

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 603 582**

51 Int. Cl.:

C07K 7/56

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2012 PCT/EP2012/055284**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.10.2012 WO12136498**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2012 E 12712244 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.09.2016 EP 2694531**

54 Título: **Métodos para la fabricación de un agente antifúngico**

30 Prioridad:

04.04.2011 US 201161471218 P

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

28.02.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GUNNES, SØLVI y
HALVORSEN, HARALD**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 603 582 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

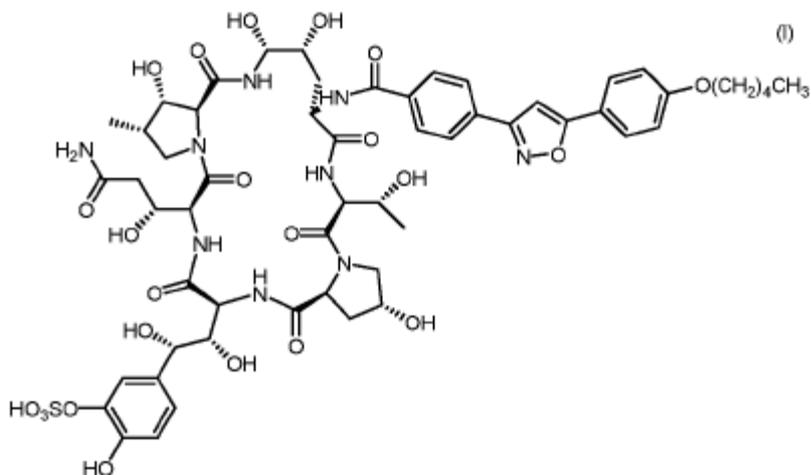
Métodos para la fabricación de un agente antifúngico

Campo de la invención:

La presente invención se refiere a un proceso mejorado para la preparación de la micafungina o sales de la misma.

5 Estado de la técnica:

La micafungina es una equinocandina con actividad antifúngica representada por la fórmula (I):



10 La micafungina también es conocida como pneumocandina A0, 1-[(4*R*,5*R*)-4,5-dihidroxi-*N*2-[4-[5-[4-(pentiloxi)fenil]-3-isoxazolil]benzoil]-*L*-ornitina]-4-[(4*S*)-4-hidroxi-4-[4-hidroxi-3-(sulfooxi)fenil]-*L*-treonina]. La micafungina sódica es más conocida como FK-463. Los números de registro asignados por Chemical Abstracts son 235114-32-6 para la micafungina y 208538-73-2 para la micafungina sódica.

15 La actividad antifúngica de la micafungina se debe a su capacidad para inhibir la 1,3-β-D-glucano sintasa y conduce así a la lisis de células fúngicas. La micafungina es, por lo tanto, útil en el tratamiento de diversas infecciones; Entre otras, infecciones causadas por cepas de, por ejemplo, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Mucor*, *Actifromyces*, *Histoplasma*, *Dermatophyte*, *Malassezia* y *Fusarium*. La micafungina es el ingrediente activo en los fármacos aprobados Mycamine® y Funguard® que se utilizan en el tratamiento y profilaxis de infecciones causadas por *Candida*.

La micafungina es el segundo agente antifúngico aprobado en la serie de equinocandina y ahora se utiliza en todo el mundo en quimioterapia para infecciones fúngicas potencialmente mortales.

20 La micafungina y la preparación de la misma se revela en la Patente de los Estados Unidos No. 6,107,458 concedida para Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd. Un método para preparar la micafungina también se describe en la Tesis General, "Process Development of Micafungin, a Novel Lipopeptide Antifungal Agent" de Ohigashi et al. in Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan, vol. 64, No. 12, Dec. 2006. De acuerdo con los métodos descritos en la técnica anterior, la micafungina se puede obtener a través de FR-901379, un producto natural aislado del hongo
25 *Coleophoma empetri* F-11899. La micafungina se puede producir por desacilación enzimática de FR-901379, seguido por el acoplamiento de la amida del ácido 4-[5-(4-pentiloxi)fenil]isoxazol-3-il] benzoico.

Un método para preparar la micafungina también se revela en Fromtling *et al.*, *supra*. El núcleo del péptido obtenido después de la desacilación de FR-901379 está de acuerdo con Fromtling et al. reaclado con una cadena lateral activada, 1-[4-[5-(4-pentiloxi) fenil]isoxazol-3-il]benzoil]benzotriazol 3-óxido.

30 Diversos métodos para la fabricación de la micafungina sódica también se revelan en Hashimoto et al., The Journal of Antibiotics (2009) 62, 27-35.

Una producción mejorada de la micafungina se describe en US7199248. Este método también comprende una etapa de adición de la cadena lateral de la micafungina aislada, esto es 1-[4-[5-(4-pentiloxi)fenil]isoxazol-3-il]benzoiloxil]-1*H*-1,2,3-benzotriazol al núcleo del péptido de la micafungina desacilado.

Ohigashi et al., *Organic Process Research & Development*, 2005, vol. 9, páginas 179-184, revelaron un proceso de producción industrial de la micafungina optimizado que también implicaba el aislamiento de la cadena lateral de la micafungina activada.

5 Para todos los métodos para preparar la micafungina revelados en la técnica anterior como se ha mencionado anteriormente, es una característica común que todos los métodos conocidos presuponen la separación de la cadena lateral de la micafungina activada antes de la reacción con el núcleo del péptido de la micafungina, esto es FR-901379. Por lo tanto, todos los procesos de la técnica anterior proceden a través de una forma aislada de la cadena lateral de la micafungina activada.

10 Un objeto de la presente invención es proporcionar un método mejorado e industrialmente más eficiente para preparar la micafungina.

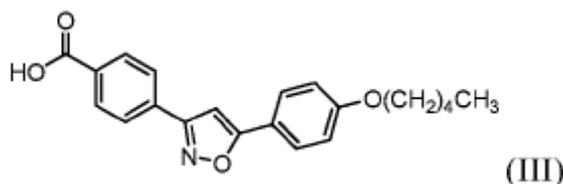
Resumen de la invención

15 El objeto de la presente invención de acuerdo con un aspecto se consigue mediante el uso de un proceso que implica la activación de la cadena lateral de la micafungina y el acoplamiento de dicha cadena lateral de la micafungina con el núcleo del péptido de la micafungina en un procedimiento de un solo recipiente. Es decir, el proceso de la presente invención implica la acilación del núcleo del péptido de la micafungina sin aislar la cadena lateral de la micafungina activada de su mezcla de reacción correspondiente. En otro aspecto, la invención implica la activación y el acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina con el péptido del núcleo de la micafungina en una mezcla de reacción. Por lo tanto, se proporciona un método, en donde no es necesaria la etapa de aislar la cadena lateral de la micafungina activada.

20 El acoplamiento de un compuesto ácido como la cadena lateral de la micafungina con un núcleo peptídico, como núcleo de la micafungina, puede dar como resultado diversos subproductos no deseados. Entre otras cosas, se hace referencia a Ohigashi *et al*, 2006, supra, inter alia, discutiendo la necesidad de supresión de las reacciones secundarias en la reacción de acilación debido a la presencia de una multitud de grupos funcionales en el núcleo de la micafungina. Ohigashi et al. 2006, además, enseñan que existe una necesidad de condiciones de purificación
25 óptimas para los intermedios del proceso. A pesar de las enseñanzas de la técnica anterior, los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que el acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina puede activarse y acoplarse directamente al núcleo de la micafungina sin necesidad de separar una etapa de separación aislando la cadena lateral de la micafungina activada y en donde el acoplamiento satisfactorio con una generación de impurezas mínima. El método de la presente invención proporciona ventajas comparadas con el método de la técnica anterior
30 que presupone la separación de la cadena lateral de la micafungina activada. Por ejemplo, un proceso de un solo recipiente es más eficiente desde un punto de vista industrial con respecto al tiempo de proceso más corto debido a la omisión de una etapa de aislamiento. Además, con una mejor utilización de la cadena lateral de la micafungina activada, no se perderá ningún producto debido a una etapa de aislamiento/purificación dando como resultado un rendimiento globalmente mejor.

35 Más específicamente, la presente invención proporciona un proceso de un solo recipiente para la fabricación de la micafungina o una sal del mismo que comprende el siguiente orden de etapas:

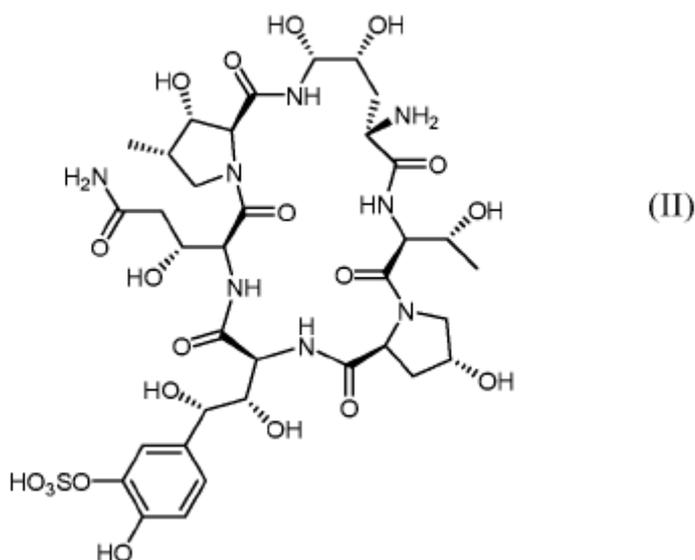
a) mezclar un compuesto de la fórmula (III)



40 o una sal del mismo, y un aditivo de acoplamiento seleccionado del grupo que consiste en hidroxibenzotriazoles y etil-2 - ciano - 2- (hidroxiimino) acetato en un solvente;

b) adicionar un reactivo de acoplamiento a la mezcla obtenida en la etapa a), en donde dicho reactivo de acoplamiento es una carbodiimida;

c) adicionar una base y un compuesto de fórmula (II)



o una sal del mismo a la mezcla obtenida en la etapa b)

De acuerdo con una realización de la presente invención, el aditivo de acoplamiento es 1-hidroxi-benzotriazol.

De acuerdo con otra realización de la invención, el aditivo de acoplamiento es 1-hidroxi-7-azabenzotriazol

- 5 De acuerdo con incluso otra realización de la invención, el aditivo de acoplamiento es etil-2-ciano (hidroxiimino) acetato.

De acuerdo con otra realización de la invención, el reactivo de acoplamiento es 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) o una sal de la misma, preferiblemente la sal clorhidrato de EDC.

De acuerdo con otra realización de la invención, el solvente utilizado en la etapa a) anterior es DMF.

- 10 De acuerdo con incluso otra realización de la invención, la base utilizada en la etapa c) de la presente invención es DIPEA.

De acuerdo con incluso otra realización de la invención, la base se adiciona a la mezcla obtenida en la etapa b) antes de adicionar el compuesto de fórmula II.

- 15 De acuerdo con incluso otra realización de la invención, la base se adiciona a la mezcla obtenida en la etapa b) después de adicionar el compuesto de fórmula II.

De acuerdo con otra realización adicional de la invención, se precipita la sal de la micafungina obtenida en la etapa c).

De acuerdo con otra realización adicional, se precipita la sal de la micafungina obtenida en la etapa c), utilizando un antisolvente.

- 20 De acuerdo con otra realización adicional de la invención, se precipita la sal de la micafungina obtenida en la etapa c) con acetato de etilo.

De acuerdo con otra realización adicional de la invención, se precipita la sal de la micafungina obtenida en la etapa c) después de inactivar la reacción mediante la adición de metanol y acetona.

Breve descripción de las figuras

- 25 La figura 1 es un esquema de reacción que ilustra la reacción como se describe en el Ejemplo 1, esto es la reacción separada de la cadena lateral de la micafungina y un aditivo de acoplamiento representado HOBt.

La figura 2 es un esquema de reacción que ilustra la reacción como se describe en el Ejemplo 2, esto es, la reacción separada del núcleo del péptido de la micafungina y el producto de la reacción mostrado en la figura 1.

La figura 3 es un esquema de reacción que ilustra las reacciones descritas en el Ejemplo 3 y el Ejemplo 4, esto es, cuando la activación de la cadena lateral de la micafungina y la reacción con el núcleo del péptido de la micafungina se realiza en un proceso de un solo recipiente de acuerdo con la presente invención.

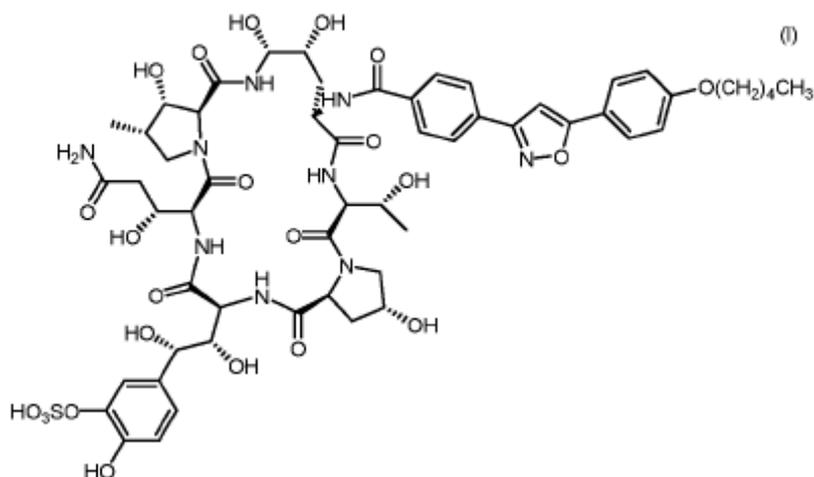
La figura 4a representa un cromatograma del producto del proceso escalonado revelado en el Ejemplo 2.

5 La figura 4b representa un cromatograma del producto del proceso de un solo recipiente revelado en el Ejemplo 3.

La figura 4c representa un cromatograma del producto del proceso de un solo recipiente revelado en el Ejemplo 4.

Descripción detallada de la invención

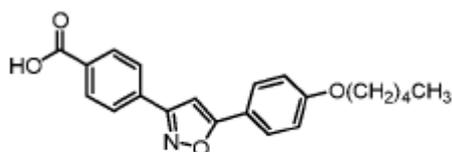
De acuerdo con la presente invención, la micafungina es cualquier compuesto que comprenda la estructura



10 o las sales del mismo. La expresión "sales del mismo" pretende abarcar cualquier sal de la micafungina que pueda ser útil para el propósito de preparación y/o purificación de la micafungina o cualquiera de las sales farmacéuticamente aceptables de la micafungina útil como ingrediente activo en una formulación medicinal. A este respecto, una lista no limitativa de sales de la micafungina es la sal de sodio, la sal de potasio, la sal de diisopropiletilamina (DIPEA), etc.

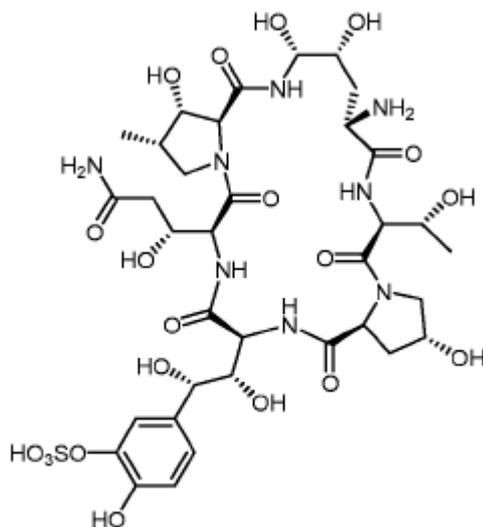
15 De acuerdo con la presente invención, la micafungina se prepara en un solo recipiente mediante en primer lugar: a) mezcla de la cadena lateral de la micafungina con un aditivo de acoplamiento, b) a continuación, adición de un reactivo de acoplamiento a la mezcla de la etapa a), y c) finalmente adición a esta mezcla una base y un compuesto de fórmula II como se ha descrito anteriormente, esto es, el núcleo del péptido de la micafungina.

20 La cadena lateral de la micafungina en forma ácida es el compuesto con el nombre químico ácido 4- [5-(4-pentiloxi) fenil] -isoxazol-3-il] benzoico. El número de registro asignado por Chemical abstracts es 179162-55-1 y el nombre asignado por Fujisawa es FR-195752. Este compuesto, que en este documento también se denomina cadena lateral de la micafungina, en forma ácida, se puede representar por la fórmula III.



III

El núcleo del péptido de la micafungina está representado por la fórmula II.



II

El término "Núcleo de péptido de la micafungina", como se utiliza en este documento, pretende abarcar también las sales del compuesto de fórmula II. Por ejemplo, la sal sódica del compuesto anterior también se conoce como FR-179642 (Fromtling et al. in *Drugs of the Future*, 1998, Vol 23, No 12, página 1273-1278).

5 En la micafungina, la cadena lateral de la micafungina está acoplada al núcleo del péptido de la micafungina por un enlace amida. En la técnica anterior se revelan diversos métodos para la formación de enlaces amida, es decir la reacción de un ácido carboxílico y una amina, y se utilizan en la síntesis de péptidos. Para la mayoría, la formación de un enlace amida requiere el uso de la activación del ácido carboxílico utilizando un reactivo de acoplamiento y un aditivo de acoplamiento, véase Madeleine M. Joullie and Kenneth M. Lassen, in *Arkivoc*, 2010 (viii), 189-250 and Eric Valeur and Mark Bradley, 2009, *Chem. Soc. Rev.*, 38, 606-631. También hay ejemplos en los que se preparan estructuras peptídicas muy sencillas por formación de enlaces amida en un procedimiento de un solo recipiente, véase Pu et al., 2009, *Organic Process Research & Development*, 13, 321-314, en donde un método para la preparación de péptidos en una mezcla de etanol acuosa.

15 Sin embargo, en ninguna parte de la técnica anterior se encuentra un procedimiento de un solo recipiente para el acoplamiento de un ácido carboxílico con un grupo amina de una molécula compleja tal como el núcleo del péptido de la micafungina sugerido.

20 Como se utiliza en este documento, el término "núcleo del péptido de la micafungina" o "núcleo de la micafungina" es el compuesto resultante de la desacilación enzimática de la unidad estructural palmitoilo de FR-901379, representado por la fórmula II representada anteriormente. Fujisawa asignó el nombre FR-179642 para el núcleo del péptido de la micafungina y el nombre FR-133303 para la sal sódica del núcleo del péptido de la micafungina. El número de registro asignado para este compuesto por Chemical Abstracts es 168110-44-9. Como se utiliza en este documento, el núcleo del péptido de la micafungina pretende abarcar este compuesto, así como sales de este compuesto, por ejemplo, la sal sódica FR-133303.

25 La primera etapa del método de un solo recipiente de acuerdo con la presente invención es la mezcla de la cadena lateral de la micafungina y un aditivo de acoplamiento. Después de dicha mezcla, se adiciona un reactivo de acoplamiento a la mezcla que da como resultado la activación de la cadena lateral de la micafungina y la reacción con el aditivo de reacción.

30 El término "aditivo de acoplamiento" como se utiliza en este documento representa cualquier compuesto que potencie la reactividad de la cadena lateral de la micafungina activada y facilita el acoplamiento a la amina primaria del núcleo del péptido de la micafungina. La ventaja de usar un aditivo de acoplamiento es que reduce la formación de subproductos.

35 Existe una amplia gama de aditivos de acoplamiento (véase *Chem. Soc. Rev.*, 2009, vol. 38, página 606-631 de Valeur and Bradley). El término hidroxibenzotriazoles pretende abarcar los hidroxibenzotriazoles, los hidroxazabenzotriazoles y sus derivados sustituidos. Por ejemplo, 1-hidroxibenzotriazol, 1-hidroxí-7-azabenzotriazol, 6-cloro-1-hidroxibenzotriazol, etc.

De acuerdo con el método de la presente invención, se ha demostrado que el 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) y el acetato 2-ciano-2-(hidroxiimino) de etilo (Oxyma Pure®, CAS no 3849-21-6, en lo sucesivo Oxima) son útiles. El uso de dichos aditivos de acoplamiento da como resultado una baja formación de impurezas y altos rendimientos de la micafungina deseada.

- 5 El término "reactivos de acoplamiento" como se utiliza de acuerdo con la presente invención es cualquier compuesto capaz de activar el ácido carboxílico de la cadena lateral de la micafungina, en presencia del aditivo de acoplamiento, y facilitar así su reacción con la amina de la estructura central de la micafungina.

- 10 Como un reactivo de acoplamiento de acuerdo con la presente invención, un derivado de carbodiimida, representado por la siguiente fórmula: $Ra-N=C=N-Rb$ en donde Ra y Rb son iguales o diferentes y cada uno representa independientemente un grupo alifático, heteroalifático, carbocíclico o un grupo heterocíclico, se pueden utilizar, todos dichos grupos opcionalmente sustituidos. De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se utiliza 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) como reactivo de acoplamiento. De acuerdo con un aspecto preferido del presente método, la sal clorhidrato de EDC se utiliza como un reactivo de acoplamiento.

- 15 Se conoce en la técnica anterior que las carbodiimidias se pueden utilizar como reactivos de acoplamiento, véase por ejemplo Valeur and Bradley, Chem. Soc. Rev junio de 2008. El oxígeno cargado negativamente de la cadena lateral de la micafungina idealmente actuará como un nucleófilo, atacando el carbono central de los grupos diimida. El método de la presente invención se ilustra a continuación utilizando oxima como un aditivo de acoplamiento y EDC como un reactivo de acoplamiento, véase el esquema 1.

- 20 Los solventes apropiados para la reacción en un solo recipiente comprenden solventes orgánicos apróticos polares. Una lista no limitante de solventes apropiados incluye dimetilformamida (DMF), dimetilacetamida (DMA), dimetilsulfóxido (DMSO), etc., y mezclas de los mismos.

Las bases apropiadas para la reacción en un solo recipiente comprenden bases orgánicas o inorgánicas capaces de protonar el grupo amina en el núcleo del péptido de la micafungina. Una lista no limitante de bases apropiadas incluye DIPEA, $NaHCO_3$, Na_2CO_3 etc.

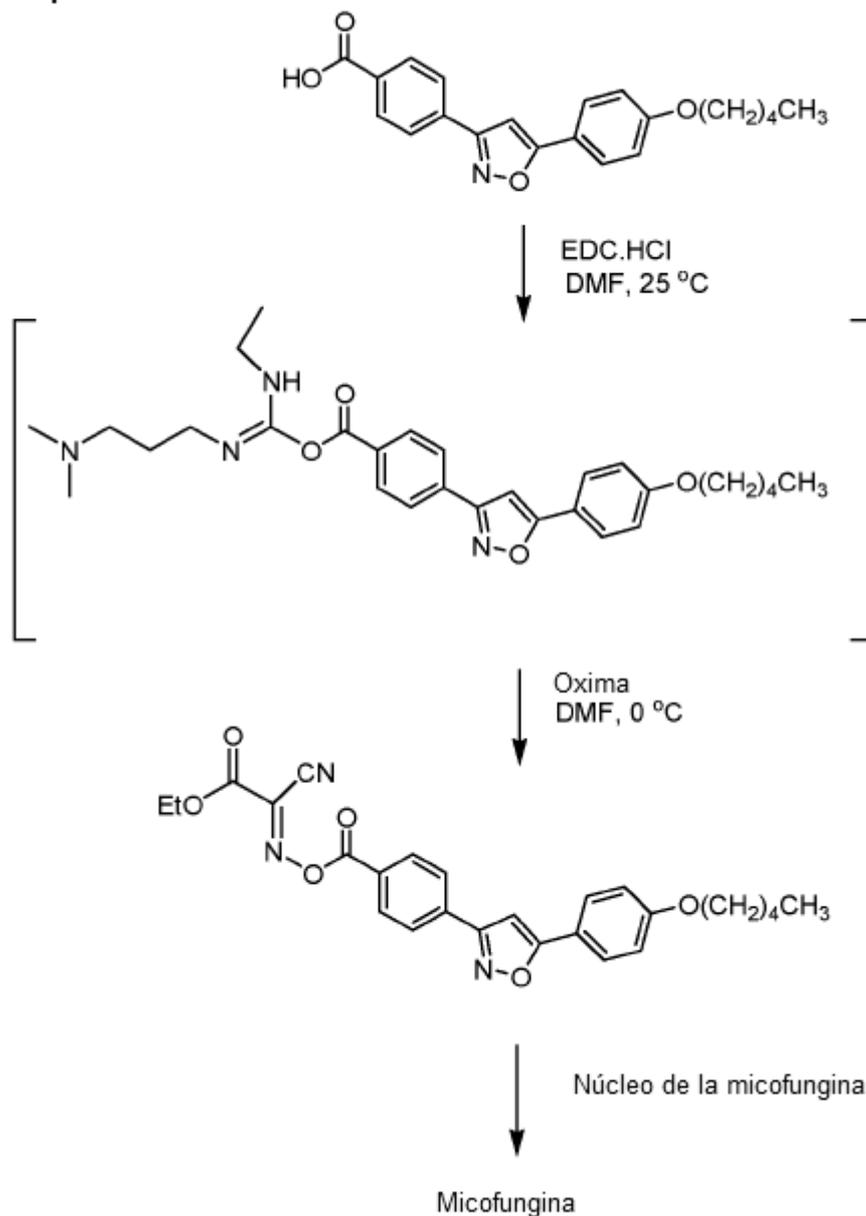
- 25 Las temperaturas apropiadas para la activación de la cadena lateral de la micafungina son desde 0°C a 40°C, preferiblemente de 20°C–30°C.

Las temperaturas apropiadas para el acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina con el núcleo del péptido de la micafungina son de -5°C a 10°C, preferiblemente a 0°C. También se prefiere alcanzar dicha temperatura antes de la adición de la base.

- 30 El tiempo de reacción total apropiado para el procedimiento de un solo recipiente es de aproximadamente 4 h a 20 h. Preferiblemente, 2-4 h para la activación de la cadena lateral de la micafungina y 90 minutos a 2 h para el acoplamiento de la micafungina activada al núcleo del péptido de la micafungina.

Es importante que el reactivo de acoplamiento se adicione después de la mezcla del aditivo de acoplamiento y la cadena lateral de la micafungina.

- 35 El esquema de reacción 1, a continuación, ilustra la activación de la cadena lateral de la micafungina y la reacción de la cadena lateral de la micafungina activada con el núcleo del péptido de la micafungina que ocurre en el proceso de un solo recipiente de la presente invención.

Esquema de reacción 1:

Después del acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina con el núcleo del péptido de la micafungina, el producto de la misma se puede precipitar como una sal de la micafungina. El término "sal de la micafungina" puede ser a este respecto cualquier sal farmacéuticamente activa o una sal útil para purificación adicional de la micafungina. En este último caso, la sal de la micafungina puede ser, por ejemplo, la sal de N,N-diisopropil etilamina (DIPEA). Cualquier sal farmacéuticamente aceptable de la micafungina se puede preparar adicionalmente utilizando un producto de la micafungina preparado de acuerdo con la presente invención. Las sales farmacéuticamente aceptables útiles se pueden seleccionar del grupo que consiste en la sal de sodio y la sal de potasio.

La micafungina preparada de acuerdo con la presente invención puede además purificarse opcionalmente utilizando métodos bien conocidos para el experto en el arte. De acuerdo con una realización de la presente invención, el producto de la etapa c) de la presente invención se transforma en la sal DIPEA de la micafungina y después se transfiere a una sal farmacéuticamente aceptable de la micafungina, tal como la sal sódica de la micafungina y se purifica adicionalmente por cromatografía

La micafungina que se prepara de acuerdo con la presente invención se puede utilizar en la fabricación de una composición farmacéutica útil para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas en mamíferos, incluyendo seres humanos y animales. Dicha composición farmacéutica se puede preparar utilizando técnicas

estándar bien conocidas en la técnica. La composición farmacéutica también se puede someter a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización.

5 Por ejemplo, una composición farmacéutica se puede preparar a partir de una unidad de dosificación que contiene una cantidad dada de la micafungina purificada, sola o en combinación con otro ingrediente activo, y junto con excipientes farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a uno o más materiales de formulación apropiados para llevar a cabo o potenciar el suministro de la micafungina contenida en la composición farmacéutica a los pacientes que la necesitan. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" también puede estar representado por la presencia de adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, soluciones reguladoras y similares. La lactosa es un ejemplo de un estabilizante apropiado para la micafungina, especialmente en forma liofilizada. El experto será muy consciente de los diversos excipientes farmacéuticos disponibles para la preparación de formulaciones farmacéuticas que comprenden compuestos antifúngicos como la micafungina. La composición de acuerdo con la presente invención se puede preparar para permitir la administración parenteral, por ejemplo, administración intravenosa.

15 El paciente que necesita una composición de acuerdo con la presente invención se puede administrar con una dosis apropiada de la micafungina. Una dosis diaria apropiada para un ser humano o mamífero puede variar ampliamente dependiendo del estado del paciente y de otros factores. La dosis diaria se puede determinar por el experto en la técnica utilizando métodos rutinarios y que se usan comúnmente para el tratamiento y prevención de infecciones cuando se administra Mycamine®.

20 A partir de los siguientes ejemplos, un experto reconocerá las muchas ventajas de la presente invención. Además, los experimentos y resultados a continuación deben entenderse que sirven solamente como ejemplos no limitativos.

Ejemplo 1 Fabricación de la cadena lateral de la micafungina activada

25 Se suspendieron FR-195752 (10.0 g) y HOBt (5.2 g) (que contenía 12% de agua) en DMF (142 mL) y se agitaron durante 5 min. Se adicionó EDC HCl (6.6 g) a la suspensión. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a 25°C. La mezcla de reacción se vertió en 426 mL de acetonitrilo (ACN) y se agitó durante 18 h a 25°C. La suspensión blanca se filtró y se secó sobre el filtro, durante 2 h. El rendimiento aislado fue 12.6 g (95%) con pureza por HPLC: 98.0%

Ejemplo 2 Acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina activada con el núcleo del péptido de la micafungina.

30 Se suspendió FR-179642 (10.0 g) en DMF seco (200 mL) agitando a 25°C, durante 10 min. La mezcla se enfrió a 0°C. Se añadieron cadena lateral de la micafungina (4.50 g) y el ácido activado descrito en el Ejemplo 1, seguido de DIPEA (2.25 mL). Todo el material se disolvió después de 5 min, y la mezcla se agitó durante 90 min a 0°C. Se adicionó una mezcla de metanol (50 mL) y acetona (100 mL), y se elevó la temperatura a 10°C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 60 min. Se adicionó lentamente acetato de etilo (1000 mL) durante 2.5 h. La suspensión resultante se agitó durante 15 h, y el producto se recogió por filtración a presión utilizando el filtro de presión de vidrio de 1000 mL Aldrich equipado con un disco de filtro sinterizado de vidrio grueso-fino. La torta de filtración se lavó con acetato de etilo (1500 mL) y se secó en el filtro durante 15 minutos. El secado adicional en una estufa a vacío a 25°C durante 3 horas proporcionó 12.8 g (86%) de un sólido de color blanco.

Ejemplo 3: Activación y acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina con el núcleo del péptido de la micafungina

40 Se suspendieron FR-195752 (394 mg) e hidrato de HOBt (197 mg) en DMF (15 mL) a 25°C. Se adicionó EDC HCl (166 mg) y la mezcla se agitó a 25°C, durante 4 h. La mezcla se enfrió a 0°C y se adicionó DIPEA (0.223 mL) seguido de FR-179642 (1.00 g). La mezcla se agitó durante 90 minutos a 0°C. Se adicionó una mezcla de metanol (2.5 mL) y acetona (5 mL), y la mezcla se calentó a 10°C y se agitó durante 60 min. Se adicionó acetato de etilo (100 mL) durante 30 min, y la suspensión resultante se agitó durante 16 h a 10°C. El producto sólido se recogió por filtración, se lavó con acetato de etilo (150 mL) y se secó en el filtro durante 15 min. El secado adicional en una vitrina de vacío a 25°C durante 2 h proporcionó 1.47 g (98% de rendimiento) de un sólido de color blanco. Pureza por HPLC 96.6%

Ejemplo 4: Activación y acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina con el núcleo del péptido de la micafungina

50 Se suspendieron FR-195752 (2.06 g) y oxima (834 mg) en DMF (60 mL) a 25°C. Se adicionó EDC HCl (1.07 g) y la mezcla se agitó a 25°C durante 2 h. La mezcla de reacción se convirtió en una solución de color amarillo brillante. La solución amarilla se enfrió a 0°C y se adicionó DIPEA (1.1 mL) seguido de FR-179642 (5.00 g). La mezcla se agitó durante 90 minutos a 0°C. Se adicionó una mezcla de metanol (15 mL) y acetona (30 mL), y la mezcla se calentó a 10°C y se agitó durante 60 min. Se adicionó acetato de etilo (300 mL) durante 30 min, y la suspensión resultante se agitó durante 20 h a 10°C. El producto sólido se recogió por filtración, se lavó con acetato de etilo (100 mL) y se secó en el filtro durante 15 min. El secado adicional en la vitrina de vacío a 25°C durante 2 h proporcionó: 6.68 g (rendimiento 90%) de un sólido de color blanco crema.

Ejemplo 5: Comparación de los cromatogramas de los Ejemplos 2-4.

Los cromatogramas de HPLC de los productos en bruto de los Ejemplos 2-4 se analizaron por HPLC (cromatografía de fase reversa). La Tabla 1 muestra los resultados de los cromatogramas de HPLC comparando los 3 procesos diferentes (véase Figura 4a-4c). El Ejemplo 2 es proceso en etapas y los Ejemplos 3 y 4 son los procedimientos de un solo recipiente que utilizan HOBt y oxima como aditivos de acoplamiento, respectivamente. La oxima no está presente en el cromatograma en el producto en bruto. En la mezcla de reacción aparece la oxima a 8.5 min.

Tabla 1: Cromatograma de HPLC de los productos en bruto aislados de los Ejemplos 2-4.

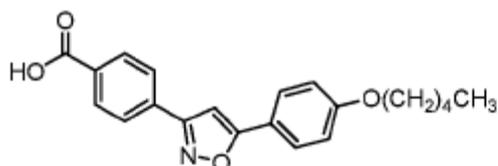
	RRT 0.26	RRT 0.42	RRT 0.60	RRT 1	RRT 1.31	RRT 1.35	RRT 1.39
	FR-179642	HOBt	Oxima	Micafungina	Impureza	Impureza	Impureza
Ejemplo 2	0.27%	0.59%	-	96.67%		0.06%	
Ejemplo 3	0.07%	0.72%	-	96.62%		0.12%	
Ejemplo 4	0.16%	-	-	98.00%	0.10%	0.14%	0.12%

Los procesos 3 y 4 son más eficaces puesto que se utiliza menos solvente y se reducen los tiempos de reacción, ya que se evita el aislamiento del ácido activado. Los rendimientos en peso son significativamente mejores en los procedimientos de un solo recipiente, que son 98% y 95% en los Ejemplos 3 y 4 respectivamente, en comparación con sólo el 82% en el método de la técnica anterior. Como se ve por los ejemplos, el método de un solo recipiente de acuerdo con la presente solicitud permite la producción de la micafungina tan pura como los métodos en etapas de la técnica anterior, pero con mejor rendimiento y aproximadamente la misma pureza del producto en bruto como se ve en las figuras 4a-c.

Reivindicaciones

1. Un proceso de un solo recipiente para la fabricación de la micafungina o una sal del mismo que comprende el siguiente orden de etapas:

a) mezclar un compuesto de la fórmula (III)



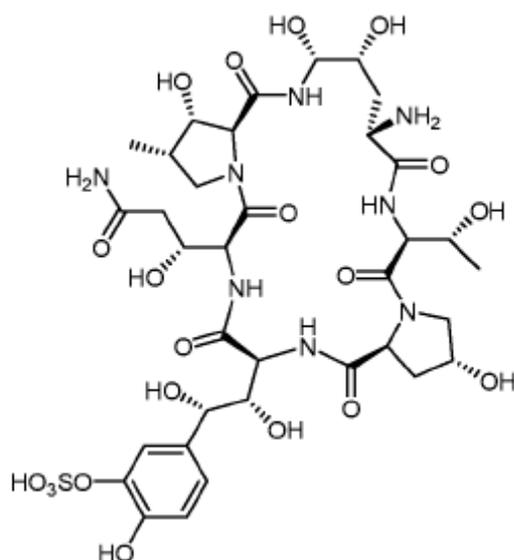
(III)

5

o una sal del mismo, y un aditivo de acoplamiento seleccionado del grupo que consiste en hidroxibenzotriazoles y etil-2-ciano-2-(hidroxiimino)acetato en un solvente;

b) adicionar un reactivo de acoplamiento a la mezcla obtenida en la etapa a), en donde dicho reactivo de acoplamiento es una carbodiimida;

10 c) adicionar una base y un compuesto de fórmula (II)



(II)

o una sal del mismo a la mezcla obtenida en la etapa b).

2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el aditivo de acoplamiento es 1-hidroxi-benzotriazol.

3. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el aditivo de acoplamiento es 1-hidroxi-7-azabenzotriazol

15 4. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el aditivo de acoplamiento es etil-2-ciano(hidroxiimino)acetato.

5. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el reactivo de acoplamiento es 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) o una sal de la misma.

6. Proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el reactivo de acoplamiento es la sal clorhidrato de EDC.

20 7. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el solvente utilizado en la etapa a) es DMF.

8. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la base utilizada en la etapa c) es DIPEA.

9. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la base se adiciona a la mezcla obtenida en la etapa b) antes de adicionar el compuesto de fórmula II.
10. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la base se adiciona a la mezcla obtenida en la etapa b) después de adicionar el compuesto de fórmula II.
- 5 11. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde la sal de la micafungina obtenida en la etapa c) se precipita.
12. Proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la sal de la micafungina obtenida en la etapa c) se precipita utilizando un antisolvente.
13. Proceso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el antisolvente es acetato de etilo.
- 10 14. Proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la sal de la micafungina obtenida en la etapa c) se precipita después de inactivar la reacción mediante la adición de metanol y acetona.

Figura 1

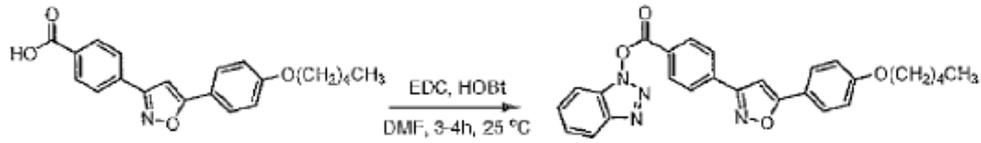


Figura 2

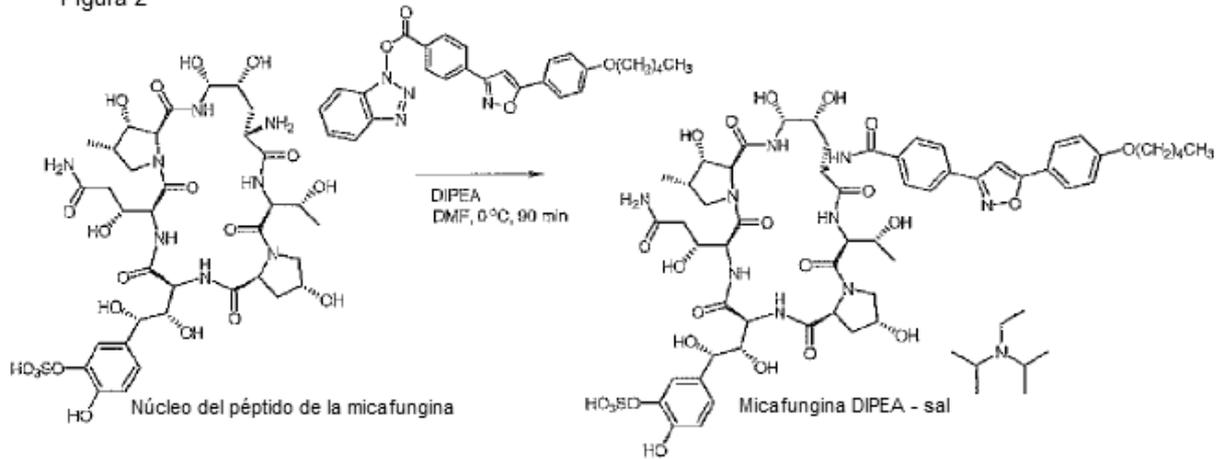
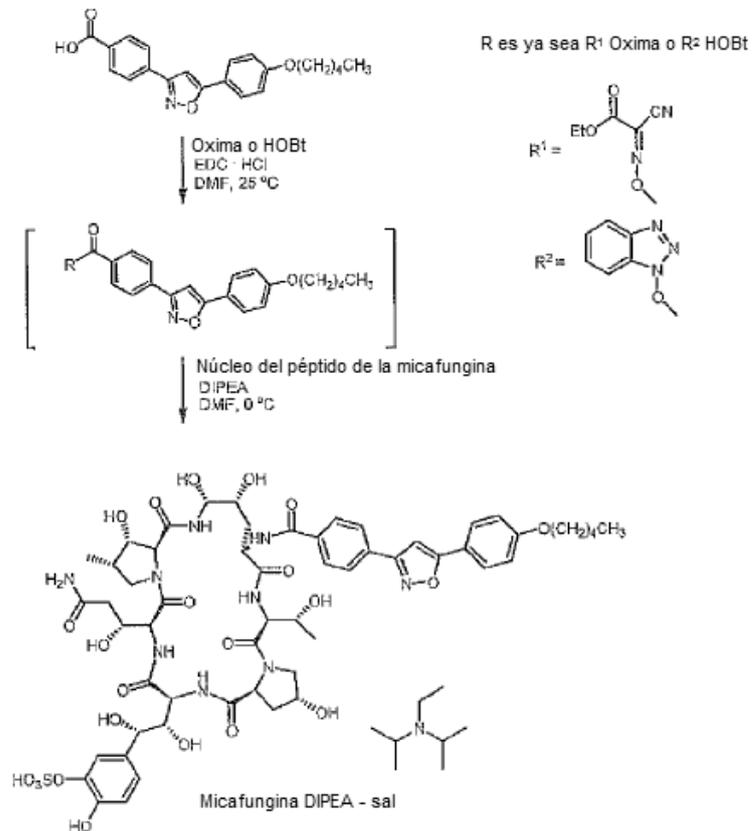


Figura 3



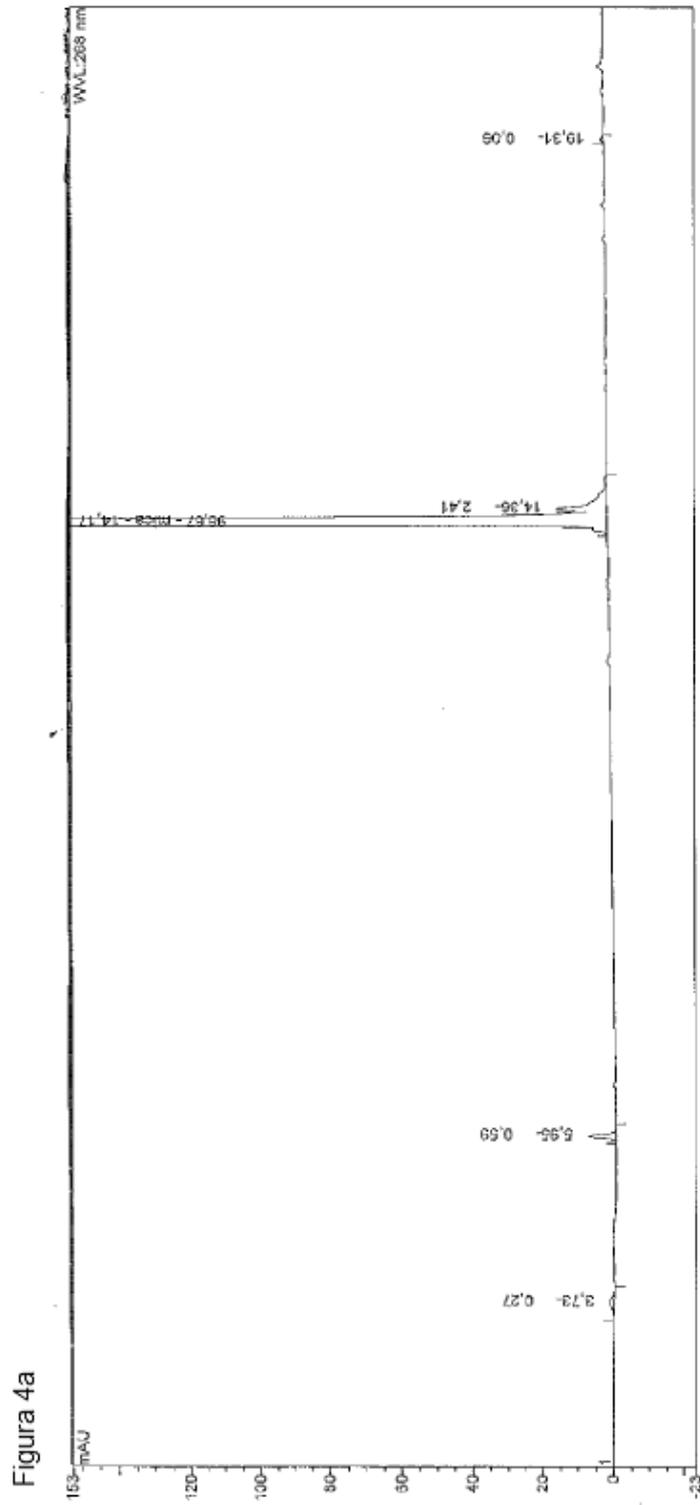


Figura 4a

