

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 077**

51 Int. Cl.:

**C07C 67/00** (2006.01)

**C07C 67/29** (2006.01)

**C07C 69/533** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.07.2013 PCT/EP2013/064643**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.01.2014 WO14012836**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2013 E 13735043 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.09.2018 EP 2872477**

54 Título: **Proceso para la preparación de ingenol-3-angelato a partir de 20-desoxi-ingenol**

30 Prioridad:

**16.07.2012 US 201261672282 P**

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

**23.11.2018**

73 Titular/es:

**LEO LABORATORIES LIMITED (100.0%)  
285 Cashel Road Crumlin  
Dublin 12, IE**

72 Inventor/es:

**LIANG, XIFU**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**ES 2 691 077 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

Proceso para la preparación de ingenol-3-angelato a partir de 20-desoxi-ingenol

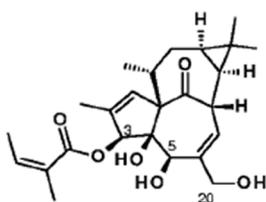
La invención proporciona un método para preparar ingenol-3-angelato (PEP005) a partir de 20-desoxi-ingenol o 20-desoxi-ingenol-3-angelato por oxidación selectiva.

## 5 Antecedentes de la invención

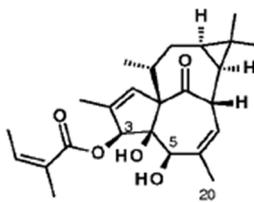
El compuesto de ingenol-3-angelato (PEP005) [Sayed, M.D. et.al.; *Experienta*, (1980), 36, 1206-1207] puede aislarse de varias especies de *Euphorbia*, y particularmente de *Euphorbia peplus* [Hohmann, J. et. *Alabama; Planta Med.*, (2000), 66, 291-294] y *Euphorbia drummondii* por extracción, seguido por cromatografía como se describe en el documento US 7449492. El ingenol se ha usado previamente como punto de partida para la preparación semisintética de ingenol-3-ésteres [Sorg, B. et. al, *Z. Naturforschung*, (1982), 37B, 748-756] y derivados de ingenol-3-éster [Appendino et. al., *Eur. J. Org. Chem.* (1999), 3413; Opferkuch et.al., *Z. Naturforschung*, (1981), 36B, 878, WO2012/010172 y Andrew Nickel et. al., *Journal of the American Chemical Society*, (2004) vol. 126, no. 50, p. 16300-16301] Sin embargo, no se ha descrito la preparación de derivados de ingenol-3-angelato e ingenol-3-angelato a partir de 20-desoxi-ingenol.

15 El documento WO2012/010172 describe el método para preparar ingenol-3-angelato a partir de ingenol haciendo reaccionar uno o ambos grupos hidroxilo en las posiciones 5 y 20 de ingenol con agentes protectores de hidroxilo adecuados, seguido de la esterificación del grupo hidroxilo en la posición 3 y finalmente retirando los grupos protectores de hidroxilo para obtener ingenol-3-angelato.

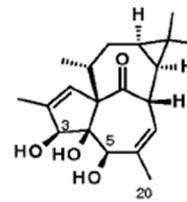
20 La presente invención divulga un método para obtener ingenol-3-angelato a partir de derivados de 20-desoxi-ingenol extraíbles de plantas de *Euphorbia*.



Ingenol-3-angelato



20-Desoxi-ingenol-angelato



20-Desoxi-ingenol

## Resumen de la invención

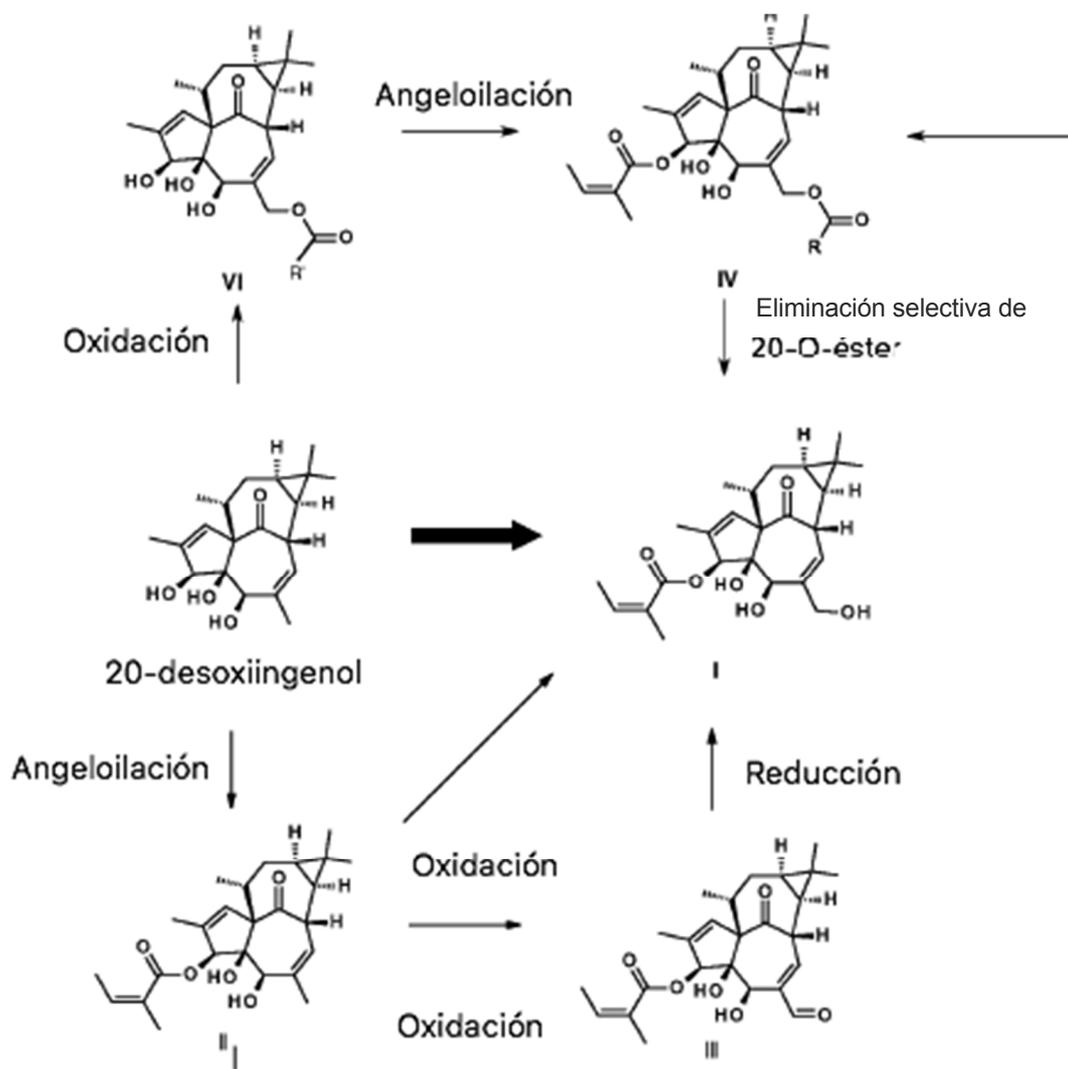
25 La invención proporciona un método para producir materiales de ingenol-3-angelato disponibles, por ejemplo, por extracción de plantas. Los compuestos de 20-desoxi-ingenol-3-angelato y 20-desoxi-ingenol están disponibles mediante extracción de plantas y se describe la preparación de ingenol-3-angelato a partir de estos materiales de partida, aplicando oxidación u oxidación/sustitución y opcionalmente angeloilación dependiendo del material de partida.

30 Por lo tanto, un aspecto de la invención proporciona un método para preparar ingenol-3-angelato a partir de 20-desoxi-ingenol mediante una angeloilación selectiva hasta 20-desoxi-ingenol-3-angelato, seguido por oxidación a ingenol-3-angelato. Si se utiliza 20-desoxi-ingenol-3-angelato disponible como material de partida, se puede evitar el paso de angeloilación y una oxidación selectiva proporcionará ingenol-3-angelato. Alternativamente, se puede generar un derivado de 20-acil-ingenol a partir de 20-desoxi-ingenol así como a partir de 20-desoxi-ingenol-3-angelato, que puede ser retirado selectivamente hasta el ingenol-3-angelato deseado.

## Descripción detallada de la invención

35 La preparación de ésteres de angelato no es sencilla, ya que el ácido angélico y los ésteres de angelato son propensos a la isomerización para formar los ésteres de tigolato termodinámicamente más estables, tanto en la presencia como en ausencia de base [Beeby, P., *Tetrahedron Lett.* (1977), 38, 3379-3382, Hoskins, W.M., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, (1977), 538-544, Bohlmann, F. et. al. *Chem. Ber.* (1970), 103, 561-563]. Además, se sabe que los derivados de ingenol se degradan en la presencia de ácido [Appendino et. al. *Eur. J. Org. Chem.* (1999), 3413]. Se ha descrito previamente la preparación de ésteres de angelato. El éster de 3-angelato se puede preparar, por ejemplo, haciendo reaccionar 20-desoxi-ingenol con cloruro de angelilo o con anhídrido de ácido angélico en un solvente adecuado tal como THF y diclorometano, opcionalmente en la presencia de una base adecuada tal como carbonato alcalino (K, Na, Cs), hexametil disilazano alcalino (Li, Na, K) o N, N-diisopropiletilamina, o haciendo reaccionar 20-desoxi-ingenol con un donante de acilo tal como anhídrido angélico o angelato de vinilo, opcionalmente en la presencia de una enzima como catalizador.

- 5 Por ejemplo, el compuesto II se puede sintetizar haciendo reaccionar 20-desoxi-ingenol con un derivado de ácido angélico activado tal como haluro de angelolo, tal como cloruro de angelolo. La esterificación por reacción con cloruro de angelolo puede tener lugar sin un activador, o puede tener lugar en la presencia de una base como trietilamina, carbonato alcalino (Li, Na, K, Cs) o hexametildisilazano alcalino (Li, Na, K). Ejemplos de la síntesis de ésteres de ácido angélico usando cloruro de angelolo se pueden encontrar, por ejemplo, en Beeby, P.J., *Tetrahedron Lett.*, (1977), 38, 3379-3382.
- 10 Alternativamente, el Compuesto II se puede sintetizar, por ejemplo, haciendo reaccionar 20-desoxi-ingenol con un derivado de ácido angélico activado tal como anhídrido angélico. La esterificación por reacción con anhídrido angélico puede tener lugar sin un catalizador, o en la presencia de un catalizador ácido que usa un ácido de Bronsted tal como el ácido perclórico o un ácido de Lewis como el triflato de escandio (III) o el triflato de bismuto (III), o en la presencia de una base como carbonato alcalino (Na, K, Cs) o hexametildisilazano alcalino (Li, Na, K). Ejemplos de la síntesis de ésteres de ácido angélico usando anhídrido de ácido angélico pueden encontrarse, por ejemplo, en Hartmann, B. et al. *Tetrahedron Lett.*, (1991), 32, 5077-5080, en JP2008127287 o en PCT/DK2011/000081.
- 15 O el compuesto II se puede sintetizar, por ejemplo, haciendo reaccionar 20-desoxi-ingenol con un derivado de ácido angélico activado, tal como un anhídrido mixto, tal como anhídrido de 2,4,6-triclorobenzoilo angelolo. La esterificación por reacción con un anhídrido mixto puede tener lugar con una base o en la presencia de una base tal como hidrogenocarbonato de sodio o trietilamina, o en la ausencia de una base. Se pueden encontrar ejemplos de la síntesis de ésteres de ácido angélico usando anhídrido de ácido angélico 2,4,6-triclorobenzoilo en el documento WO2012 0101072 o Hartmann, B. et al. *Tetraedro Lett.* (1991), 32, 5077-5080, o en Ball, B. et al., *Org. Lett.*, (2007), 9, 663-666.
- 20 El compuesto II se puede sintetizar, por ejemplo, haciendo reaccionar el compuesto (III), (IV) o (II) con un donante de angelolo tal como anhídrido de ácido angélico, éster de ácido angélico tal como angelato de vinilo o tioéster de ácido angélico en la presencia de una enzima tal como una lipasa o una esterasa. Ejemplos de esterificación de un derivado de ingenol catalizado por lipasa se pueden encontrar en Teng, R.W., *Fitoterapia*, (2009), 80, 233-236.
- 25 El compuesto II se somete luego a oxidación usando agentes de oxidación tales como SeO<sub>2</sub>, bis-(4-metoxifenil)selenóxido. En una realización, se usa SeO<sub>2</sub>, SeO<sub>2</sub>/SiO<sub>2</sub>, SeO<sub>2</sub>/peróxido de tert-butilo, o SeO<sub>2</sub>/bis-(4-metoxifenil)selenóxido. En una realización, la oxidación se realiza en 1,4-dioxano, ácido fórmico/dioxano, MeOH, AcOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> o 1,2-dicloroetano. En una realización alternativa, la reacción comprende además los pasos de reducir los derivados de 20-aldehído a ingenol-3-angelato. En una realización, el agente reductor es NaBH<sub>4</sub>/CeCl<sub>3</sub>.
- 30 En una realización alternativa, el paso de oxidación se realiza en la presencia de un ácido, y es seguida por un paso de desacilación.
- 35 En una realización, el compuesto de partida es 20-desoxi-ingenol y el ácido (R'CO<sub>2</sub>H) es ácido fórmico o ácido acético. En una realización, el material de partida es 20-desoxi-ingenol-3-angelato y el ácido se puede elegir entre casi cualquier ácido disponible, que sea compatible con los otros reactivos. Por ejemplo, el grupo R puede ser alifático saturado e insaturado, y aromático de casi cualquier tamaño con el debido cuidado de la solubilidad, etc. En una realización, la desacilación se realiza en la presencia de un ácido o una base en alcohol o mediante transesterificación enzimática.
- 40 En una realización alternativa, los pasos comprenden bromación con NBS o Br<sub>2</sub> seguido de una sustitución de bromuro con un grupo acilo y, posteriormente, mediante una eliminación del grupo 20-O-acilo.
- Todavía, por ejemplo, la fórmula general IV puede prepararse mediante la oxidación de 20-desoxi-ingenol a ingenol 20-acilato (VI) en presencia de SeO<sub>2</sub>/ácido acílico seguido por 3-O-angeloilación de ingenol 20-acilato (VI). El grupo acilo se puede eliminar de manera selectiva, proporcionando así el compuesto final ingenol-3-angelato.
- 45 El 20-desoxi-ingenol usado como material de partida en la presente invención se puede aislar de *Euphorbia Kansui* (Uemura et al. *Tetrahedron Lett.* (1974), 15, 2527) o de otras plantas de *Euphorbia*, por ejemplo de *Euphorbia Peplus*. Alternativamente, el material de partida puede ser 20-desoxi-ingenol-3-angelato, que también está disponible en las plantas.



Esquema 1

En el primer paso, se puede usar cloruro de ácido angélico, anhídrido mixto angélico y anhídrido angélico para hacer 20-desoxiingenol-3-angelato. Tanto las transformaciones químicas como las enzimáticas son adecuadas para esto. Para el segundo paso, se pueden usar varios reactivos de oxidación como  $\text{SeO}_2$ , PCC (clorocromato de piridinio) y citocromos. Al controlar cuidadosamente las condiciones de reacción, hemos hecho ingenol-3-angelato en pequeña escala. La reacción muestra una alta regioselectividad y procede con una mínima formación de subproductos.

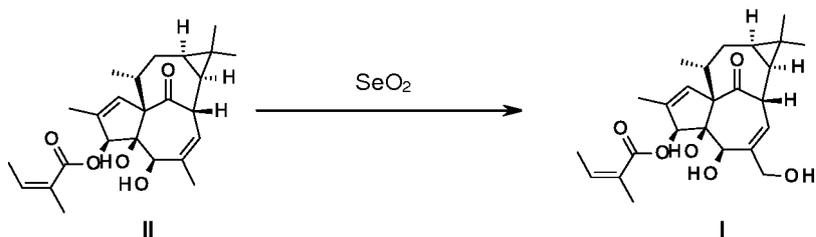
En el paso de oxidación, si no se detuviera en la etapa de alcohol, se obtendría aldehído. El aldehído se puede reducir fácilmente al alcohol, dando ingenol-3-angelato. El esquema anterior de experimentos muestra que es posible preparar ingenol-3-angelato a partir de 20-desoxiingenol en dos pasos. Si el material de partida se elige para ser 20-desoxiingenol-3-angelato, que se puede aislar de la planta de *Euphorbia*, es solo una síntesis de un paso.

#### Métodos sintéticos

El ingenol-3-angelato (I) de la invención se puede preparar, por ejemplo, de acuerdo con los siguientes métodos generales no limitantes.

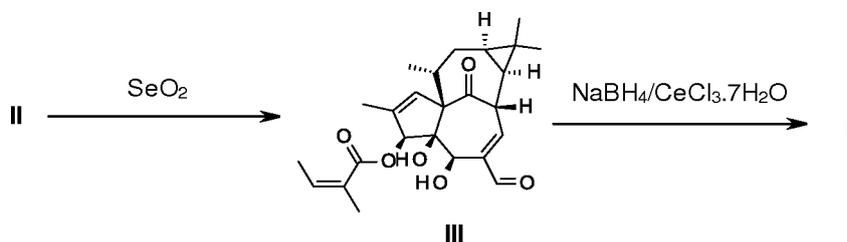
#### Método a

El ingenol-3-angelato (I) se puede sintetizar por ejemplo haciendo reaccionar 20-desoxiingenol-3-angelato (II) con un reactivo adecuado como el dióxido de selenio ( $\text{SeO}_2$ ),  $\text{SeO}_2/\text{SiO}_2$ ,  $\text{SeO}_2$ /peróxido de tert-butilo y  $\text{SeO}_2$ /bis-(4-metoxifenil)selenóxido en un solvente adecuado tal como 1,4-dioxano, MeOH, AcOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 1,2-dicloroetano. Ejemplo de 20-hidroxilación de 20-desoxiingenol se puede encontrar en Nickel, A. et al. Mermelada. Chem. Soc. (2004), 126, 16300-16301. Se pueden encontrar ejemplos de hidroxilaciones alílicas de otros sustratos diferentes a los de I mediante el uso de esos reactivos en Koot, W.-J., Ley, S. V. Tetrahedron (1995), 51, 2077-2090; Yun, S.-Y. et al. J. Am. Chem. Soc. (2009), 131, 8413-8415 o Chen, Y. et al. J. Chem. Research (S) (1997), 472-473.



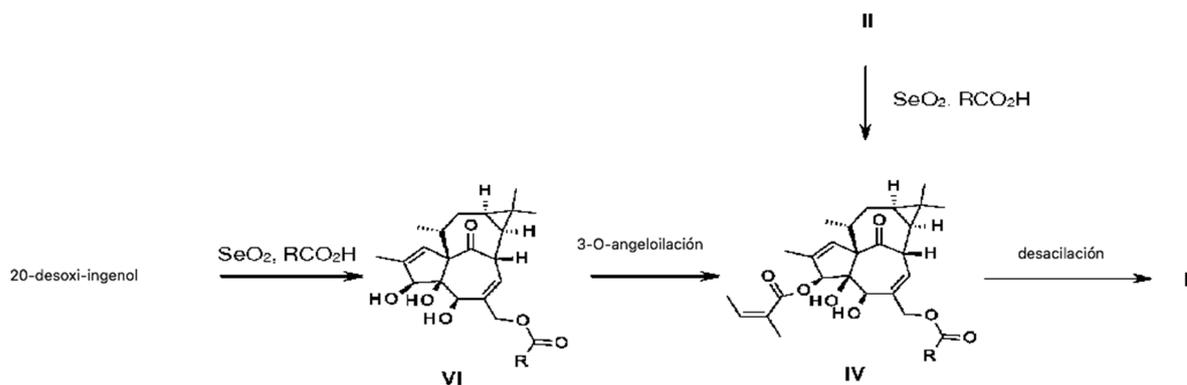
Método b

5 El ingenol-3-angelato (I) se puede sintetizar, por ejemplo, mediante reacciones de dos pasos. El 20-desoxiingenol-3-angelato (II) se puede convertir, por ejemplo, en el compuesto III en presencia de un reactivo adecuado tal como  $\text{SeO}_2$ /piridina y  $\text{SeO}_2$ /peróxido de tertbutilo. El Compuesto III se puede reducir, por ejemplo, mediante el uso de  $\text{NaBH}_4$ / $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en MeOH, dando I. Los ejemplos de hidroxilaciones alílicas de otros sustratos pueden ser encontrados en Urabe, D. et al. Chem. Asiático. J. (2006), 125-135; Li, D. R. et al. Synthesis (2003), 41-44.



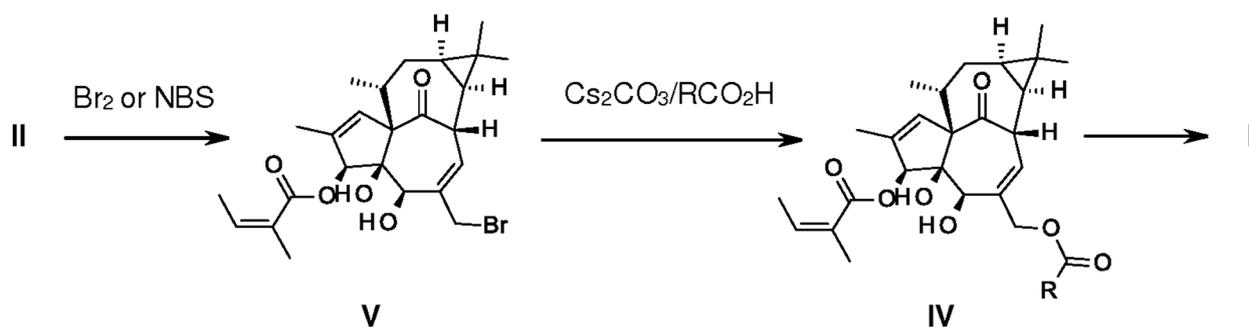
Método c

10 El ingenol-3-angelato (I) se puede sintetizar, por ejemplo, mediante reacciones de dos pasos. El 20-desoxiingenol-3-angelato (II) se puede convertir, por ejemplo, en la fórmula general IV en la presencia de  $\text{SeO}_2/\text{HCO}_2\text{H}$ . La fórmula general IV puede convertirse, por ejemplo, en I utilizando un ácido o una base en MeOH o mediante transesterificación enzimática. Ejemplo de hidroxilación alílica de otro sustrato puede encontrarse, por ejemplo, en Nagaoka, H. et al. Tetraedro Lett. (1993), 34, 1501-1504. Para la transesterificación enzimática, véase la patente provisional para la preparación enzimática de ingenol-3-angelato US 61/590,544. Alternativamente, la fórmula general IV se puede sintetizar, por ejemplo, en dos pasos a partir de 20-desoxi-ingenol. El 20-desoxiingenol puede oxidarse, por ejemplo, a la fórmula general VI. VI se puede convertir a IV por 3-O-angeloilación selectiva.



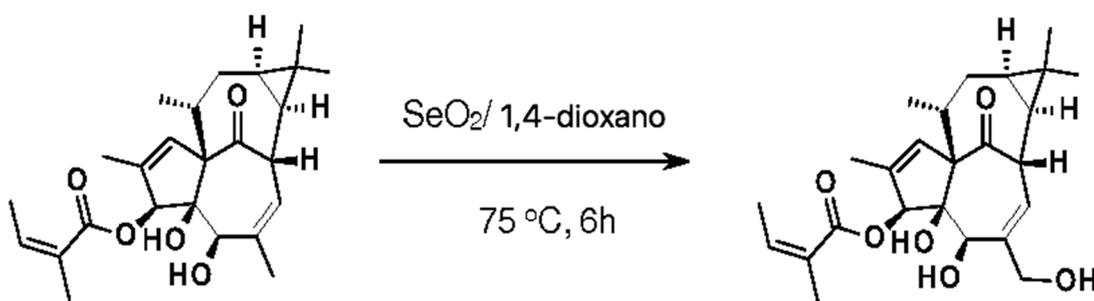
Método d

20 El ingenol-3-angelato (I) se puede sintetizar, por ejemplo, mediante reacciones de tres pasos. 20-Desoxi-ingenol-3-angelato (II) se puede hacer reaccionar, por ejemplo, con un reactivo adecuado, como bromo o NBS, produciendo V. El compuesto V se puede convertir en la fórmula general IV. IV puede convertirse además en I como en el método c. Ejemplos de hidroxilaciones alílicas de otros sustratos distintos de los que se pueden encontrar, por ejemplo, en Hiranuma, S. et al. Chem Pharm. Toro. (1991), 39, 2167-2169; Vlad, P.F. et al. Chem. Nat. Comp. (2011), 47, 574-578.



Preparación de ingenol-3-angelato (PEP005) a partir de 20-desoxiingenol-3-angelato

**Ejemplo 1**



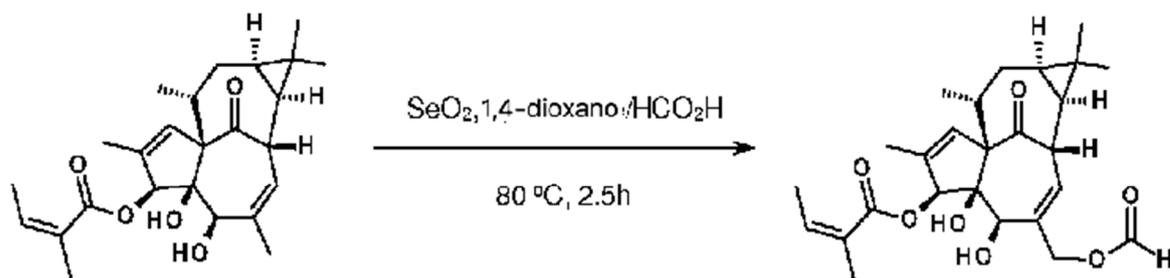
20-desoxi-ingenol-3-angelato

ingenol-3-angelato

- 5 Una mezcla de 20-desoxi-ingenol-3-angelato (46 mg, 0.11 mmol) y  $\text{SeO}_2$  (60 mg, 0.54 mmol) en 1,4-dioxano se calentó a 80 °C en un reactor cerrado durante 6 h. La mezcla se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía (éter de petróleo/acetato de etilo 1: 1), dando 19 mg del producto deseado.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.16 (qq,  $J = 7.2, 1.5$  Hz, 1H), 6.10 - 6.00 (m, 2H), 4.31 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 4.23 - 3.99 (m, 4H), 3.48 (s, 2H), 2.60 - 2.46 (m, 1H), 2.49 - 2.33 (m, 1H), 2.35 - 2.15 (m, 1H), 2.02 (dq,  $J = 7.2, 1.7$  Hz, 3H), 1.95 - 1.91 (m, 3H), 1.84 - 1.69 (m, 4H), 1.09 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 0.99 - 0.80 (m, 4H), 0.70 (td,  $J = 8.5, 6.2$  Hz, 1H).

**Ejemplo 2**



20-desoxi-ingenol-3-angelato

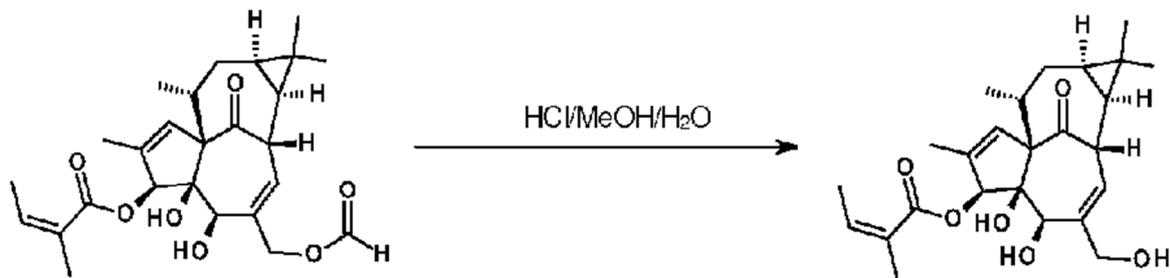
3-angeloil-20-formil-ingenol

3-angeloil-20-formil-ingenol

- 15 Se agitó una solución de 20-desoxi-ingenol-3-angelato (21 mg, 0.051 mmol), óxido de selenio (20 mg, 0.18 mmol) en ácido fórmico/dioxano (1: 2, 1.5 ml) a 80°C durante 2.5 h.

La solución se tomó en  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo dos veces con  $\text{Et}_2\text{O}$ . Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía (PE/acetato de etilo 2:1), dando el compuesto del título (5 mg).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.05 (s, 1H), 6.26 - 6.12 (m, 2H), 6.05 (q,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 5.52 (s, 1H), 4.87 (d,  $J = 12.2$  Hz, 1H), 4.60 (d,  $J = 12.2$  Hz, 1H), 4.14 - 4.03 (m, 1H), 3.93 (s, 1H), 3.47 - 3.39 (m, 2H), 2.48 (m,  $J = 10.3, 7.2, 6.3, 3.2$  Hz, 1H), 2.24 (ddd,  $J = 15.7, 8.5, 3.0$  Hz, 1H), 2.04-1.98 (m, 3H), 1.93 (p,  $J = 1.5$  Hz, 3H), 1.82 - 1.68 (m, 4H), 1.09 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.01 - 0.92 (m, 3H), 0.92 - 0.81 (m, 1H), 0.78-0.65 (s, 1H).



3-angeloil-20-formil-ingenol

PEP005

5

PEP005

A una solución de 3-angelilo-20-formil-ingenol (5 mg, 0.011 mmol) en MeOH (0.5 ml) se le añadió HCl acuoso concentrado (0.025 mL) a temperatura ambiente. La solución se agitó a esta temperatura durante 0.5 h. La solución se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía (éter de petróleo/acetato de etilo 3: 2 a 0: 1), dando 4 mg del producto.

10

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para preparar ingenol-3-angelato a partir de 20-desoxi-ingenol o 20-desoxi-ingenol-3-angelato, en el que se oxida 20-desoxi-ingenol-3-angelato, la oxidación se realiza utilizando  $\text{SeO}_2$ , bis-(4-metoxifenil)selenóxido,  $\text{SiO}_2$  o peróxido de tert-butilo, o mezclas de los mismos como agentes de oxidación.
- 5 2. El método de la reivindicación 1, en el que los derivados de 20-aldehído se reducen a ingenol-3-angelato.
3. El método de la reivindicación 2, en el que los agentes reductores son  $\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3$ .
4. El método de la reivindicación 1, en el que el 20-desoxi-ingenol-3-angelato se hace reaccionar con bromo o NBS, seguido de una sustitución tal como por  $\text{CsCO}_3/\text{R}'\text{CO}_2\text{H}$ , seguido de una desacilación selectiva.
- 10 5. El método de la reivindicación 1, en el que el 20-desoxi-ingenol se convierte en 20-desoxi-ingenol-3-angelato usando derivados de ácido angélico activados tales como anhídrido angélico seguido por cualquiera de los pasos de acuerdo con las reivindicaciones 1-4.
6. El método de la reivindicación 1, en el que el 20-desoxi-ingenol se oxida usando  $\text{SeO}_2$  en  $\text{RCO}_2\text{H}$  produciendo el 20-acilderivativo de ingenol, seguido de angeloilación usando derivados de ácido angélico activados tales como anhídrido angélico, seguido de desacilación selectiva.