



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2763948 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07C 45/85 (2006.01)
C07C 49/727 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.08.13
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.04.04
(86)	European Application Nr.	12778652.3
(86)	European Filing Date	2012.10.02
(87)	The European Application's Publication Date	2014.08.13
(30)	Priority	2011.10.04, ES, 201131601 P
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Indena S.p.A., Viale Ortles, 12, 20139 Milano, IT-Italia
(72)	Inventor	BELLIDO CABELLO DE ALBA, Maria Luz, PCT Rabanales 21Cecilia PayneEdificio CentauroPrimera Planta, E-14014 Cordoba, ES-Spania APPENDINO, Giovanni, PCT Rabanales 21Cecilia PayneEdificio CentauroPrimera Planta, E-14014 Cordoba, ES-Spania PAGANI, Alberto, PCT Rabanales 21Cecilia PayneEdificio CentauroPrimera Planta, E-14014 Cordoba, ES-Spania MUÑOZ BLANCO, Eduardo, PCT Rabanales 21Cecilia PayneEdificio CentauroPrimera Planta, E-14014 Cordoba, ES-Spania
(74)	Agent or Attorney	OSLO PATENTKONTOR AS, Postboks 7007 M, 0306 OSLO, Norge

(54)	Title	METHOD OF ISOLATING INGENOL
(56)	References Cited:	BAGAVATHI R ET AL: "On the chemistry of ingenol. IV. Ingenol from seeds of Euphorbia lathyris L. and preparation of (9R)[(9S)]-9-deoxo-9-hydroxyingenol with some corresponding 3- and 9-esters", ZEITSCHRIFT FUR NATURFORSCHUNG, TEIL B:ANORGANISCHE CHEMIE, ORGANISCHE CHEMIE, VERLAG DER ZEITSCHRIFT FUR NATURFORSCHUNG. TUBINGEN, DE, vol. 46, B: Chemical Sciences, no. 10, 1 January 1991 (1991-01-01), pages 1426-1433, XP008158846, ISSN: 0932-0776 cited in the application

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for isolering av ingenol fra en blanding av diterpenoid-estere og ingenolestere ved å kombinere hydrolyseringsfasene av ingenolestere og ekstrahere/isolere ingenol i et enkelt trinn ved å utsette nevnte blanding for et
5 enkelt trinn av kombinert behandling med en surgjort vann og organisk oppløsningsmiddelopløsning.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor det surgjorte vannet til organisk oppløsningsmiddelforholdet er 1:1.
3. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 2, hvor det
10 organiske oppløsningsmiddel er THF.
4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor det surgjorte vannet inneholder uorganiske salter.
5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor det surgjorte vannet inneholder NaCl.
- 15 6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, **karakterisert ved** at det surgjorte vannet og den organiske oppløsningsmiddelopløsningen består av en kombinasjon av 2N H₂SO₄ og H₂O pluss NaCl ved 35% vekt/volum ved et forhold på 1:1.
7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, videre
20 omfattende en ytterligere fase med rensing av isolert ingenol.
8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, **karakterisert ved** at fasen av rensing av isolert ingenol utføres ved hjelp av gravitasjonskolonnekromatografi.
9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 7 til 8, hvor det rensede isolerte ingenol utsettes for en ytterligere prosess med delvis kjemisk
25 syntese for å danne et derivat ved posisjon 3 valgt fra: ingenol-3-tigliat, ingenol-3-angelat eller blandinger derav.
10. Fremgangsmåte ifølge krav 9, hvor den ytterligere prosess med delvis kjemisk syntese for å oppnå ingenol-derivater ved posisjon 3 til hvilke det rensede

ingenol blir underkastet, har ingenol-5,20-acetonid som den felles intermediat-forbindelse.

11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 – 10 omfattende fasene med:

- 5 a) å underkaste plantematerialet mekanisk omrøring i en oppløsning av natriummetylat i metanol,
- b) nøytralisere den forutgående reaksjonsblanding med en iseddiksyre eller perklorsyre,
- c) filtrere eller suge den forutgående oppløsningen,
- 10 d) vaske pelleten oppnådd i den forutgående fase med metanol,
- e) konsentrering ved hjelp av vakuumteknikker,
- f) ekstrahering av fraksjonen inneholdende ingenolestere med petroleumeter,
- g) isolering av ingenol fra de gjenværende forbindelser inneholdt i
- 15 fraksjonen oppnådd i den forutgående fase f) ved hjelp av behandling med surgjort vann og THF,
- h) eventuelt rensing av det isolerte ingenol.

12. Fremgangsmåte ifølge krav 11, **karakterisert ved** at plantematerialet er *Euphorbia lathyris*-frø.

- 20 **13.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 11 eller 12, hvor konsentrasjonen av natriummetylat i metanol er 0,20 N og tiden hvorved frøene blir underkastet mekanisk omrøring er 4 timer.

14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 13, **karakterisert ved** at filtreringen eller sugingen i trinn c) utføres på celitt.

- 25 **15.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 14, **karakterisert ved** at den surgjorte vannoppløsningen består av en kombinasjon av 2N H₂SO₄ og H₂O pluss NaCl ved 35% vekt/volum ved et forhold på 1:1.

- 16.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 15, **karakterisert ved** at fasen med rengjøring av ingenol utføres ved hjelp av
- 30 gravitasjonskolonnekromatografi.

17. Fremgangsmåte ifølge krav 16, **karakterisert ved** at en silikagel-kolonne anvendes som stasjonær fase med en petroleum-eter-etylacetat mobil fase.

18. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 11 til 17, hvor det eventuelt rensede isolerte ingenol underkastes en ytterligere prosess med delvis
5 kjemisk syntese for å danne et derivat ved posisjon 3 valgt fra: ingenol-3-tigliat, ingenol-3-angelat eller blandinger derav.

19. Fremgangsmåte ifølge krav 18, hvor den ytterligere prosess av delvis kjemisk syntese for å danne ingenol-derivater ved posisjon 3 til hvilke det eventuelt rensede isolerte ingenol underkastes, har ingenol-5,20-acetonid som felles
10 intermediat-forbindelse.