

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 679 319**

51 Int. Cl.:

C07J 63/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.09.2012 PCT/IB2012/054638**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.03.2013 WO13038314**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2012 E 12832649 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.05.2018 EP 2755991**

54 Título: **Método para la preparación de ácido betulínico**

30 Prioridad:

12.09.2011 SE 1150819

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

23.08.2018

73 Titular/es:

**STORA ENSO OYJ (100.0%)
Kanavaranta 1
00101 Helsinki, FI**

72 Inventor/es:

**TULISALO, JUKKA;
PIRTTIMAA, MINNI;
ALAKURTTI, SAMI;
YLI-KAUHALUOMA, JARI y
KOSKIMIES, SALME**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 679 319 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

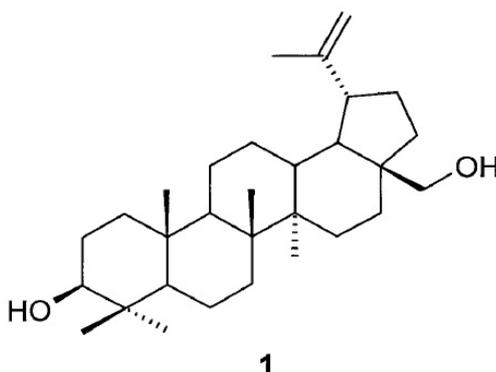
Método para la preparación de ácido betulínico

Campo de la invención

5 La invención se refiere a la oxidación catalítica, medioambientalmente benigna de la betulina que lleva a la síntesis de ácido betulínico y betulínico.

Estado de la técnica

10 La betulina tiene la estructura 1, mostrada a continuación, y es un alcohol terpénico pentacíclico que se da de forma natural de la familia de los lupanos, también conocido como betulinol y lup-20(29)-eno-3 β ,28-diol. La betulina se encuentra en la corteza de algunas especies de árboles, particularmente en la corteza de abedul (*Betula* sp.) con las mejores cantidades de hasta 40% del peso seco de la corteza externa del abedul. Además de la betulina, también se obtienen cantidades menores de derivados de betulina de la corteza de árbol. Hay métodos conocidos basados principalmente en la extracción para el aislamiento de betulina a partir del material de la corteza.

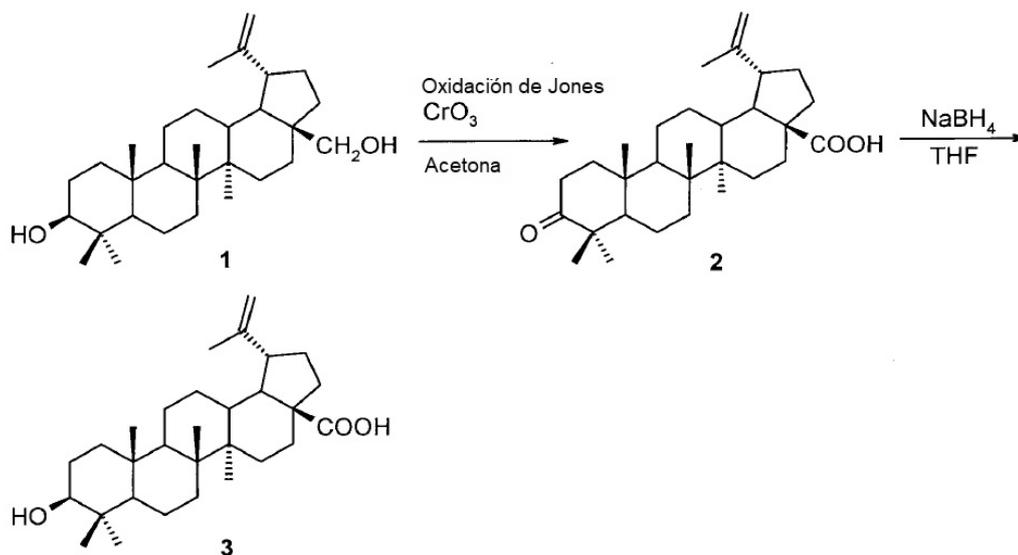


15 En algunas aplicaciones, la pobre solubilidad de la betulina provoca problemas con respecto al uso y la formulación, y por consiguiente, la betulina se convierte en sus derivados para mejorar la solubilidad además de la bioactividad. En años recientes se ha encontrado, que especialmente el ácido betulínico y el ácido betulónico parecen poseer altas bioactividades en varias aplicaciones. Esto ha provocado la necesidad de desarrollar métodos catalíticos viables y medioambientalmente benignos para la oxidación de la betulina a ácido betulínico y ácido betulónico. En la producción de dichos derivados, se utilizan típicamente las reactividades de los grupos funcionales de la betulina, es decir, los grupos hidroxilo primarios y secundarios y el doble enlace.

20 La idoneidad de la betulina y los derivados de la misma para aplicaciones médicas y cosméticas y para aplicaciones químicas industriales se conoce en algún grado. El uso de ácido betulínico en aplicaciones cosméticas tales como promotores del crecimiento y como componentes en cremas para la piel se conoce a partir del documento WO 0003749. La publicación del documento WO 0174327 describe el uso de ácido betulínico en cremas solares para la prevención de efectos nocivos de la luz UV. La publicación del documento WO 07141389 describe el uso de ácido betulónico en varias aplicaciones cosméticas y en el documento WO 07141391 se describe el uso del ácido betulónico y algunos derivados de la betulina como agente anti-protozoos. La publicación del documento WO 07141383 describe el uso del ácido betulínico y betulónico como agente anti-alimentario par la mejor gestión.

25 El ácido betulínico que tiene la estructura de 3 mostrada en el esquema de reacción A posterior puede aislarse por ejemplo, de corteza de abedul (*Betula* sp.) o corcho del alcornoque (*Quercus suber* L.) por extracción, y además puede producirse por varios métodos basados principalmente en la oxidación directa de la betulina o material de la corteza de abedul. El esquema de reacción A muestra la oxidación directa de la betulina 1 según el documento US 6.280.778 como la oxidación de Jones en presencia de catalizador de óxido de cromo (VI) para dar ácido betulónico 2, seguido por la reducción selectiva del ácido betulónico 2 así obtenido con hidróxido sódico para dar ácido betulínico 3.

35 El esquema de reacción A:



El problema con este método es que el catalizador de óxido de cromo (VI) es cancerígeno y la reacción acumula además grandes cantidades de desechos.

5 El proceso alternativo para la producción de ácido betulínico se describe en el documento US 5.804.575, que comprende una etapa de oxidación donde el 3-beta-hidroxilo de la betulina se protege por acetilación. Se evita así la isomerización y oxidación del grupo hidroxilo secundario de la betulina. Sin embargo, la protección del 3-beta-hidroxilo lleva a una nueva etapa de proceso para este método, ya que el grupo protector tiene que eliminarse para sintetizar el ácido betulínico libre.

10 La técnica anterior más importante para la presente invención se ha presentado en los documentos US 20030073858 y WO 2006/13314.

15 El documento US 20030073858 describe un método para preparar primero aldehído betulínico y después ácido betulínico a partir de la betulina. Este método necesita primero proteger el grupo 3-OH de la betulina (por acilación) y solo después de esto, es posible preparar el correspondiente aldehído betulínico 3-protegido y después el ácido betulínico. El grupo protector en la posición 3 debería escindirse antes de formar el aldehído betulínico y después el ácido betulínico.

20 El documento WO 2006/13314 describe un método para convertir la betulina al aldehído betulínico 3B-protegido y además a aldehído betulínico 3B-protegido. Esta reacción necesita proteger el grupo 3B-ceto antes de preparar el ácido betulínico a partir de aldehído betulínico. El grupo protector debería eliminarse después de haberse preparado el ácido betulínico. Este documento describe también la preparación de aldehído betulínico a partir de betulina pero no por conversión catalítica directa.

Los objetos de la invención

El objeto de la presente invención es deshacerse del inconveniente de la técnica anterior mencionado anteriormente.

El primer objeto es desarrollar un método medioambientalmente benigno para la oxidación de la betulina a ácido betulínico y/o betulónico.

25 El segundo objeto es desarrollar un proceso de oxidación a escala industrial para la oxidación de betulina en ácido betulínico y/o betulónico con un buen rendimiento y bajos costes.

El tercer objeto es desarrollar un proceso de oxidación de betulina en ácido betulínico y/o betulónico en que el producto está listo para usar sin purificación excesiva también para aplicaciones médicas y cosméticas.

30 El cuarto objeto es desarrollar un método de sintetizado para el ácido betulínico y/o betulónico que necesitaría las menos etapas de proceso como sea posible.

Descripción de la invención

Los objetos mencionados anteriormente pueden alcanzarse por el método según la reivindicación 1.

El método reivindicado se refiere a la preparación de ácido betulónico y/o ácido betulínico a partir de betulina en donde el método comprende una etapa de oxidación de betulina primero a aldehído betulónico o aldehído betulínico con un proceso de oxidación catalizado con catalizador de Pd(II), en presencia de dióxígeno.

5 Dioxígeno significa aquí O₂ que está presente en la atmósfera u O₂, que tiene aproximadamente la misma actividad que el O₂ presente en la atmósfera.

10 La idea general detrás de la invención es primero oxidar la betulina en presencia de una cantidad catalítica de catalizador de paladio y dióxígeno a aldehído betulónico y posiblemente también a aldehído betulínico y después oxidar adicionalmente el aldehído betulónico en ácido betulónico y adicionalmente reducir el ácido betulónico a ácido betulínico. La oxidación de la betulina a aldehído betulónico es un proceso homogéneo de catálisis con paladio. El catalizador de paladio se usa en cantidad catalítica y el resto de paladio en el catalizador de paladio se reduce a paladio(0) durante la oxidación de la betulina a aldehído betulónico o aldehído betulínico. El catalizador de paladio se regenera oxidando de nuevo el resto de paladio(0) a resto de paladio(II). Adicionalmente, para nuestra sorpresa, se encontró que la betulina puede oxidarse con catalizador de Pd(II) y aire a aldehído betulónico o aldehído betulínico y adicionalmente a ácido betulónico o ácido betulínico de forma simultánea sin purificación, usando oxidante adicional en las etapas de reacción 2 o 5 del esquema 1 posterior.

La preparación de ácido betulónico y/o ácido betulínico a partir de betulina según el método mencionado anteriormente, en donde la primera etapa se hace por oxidación catalítica usando catalizador de paladio(II), tiene un alto grado de conversión y alta selectividad.

20 Debido a la conversión altamente selectiva y la posibilidad de regenerar el catalizador de paladio la reacción es medioambientalmente benigna y el ácido betulínico o ácido betulónico preparado es lo suficientemente puro como para usarse por ejemplo en aplicaciones farmacéuticas o cosméticas.

25 Según una realización de la invención la betulina se oxida primero con un catalizador de Pd(II) y aire a aldehído betulónico o aldehído betulínico y el aldehído betulónico o aldehído betulínico obtenido se oxida sin purificación adicional a ácido betulónico o ácido betulínico usando agente de oxidación adicional. En la práctica la oxidación catalítica de la betulina y la oxidación de aldehído betulónico o aldehído betulínico a los correspondientes ácidos ocurren de forma simultánea, en un solo recipiente (en el mismo recipiente). El ácido betulónico puede reducirse a ácido betulínico usando métodos conocidos de reducción, por ejemplo, usando reducción de borohidruro sódico (NaBH₄).

30 El denominado "método de oxidación en un recipiente" mencionado anteriormente comprende las siguientes etapas de proceso:

(c1) oxidar betulina a aldehído betulónico en presencia de un catalizador y un oxidante,

(c2) oxidar dicho aldehído betulónico a ácido betulónico con un sistema oxidante,

(c3) reducir dicho ácido betulónico a ácido betulínico usando agente reductor, o

(d1) oxidar betulina a aldehído betulínico en presencia de un catalizador y un oxidante,

35 (d2) oxidar dicho aldehído betulínico a ácido betulínico con un sistema oxidante, en donde

- en la etapa (c1) y (d1) la oxidación catalítica de betulina se realiza mediante un catalizador de Pd(II) en presencia de dióxígeno y

40 - la reacción de oxidación catalítica de betulina a aldehído betulónico o betulina a aldehído betulínico en las etapas (c1) o (d1) y la oxidación de aldehído betulónico a ácido betulónico (etapa c2) o aldehído betulínico a ácido betulínico (etapa d2) se realizan de forma simultánea, en el mismo recipiente de reacción.

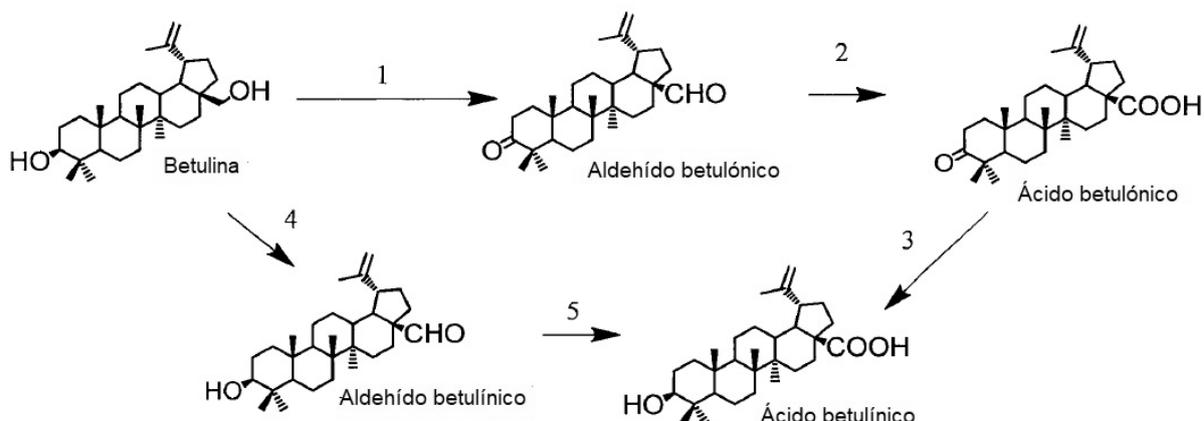
Porque en este "método de oxidación en un recipiente" el aldehído betulónico o aldehído betulínico obtenido no está aislado aunque se usa como tal, este método tiene una ventaja de ser un método efectivo y económico para la preparación de ácido betulónico o betulínico a partir de betulina. Esta realización del método inventivo puede ser adecuada para una conversión a gran escala de betulina a ácido betulínico o ácido betulónico.

45 Ni el método general mencionado anteriormente para sintetizar ácido betulínico o ácido betulónico ni el denominado "método en un recipiente" mencionado anteriormente, necesita que los grupos funcionales de betulina se protejan con grupos protectores. Por lo tanto no se necesita ninguna escisión de los grupos de protección. Por consiguiente, el número de etapas de reacción se reduce.

50 Proceso homogéneo de catálisis con paladio significa en esta memoria, que el único catalizador es catalizador de paladio(II) sin presencia de ningún co-catalizador.

La preparación de ácido betulínico y ácido betulónico a partir de betulina continúa principalmente según el siguiente esquema de reacción 1.

Esquema de reacción 1



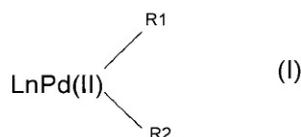
La oxidación catalítica de betulina a aldehído betulínico continúa por medio de la ruta 1 (para sintetizar principalmente aldehído betulínico) o por medio de la ruta 4 (para sintetizar principalmente aldehído betulínico). La oxidación catalítica de betulina a aldehído betulínico o aldehído betulínico es la primera etapa cuando se prepara ácido betulínico y/o ácido betulínico a partir de betulina.

Durante la oxidación catalítica de la betulina a aldehído betulínico por medio de la ruta 1 puede obtenerse también alguna cantidad de aldehído betulínico, que puede oxidarse directamente a ácido betulínico mediante la reacción 5 (por medio de la ruta 5) del esquema de reacción 1. La oxidación del aldehído betulínico en ácido betulínico continúa por medio de la ruta 2 usando un sistema de oxidación apropiado. El ácido betulínico se reduce entonces a ácido betulínico mediante la reacción 3 (por medio de la ruta 3).

La oxidación catalítica de la betulina puede continuarse además por medio de la ruta 4, por la que se obtiene el aldehído betulínico. El aldehído betulínico puede oxidarse directamente por medio de la ruta 5 a ácido betulínico usando el mismo o diferente sistema de oxidación que en el sistema de oxidación mencionado anteriormente usado en la oxidación del aldehído betulínico en ácido betulínico mediante la reacción 2.

La reacción de oxidación catalítica de betulina a aldehído betulínico mediante la reacción 1 o 4 usa dioxígeno molecular como el único oxidante. La fuente principal de oxígeno es el aire.

En el proceso de oxidación catalítica de la betulina que usa la reacción 1 o 4, puede usarse una variedad de catalizador de paladio(II) alternativo. El catalizador de paladio(II) es de la fórmula general (I):



En el catalizador de paladio de fórmula I:

n es cualquier número entero de 0 a 2, en un caso n es 0 el ligando L está ausente;

L es cualquier ligando adecuado que contenga al menos un átomo de nitrógeno (N-ligando), que puede usarse para quelatar el metal paladio en el catalizador de paladio(II). Pueden encontrarse también ligandos adecuados a partir de las referencias Karimi, B y Zamani, A. Recent advances in the homogeneous palladium-catalyzed aerobic oxidation of alcohols, J. Iran. Chem. Soc., Vol. 5, Supl., octubre de 2008, págs. S1-S20 o Gligorich, M y Sigman, M., Recent advances and challenges of palladium(II)-catalyzed oxidation reactions with molecular oxygen as the sole oxidant, Chem. Commun., 2009, 3854-3867. Especialmente, el ligando puede seleccionarse del grupo que consiste en aminas mono- y bidentadas, aromáticas y alifáticas, y heteroarenos mono- y bidentados. Estos pueden quelatarse con paladio y formar complejos con compuestos de paladio(II). El ligando L incluye piridina bidentada y trietilamina bidentada e hidrotalcita monodentada.

El término "amina" se refiere en esta memoria a un grupo amina, que se origina en un grupo amoniaco en que uno, dos o tres hidrógeno(s) puede(n) estar sustituido(s) con un sustituyente. El sustituyente de un grupo amina es un grupo arilo en caso de aminas aromáticas y un grupo alquilo alifático en caso de aminas alifáticas.

El grupo alquilo alifático significa en esta memoria un sustituyente que tiene una cadena hidrocarbonada saturada ramificada o no ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, preferiblemente 1 a 4 átomos de carbono.

El grupo arilo puede ser un grupo carbocíclico aromático insaturado o también un grupo heteroarilo.

- 5 El grupo carbocíclico aromático insaturado tiene de 3 a 12 átomos de carbono y tiene un único anillo o múltiples anillos condensados, en donde al menos un anillo es aromático, por lo cual dicho grupo carbocíclico aromático insaturado puede estar no sustituido o sustituido. Preferiblemente el grupo carbocíclico aromático insaturado es fenilo.

Heteroareno significa en esta memoria un compuesto que tiene un sistema anular monocíclico, bicíclico o tricíclico y que contiene uno, dos o tres anillos aromáticos y que contienen al menos un átomo de nitrógeno en el anillo aromático, y que puede estar no sustituido o sustituido. Preferiblemente el heteroareno es piridina.

- 10 El heteroarilo es un grupo funcional, que se origina de un heteroareno.

Cada símbolo R1 o R2 significa un grupo funcional seleccionado independientemente del grupo que consiste en aminas, arilos, carboxilatos, ésteres, cetonas, halógenos y nitratos, en donde

El grupo arilo tiene la misma definición que anteriormente, preferiblemente el grupo arilo significa fenilo;

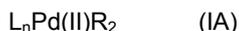
- 15 Carboxilato significa un anión que se origina a partir de ácido carboxílico y que forma una sal con catión de paladio(II), más preferiblemente el carboxilato se origina a partir de un ácido carboxílico inferior tal como ácido acético;

Éster significa un alquiléster, más preferiblemente un alquiléster inferior;

Cetona significa una alquilcetona, más preferiblemente alquilcetona inferior o alquildicetona inferior, la alquildicetona inferior preferida es acetilacetato;

- 20 El catalizador de paladio(II) preferido de fórmula general (I) incluyen los siguientes catalizadores en un caso en que el ligando no está presente (n=0): acetato de paladio(II) Pd(OAc)₂, acetato de fenilpaladio(II) Pd(C₆H₅)(O₂CCH₃), acetilacetato de paladio(II) Pd(acac)₂, nitrato de paladio(II) Pd(NO₃)₂.

Los catalizadores de paladio(II) preferidos de la fórmula general (I), en que los ligandos están presentes (n=1 o n=2) son aquellos, en donde el catalizador de paladio(II) es de la fórmula general (IA).



- 25 Por lo que el ligando L tiene la misma definición que anteriormente y R tiene la misma definición que R1 o R2 anterior.

El catalizador de paladio(II) con fórmula (IA) comprende los siguientes complejos de Pd(II) preferibles: complejos de hidrotalcita de paladio(II), complejos de piridina y compuesto de paladio(II) y complejos de trietilamina (TEA) y compuesto de paladio(II). Estos incluyen los siguientes importantes catalizadores de paladio(II):

- 30 (py)₂Pd(OAc)₂, (py)₂Pd(acac)₂, (py)₂Pd(NO₃)₂, (NEt₃)₂Pd(OAc)₂, (NEt₃)₃Pd(OAc)₂, en donde py significa piridina, Et significa etilo.

La primera etapa en el esquema de reacción 1, la oxidación catalítica de la betulina por catalizador de paladio(II) y aire a aldehído betulónico o aldehído betulínico, continúa según la etapa de reacción 1 o 4. Se realiza en cualquier disolvente orgánico inerte adecuado en que al menos disuelva la betulina.

- 35 Disolvente inerte significa en esta memoria que el disolvente no reaccionará esencialmente con la betulina o sus derivados o reactivos usados en los métodos según el esquema de reacción 1 (por ejemplo oxidantes).

Los disolventes inertes adecuados pueden seleccionarse del grupo que comprende hidrocarburos alifáticos saturados o insaturados, hidrocarburos alifáticos ramificados o no ramificados, hidrocarburos alifáticos halogenados, hidrocarburos aromáticos, disolventes de flúor, disolventes clorados, éteres, ésteres, cetonas, H₂O o mezclas de los mismos.

- 40 El disolvente inerte preferible se selecciona del grupo que consiste en tolueno, xileno, decalina, DMSO, disolvente de flúor, perfluoroalcano, por ejemplo, perfluorodecalina (también puede mejorar la solubilidad del O₂), THF, CH₂Cl₂, H₂O o mezclas de los mismos.

- 45 Los disolventes inertes más preferibles para este sistema se seleccionan del grupo que consiste en hidrocarburos alifáticos y aromáticos (por ejemplo tolueno, xilenos, decalina), alcanos de flúor y perfluoroalcanos (por ejemplo, perfluorodecalina), disolventes clorados (por ejemplo, CH₂Cl₂) y éteres (por ejemplo tetrahidrofurano).

La segunda etapa para la preparación del ácido betulónico y/o ácido betulínico a partir de betulina continúa por medio de la ruta 2 o 5 en el esquema de reacción 1. El aldehído betulónico procedente de la etapa de reacción 1 (por medio de la ruta 1) se oxida en ácido betulónico mediante la etapa de reacción 2 (por medio de la ruta 2) usando un sistema

de oxidación adecuado. El aldehído betulínico procedente de la reacción 4 (por medio de la ruta 4) se oxida en ácido betulínico por medio de la ruta 5 usando un sistema de oxidación adecuado.

5 Si esta segunda etapa de reacción se hace inmediatamente después de o de forma simultánea a la primera etapa de reacción (después de la etapa de reacción 1 o 4), el disolvente usado en ella es preferiblemente aquel en que la betulina y el aldehído betulínico y/o aldehído betulínico se disolverán. En este caso el(los) disolvente(s) preferible(s) es(son) el(los) mismo(s) que anteriormente. Si la segunda etapa de reacción (etapa de reacción 2 o 5) se realiza de forma independiente a partir de la primera etapa de reacción (etapa de reacción 1 o 4), por ejemplo en un recipiente separado, el disolvente puede ser cualquier disolvente orgánico adecuado en que el aldehído betulínico o aldehído betulínico se disolverá y que no reacciona con los reactivos.

10 La tercera etapa de preparación del ácido betulínico a partir de betulina continúa por medio de la ruta 3 (con la etapa de reacción 3) en el esquema de reacción 1. En esta etapa de reacción 3, el ácido betulínico se reduce a ácido betulínico usando cualquier agente de reducción adecuado tal como NaBH_4 , LiBH_4 o KBH_4 . La reducción del ácido betulínico al ácido betulínico según la etapa de reacción 3 puede realizarse también usando métodos habituales conocidos de la técnica anterior.

15 Hay muchas alternativas posibles a usar como sistemas de oxidación en las etapas de reacción 2 o 5. Dicho sistema de oxidación incluye un agente oxidante apropiado y un posible tampón y posibles agentes auxiliares.

20 Los agentes oxidantes usados pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en: O_2 , hipoclorito sódico (NaOCl), clorito sódico (NaClO_2), clorito de potasio (KClO_2), hipoclorito de potasio (KOCl), peróxidos tales como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), reactivos hipervalentes de yodo (por ejemplo, ácido 2-yodóxibenzoico (IBX), 2-yodóxibencenosulfónico (IBS)), Oxona (2KHSO_5 , KHSO_4 , K_2SO_4) y ftalimidas tales como N-hidroxiftalimida y mezclas de los mismos. Respecto a otros posibles agentes oxidantes, nos referimos en esta memoria a la bibliografía de este campo. En un caso el aldehído betulínico se sintetiza mediante una oxidación catalítica de betulina (por medio de la ruta 4 en el esquema de reacción 1), este puede convertirse directamente en ácido betulínico oxidando el aldehído betulínico.

25 En combinación con los agentes oxidantes mencionados anteriormente es a menudo útil usar un tampón adecuado en un sistema de oxidación. Estos tampones pueden seleccionarse del grupo que consiste en:

30 KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , CHES, MES ácido (*N*-morfolino)etanosulfónico, TAPS (ácido [tris(hidroximetil)metil]amino}propanosulfónico), bicina (bis(2-hidroxietil)glicina), Tris (tris(hidroximetil)metilamina), Tricina (*N*-tris(hidroximetil)metilglicina), TAPSO (ácido 3-[*N*-Tris(hidroximetil)metilamino]-2-hidroxiopropanosulfónico), HEPES (ácido 4-2-hidroxietil-1-piperazinaetanosulfónico), TES (ácido 2-[[tris(hidroximetil)metil]amino]etanosulfónico), MOPS (ácido 3-(*N*-morfolino)propanosulfónico), PIPES (ácido piperazina-*N,N'*-bis(2-etanosulfónico), cacodilato (ácido dimetilarsínico), SSC (solución salina de citrato sódico) y MES (ácido 2-(*N*-morfolino)etanosulfónico).

A continuación se dan intervalos de pH para varios de los tampones mencionados anteriormente KH_2PO_4 , pH 5,8-8, NaH_2PO_4 , pH 6-7,5 y CHES, pH 8,6-10.

35 A continuación se dan pK_a a 20°C $\Delta\text{pK}_a/^\circ\text{C}$ para varios tampones mencionados anteriormente: MES 6,15-0,011, ADA 6,6-0,011, PIPES 6,8-0,0085, ACES 6,9-0,020, cloruro de colamina 7,1-0,027, BES 7,15-0,016, TES 7,5-0,020, HEPES 7,55-0,014, Acetamidoglicina 7,7-, Tricina 8,15-0,021, glicinamida 8,2-0,029, Bicina 8,35-0,018.

A continuación se dan pK_a a 25°C , (Efecto de la temperatura en el intervalo del tampón), dpH/dt en (1/K) **Peso en moles y Nombre completo del compuesto para varios tampones mencionados anteriormente:

40 TAPS 8,43 7,7-9,1 -0,018 243,3 ácido 3-[[tris(hidroximetil)metil]amino}propanosulfónico,
Bicina 8,35 7,6-9,0 -0,018 163,2 *N,N*-bis(2-hidroxietil)glicina,
Tris 8,06 7,5-9,0 -0,028 121,14 tris(hidroximetil)metilamina,
Tricina 8,05 7,4-8,8 -0,021 179,2 *N*-tris(hidroximetil)metilglicina,
TAPSO 7,635 7,0-8,2 259,3 ácido 3-[*N*-Tris(hidroximetil)metilamino]-2-hidroxiopropanosulfónico,
45 HEPES 7,55 6,8-8,2 -0,014 238,3 ácido 4-2-hidroxietil-1-piperazinaetanosulfónico,
TES 7,40 6,8-8,2 -0,020 229,20 ácido 2-[[tris(hidroximetil)metil]amino]etanosulfónico,
MOPS 7,20 6,5-7,9 -0,015 209,3 ácido 3-(*N*-morfolino)propanosulfónico,
PIPES 6,76 6,1-7,5 -0,008 302,4 piperazina-*N,N'*-bis(ácido 2-etanosulfónico),
Cacodilato 6,27 5,0-7,4 138,0 ácido dimetilarsínico,
50 SSC 7,0 6,5-7,5 189,1 solución salina de citrato sódico y

MES 6,15 5,5-6,7 -0,011 195,2 ácido 2-(*N*-morfolino)etanosulfónico.

Los agentes auxiliares mencionados anteriormente para los sistemas de oxidación, que usan las rutas 2 o 5 en el esquema de reacción 1 (oxidación del aldehído betulónico o aldehído betulónico al correspondiente ácido), incluyen el posible secuestro de paladio. Estos agentes secuestrantes se usan especialmente cuando se prepara ácido betulónico de manera que las etapas de reacción de 4 y 5 se realizan de forma simultánea o el ácido betulónico se prepara de manera que las etapas de reacción de 4 y 5, en el esquema de reacción 1, se realizan de forma simultánea (este es el denominado método de oxidación en un recipiente). Cuando se sintetiza ácido betulónico o ácido betulónico usando el método de un recipiente descrito anteriormente, el aldehído betulónico o aldehído betulónico que se han obtenido a partir de la oxidación catalítica de la betulina según la etapa de reacción de 1 o 4 se usan como tal, es decir, sin aislarlos, antes de usarlos en las etapas de reacción posterior 2 y 5.

La regeneración del catalizador de paladio(II) mejora significativamente la eficiencia del proceso total del proceso según el esquema de reacción 1. La regeneración del catalizador es especialmente importante en la producción a gran escala. Hay muchos secuestrantes de paladio conocidos, que pueden usarse después del proceso de oxidación catalítica por medio de la ruta 1 o 4 para el secuestro de los compuestos de paladio(0) usados. Los secuestrantes de paladio que pueden usarse para el secuestro de compuestos de paladio(0) usados se conocen a partir de la bibliografía de este campo. Estos secuestrantes de paladio(0) adecuados incluyen secuestrantes libres, unidos a polímero, soportados en sílice o de sílice funcionalizada. Los grupos funcionales adecuados en los secuestrantes de paladio(0) incluyen tiol, tiourea, cisteína, dimercaptotriazina (DMT), amina, diamina, triamina, imidazol, ácido triaminatetraacético (TAAcOH), sal sódica de triaminatetraacetato (TAAcONa), por ejemplo, aunque no están limitados a, 3-(dietileno-triamino)propilo, DL-ditiotreitil, acetamida de ácido etilendiaminatriacético, N,N,N'-trimetiletilendiamina, 6-tionicotinamida, bis-[(difenilfosfanil)-metil]amina, 2-mercaptoetilamina, biperidina, 3-(etilendiamino)propilo, 3-mercaptopropilo, 2-(4-(etilendiamino)bencil)etilo, 3-(1-tioureido)propilo, *N*-acetil-L-cisteína, éster de mercaptofenilaminobut-2-enoato, trimercaptotriazina, tetraacetato de triamina y sal sódica de tetraacetato de triamina.

En una realización de la invención el secuestrante de paladio es *N*-acetil-L-cisteína (usada 11 veces en exceso) o QuadraPure MPA (éster de mercaptofenilaminobut-2-enoato).

Los agentes auxiliares mencionados anteriormente para la oxidación pueden incluir además agentes preventivos de la oxidación que evitarán la oxidación indeseable de betulina o sus derivados (aldehído betulónico o aldehído betulónico).

Los agentes preventivos de la oxidación se conocen bien en este campo y son normalmente compuestos, que se oxidarán a sí mismos de forma reversible o irreversible. Unos agentes preventivos de oxidación típicos incluyen olefinas tales como 2-metilbuteno o un compañero de reacción más rico en electrones como secuestrante electrófilo protector (por ejemplo, resorcinol, 1,3-dihidroxibenceno).

El catalizador de Pd puede unirse en un soporte catalítico convencional tal como zeolita, alúmina, carbono o similares.

Las cribas moleculares, preferiblemente CM de 3 Å, pueden usarse opcionalmente para mejorar la velocidad de la oxidación catalizada por Pd(OAc)₂-piridina y para mejorar la estabilidad del catalizador disminuyendo la precipitación de Pd(0).

En conexión con la presente invención, varios aditivos y medidas pueden ser útiles para mejorar la eficiencia del proceso. Estos aditivos incluyen catalizadores de transferencia de fase, si una mezcla de reacción heterogénea se usa en cualquiera de las rutas 1, 2, 3, 4 o 5 en el esquema de reacción 1. Los catalizadores de transferencia de fase se usan en mezclas de reacción heterogéneas para facilitar el movimiento de un reactivo de una fase a otra. Los catalizadores de transferencia de fase se conocen también por acelerar algunas veces las velocidades de reacción y minimizar el gasto de disolvente, ya que las reacciones tienden a ser heterogéneas. En esta memoria el catalizador de transferencia de fase usado puede seleccionarse del grupo que consiste en: sales de amonio, sales de amonio heterocíclicas y sales de fosfonio. Los catalizadores de transferencia de fase preferibles pueden seleccionarse del siguiente grupo que comprende de: terc-butanol, metilsulfato de 1,2,3-trimetilimidazolio, cloruro de 1-butil-2,3-dimetilimidazolio, hexafluorofosfato de 1-butil-2,3-dimetilimidazolio, tetrafluoroborato de 1-butil-2,3-dimetilimidazolio, etilsulfato de 1-etil-2,3-dimetilimidazolio, hidrogenosulfato de 1-metilimidazolio, tiosalicilato de metiltrioctilamonio, heptadecafluorooctanosulfonato de tetrabutilamonio, nonafluorobutanossulfonato de tetrabutilamonio, cloruro de tetrafenilfosfonio, metilsulfato de tributilmetilamonio, bis(2,4,4-trimetilpentil)fosfinato de trihexiltetradecilfosfonio, bromuro de trihexiltetradecilfosfonio, cloruro de trihexiltetradecilfosfonio, dicianamida de trihexiltetradecilfosfonio, bromuro hexadeciltrimetilamonio, hidróxido de tetrabutilamonio, hidrato de cloruro de tetraetilamonio, bromuro de tributilhexadecilfosfonio, bromuro de (-)-*N,N*-dimetilefedrinio, bromuro de (-)-*N,N*-dimetilefedrinio, bromuro de (-)-*N*-dodecil-*N*-metilefedrinio, cloruro de benciltributilamonio, bromuro de hexiltributilfosfonio, cloruro de metiltrialquil(C8-C10)amonio, bromuro de hexiltributilfosfonio, cloruro de *N*-bencilcinchoninio, hidrogenosulfato de tetrahexilamonio, hidróxido de tetraoctilamonio, (1*R*,2*S*)-(-)-*N*-metilefedrina, 3-bromo-2-metilpropeno, *N*-(difenilmetileno)aminoacetnitrilo, cloruro de bis(trifenilfosforanilida)amonio, cloruro de tricaprillmetilamonio, cloruro de trietilbencilamonio (TEBAC), bromuro de tetrabutilamonio (TBAB), bromuro de tetraetilamonio (TEAB), hidrogenosulfato de tetrabutilamonio, yoduro de etiltrifenilfosfonio, yoduro de metiltrifenilfosfonio, bromuro de

etiltrifenilfosfonio, bromuro de metiltrifenilfosfonio, hidróxido de tetrametilamonio, hidrogenosulfato de metiltrioctilamonio (MTOAHS) y cloruro de dimetil-dioctadecilamonio (Arquad 2HT).

Especialmente los siguientes sistemas de oxidación (agente oxidante + tampón + posibles agentes auxiliares + posible aditivo) han probado que son útiles en esta memoria:

5 $\text{NaClO}_2 + \text{NaH}_2\text{PO}_4 + 2\text{-metilbuteno} + \text{terc-butanol}$,

$\text{NaClO}_2 + \text{NaH}_2\text{PO}_4 + 2\text{-metilbuteno} + \text{cloruro de dimetildioctadecilamonio (arquad 2HT)}$

$\text{NaClO}_2 + \text{NaH}_2\text{PO}_4 + 2\text{-metilbuteno} + \text{hidrogenosulfato de metil-trioctilamonio (MTOAHS)}$

NHPI (N-hidroxifitalimida) + aire y

QuadraPure MPA (éster de mercaptofenilaminobut-2-enoato) + aire.

10 Todos estos son adecuados para un método, en que las rutas 1 y 2 o 4 y 5 se realizan de forma simultánea usando el denominado "método de oxidación de un recipiente".

Las medidas que facilitarán que el oxígeno se disuelva en la mezcla de reacción pueden tener ventajas en las reacciones de oxidación por medio de la ruta 1, 2, 4 o 5. Dichas medidas incluyen por ejemplo la agitación vigorosa del recipiente de reacción y la realización del proceso de oxidación bajo sobrepresión (hasta aproximadamente 100 atm).

15

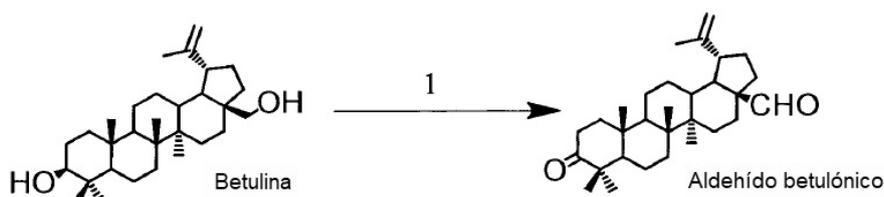
Ejemplos

El procedimiento general para la oxidación de la betulina con catalizador de Pd(II) incluye la carga del reactor con disolvente inerte y la conexión con el flujo de aire y la agitación del sistema y la adición después de catalizador de Pd (2-10% en moles de la cantidad de betulina) y N-ligando (10-2000% en moles) y el calentamiento del reactor a 50-120°C. Después se añade la betulina en pequeñas porciones en 1-2 horas y la reacción se deja continuar durante 5-15 horas a 50-120°C. Después se añade el agente de reciclado de Pd, por ejemplo, *N*-acetil-L-cisteína (11 veces en exceso) o QuadraPure MPA (éster de mercaptofenilaminobut-2-enoato) y el Pd adsorbido se deja precipitar mientras se enfría la reacción a 5-25°C y el precipitado se elimina por filtración. El filtrado contiene aldehído betulónico, rendimiento bruto de 83-92% en base a la betulina.

20

25 Según esta invención el aldehído betulónico puede oxidarse adicionalmente a ácido betulónico añadiendo oxidante adicional al filtrado que contiene aldehído betulónico y agitando la reacción típicamente a 5-50°C durante 1-25 horas, dependiendo del tipo de sistema oxidante adicional. Se obtiene el rendimiento aislado total de 48-76% para ácido betulónico (pureza >90%) en base a la betulina.

Ejemplos que afectan a la etapa 1 para la oxidación catalítica de betulina a aldehído betulónico



30

La etapa de reacción se realizó usando catalizador de paladio(II) que contenía $\text{Pd}(\text{OAc})_2 + \text{piridina}$ o catalizador que comprende hidrotalcita de Pd y aire como un agente oxidante. $\text{Pd}(\text{OAc})_2 = \text{acetato de paladio(II)}$;

Ejemplo 1.1

$\text{Pd}(\text{OAc})_2 + \text{piridina} + \text{aire}$ (*N*-acetil-L-cisteína como secuestrante de Pd)

35 Aldehído betulónico. Se añadió tolueno (500 ml) a un matraz de 1 l equipado con condensador, agitación mecánica y tubo para el burbujeo de aire. Se añadieron acetato de paladio(II) (1,2 g, 6% en peso) y piridina (5 ml). La temperatura se ajustó a 80°C, el flujo de aire a la mezcla de reacción se ajustó a 1000 ml/min y agitación a 500 rpm. Se añadió betulina (20,0 g) en pequeñas proporciones durante 1 h. La reacción de oxidación se monitorizó por CG y después de 7 horas la reacción se acabó. Se añadió *N*-acetil-L-cisteína (8,0 g) para secuestrar Pd(II). La mezcla de reacción se enfrió y se agitó en flujo de N_2 durante 1 h. El residuo se filtró con vacío y se lavó con tolueno (3 x 20 ml). El filtrado obtenido (que incluye aldehído betulónico 88%) se usó posteriormente en la siguiente etapa de reacción (2.1, 2.3 y 2.3) en un recipiente sin purificación adicional.

40

Análisis XRF del precipitado seco: 5,7% de Pd (dando por resultado el 85% de recuperación de Pd).

Análisis de CG del filtrado: betulina <0,1%, aldehído betulónico 88%, aldehído betulínico 2%, otros 10%.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 0,92 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 1,69 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 2,86 (m, 1H), 4,62 (s, 1H), 4,75 (s, 1H), 9,66 (s, 1H).

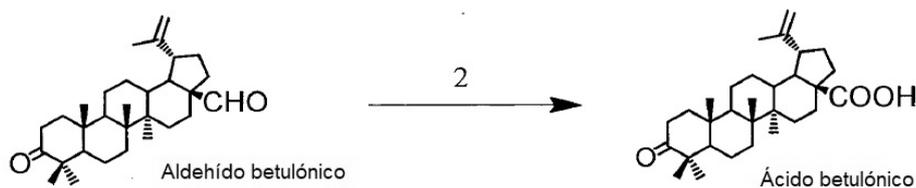
5 ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): 14,1, 15,6, 15,9, 18,9, 19,5, 21,0, 21,2, 25,4, 26,5, 28,7, 29,1, 29,8, 33,1, 33,5, 34,1, 36,8, 38,7, 39,6, 40,7, 42,5, 47,3, 47,4, 47,9, 49,7, 54,9, 59,2, 110,2, 149,6, 206,5, 218,0.

Ejemplo 1.2

$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ + piridina + aire (Sin secuestrante de Pd)

10 Aldehído betulónico. Se añadió tolueno (30 ml) a un matraz de 100 ml equipado con un condensador, agitador mecánico y tubo para el burbujeo de aire. Se añadieron acetato de paladio(II) (26 mg, 5% en peso) y piridina (0,1 ml). La temperatura se ajustó a 80°C , el flujo de aire a 50 ml/min y la agitación a 500 rpm. Se añadió betulina (0,50 g). La reacción de oxidación se monitorizó por CG y después de 7 horas la reacción se terminó. La disolución obtenida (que incluye aldehído betulónico 88%) se usó posteriormente en la siguiente etapa de reacción en un recipiente sin purificación adicional.

Ejemplos relacionados con la etapa 2 para preparar ácido betulónico



15

Oxidación del aldehído betulónico a ácido betulónico usando varios sistemas de oxidación

Ejemplo 2.1

2-metilbuteno + NaClO_2 + NaH_2PO_4 + *tert*-butanol

20 Ácido betulónico . Se añadieron *tert*-butanol (170 ml) y 2-metil-2-buteno (30 ml) al filtrado obtenido a partir del ejemplo 1 (que incluye 20 g de aldehído betulónico, pureza de 85-90%) en flujo de N_2 . Se añadió el sistema de oxidación que comprende NaClO_2 (17,0 g) y $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (25,2 g) en agua (200 ml) durante 0,5 h y la agitación se continuó a temperatura ambiente en N_2 durante 15 h. Las fases orgánica y acuosa se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (200 ml). Se añadió NaOH acuoso (2,7 g en 40 ml de agua) a la fase orgánica y se agitó durante 0,5 h. La mitad del disolvente se evaporó al vacío y el residuo se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La sal de Na del ácido betulónico precipitado se filtró, se lavó con tolueno (4 x 20 ml) y se secó toda la noche al vacío para dar sal de Na de ácido betulónico (16,6 g). La sal de Na de ácido betulónico se trató posteriormente con disolución de HCl acuoso (140 ml de agua y 60 ml de HCl al 10%) y se agitó durante 2,5 h. El precipitado se filtró y se lavó con agua (5 x 30 ml), se secó en horno de vacío a 60°C toda la noche para obtener ácido betulónico 14,9 g (73% de la betulina).

25 CG: ácido betulónico 92%, ácido betulínico 2%, otros 6%.

30 ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 0,93 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 1,02 (s, 6H), 1,07 (s, 3H), 1,70 (s, 3H), 1,96 (m, 3H), 2,27 (m, 2H), 2,44 (m, 2H), 3,01 (m, 1H), 4,62 (s, 1H), 4,74 (s, 1H).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) 14,6, 15,8, 15,9, 19,3, 19,6, 21,0, 21,3, 25,5, 26,6, 29,6, 30,5, 32,1, 33,6, 34,1, 36,9, 37,0, 38,5, 39,6, 40,6, 42,5, 46,9, 47,3, 49,1, 49,8, 54,9, 56,3, 109,7, 150,3, 181,9, 218,4

NaClO_2 = clorito sódico

35 NaH_2PO_4 = dihidrogenofosfato sódico

Ejemplo 2.2

2-metilbuteno + NaClO_2 + NaH_2PO_4 + MTOAHS

40 Ácido betulónico . Se añadieron hidrogenosulfato de metil-trioctilamonio (MTOAHS) (40 mg) y 2-metil-2-buteno (1 ml) al filtrado obtenido del ejemplo 1.1 (que incluye 1,0 g de aldehído betulónico, pureza del 85-90%) en flujo de N_2 . Se añadió el sistema de oxidación que comprende NaClO_2 (0,5 g) y $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 M en agua (20 ml) y la agitación se continuó a temperatura ambiente, en N_2 durante 22 h. Las fases orgánica y acuosa se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (20 ml). Se añadió NaOH 1,7 M acuoso (4 ml) a la fase orgánica y se agitó durante 0,5 h. La sal de Na de ácido betulónico precipitada se filtró, se lavó con tolueno (10 ml) y se secó en un horno de vacío a 80°C . La sal

de Na de ácido betulónico se trató posteriormente con ácido acético (0,4 ml) en MeOH (8 ml) y se agitó durante 15 min. Se añadió agua (15 ml) y el ácido betulónico precipitado se filtró y se lavó con agua (4 x 10 ml), se secó en el horno de vacío a 80°C toda la noche. Rendimiento aislado 0,34 g, análisis de pureza de CG: ácido betulónico 88%.

Ejemplo 2.3

5 2-Metilbuteno + NaClO₂ + NaH₂PO₄ + TBAHS

Ácido betulónico. Se añadieron TBAHS (0,04 g) (hidrogenosulfato de tetrabutilamonio) y 2-metil-2-buteno (3 ml) al filtrado obtenido del ejemplo 1.1 (que incluye 1,0 g de aldehído betulónico, pureza del 85-90%) en flujo de N₂. Se añadieron NaClO₂ (0,8 g) y NaH₂PO₄·H₂O 0,3 M en agua (20 ml) y la agitación se continuó a temperatura ambiente, en N₂ durante 16 h. Análisis de pureza de CG: aldehído betulónico 32%, ácido betulónico 20%, otros 48%.

10 Ejemplo 2.4

2-metilbuteno + NaClO₂ + NaH₂PO₄ + Arquad 2HT

Ácido betulónico. Se añadieron Arquad 2HT (0,12 g) (acetato de dialquildimetilamonio) y 2-metil-2-buteno (3 ml) al filtrado obtenido del ejemplo 1.1 (que incluye 1,0 g de aldehído betulónico, pureza del 85-90%) en flujo de N₂. Se añadió el sistema de oxidación de NaClO₂ (0,8 g) y NaH₂PO₄·H₂O 0,3 M en agua (25 ml) y la agitación se continuó a temperatura ambiente en N₂ durante 24 h. Las fases orgánica y acuosa se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (15 ml). Se añadió NaOH 1,7 M acuoso (4 ml) a la fase orgánica y se agitó durante 1,5 h. La sal de Na de ácido betulónico precipitada se filtró, se lavó con tolueno (10 ml) y se secó. La sal de Na de ácido betulónico se trató posteriormente con ácido acético (0,4 ml) en MeOH (8 ml) y se agitó durante 15 min. Se añadió agua (15 ml) y el precipitado de ácido betulónico se filtró y se lavó con agua (4 x 10 ml), se secó en horno de vacío a 80°C toda la noche. Rendimiento aislado 0,58 g, análisis de pureza de CG: ácido betulónico 83%.

Ejemplo 2.5.

NHPI + aire

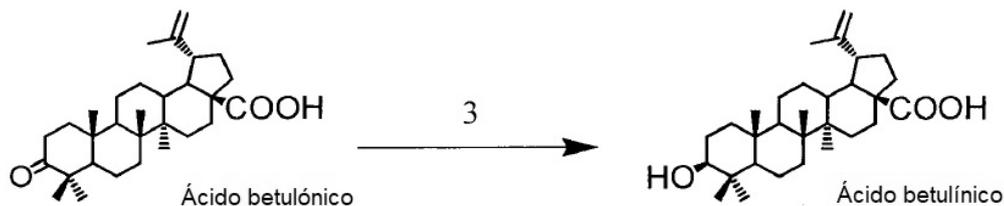
El filtrado obtenido a partir del ejemplo 1.1 (que incluye 1,0 g de aldehído betulónico, pureza del 85-90%) se enfrió a 0-5°C en flujo de aire de 50 ml/min. Se añadieron metanol (0,2 ml) y sistema de oxidación que comprende N-hidroxiftalimida (8,5 mg, NHPI). La mezcla se agitó a 0-5°C durante 2,5 horas después de lo cual se añadió NaOH 1,7 M en agua (0,9 ml) y la mezcla se agitó a 0-5°C durante 1 hora. El precipitado formado de sal de Na de ácido betulónico se filtró y se lavó con tolueno (10 ml). La sal de Na de ácido betulónico se disolvió en metanol (5 ml) a 50°C. Se añadió ácido acético (0,2 ml) y la mezcla se agitó a 50°C durante 10 min. Se añadió agua (20 ml) y la mezcla se enfrió a 5-10°C. El precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó para obtener ácido betulónico (0,26 mg). Análisis de pureza de CG: 86% de ácido betulónico.

Ejemplo 2.6

MPA + aire

La mezcla de reacción (que incluye 0,5 g de aldehído betulónico, pureza del 85-90%) obtenida del ejemplo 1.1.1. se enfrió a temperatura ambiente y se añadió Quadrapure MPA (0,18 g) (secuestrante de Pd) y la mezcla de reacción se burbujó con aire (50 ml/min) y se agitó durante 18 h. Se filtró el precipitado con vacío y se lavó con tolueno (3 x 20 ml). Se añadió NaOH 1,7 M acuoso (3 ml) y la mezcla se agitó durante 45 min. La sal de Na de ácido betulónico precipitada se filtró, se lavó con tolueno (10 ml) y se secó. La sal de Na de ácido betulónico se trató posteriormente con ácido acético (0,4 ml) en MeOH (8 ml) y se agitó durante 30 min. Se añadió agua (15 ml) y el ácido betulónico precipitado se filtró y se lavó con agua (4 x 10 ml), se secó en horno de vacío a 80°C toda la noche. Rendimiento aislado 0,49 g, análisis de pureza de CG: ácido betulónico 87%.

Ejemplo relacionado con la etapa 3 para preparar ácido betulónico



Ejemplo 3.1

Reducción de ácido betulónico a ácido betulónico con NaBH₄

5 Ácido betulínico. A una disolución de agua (130 ml), NaOH (26 ml, 5%) y 2-propanol (120 ml) se añadió ácido betulínico (13,0 g, pureza del 94%). Se añadió NaBH₄ (1,2 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas en baño de hielo. La disolución alcalina se aciduló añadiendo disolución de HCl acuoso (130 ml, 10%). El precipitado de ácido betulínico se filtró, se lavó con agua (4 x 50 ml) y se secó en un horno de vacío para dar ácido betulínico 12,2 g (94%). CG: ácido betulínico 92%, ácido betulínico <0,1%, otros 8%. Para purificar el ácido betulínico (92%) a muy alta pureza (>99%), se disolvió el ácido betulínico (92%) (5 g) en etanol en reflujo y se dejó cristalizar a 4°C toda la noche. Los cristales formados se filtraron y se secaron en un horno de vacío. Rendimiento 82%, pureza de CG >99%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) 0,75 (s, 3H), 0,82 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,96 (s, 6H), 0,97 (s, 3H), 1,69 (s, 3H), 1,97 (m, 2H), 2,28 (m, 2H), 3,01 (m, 1H), 3,19 (dd, J = 5,5, 10,7 Hz, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,74 (s, 1H);

10 ¹³C RMN (75 MHz, DMSO) 14,4, 15,7, 15,8, 16,0, 18,0, 19,0, 20,5, 25,1, 27,2, 28,1, 29,2, 30,1, 31,7, 34,0, 36,4, 36,7, 37,6, 38,3, 38,5, 40,3, 42,0, 46,6, 48,6, 50,0, 54,9, 55,4, 76,8, 109,7, 150,3, 177,3

NaBH₄ = borohidruro sódico

Ejemplo relacionado con la etapa 4 para preparar aldehído betulínico

Ejemplo 4.1



15

Pd(OAc)₂ + trietilamina (TEA) + aire (N-acetil-L-cisteína como secuestrante de Pd)

Oxidación catalítica de betulina a aldehído betulínico. La mezcla de betulina (2,00 g), Pd(OAc)₂ (120 mg), TEA trietilamina (500 mg) en THF (120 ml) se burbujeó con flujo de aire a 500 ml/min con agitación a temperatura ambiente durante 13 horas. La mezcla de disolución obtenida (que incluye aldehído betulínico 25%) se usó posteriormente en la siguiente etapa de reacción en un recipiente sin purificación adicional.

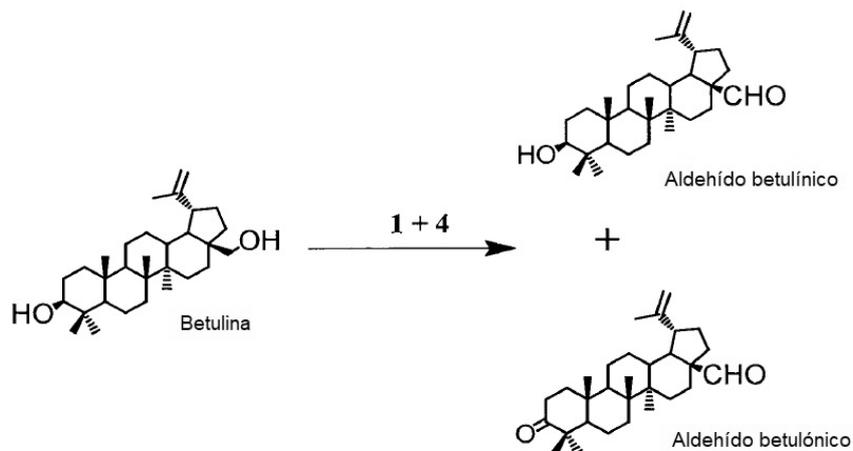
20

CG: Betulina 58%, aldehído betulínico 25%, otros 17%.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): aldehído 45%.

Ejemplo relacionado con las etapas 1 y 4 para la fabricación de mezcla de aldehído betulínico y aldehído betulínico

Ejemplo 5.1



25

Pd(OAc)₂ + piridina + aire (MPI 167) (N-acetil-L-cisteína como secuestrante de Pd)

Aldehído betulínico y aldehído betulínico. Se añadió tolueno (1000 ml) a un matraz de 2 l equipado con un condensador, agitador mecánico y tubo para el burbujeo de aire. Se añadieron acetato de paladio(II) (2,43 g, 6% en peso) y piridina (10 ml). La temperatura se ajustó a 80°C, el flujo de aire a la mezcla de reacción se ajustó a 1000

ml/min y agitación a 500 rpm. Se añadió betulina (40,5 g) en pequeñas proporciones durante 1 h. La reacción de oxidación se continuó durante 11 horas. Se añadió N-acetil-L-cisteína (16,0 g) para secuestrar Pd(II). La mezcla de reacción se enfrió y se agitó en flujo de N₂ durante 1 h. El residuo se filtró con vacío y se lavó con tolueno (3*40 ml). El filtrado obtenido (que incluye aldehído betulónico y aldehído betulínico 80% juntos) se usó posteriormente en la siguiente etapa de reacción (5) en un recipiente sin purificación adicional.

Ejemplo 5.2

Formación de hidrotalcita de Pd(II). La mezcla de Pd(OAc)₂ (378 mg), piridina (333 mg) e hidrotalcita (10,0 g) en tolueno (100 ml) se agitó a 80°C durante 1 hora. La mezcla se enfrió y se formó precipitado de hidrotalcita de Pd(II) (contenido en Pd 0,16 mmoles/g) se separó por filtrado, se lavó con dietiléter (2x20 ml) y se secó al vacío a 25°C.

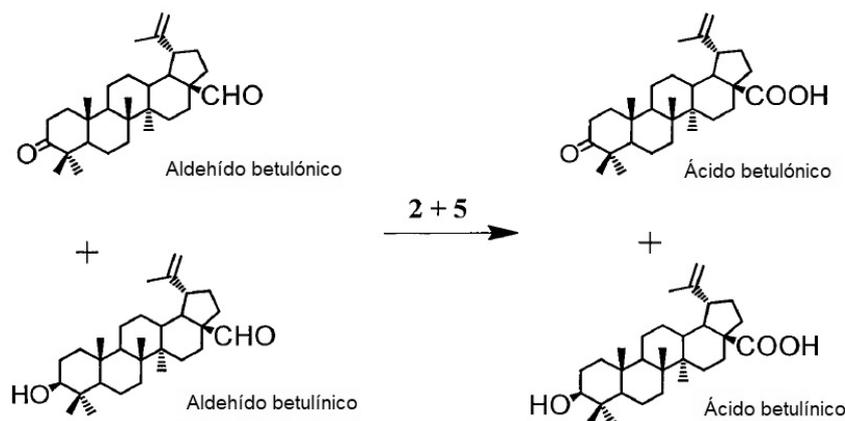
Hidrotalcita de Pd(II) + piridina + aire

Aldehído betulínico y aldehído betulónico. Se añadió tolueno (50 ml) a un matraz de 250 ml equipado con un condensador, agitador mecánico y tubo para el burbujeo de aire. Se añadieron hidrotalcita de Pd(II) (0,7 g, 140% en peso) y piridina (0,04 ml). Se ajustó la temperatura a 80°C, el flujo de aire a 50 ml/min y la agitación a 700 rpm. Se añadió betulina (0,5 g). La reacción de oxidación se monitorizó mediante CG y después de 7 horas la reacción se terminó. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, el precipitado se filtró y se lavó con tolueno (2x20 ml). El disolvente se evaporó al vacío y se secó en un horno de vacío toda la noche para dar mezcla de productos de oxidación de betulina.

CG: betulina 1%, aldehído betulínico 21%, aldehído betulónico 28%, otros 50%.

Ejemplo relacionado con las etapas 2 y 5 para fabricar la mezcla de ácido betulínico y ácido betulónico

Ejemplo 6



2-Metilbuteno + NaClO₂ + NaH₂PO₄ + terc-butanol

Ácido betulínico y ácido betulónico. Se añadieron terc-butanol (340 ml) y 2-metil-2-buteno (60 ml) al filtrado obtenido del ejemplo 4.2 (que incluye 40 g de mezcla de aldehído betulínico y aldehído betulónico, contenido en aldehído del 80%) en flujo de N₂. Se añadió el sistema de oxidación que comprende NaClO₂ (34,0 g) y NaH₂PO₄*H₂O (50 g) en agua (400 ml) durante 0,5 h y se continuó la agitación a temperatura ambiente en N₂ durante 18 h. Las fases orgánica y acuosa se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (400 ml). Se añadió NaOH acuoso (5,4 g en 40 ml de agua) a la fase orgánica y se agitó durante 0,5 h. La mitad del disolvente se evaporó al vacío y el residuo se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla precipitada de sal de Na de ácido betulínico y ácido betulónico se filtró, se lavó con tolueno (4*40 ml) y se secó toda la noche al vacío para dar una mezcla de sal de Na de ácido betulínico y ácido betulónico. La mezcla de sal de Na de ácido betulínico y ácido betulónico se trató posteriormente con disolución de HCl acuoso (280 ml de agua y 120 ml de HCl al 10%) y se agitó durante 2,5 h. El precipitado se filtró y se lavó con agua (5*60 ml), se secó en horno de vacío a 60°C toda la noche para obtener una mezcla de ácido betulínico y ácido betulónico 17,8 g (44% de la betulina).

CG: ácido betulónico 60%, ácido betulínico 27%, otros 13%.

Tabla 1. Resultados de la oxidación de betulina. Productos de oxidación de betulina. La ruta se refiere a la etapa de reacción 1, 2, 3, 4 o 5 en el esquema de reacción 1 mencionado anteriormente.

Ruta/catalizador	Oxidante	Aldehído betulínico	Aldehído betulónico	Ácido betulónico	Ácido betulínico
------------------	----------	---------------------	---------------------	------------------	------------------

ES 2 679 319 T3

1. Pd(OAc) ₂ + piridina	Aire	2	92	-	-
1. Hidrotalcita de Pd(II)	Aire	21	28	-	-
2. NHPI	Aire			48	
2. QuadraPure MPA	Aire			62	
2. NaClO ₂ + NaH ₂ PO ₄ + 2-metilbuteno + arquad 2HT	-			68	
2. NaClO ₂ + NaH ₂ PO ₄ + 2-metilbuteno + arquad 2HT + <i>terc</i> -butanol	-		4	76	2
3. Reducción de NaBH ₄					94
4. Pd(OAc) ₂ + TEA		25			
4. Pd(OAc) ₂ + piridina		25	55		
5. NaClO ₂ + NaH ₂ PO ₄ + 2-metilbuteno + arquad 2HT + <i>terc</i> -butanol				60	27

REIVINDICACIONES

1. Un método para la preparación de ácido betulónico o ácido betulínico a partir de betulina en donde el método comprende las etapas de proceso de:

(c1) oxidar betulina a aldehído betulónico en presencia de un catalizador y un oxidante,

5 (c2) oxidar dicho aldehído betulónico a ácido betulónico con un sistema de oxidación,

(c3) reducir dicho ácido betulónico a ácido betulínico usando un agente reductor en donde

la reacción de oxidación catalítica de betulina a aldehído betulónico en la etapa (c1) se realiza simultáneamente, en el mismo recipiente de reacción, con la oxidación del aldehído betulónico a ácido betulónico en la etapa (c2)

10 O

(d1) oxidar la betulina a aldehído betulínico en presencia de un catalizador y un oxidante,

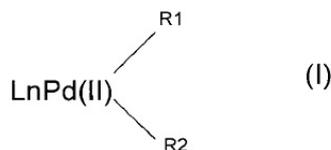
(d2) oxidar dicho aldehído betulínico a ácido betulínico con un sistema de oxidación, en donde

la reacción de oxidación catalítica de betulina a aldehído betulínico en la etapa (d1) se realiza simultáneamente, en el mismo recipiente de reacción, con la oxidación de aldehído betulínico a ácido betulínico en la etapa (d2) y

15 - en la etapa (c1) o (d1) la oxidación catalítica de la betulina se realiza mediante un catalizador de Pd(II) en presencia de dioxígeno.

2. El método según la reivindicación 1, en donde el dioxígeno se origina a partir de oxígeno atmosférico.

20 3. El método según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el catalizador de Pd(II) es de la fórmula general (I)



en donde

L es un ligando alifático o heterocíclico que contiene al menos un átomo de nitrógeno (N-ligando),

n es cualquier número entero de 0 a 2, en caso de que n es 0 el ligando L está ausente;

25 R1 o R2 es un grupo funcional seleccionado independientemente del grupo que consiste en aminas, grupos carbocíclicos aromáticos insaturados, carboxilatos, ésteres, cetonas, halógenos y nitrato, en donde

los grupos carbocíclicos aromáticos insaturados tienen de 6 a 12 átomos de carbono y un único anillo o múltiples anillos condensados (fundidos), en donde al menos un anillo es aromático y por lo que dicho grupo carbocíclico aromático insaturado puede estar no sustituido o sustituido,

30 carboxilato significa un anión que se origina a partir de un ácido carboxílico que forma una sal con un catión paladio(II), más preferiblemente el carboxilato se origina a partir de un ácido carboxílico inferior tal como ácido acético,

éster significa un alquiléster, y

cetona significa una alquicetona, tal como acetilacetato.

35 4. El método según la reivindicación 3, en donde el ligando L se selecciona del grupo que consiste en aminas mono- y bidentadas aromáticas y alifáticas (n=1 o 2) y heteroarenos mono- y bidentados (n=1 o 2), por lo que cada uno de los grupos amina aromática se origina a partir de un grupo amoniaco en que uno, dos o tres hidrógeno(s) está(n) sustituido(s) con un grupo arilo, cada uno de los grupos amina alifática se origina a partir de un grupo amoniaco en que uno, dos o tres hidrógeno(s) está(n) sustituido(s) con un grupo alquilo alifático, por lo que

40 grupo alquilo alifático significa un sustituyente que tiene una cadena hidrocarbonada saturada ramificada o no ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, preferiblemente 1 a 4 átomos de carbono y

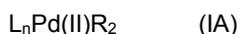
grupo arilo significa un sustituyente carbocíclico aromático insaturado que tiene de 6 a 12 átomos de carbono y que tiene un único anillo o múltiples anillos condensados, en donde al menos un anillo es aromático, por lo que dicho grupo carbocíclico aromático insaturado puede estar no sustituido o sustituido o

5 grupo arilo significa un grupo heteroarilo que se deriva de un sistema anular heteroareno monocíclico, bicíclico o tricíclico que contiene uno, dos o tres anillos aromáticos y que contiene al menos un átomo de nitrógeno en un anillo aromático, y que puede estar no sustituido o sustituido y

grupo heteroareno significa un sistema anular heteroareno monocíclico, bicíclico o tricíclico que contiene uno, dos o tres anillos aromáticos y que contiene al menos un átomo de nitrógeno en un anillo aromático, y que puede estar no sustituido o sustituido.

10 5. El método según cualquiera de las reivindicaciones 3 o 4, en donde el catalizador de paladio (I) se selecciona del grupo que consiste en acetato de paladio(II) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, acetato de fenilpaladio(II) $\text{Pd}(\text{C}_6\text{H}_5)(\text{O}_2\text{CCH}_3)$, acetilacetato de paladio(II) $\text{Pd}(\text{acac})_2$ y nitrato de paladio(II) $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$.

6. El método según la reivindicación 1, en donde el catalizador de paladio(II) es de fórmula general (IA).



15 por lo que la definición de L tiene el mismo significado que anteriormente y R tiene el mismo significado que R1 o R2 anteriormente y n significa 1 o 2.

7. El método según cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en donde el catalizador de paladio(II) de la fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en: compuesto de paladio(II) inmovilizado en talcita, complejos de hidrotalcita de paladio(II), complejos de compuesto de paladio(II)-piridina y complejos de compuesto de paladio(II)-trietilamina (TEA).

20 8. El método según la reivindicación 7, en donde el catalizador de paladio(II) se selecciona del grupo que consiste en: $(\text{py})_2\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $(\text{py})_2\text{Pd}(\text{acac})_2$, $(\text{py})_2\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{Net}_3)_2\text{Pd}(\text{Oac})_2$, $(\text{Net}_3)_3\text{Pd}(\text{Oac})_2$, en donde py significa piridina y et significa etilo.

25 9. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la etapa de oxidación de betulina a aldehído betulónico o aldehído betulínico con oxidación catalizada con Pd(II) en presencia de dioxígeno se realiza en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en hidrocarburos aromáticos, éteres, hidrocarburos alifáticos halogenados, H_2O , o mezclas de los mismos.

10. El método según la reivindicación 9 en donde el disolvente es CH_2Cl_2 , DMF o THF, DMSO, H_2O , perfluoroalcano por ejemplo, perfluorodecalina, tolueno, xileno o mezclas de los mismos.

30 11. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde la temperatura durante la oxidación de betulina es 50-120°C, preferiblemente aproximadamente 80°C.

12. El método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el catalizador de paladio se regenera después de que su resto Pd(II) se ha reducido a resto Pd(0) durante la oxidación de betulina a aldehído betulónico y/o aldehído betulínico.

35 13. El método según la reivindicación 12 en donde el catalizador de paladio se regenera por medio de N-acetil-L-cisteína o éster de mercaptofenilaminobut-2-enoato.