**FIGURA 18**



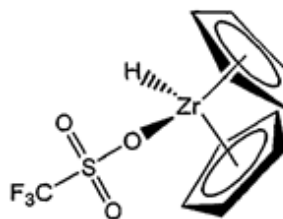
**Hidrocloruro de bis  
(monometilcilopentadienil)circonio**



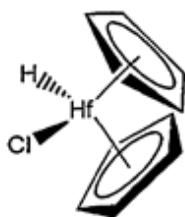
**Hidrocloruro de bis  
(pentametilcilopentadienil)circonio**



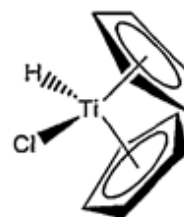
**Hidruro de metilsulfonato de  
bis(ciclopentadienil)circonio**



**Hidruro de triflato de bis  
(clopentadienil)circonio**



**Hidrocloruro de bis  
(ciclopentadienil)hafnio**



**Hidrocloruro de bis  
(ciclopentadienil)titanio**

FIGURA 19 A

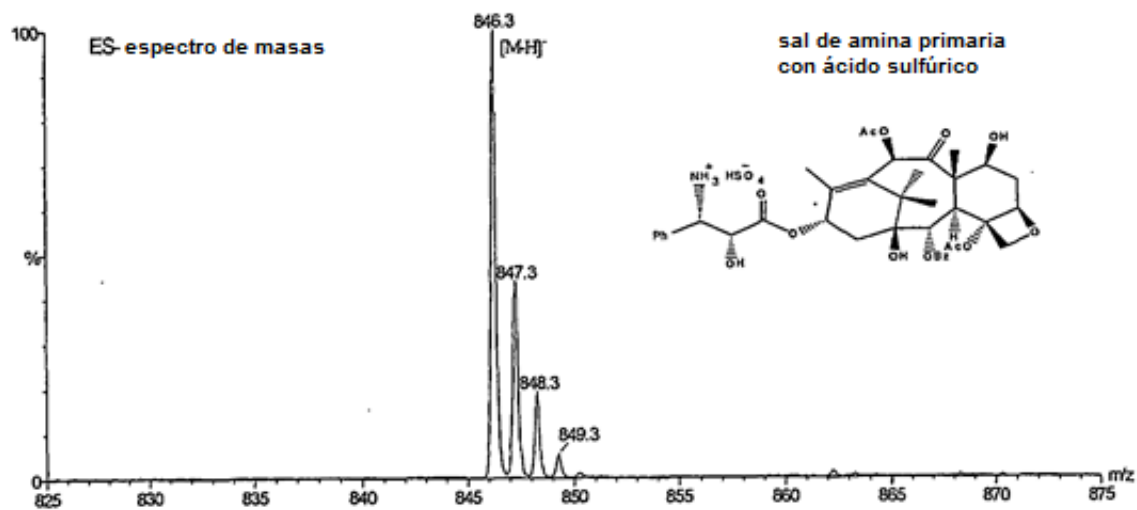


FIGURA 19 B

