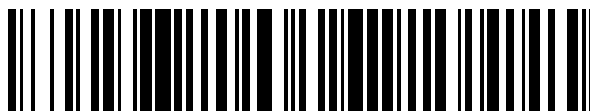


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 328**

51 Int. Cl.:

C07H 15/252 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2012** **E 12160375 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2013** **EP 2518077**

54 Título: **Método para producir 4-desmetoxidaunorrubicina**

30 Prioridad:

29.04.2011 US 201113097131

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

03.03.2016

73 Titular/es:

**SYNBIAS PHARMA AG (100.0%)
Pestalozzistrasse 2
8200 Schaffhausen, CH**

72 Inventor/es:

**ZABUDKIN, ALEXANDER;
MATVIENKO, VICTOR y
MATVYEV, ALEXEY**

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 562 328 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 producir 4-desmetoxidaunorrubicina.

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a métodos para la síntesis química de compuestos de antraciclina. Más particularmente, la invención se refiere a un método para la producción de 4-desmetoxidaunorrubicina (idarrubicina), partiendo de daunorrubicina.

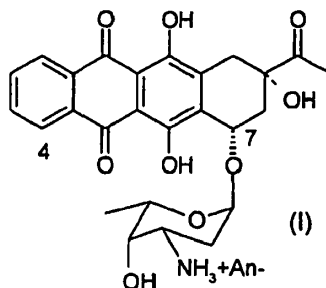
10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las antraciclinas representan una clase de compuestos bioactivos de origen natural obtenidos a partir de bacterias del genero *Streptomyces*. Varias antraciclinas demostraron ser agentes antineoplásicos clínicamente eficaces que pueden emplearse para el tratamiento de un amplio intervalo de cánceres, incluyendo, entre otros, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, y neoplasias hematológicas, tales como leucemias y linfomas. Además, los miembros de esta clase de compuestos también se mostraron útiles en trasplantes de médula ósea y durante trasplante de células madre. Los ejemplos de dichas antraciclinas terapéuticamente pertinentes incluyen, entre otros, daunorrubicina, idarrubicina (es decir, 4-desmetoxidaunorrubicina), doxorubicina, epirubicina, pirarubicina, zorrubicina, aclarrubicina y carminomicina.

La 4-desmetoxidaunorrubicina (idarrubicina) que tiene la estructura química de fórmula (I) (véase a continuación) es un análogo de daunorrubicina que interfiere con la síntesis de ácido nucleico mediante intercalación en ADN e interactúa con la enzima topoisomerasa II. La ausencia de un grupo metoxi en la posición 4 de la estructura de antraciclina proporciona al compuesto una elevada lipofilicidad, que da como resultado un aumento de la velocidad de captación celular en comparación con otras antraciclinas. En combinación con citosina arabinósida, 4-desmetoxidaunorrubicina es la terapia de primera línea actual de leucemia mieloide aguda.

25



en la que An representa un anión de cualquier ácido fuerte, tal como ácido clorhídrico.

30

Los métodos disponibles para la síntesis química de 4-desmetoxidaunorrubicina (idarrubicina) se basan generalmente en el acoplamiento de la aglicona del compuesto (es decir el componente distinto de azúcar) y la daunosamina protegida y activada (es decir 3-amino-2,3,6-trideoxi-L-ribo-hexosa; el componente azúcar) en presencia de triflato de plata ($\text{AgOSO}_2\text{CF}_3$), trimetilsilil-triflato ($(\text{CH}_3)_3\text{SiOSO}_2\text{CF}_3$), o un sistema de óxido mercúrico-bromuro mercúrico (HgO-HgBr_2). La aglicona puede sintetizarse, por ejemplo, usando antracenetrona o isobenzofurano como material de partida. Sin embargo, dichos métodos de síntesis son complejos debido a la creación de centros ópticamente activos en los carbonos C7 y C9.

35

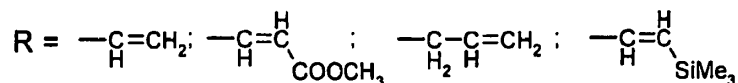
Los métodos alternativos para la síntesis de 4-desmetoxidaunorrubicina utilizan la aglicona de daunorrubicina, que se preparada por la hidrólisis ácida de daunorrubicina. En este caso, la daunorrubicina se somete a degradación ácida, el aminoazúcar daunosamina puede obtenerse por separado, que se usa posteriormente, después de la modificación química, para la glicosilación de la aglicona modificada.

40

Los primeros métodos disponibles para reemplazar el grupo aglicona 4- CH_3O (4-MeO) para hidrógeno (y otros sustituyentes, tales como NH_2) implicaban la desmetilación de daunorrubicinona, la sulfonación de la 4-desmetil-daunorrubicinona resultante, y la sustitución del grupo 4- ArSO_2O para 4- ArCH_2NH , seguido de la reducción adicional del grupo bencilo para producir el grupo 4- NH_2 (véase la Patente de Estados Unidos N° 4.085.548). La realización de una etapa de desaminación reductora posterior da como resultado la producción de la aglicona de 4-desmetoxidaunorrubicina (véase la Patente EP N° 0328399 B1). La Patente de Estados Unidos N° 5.587.495 desvela una reacción de condensación reductora de 4-desmetil-4-trifluorometanosulfonyl daunorrubicinona (4-OTf

50

daunorrubicinona) y complejos de fenilfosfina/paladio o níquel. De manera concomitante, se obtienen daunorrubicinonas 4-R sustituidas.



- 5 De una manera similar, la carbonilación reductora de 4-OTf daunorrubicinona usando los mismos complejos produce daunorrubicinonas 4-COOR sustituidas (véase la Patente de Estados Unidos N° 5.218.130). Si se usa formiato como agente reductor, el radical 4-OTf se reemplaza por hidrógeno dando como resultado la producción de 4-desmetoxidaunorrubicinona (véase la Patente de Estados Unidos N° 5.103.029).
- 10 Por lo tanto, todos los métodos de síntesis establecidos de 4-desmetoxidaunorrubicina implican la fragmentación de la molécula de daunorrubicina en el componente aglicona y el componente aminoazúcar, la modificación química separada de los dos componentes, y el acoplamiento posterior. Sin embargo, dicho esquema de síntesis da lugar a una tarea adicional, la generación de un centro ópticamente activo en el carbono C7. Típicamente, dichos esquemas de síntesis implican de 10 a 12 etapas diferentes, reduciendo de este modo el rendimiento total del producto final al 15 6-8 %.

La patente de Estados Unidos N° 7.053.191 desvela una ruta de síntesis alternativa, en la que los derivados de 4-desmetildaunorrubicina (es decir carminomicina), principalmente N-trifluoroacetil-4-desmetildaunorrubicina, se usaron como compuesto de partida. En este caso, el grupo 4-OH se retira de la molécula de antraciclina completa.

- 20 Sin embargo, hasta la fecha únicamente puede obtenerse N-trifluoroacetil-4-desmetildaunorrubicina en cantidades razonables por medio de una síntesis química compleja (véase la Patente de Estados Unidos N° 4.188.377).

La modificación ventajosa de la ruta de síntesis para los derivados de carminomicina puede observarse en el uso de daunorrubicina como material de partida para reducir el número de etapas de síntesis requeridas. Sin embargo,

- 25 hasta ahora no ha sido posible establecer dicho esquema de síntesis debido a la falta de métodos para la desmetilación selectiva del grupo 4-MeO de las antraciclina sin escisión concomitante del enlace glucósido en el carbono C7.

Un método establecido para la desmetilación de alquilfenil éteres comprende el tratamiento de los alquilfenil éteres con el ácido fuerte de Lewis AlCl_3 en disolventes inertes (en particular, hidrocarburos clorados, tal como diclorometano) al punto de ebullición. Cualquier intento de aplicar esta ruta de síntesis a daunorrubicina da como resultado la eliminación de daunosamina seguida de la destrucción total de la molécula.

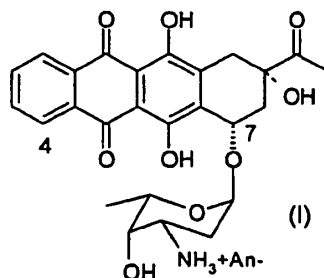
- 35 Por lo tanto, aún existe la necesidad de nuevas rutas de síntesis para la producción de compuestos de antraciclina clínicamente eficaces, tal como 4-desmetoxidaunorrubicina (idarrubicina). En particular, sigue habiendo la necesidad de esquemas de síntesis menos complejos que impliquen un número reducido de etapas de reacción y que den como resultado de este modo un mejor rendimiento del producto final.

Por consiguiente, es un objeto de la presente invención proporcionar dichos métodos.

40

RESUMEN DE LA INVENCION

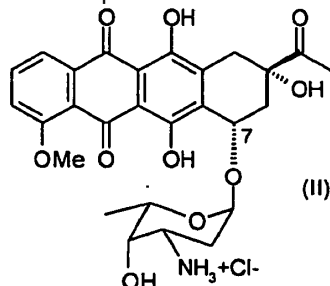
En un aspecto, la presente invención se refiere a un método para la producción de 4-desmetoxidaunorrubicina, o una sal de la misma, que tiene la estructura química de fórmula (I),



45

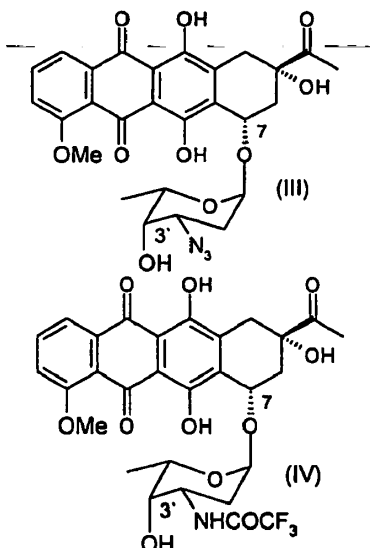
en la que An representa un anión, que comprende:

(a) convertir clorhidrato de daunorrubicina que tiene la estructura química de fórmula (II)



5

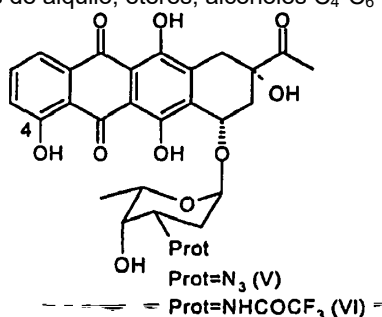
en una daunorrubicina 3'-protegida (3'-Prot-daunorrubicina) que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (III) y (IV), en el que la conversión de la sal del grupo 3'-amino en una 3'-azida mediante contacto con un reactivo de formación de azida da como resultado la formación de (III), y la conversión de la sal del grupo 3'-amino en una 3'-trifluoroacetamida mediante contacto con un reactivo de trifluoroacetilación da como resultado la formación de (IV);



10

(b) desmetilar la 3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (III) o (IV) mediante contacto con $MgCl_2$ (anhidro) y en presencia de KI (anhidro) en un disolvente anhidro para producir una 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (V) y (VI), respectivamente, en el que la desmetilación de (III) da como resultado la formación de (V), y la desmetilación de (IV) da como resultado la formación de (VI), en el que la reacción se realiza a una temperatura de reacción en el intervalo de $10\text{ }^{\circ}C-80\text{ }^{\circ}C$, y en particular en el intervalo de $40\text{ }^{\circ}C-60\text{ }^{\circ}C$, y en el que el disolvente anhidro se selecciona entre el grupo que consiste en alcanos, cicloalcanos, halogenalcenos, arenos, óxidos de alquilo, éteres, alcoholes C_4-C_6 y dióxido de carbono;

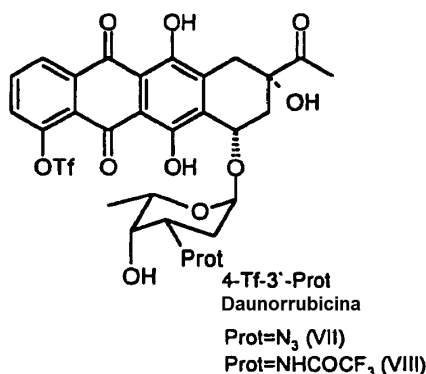
15



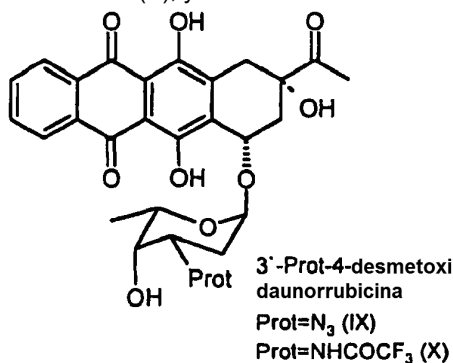
20

(c) trifluorometanosulfonilar la 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (V) o (VI) mediante contacto con un reactivo de trifluorometanosulfonación para producir una 4-O-trifluorometanosulfonil-3'-Prot-daunorrubicina que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (VII) y (VIII), respectivamente, en el que la trifluorometanosulfonilación de (V) da

como resultado la formación de (VII), y la trifluorometanosulfonilación de (VI) da como resultado la formación de (VIII);



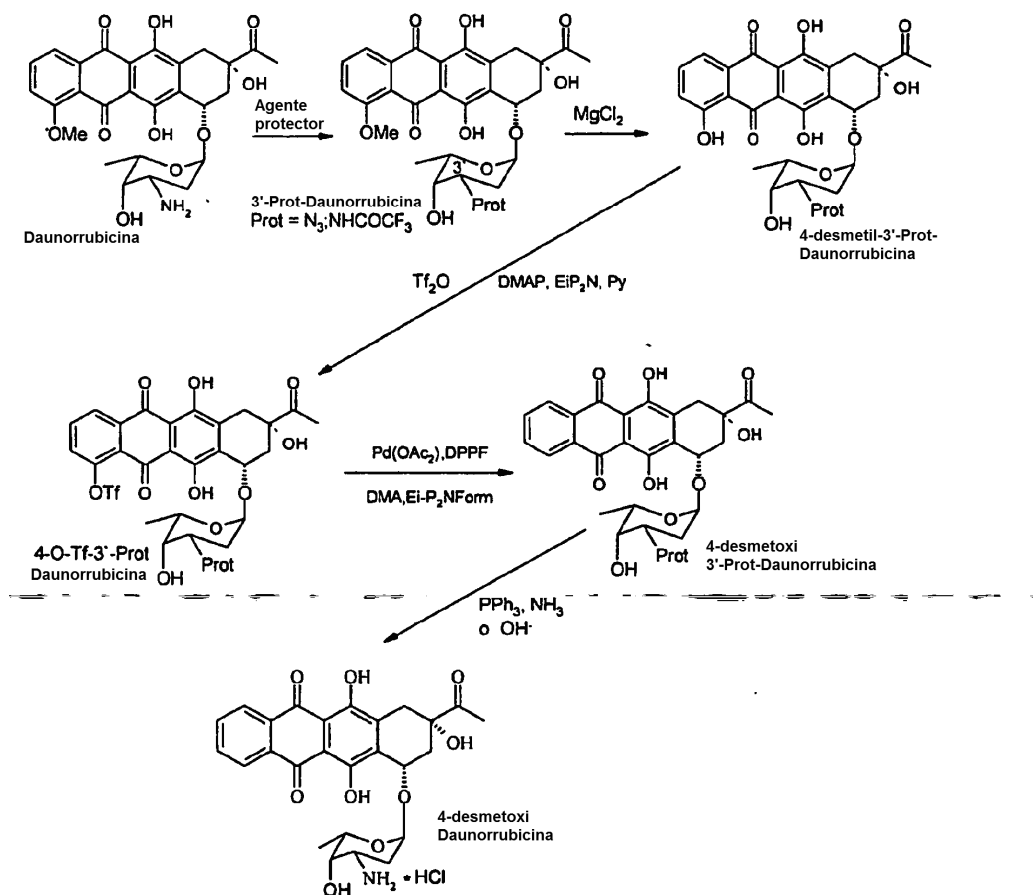
- 5 (d) reducir la 4-O-trifluorometanosulfonil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (VII) o (VIII) mediante contacto con un agente reductor para producir una 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorrubicina que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (IX) y (X), respectivamente, en el que la reducción de (VII) da como resultado la formación de (IX), y la reducción de (VIII) da como resultado la formación de (X); y



- 10 (e) eliminar el grupo 3'-Prot protector de la 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorrubicina seleccionada entre el grupo que consiste en el compuesto de fórmula (IX) y el compuesto de fórmula (X), donde el compuesto de fórmula (IX) se pone en contacto con un reactivo reductor de azida, o el compuesto de fórmula (X) se pone en contacto con una solución alcalina, con la formación resultante de un grupo 3'-amino, para producir 4-desmetoxidaunorrubicina y, opcionalmente poner en contacto 4-desmetoxidaunorrubicina con un ácido de fórmula H^+Ar^- para producir la sal 4-desmetoxidaunorrubicina de fórmula (I).
- 15

El método de la presente invención no provoca la escisión del enlace glucósido en el carbono C7, permitiendo de esta manera que el experto en la técnica obtenga el producto únicamente en cinco etapas químicas con un rendimiento total del producto final del 30-45 % de clorhidrato de daunorrubicina.

- 20 La siguiente ilustración esquemática (esquema 1) representa la rota de síntesis de acuerdo con el método de la presente invención.



Una sal de daunorrubicina, tal como la sal clorhidrato, que tiene la estructura química de fórmula (II), se protege en el grupo 3'-amino (del resto aminoazúcar) que, en una primera etapa, se convierte en una azida (3'-N₃) (véase el compuesto que tiene la estructura química de fórmula (III)) o una trifluoroacetamida (3'-NHCOCF₃) (véase el compuesto que tiene la estructura química de fórmula (IV)). La primera transformación alternativa puede realizarse poniendo en contacto el compuesto de fórmula (II) con un reactivo de formación de azida. Un ejemplo es nitrito sódico/azida sódica. Un ejemplo preferido es trifluorometanosulfonyl azida (TfN₃). La segunda transformación alternativa puede realizarse poniendo en contacto el compuesto de fórmula (II) con un reactivo de trifluoroacetilación, tal como anhídrido trifluoroacético, o un éster activado de ácido trifluoroacético, tal como la N-hidroxisuccinimida éster.

Después, la 3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (III) o (IV) obtenida de este modo puede O-desmetilarse en la posición 4 en presencia del ácido de Lewis MgCl₂ (anhidro). Esta etapa se realiza a una temperatura de reacción en el intervalo de 10 °C-80 °C, preferiblemente en el intervalo de 40 °C-60 °C. La reacción tiene lugar en presencia de KI en un disolvente anhidro que se selecciona entre el grupo que consiste en alcanos, cicloalcanos, halogenalcenos, arenos, óxidos de alquilo, éteres, alcoholes C₄-C₆, y disulfuro de carbono. Esta etapa da como resultado la desmetilación del grupo 4-OMe sin escisión del enlace glucósido en el carbono C7. Se obtienen mejores rendimientos con un grupo protector azida en la posición 3'.

La 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (V) o (VI) obtenida de este modo puede trifluorometanosulfonarse después mediante contacto con un reactivo de trifluorometanosulfonación para producir una 4-O-trifluorometanosulfonyl-3'-Prot-daunorrubicina de las fórmulas (VII) y (VIII), respectivamente. Después, el compuesto de fórmula (VII) o de fórmula (VIII), puede reducirse para producir una 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorrubicina de las fórmulas (IX) y (X), respectivamente. La reacción de trifluorometanosulfonación puede realizarse haciendo reaccionar la 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (V) o (VI) con anhídrido trifluorometanosulfónico, preferiblemente en piridina en presencia de aminas terciarias.

- En realizaciones particulares, la etapa de reducción del compuesto de fórmula (VII) o (VIII) para producir el compuesto de fórmula (IX) o (X), respectivamente, se realiza con un agente reductor en presencia de cantidades catalíticas de compuestos que tienen la fórmula general $PdL_nL'_m$; en la que Pd representa paladio, L y L' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en fosfitos y fosfinas; y n y m pueden variar independientemente de 0 a 4. Preferiblemente, el agente reductor se selecciona entre el grupo que consiste en ácido fórmico y sales de ácido fórmico. En realizaciones preferidas adicionales, la etapa de reducción se realiza a una temperatura de reacción en el intervalo de 30 °C-100 °C en un disolvente aprótico polar.
- 10 En realizaciones específicas, el método de la presente invención comprende adicionalmente aislar la 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina obtenida por tratamiento de la mezcla de reacción con ácidos fuertes a un pH de $2,5 \pm 1,0$ y extracción posterior (con disolventes orgánicos insolubles en agua que incluyen, entre otros, halogenalcános, cicloalcános, arenos, alcoholes C_4-C_6 , así como mezclas de los mismos). El compuesto de 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina se aísla por evaporación de la fase orgánica al vacío.
- 15 El eliminación final del grupo 3'-Prot protector de la 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorrubicina se realiza usando los métodos descritos en la técnica anterior (véanse las referencias que se han mencionado anteriormente) para la modificación de la aglicona 4-desmetil-daunomicinona. La reducción del grupo 3'-N₃ con regeneración de 3'-NH₂ puede realizarse en presencia de trifetilfosfina (PPh₃)-NH₃, mientras que la eliminación del grupo protector COCF₃
- 20 se realiza por la hidrólisis alcalina de la amida.

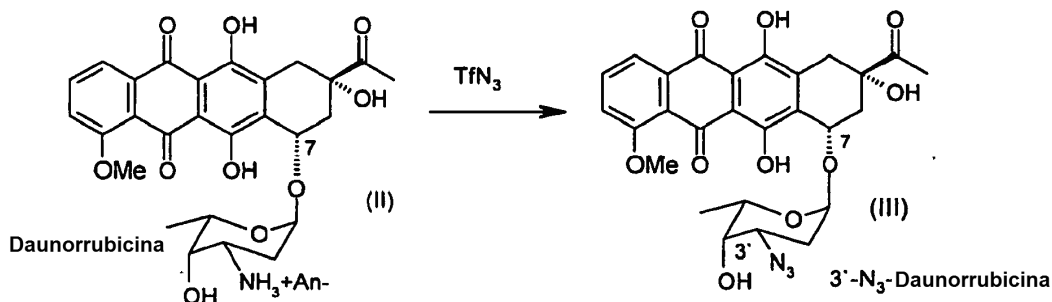
- En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para producir y aislar un intermedio clave 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de las fórmulas (V) o (VI), partiendo de clorhidrato de daunorrubicina, realizando las etapas de reacción como se ha descrito anteriormente. Estos derivados de carminomicina protegidos pueden
- 25 convertirse en carminomicina usando los procedimientos de desprotección descritos para la desprotección de los compuestos de 4-desmetoxidaunorrubicina (idarrubicina) protegida anterior, para proporcionar carminomicina o una sal de la misma.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

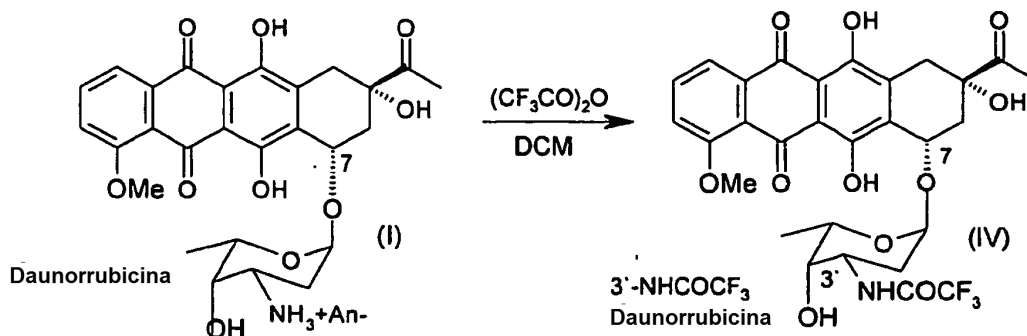
- 30 La presente invención se refiere al hallazgo inesperado de que la desmetilación de 3'-Prot-daunorrubicina en presencia de MgCl₂ (anhidro) y KI (anhidro) permite la síntesis de 4-desmetoxidaunorrubicina de clorhidrato de daunorrubicina sin la escisión del enlace glucósido en el carbono C7, dando como resultado de este modo un ciclo de síntesis más rápido y un rendimiento mejorado del producto final.
- 35 La presente invención se describirá a continuación con respecto a realizaciones particulares y con referencia a ciertos dibujos, pero la invención se entenderá como no limitada a las mismas sino únicamente por las reivindicaciones adjuntas. Los dibujos descritos son únicamente esquemáticos y se considerarán no limitantes.
- 40 Cuando se usa la expresión "que comprende" en la presente descripción y las reivindicaciones, no excluye otros elementos o etapas. Para los fines de la presente invención, la expresión "que consiste en" se considerará que es una realización preferida de la expresión "que comprende". En lo sucesivo en el presente documento, si se define que un grupo comprende al menos un cierto número de realizaciones, también se entenderá que desvela un grupo, que consiste preferiblemente únicamente en estas realizaciones.
- 45 Cuando se usa un artículo indefinido o definido al referirse a un nombre singular, por ejemplo "un", "una" o "el/la", esto incluye un plural de ese nombre a menos que se indique específicamente otra cosa.
- En caso de que los valores numéricos se indiquen en el contexto de la presente invención, el experto en la técnica entenderá que el efecto técnico de la característica en cuestión se asegura dentro de un intervalo de precisión, que típicamente incluye una desviación del valor numérico dado de $\pm 10\%$, y preferiblemente de $\pm 5\%$.
- 50 Además, los términos primero, segundo, tercero, (a), (b), (c), y similares en la descripción y en las reivindicaciones, se usan para distinguir entre elementos similares y no necesariamente para describir un orden secuencial o cronológico. Debe apreciarse que los términos usados de este modo son intercambiables en las circunstancias apropiadas y que las realizaciones de la invención descritas en el presente documento son capaces de funcionar en otras secuencias que las descritas o ilustradas en el presente documento.
- 55 Definiciones adicionales del término se darán a continuación en cuyo contexto se usan los términos. Los siguientes términos o definiciones se proporcionan únicamente para facilitar el entendimiento de la invención. No debe interpretarse que estas definiciones tienen un alcance menor al entendido por un experto en la técnica.
- 60

En una primera etapa, el grupo 3'-amino de daunorrubicina está protegido, como un grupo azido o como una trifluoroacetamida.

- 5 En algunas realizaciones, la conversión del grupo 3'-amino de clorhidrato de daunorrubicina en el compuesto 3'-azido (3'-N₃) puede realizarse usando un reactivo de formación de azida, tal como trifluorometanosulfonil azida (TfN₃) de acuerdo con el siguiente esquema 2:

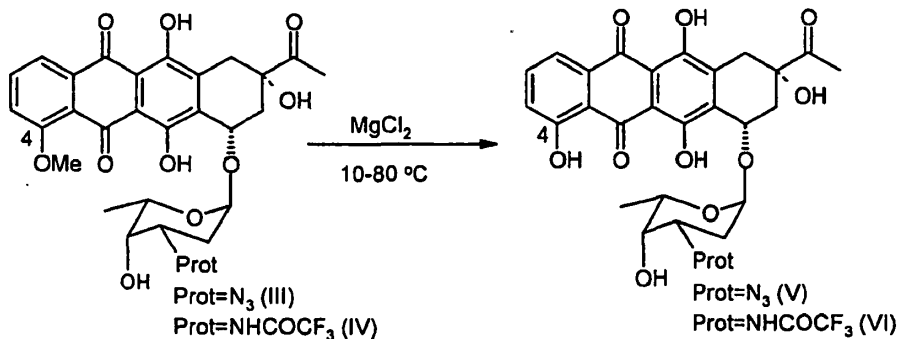


- 10 En realizaciones alternativas, la protección del grupo 3'-amino de clorhidrato de daunorrubicina puede conseguirse mediante el uso de la 3'-trifluoroacetamida correspondiente (3'-NHCOCF₃), que puede prepararse poniendo en contacto el compuesto 3-amino (II) y anhídrido trifluoroacético de acuerdo con el siguiente esquema 3:



- 15 La etapa de desmetilación del grupo 4-OMe de la 3'-Prot-daunorrubicina de las fórmulas (III) y (IV) puede realizarse poniendo en contacto el compuesto de fórmula (III) o (IV) con un ácido de Lewis, MgCl₂, para proporcionar los intermedios fenólicos, los derivados de carminomicina (V) o (VI), respectivamente (véase el esquema 4, a continuación).

- 20 El siguiente esquema 4 ilustra la reacción de 4-desmetilación:



- La expresión "ácido de Lewis", como se usa en el presente documento, representa una entidad molecular (y la especie química correspondiente) que es un aceptor de un par de electrones y, por lo tanto, capaz de reaccionar con una base de Lewis para formar un aducto de Lewis, compartiendo el par de electrones proporcionado por la base de Lewis. Los ácidos y bases de Lewis se clasifican comúnmente de acuerdo con su dureza o blandura. En este

contexto, duro implica átomos pequeños y no polarizables, mientras que blando indica átomos mayores que son más polarizables.

La Tabla 1 a continuación representa la interacción de 3'-Prot-daunorrubicina con diferentes ácidos de Lewis.

Nº	Catalizador	Resultado
1	AlCl ₃	Aglicona (escisión enlace C7)+ resinificación
2	BF ₃	Aglicona (escisión enlace C7)
3	TiCl ₄	Aglicona (escisión enlace C7)
4	MgCl ₂ anhidro	Desmetilación de 4-OMe
5	MgCl ₂ *6H ₂ O	La reacción no avanza
6	MgCl ₂ *4H ₂ O	La reacción no avanza
7	MgCl ₂ *2H ₂ O	La reacción no avanza

5

La desmetilación del grupo 4-MeO de 3'-Prot-daunorrubicina podría conseguirse usando un ácido de Lewis, MgCl₂ (anhidro) No se observó escisión concomitante del enlace glucósido en el carbono C7. Por el contrario, el uso de MgCl₂*6H₂O, MgCl₂*4H₂O y MgCl₂*2H₂O no proporcionó resultados razonables. El uso de especies de ácido de Lewis tales como AlCl₃, BF₃, o TiCl₄ dio como resultado una escisión no deseada del enlace glucósido para producir

10 la aglicona.

Como se usa en el presente documento, la reacción de 4-desmetilación se realiza tratando la 3'-Prot-daunorrubicina que tiene la estructura química de fórmula (III) o (IV) con el ácido de Lewis MgCl₂ (anhidro) a una temperatura de reacción en el intervalo de 10 °C-80 °C. La temperatura de reacción depende de la actividad del ácido de Lewis

15

usado y debe proporcionar una regioselectividad máxima de la reacción: Desmetilación del grupo 4-OMe sin escisión concomitante del enlace glucósido en el carbono C7. Preferiblemente, la temperatura de reacción está en el intervalo de 40 °C-60 °C.

La reacción de 4-desmetilación se realiza adicionalmente en presencia de KI en un disolvente anhidro (resistente a

20

ácido de Lewis) que se selecciona entre el grupo que consiste en alcanos, cicloalcanos, halogenalcános, arenos, óxidos de alquilo, éteres, alcoholes C₄-C₆ y disulfuro de carbono. Se prefieren particularmente disolventes seleccionados entre halogenalcános y éteres. El ácido de Lewis puede estar presente en un exceso molar de 1-5 veces en 3'-Prot-daunorrubicina (la última está presente típicamente en una cantidad de 1,5-3 moles).

En algunas realizaciones específicas, el producto de la reacción de 4-desmetilación, una 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina que tiene la estructura química de fórmula (V) o (VI), se aísla por tratamiento de la mezcla de reacción con soluciones acuosas de ácidos fuertes (tal como, entre otros, ácido oxálico, ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico y ácido clorhídrico) a un pH de 2,5 ± 1,0 y extracción posterior por ácidos orgánicos insolubles en agua (en el caso de usar éteres solubles en agua). Después, los compuestos de 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina (V, VI) se

30

aíslan por evaporación de la fase orgánica al vacío.

En diversas realizaciones, el compuesto de fórmula (V) o fórmula (VI) puede convertirse en carminomicina directamente por desprotección, tal como se describe a continuación para la desprotección de los derivados de 4-desmetoxidaunorrubicina 3'-protegida. Por consiguiente, la invención proporciona un método corto y eficiente de

35

preparación de carminomicina o sales de la misma a partir de daunorrubicina o sus sales.

En la preparación de 4-desmetoxidaunorrubicina, los compuestos de 3'-Prot-daunorrubicina desmetilada de fórmula (V) o (VI) después se sulfonan en el grupo 4-OH para proporcionar los compuestos de fórmula (VII) o (VIII), respectivamente, mediante contacto con un reactivo de trifluorometanosulfonación. Por ejemplo, la

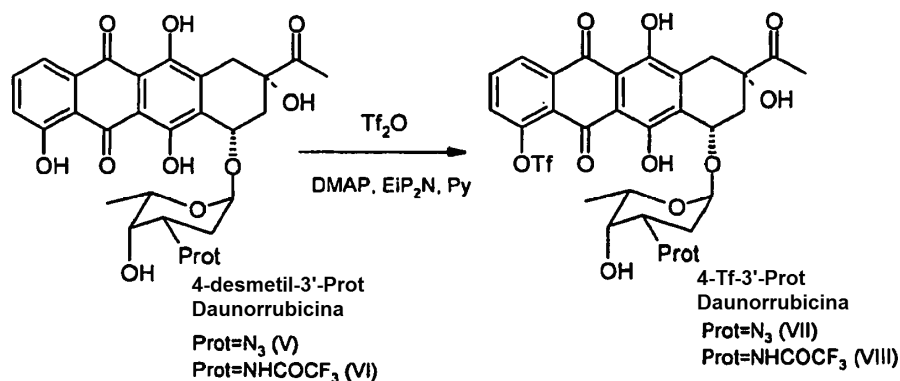
40

trifluorometanosulfonación puede realizarse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (V) o (VI) con trifluorometanosulfónico anhídrido (Tf₂O). La reacción puede realizarse en piridina en presencia de aminas terciaras impedidas estéricamente, tal como, entre otras, N,N-diisopropililetilamina, y cantidades catalíticas de N,N-dimetilaminopiridina. Los grupos hidroxilo en los carbonos C6, C11 y C9 no reaccionan en las condiciones experimentales usadas en el presente documento (véase el Ejemplo 4 a continuación).

45

El producto de reacción de esta etapa de síntesis es una 4-O-trifluorometanosulfonyl-3'-Prot-daunorrubicina que tiene la estructura química de fórmula (VII) o (VIII).

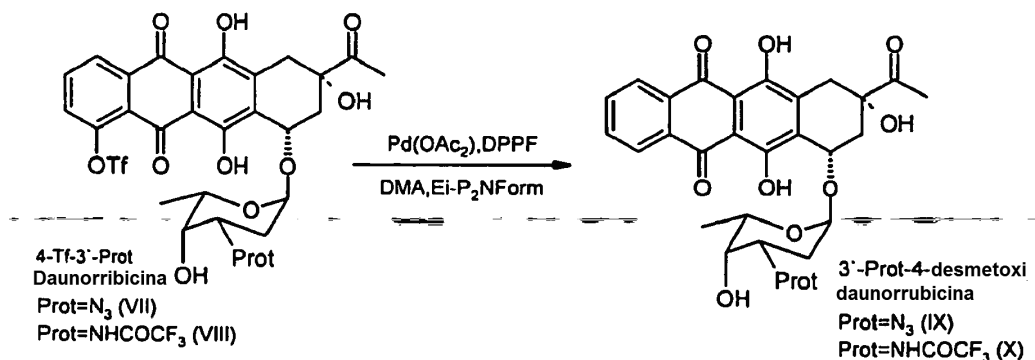
La reacción se ilustra en el siguiente esquema de reacción 5:



Posteriormente, el 4-sulfoderivado de 4-desmetildaunorubicina (VII, VIII) se hace reaccionar con un agente reductor que se selecciona entre ácido fórmico y sales de ácido fórmico en presencia de cantidades catalíticas (relaciones molares en el intervalo de 1:1 a 1:10⁴, preferiblemente de 1:20 a 1:100) de compuestos que tienen la fórmula general PdL_nL'_m; en la que Pd representa paladio, L y L' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en fosfitos y fosfinas; y n y m pueden variar independientemente de 0 a 4. Las fosfinas preferidas que se van a emplear en el presente documento incluye, entre otros, difenilfosfino propano y 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno. Preferiblemente, esta etapa se realiza a una temperatura de reacción en el intervalo de 30 °C-100 °C en un disolvente aprótico polar, particularmente en aqlulamidás en una atmósfera inerte.

10

El producto de reacción de esta etapa se síntesis ilustrada en el siguiente esquema 6 es una 3'-Prot-4-desmetoxidaunorubicina que tiene la estructura química de fórmula (IX) o (X).



Finalmente, los grupos protectores 3'-Prot de la 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorubicina obtenida se retiran con la formación de 3'-NH₂ usando procedimientos sintéticos convencionales (véase, por ejemplo, los Ejemplos 6 y 7) para producir el producto final 4-desmetoxidaunorubicina (I).

La invención se describe adicionalmente por las figuras y los siguientes ejemplos, que tienen únicamente el fin de ilustrar realizaciones específicas de esta invención, y no han de interpretarse como limitantes del alcance de la invención en ningún modo.

Ejemplos

25 Ejemplo 1

Se disolvieron 20 g de clorhidrato de daunorubicina (II) en 125 ml de MeOH. Se añadieron 7,5 g de K₂CO₃ a 20 ml de agua, se agitó vigorosamente durante 1 minuto y se añadió a una solución de trifluorometanosulfonil azida (TfN₃) en diclorometano. La mezcla se agita en un agitador magnético hasta la disolución completa del compuesto de partida de antraciclina. Después, la mezcla de reacción se añadió a 300 ml de agua. La capa orgánica se retiró, y la fase de agua se extrajo por medio de diclorometano. El diclorometano restante se evaporó en un evaporador rotatorio.

Se obtuvieron aproximadamente 20 g de 3'-N₃-daunorubicina (III) con la pureza de >90 %. La pureza es suficiente

para el protocolo de síntesis adicional.

Ejemplo 2

- 5 Se suspendieron 20 g de clorhidrato de daunorrubicina (II) en 400 ml de diclorometano (DCM), enfriado a 0 °C. Se añadieron 28 ml de anhídrido trifluoroacético a 45 ml de una solución de DCM, mientras se agitaba vigorosamente durante 1 hora. La mezcla se mantuvo a 0 °C durante 30 min mas, se añadió a 750 ml de agua destilada y se agitó. La capa orgánica se retiró.
- 10 Se añadieron 400 ml de una solución saturada de bicarbonato sódico a la capa orgánica y se mantuvo a temperatura ambiente mientras se agitaba vigorosamente durante 15-25 horas para hidrolizar la 4'O-3'N-di-trifluoroacetildaunomicina. Después de terminar la hidrólisis (control por HPLC), la capa orgánica se separó y el disolvente se evaporó completamente a presión reducida.
- 15 Después de la evaporación, se obtuvieron 20 g de N-trifluoroacetamidodaunorrubicina (IV) que tenía una pureza del 93 % (confirmado por HPLC). La pureza es suficiente para el protocolo de síntesis adicional.

Ejemplo 3

- 20 Se disolvieron 20 g de 3'-Prot-daunorrubicina (III, IV) en 450 ml de tetrahidrofurano. Se añadieron 25 g de cloruro de magnesio anhidro y 20 g de yoduro potásico anhidro en un entorno que excluyó el contacto con humedad atmosférica. La mezcla se mantuvo a 40 °C durante 1,5 horas, se añadió a hielo-agua y se acidificó a un pH de 2,5 usando ácido trifluoroacético. Después, la mezcla se extrajo con 2 x 150 ml de diclorometano.
- 25 La capa orgánica se retiró, se secó usando MgSO₄ anhidro, y el disolvente se evaporó a presión reducida. Se obtuvieron 15,8 g de 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina (V, VI) que tenía una pureza de >90 % (confirmado por HPLC).

Ejemplo 4

- 30 La 4-desmetil-3'- Prot-daunorrubicina secada minuciosamente (V, VI) del Ejemplo 3 se disolvió en 800 ml de piridina. Se añadieron 28 ml de diisopropiletilamina y 3,5 g de 4-dimetilaminopiridinio, y la mezcla se enfrió a 0 °C. Se añadieron 7,5 ml de anhídrido del ácido trifluorometanosulfónico recién destilado, y la mezcla se mantuvo durante 1 hora a temperatura ambiente. Después, se añadieron 650 ml de ácido clorhídrico concentrado, 0,8 kg de hielo y
- 35 800 ml de diclorometano. La capa orgánica se aclaró dos veces usando 500 ml de agua destilada, se separó y el diclorometano se eliminó a presión reducida.

Se obtuvieron 20 g de 4-O-trifluorometanosulfonyl-3'-Prot-daunorrubicina (VII, VIII) con una pureza del 75-90 % y se usó para las etapas de síntesis posteriores sin purificación adicional.

40

Ejemplo 5

- La 4-O-trifluorometanosulfonyl-3'-Prot-daunorrubicina (VII, VIII) del Ejemplo 4 se disolvió en 500 ml de dimetil formamida. Se añadieron 12 g de formiato de trietilamina y 350 mg de acetato de paladio en agitación en una
- 45 atmósfera de argón. La mezcla se calentó a 50 °C, se añadieron 1,2 g de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno, y la mezcla se calentó adicionalmente durante 8 horas.

- La mezcla de reacción se añadió a agua en agitación vigorosa, antes de separar la 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorrubicina por filtración y purificarse por cromatografía preparativa. Se obtuvieron 9,5-11,5 g de 4-desmetoxi-3'-
- 50 Prot-daunorrubicina (IX, X) con una pureza del 96-98 %.

Ejemplo 6

- En el caso del grupo 3'-protector que es N₃ (IX), el intermedio obtenido se disolvió en 200 ml de tetrahidrofurano, y
- 55 se añadieron 14 g de trifetilfosfina. La solución se mantuvo a temperatura ambiente para permitir la conversión completa de 4-desmetoxidaunorrubicina azida. Después, se añadieron 10 g de una solución de amoniaco en metanol, y se incubó hasta que se obtuvo la conversión completa de la 3'-fosfina-imina de 4-desmetoxidaunorrubicina.

- 60 La mezcla de reacción se evaporó y el producto de reacción final se purificó por medio de cromatografía preparativa. Después de una purificación por cromatografía repetida y cristalización, se obtuvieron 8-8,5 g de 4-desmetoxi-

daunorrubicina (I) con una pureza de >99,5 % (es decir, un rendimiento total del 40-42,5 % basado en la cantidad de material de partida).

Ejemplo 7

5

En el caso del grupo 3'-protector que es COCF_3 (X), se suspendieron 9,5 g de 4-desmetoxi-3'-trifluoroacetamido-daunorrubicina en 300 ml de agua a una temperatura de 30 °C. Después, se añadieron 30 ml de una solución 1,0 N de NaOH en agitación. La mezcla se incubó durante 30 min y se neutralizó a un pH de 7,0 usando una solución de ácido clorhídrico.

10

La mezcla de reacción se evaporó y el producto de reacción final se purificó por medio de cromatografía preparativa. Finalmente, se obtuvieron 8,2-8,8 g de 4-desmetoxidaunorrubicina (I) con una pureza de >99,5 % (es decir, un rendimiento total del 41-44 % basado en la cantidad de material de partida).

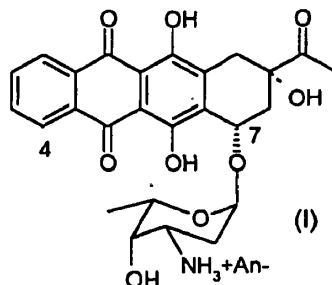
15 La presente invención descrita en el presente documento ilustrativamente puede practicarse adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no desvelados específicamente en el presente documento. Por lo tanto, por ejemplo, las expresiones "que comprende", "que incluye", "que contiene", etc. se entenderán ampliamente y sin limitación. Además, los términos y expresiones empleados en el presente documento se han usado como términos de descripción y no de limitación, y no existe la intención en el uso de
20 dichos términos y expresiones de excluir ningún equivalente de las características mostradas y descritas o porciones de las mismas, pero se reconoce que son posibles diversas modificaciones dentro del alcance de la invención reivindicada. Por lo tanto, se debe entender que, aunque la presente invención se ha desvelado específicamente por las realizaciones y características opcionales, los expertos en la técnica pueden recurrir a modificaciones y variaciones de las invenciones incorporadas en la misma, y que dichas modificaciones y variaciones se consideran
25 dentro del alcance de esta invención.

La invención se ha descrito amplia y genéricamente en el presente documento. Cada una de las especies más limitadas y grupos sub-genéricos que están dentro de la divulgación genérica también forman parte de la invención. Esto incluye la descripción genérica de la invención con una condición o limitación negativa de eliminar cualquier
30 materia objeto del género, sin importar que el material eliminado esté o no específicamente enumerado en el presente documento.

Otras realizaciones están dentro de las siguientes reivindicaciones. Además, cuando las características o aspectos de la invención se describen en cuanto a grupos Markush, los expertos en la técnica reconocerán que la invención
35 también se describe de este modo en cuanto a cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo Markush.

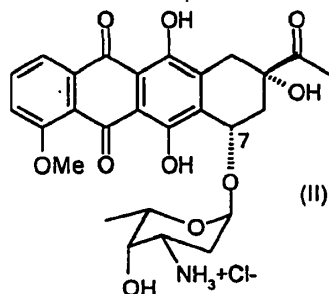
REIVINDICACIONES

1. Un método para la producción de 4-desmetoxidaunorrubicina, o una sal de la misma, que tiene la estructura química de fórmula (I),

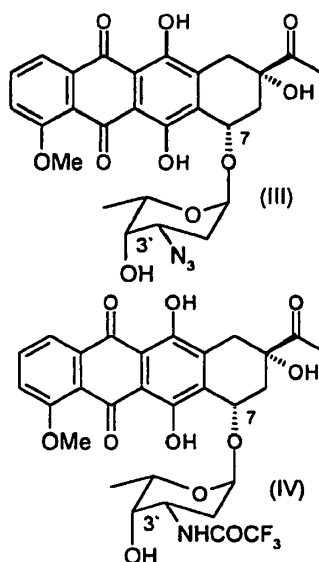


5 en la que An⁻ representa un anión, que comprende:

(a) convertir una sal clorhidrato de daunorrubicina que tiene la estructura química de fórmula (II)

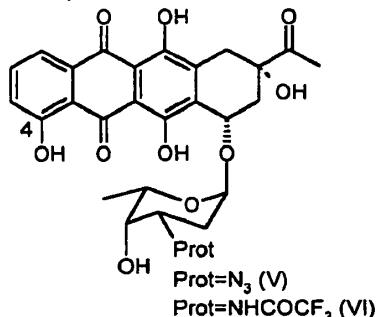


10 en una daunorrubicina 3'-protegida (3'-Prot-daunorrubicina) que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (III) y (IV), en la que la conversión de la sal del grupo 3'-amino en una 3'-azida mediante el contacto con un reactivo de formación de azida da como resultado la formación de (III), y la conversión de la sal del grupo 3'-amino en una 3'-trifluoroacetamida mediante el contacto con un reactivo de trifluoroacetilación da como resultado la formación de (IV);

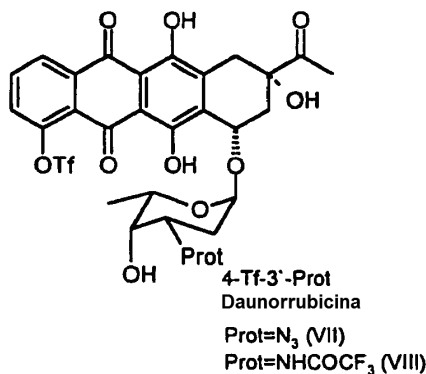


20 (b) desmetilar la 3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (III) o (IV) mediante contacto con MgCl₂ (anhidro) y en presencia de KI (anhidro) en un disolvente anhidro para producir una 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (V) y (VI), respectivamente, en el que la desmetilación de (III) da como resultado la formación de (V), y la desmetilación de (IV) da como resultado la formación de (VI), en el que la reacción se realiza a una

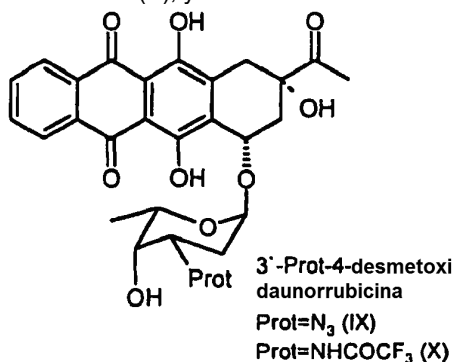
temperatura de reacción en el intervalo de 10 °C-80 °C, y en particular en el intervalo de 40 °C-60 °C, y en el que el disolvente anhidro se selecciona entre el grupo que consiste en alcanos, cicloalcanos, halogenoalcanos, arenos, óxidos de alquilo, éteres, alcoholes C₄-C₆ y disulfuro de carbono;



- 5 (c) trifluorometanosulfonilar la 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (V) o (VI) mediante contacto con un reactivo de trifluorometanosulfonación para producir una 4-o-trifluorometanosulfonil-3'-Prot-daunorrubicina que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (VII) y (VIII), respectivamente, en el que la trifluorometanosulfonilación de (V) da como resultado la formación de (VII), y la trifluorometanosulfonilación de (VI) da como resultado la formación de (VIII);
- 10



- 15 (d) reducir la 4-O-trifluorometanosulfonil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (VII) o (VIII) mediante contacto con un agente reductor para producir una 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorrubicina que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos que tienen las estructuras químicas de las fórmulas (IX) y (X), respectivamente, en el que la reducción de (VII) da como resultado la formación de (IX), y la reducción de (VIII) da como resultado la formación de (X); y



- 20 (e) eliminar el grupo 3'-Prot protector de la 4-desmetoxi-3'-Prot-daunorrubicina seleccionada entre el grupo que consiste en el compuesto de fórmula (IX) y el compuesto de fórmula (X), en el que el compuesto de fórmula (IX) se pone en contacto con un reactivo reductor de azida, o el compuesto de fórmula (X) se pone en contacto con una solución alcalina, con la formación resultante de un grupo 3'-amino, para producir 4-desmetoxi-daunorrubicina y, opcionalmente, poner en contacto 4-desmetoxidaunorrubicina con un ácido de fórmula H⁺An⁻ para producir la sal 4-desmetoxidaunorrubicina de fórmula (I).

- 25 2. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa (a) se realiza haciendo reaccionar clorhidrato de

daunorrubicina con un compuesto que se selecciona entre el grupo que consiste en trifluorometanosulfonyl azida y anhídrido trifluoroacético para proporcionar un compuesto de fórmula (III) o un compuesto de fórmula (IV), respectivamente.

5 3. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa (c) se realiza haciendo reaccionar la 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (V) o (VI) con trifluorometanosulfónico anhídrido para proporcionar los compuestos trifluorometanosulfonados de fórmula (VII) o (VIII), respectivamente, y en el que la etapa (c) se realiza preferiblemente en piridina en presencia de aminas terciarias.

10 4. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa (d) se realiza haciendo reaccionar la 4-trifluorometanosulfonyl-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (VII) o (VIII) con un agente reductor en presencia de cantidades catalíticas de compuestos que tienen la fórmula general $PdL_nL'_m$, en la que

15 L y L' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en fosfitos y fosfinas; y n y m pueden variar independientemente de 0 a 4; y

en el que el agente reductor se selecciona entre el grupo que consiste en ácido fórmico y sales de ácido fórmico; para proporcionar el compuesto de fórmula (IX) o fórmula (X), respectivamente.

20 5. El método de la reivindicación 4, en el que la etapa (d) se realiza a una temperatura de reacción en el intervalo de 30 °C-100 °C en un disolvente aprótico polar.

6. El método de la reivindicación 1, en el que el agente reductor de azida de la etapa (e) comprende trifenilfosfina.

25 7. El método de la reivindicación 1, en el que la solución alcalina de la etapa (e) comprende hidróxido sódico acuoso.

8. El método de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente: aislar la 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (V) o (VI) obtenida en la etapa (b) por tratamiento con ácidos fuertes a un pH de $2,5 \pm 1,0$ y extracción posterior.

9. Un método para producir carminomicina a partir de un sal daunorrubicina, que comprende realizar las etapas (a) y (b) de la reivindicación 1 para proporcionar un compuesto de fórmula (V) o (VI), y eliminar después el grupo protector 3' como se define en la etapa (e) de la reivindicación 1 para proporcionar carminomicina o una sal de la misma.

10. El método de la reivindicación 9, en el que la etapa (a) se realiza haciendo reaccionar clorhidrato de daunorrubicina con un compuesto que se selecciona entre el grupo que consiste en trifluorometanosulfonyl azida y anhídrido trifluoroacético.

11. El método de la reivindicación 9, que comprende adicionalmente: aislar la 4-desmetil-3'-Prot-daunorrubicina de fórmula (V) o (VI) obtenida en la etapa (b) por tratamiento con ácidos fuertes a un pH de $2,5 \pm 1,0$ y extracción posterior.