



NUMERO DE PUBLICATION : 1003228A4

NUMERO DE DEPOT : 8800908

MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

Classif. Internat.: C07D

Date de délivrance : 04 Février 1992

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d' invention, notamment l' article 22;

Vu l' arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d' invention, notamment l' article 28;

Vu le procès verbal dressé le 05 Aout 1988 à 15h20
à l' Office de la Propriété Industrielle

ARRETE:

ARTICLE 1.- Il est délivré à : THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA
2194 Health Sciences Mall Room 331 I.R.C. Building, VANCOUVER B.C.(CANADA)

représenté(e)s par : DE PALMENAER Roger, BUREAU VANDER HAEGHEN, Rue
Colonel Bourg 108A,- B 1040 BRUXELLES.

un brevet d' invention d' une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : PROCEDE DE SYNTHESE DE LA VINBLASTINE ET DE LA VINCRISTINE

INVENTEUR(S) : James P. Kutney, 2327 McMullen Avenue, Vancouver, B.C. (CA); Lewis S.L. Choi, 7672 Kerrywood Cres., Burnaby B.C. (CA); Jun Nakano, 1180-5, Kaqtsube-cho, Moriyama-shi, Shiga (JP); Hiroki Tsukamoto, 122 Oyama-7, Kariya, Aichi (JP); Camille A. Boulet, c/o G.C. Boulet, 265 Heath Rd. Edmonton, Alta (CA); Michael McHugh, c/o 1019 Sauchiehall, St. Glasgow, Ecosse (GB)

Priorité(s) 06.08.87 CA CAA 543832

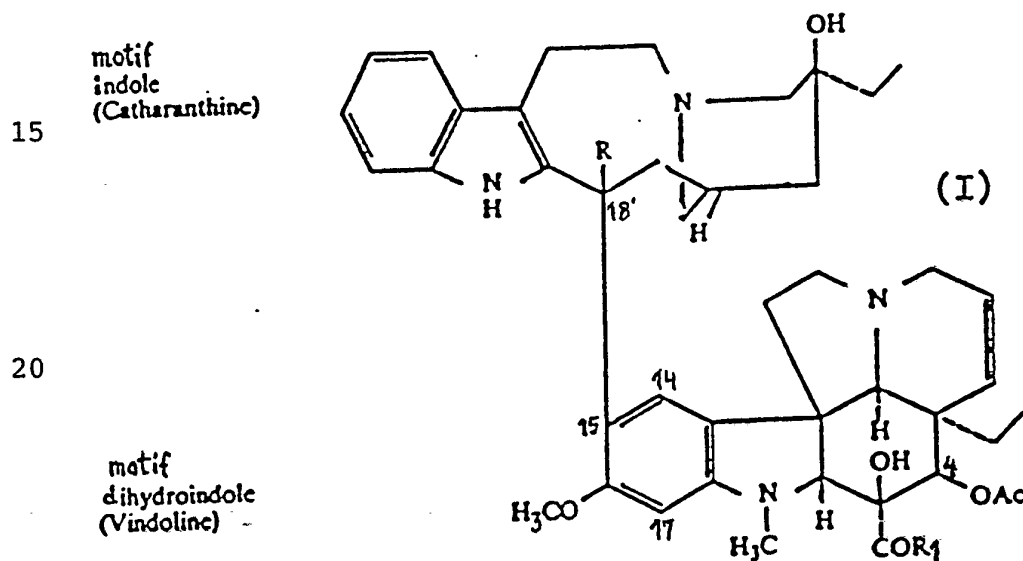
ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l' invention, sans garantie du mérite de l' invention ou de l' exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 04 Février 1992
PAR DELEGATION SPECIALE :

WUYTS L.
Directeur

Procédé de synthèse de la vinblastine et de la vincristine

5 La présente invention a pour objet un nouveau perfectionnement dans la préparation de composés alcaloïdes dimères, en particulier du groupe des alcaloïdes de Catharanthus (Vinca), et concerne plus particulièrement la production améliorée des composés
10 antiviraux et antileucémiques (antineoplasiques) vincristine et vinblastine connus, de la formule I

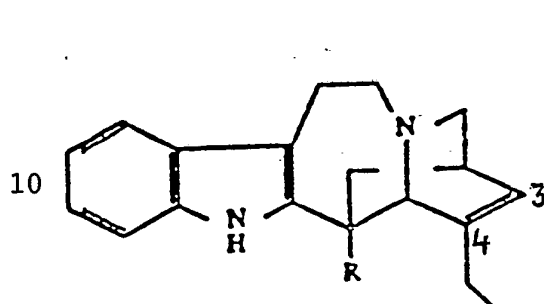


vinblastine (NSC 49482) : $R = \text{COOCH}_3$ et $R_1 = \text{OCH}_3$;

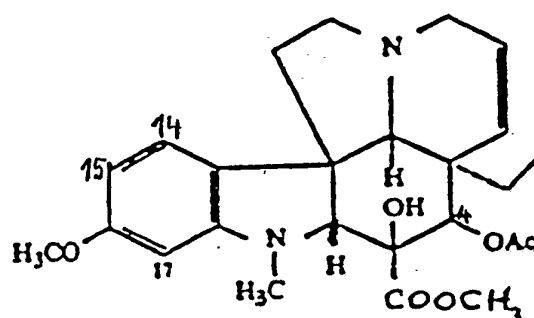
vincristine (NSC 67 574) : $R = \text{COOCH}_3$; $R_1 = \text{OCH}_3$ et $N_1 = \text{N-CHO(N-formyle)}$.

30 Ces alcaloïdes dimères, parmi lesquels se trouve une série d'agents antitumoraux importants, sont obtenus à partir d'un indole tel que la catharanthine de la formule II ci-après, où $R = \text{COOCH}_3$, et d'une fraction

dihydro-indole telle que la vindoline de la formule III, dont les moitiés sont attachées par une liaison carbone-carbone impliquant un carbone aliphatique C₁₈ dans le motif indole et un carbone aromatique C₁₅ dans la fraction vindoline.



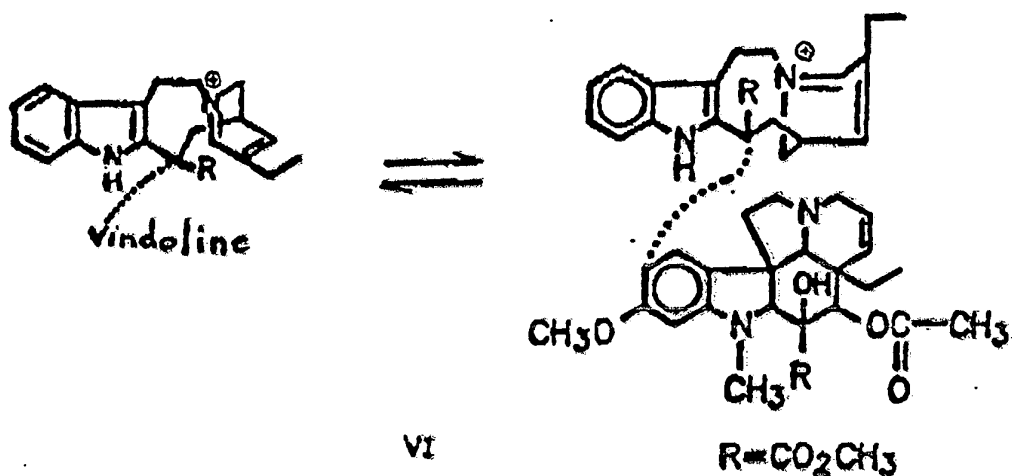
II



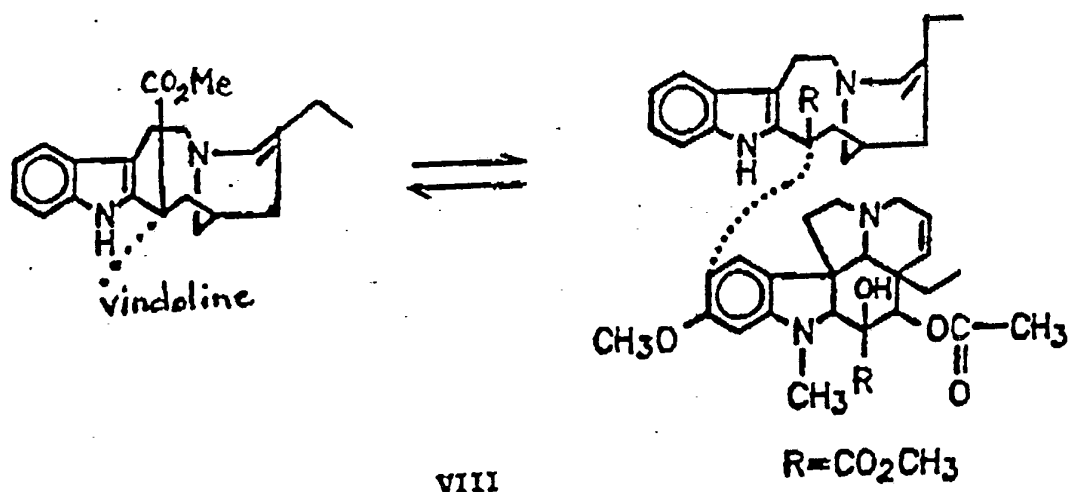
III

Les différentes modifications introduites par la présente invention sont de plusieurs ordres.

La première amélioration concerne la réduction du composé intermédiaire iminium (formule VI) en énamine (formule VIII)

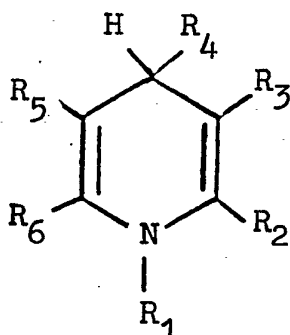


VI



- (stade e, décrit plus loin), pour laquelle on utilise divers nouveaux dihydro-1,4 nicotine-amides de la formule IX, où R_2 , R_4 , R_5 et $R_6 = \text{H}$, $R_3 = \text{CONH}_2$ et R_1 peut comporter des groupes fonctionnels tels que des groupes aryle, ester d'acide carboxylique, sucre, acide carboxylique ou carboxylate, comme l'indiquent les formules XXVII à XXXII du tableau 1, et des dérivés dihydro-1,4 pyridiniques tels que ceux des formules XXXIII et XXXIV.
- Est d'une importance primordiale la présence de groupes fonctionnels riches en électrons tels que les groupes ester carboxylique ou carboxylate dans le substituant R_1 de la formule IX, qui favorisent la coordination avec les intermédiaires iminium à charge positive de la formule VI, coordination qui conduit à une amélioration de la régio-sélectivité (amélioration de la réduction 1,4 par rapport à la réduction 1,2) de même qu'à une augmentation du degré de réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI et du rendement en énamine de la formule VIII.

Une augmentation supplémentaire du rendement en ce dernier composé est obtenue en réalisant la réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI à une température réduite, comprise entre 0 et -70° et de
5 préférence inférieure à -40°C.



15

Des exemples spécifiques pour la synthèse de l'énamine de la formule VIII, dont ressortent les résultats améliorés par la réduction 1,4 de l'intermédiaire iminium de la formule VI, sont fournis
20 par les Exemples 1 à 9 ci-après (modes opératoires C à K), dont les résultats sont résumés dans les tableaux 2 et 3.

Du tableau 2, il ressort que les Modes opératoires I et J (cf. exemples 7 et 8), dans lesquels sont mis en
25 oeuvre les agents réducteurs des formules XXXI et XXXII, conduisent aux meilleurs rendements en énamine de la formule VI.

Le tableau 3 fait ressortir l'effet des températures sur la réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI par l'agent réducteur de la formule
30 XXXII et montre que l'abaissement de la température de la réaction à -40°C (mode opératoire K (ii); exemple 9) permet d'obtenir une augmentation globale du rendement (85 %) et aussi une amélioration de la production en
35 énamine VIII (réduction 1,4) par rapport à celle en

déshydro-3,4 vinblastine VII (réduction 1,2) de l'ordre de 4,2:1.

Un deuxième perfectionnement assuré par la présente invention concerne l'oxydation de l'énamine de la formule VIII en intermédiaire iminium de la formule XVI.

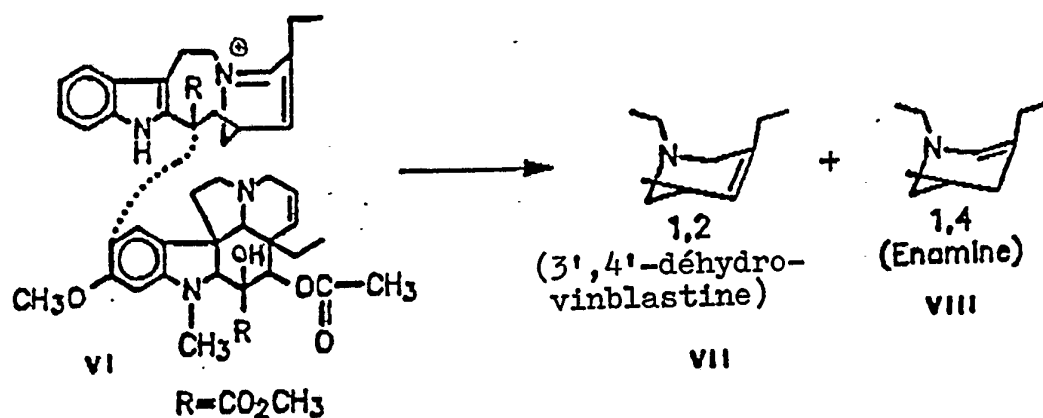
Divers paramètres ont été étudiés afin de parvenir à une réaction d'oxydation susceptible de donner un rendement optimal en vinblastine de la formule I.

Le tableau 4 ci-après résume les effets de concentrations croissantes en chlorure ferrique et fait ressortir que le meilleur rendement en vinblastine (I) est obtenu avec deux équivalents de chlorure ferrique (FeCl_3).



Tableau 1

Réduction 1,2-réduction 1,4 de l'intermédiaire iminium de la formule VI



For- mule	Agent réducteur	Mode opé- ratoire	Agent réducteur	Mode opé- ratoire	For- mule
XXVII	$\text{R}' = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ $\text{R}' = \text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	A C		B D	XXXII
XXVIII		F		E	XXXII
XXIX	 $\text{R}'' = \text{Ac}$	G			
XXX		H			
XXXI		I			
XXXII		J, K			

Tableau 2

Action de l'agent réducteur sur la réduction 1,4 ou 1,2
du composé iminium VI

5	Procédé de réduction	1,4)	Produits de réduction	2) 1,4:1,2	Rendement (%)	3)
	A ⁵⁾		1:1		75	
	B ⁵⁾		1:1		60	
	C		0,9:1,0		60	
10	D		1:1		40	
	E		1,1:1		60	
	F		2:1		65	
	G		1,5:1		70	
	H		1,1:1		65	
15	I		2,3:1		70	
	J		2,2:1		70	

1) Mode opératoire usuel : 100 mg d'iminium VI dans 6
ml de méthanol, auxquels sont ajoutés 1 à 6 équivalents
20 d'un des agents réducteurs C à J, dissous dans 6 ml de
méthanol.

2) Rapport déterminé par chromatographie en phase
liquide à haute performance (CLHP) à inversion de phase.

3) Rendement global des produits de la réduction 1,2
25 (3,4-déshydrovinblastine VII) et de la réduction 1,4
(énamine VIII).

4) Toutes les réactions ont été réalisées à 20°C.

5) Les modes opératoires A et B sont décrits dans notre
brevet belge 08800080.

Tableau 3

Effet de la température sur la réduction 1,4 ou 1,2 de l'iminium VI

5	Procédé de réduction ¹⁾	Température (°C)	Produits de réduction 1,4:1,2 ²⁾	Rendement (%) ³⁾
	D	20	2,2:1	70
	K(i)	-20	3,2:1	80
	K(ii)	-40	4,2:1	85

10

1) Mode opératoire tel que précisé par le tableau 2.

2) voir tableau 2

3) voir tableau 2.

15

Tableau 4

Effet du chlorure ferrique sur la conversion de l'énamine VIII ³⁾ en vinblastine I

20	FeCl ₃ (équivalents)	Conditions opératoires de l'oxydation	Rendement en vinblastine (%) ²⁾
	0	air ¹⁾ -0°C - 5 mn	0
	1	air -0°C - 5 mn	13,3
	2	air - 0°C - 5 mn	19,0
	3	air - 0°C 5 mn	10,4

25

1) avec un débit de 60 ml/mn.

2) voir tableau 2, précédée d'un traitement réducteur au NaBH₄.

3) énamine VIII produite à -40°C par le mode opératoire K(ii).

Tableau 5

Effet de la durée de l'oxydation sur la conversion de l'énamine VIII (obtenue à -40°C par le mode opératoire K(ii)) en vinblastine I

	Durée ¹⁾ (mn)	Rendement en vinblastine (%) ²⁾
5	1	8,2
	5	15,4
	10	15,5
	15	15,7
10	45	5,7

1) Conditions opératoires : addition de 2 équivalents de chlorure ferrique et barbotage d'air à raison de 60 ml/mn dans la solution maintenue à 0°C

2) voir tableau 2, précédé d'un traitement réducteur au NaBH_4 .

Tableau 6

Effet de la température d'oxydation sur la conversion de l'énamine VIII (produite à -40°C par le mode opératoire K(ii)) en vinblastine I

	Température ¹⁾ ($^{\circ}\text{C}$)	Rendement en vinblastine (%) ²⁾
20	-40	3,7
	-23	6,2
	0	19,6
25	20	20,6
	45	16,0

1) Conditions opératoires : addition de 2 équivalents de chlorure ferrique et barbotage d'air à raison de 60 ml/mn pendant 15 min.

2) voir tableau 2.

Tableau 7

Effet de la dilution sur la conversion de l'énamine VIII en vinblastine I

5	Facteur de dilution	1,3)	Rendement en vinblastine (%)	2)
	1		19,6	
	5		25,2	
10	10		30,1	
	20		29,6	
	50		24,7	
15	1) conditions opératoires : addition de 2 équivalents de chlorure ferrique, barbotage de 60 ml/mn d'air à 0°C pendant 15 mn.			
	2) voir tableau 2, précédée d'un traitement réducteur au NaBH_4 .			
	3) facteur de dilution 1 : 100 mg d'iminium VI dans 6 ml de méthanol + 6 équivalents d'agent réducteur XXXII dans 6 ml de méthanol; volume total : 12 ml			
20	facteur de dilution 5 : volume total de 60 ml; etc.			

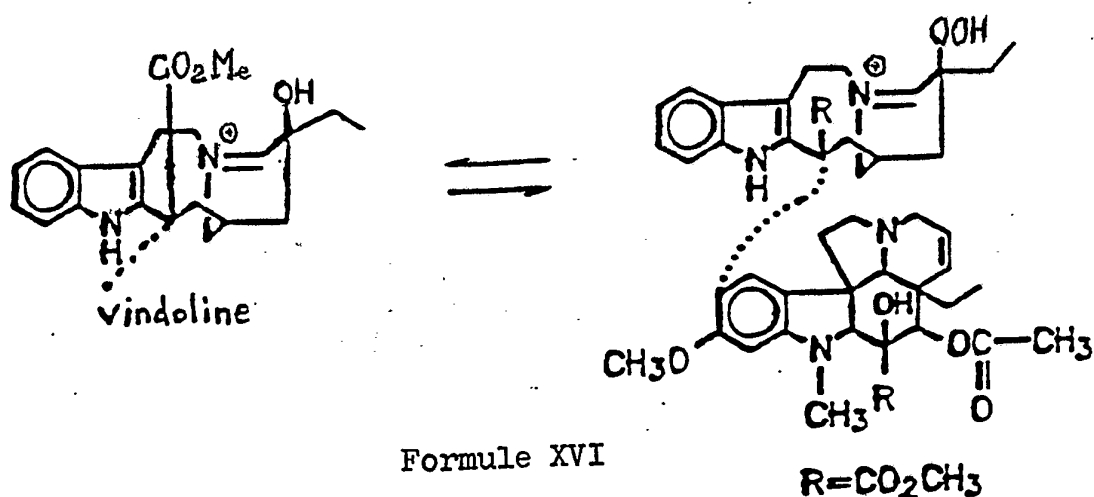
Du tableau 5, il ressort qu'un rendement optimal en vinblastine I est réalisé avec un barbotage d'air d'une durée de 5 à 20 minutes en présence de deux équivalents de chlorure ferrique.

5 Le tableau 6 indique qu'un rendement optimal en vinblastine I est obtenu, en présence de deux équivalents de chlorure ferrique, dans la gamme de températures de 0 à 20°C.

10 Des résultats résumés au tableau 7, il ressort qu'un rendement optimal en vinblastine I est obtenu avec un facteur de dilution de l'énamine VIII de l'ordre de 10 à 20 dans la solution contenant deux équivalents de chlorure ferrique et devant être soumise à un barbotage d'air à 0°C.

15 Dans tous les cas, le rendement en vinblastine est déterminé par CLHP à inversion de phase, précédée éventuellement d'un traitement réducteur au NaBH_4 .

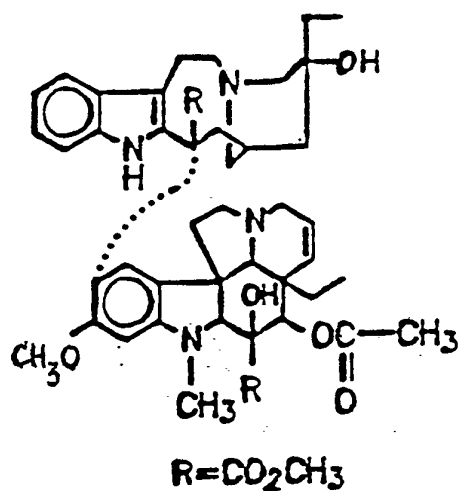
20 En résumé, et en ce qui concerne l'oxydation de l'énamine VIII, les améliorations conformes à la présente demande de brevet comprennent l'utilisation d'une solution de l'énamine VIII, obtenue par la réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI, diluée de 5 à 50 et de préférence de 8 à 12 fois dans le solvant employé dans la réaction de réduction, d'une
25 température réduite, de l'ordre de 0 à -70°C et de préférence inférieure à -40°C et d'un gaz protecteur tel que l'argon, l'azote, le néon, l'hélium, etc., l'oxydation de l'énamine VIII étant réalisée par l'un
30 des modes opératoires décrits, comme le barbotage de 60 ml d'air par minute à 0°C, pendant 15 minutes, en présence de deux équivalents de chlorure ferrique, pour donner le composé iminium intermédiaire de la formule XVI :



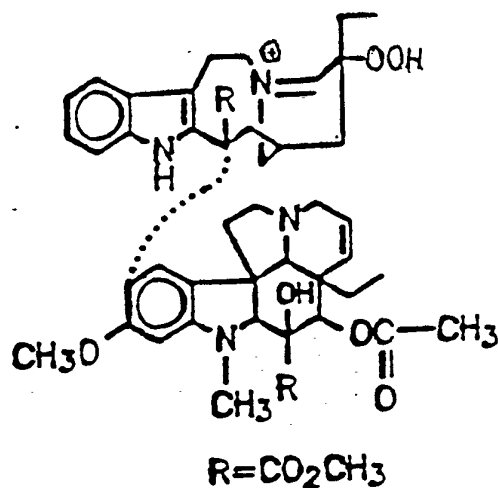
La troisième amélioration est relative à la réduction de l'intermédiaire iminium de la formule XVI, à l'aide d'un borohydrure de métal alcalin tel que NaHB_4 , KBH_4 , LiBH_4 , etc., en vinblastine de la formule I et(ou) en leurosidine de la formule XXXV.

Cette réduction d'un intermédiaire iminium de la formule XVI ou XVIa, obtenu par l'oxydation de l'énamine de la formule VIII, à l'aide d'un borohydrure de métal alcalin est réalisée à une température réduite (entre 0 et -20°C et de préférence à 0°C) et à un pH inférieur à 8,5 et de préférence inférieur à 7,5.

Le mélange réactionnel est ensuite concentré sous vide à une température comprise entre 0 et 10°C , puis l'alcaloïde formé est extrait et isolé de la manière décrite dans notre brevet belge antérieur, cité plus haut.



Formule XXXV (Leurosidine)



Formule XVIa

Les différentes améliorations, décrites ci-dessus, peuvent évidemment être englobées dans le procédé global de transformation de l'indole (formule II, XXII ou XXIII) et du dihydro-indole (formule XXI avec $R = H$) en une seule opération en produits finals de la formule XXI.

Les possibilités d'isoler les différents composés intermédiaires (XXIV, VI, VIII et XVI) sont résumées dans le schéma 1 ci-après.



Schéma 1 -Mode opératoire optimal pour l'obtention de la vinblastine
à partir de la catharanthine et de la vindoline

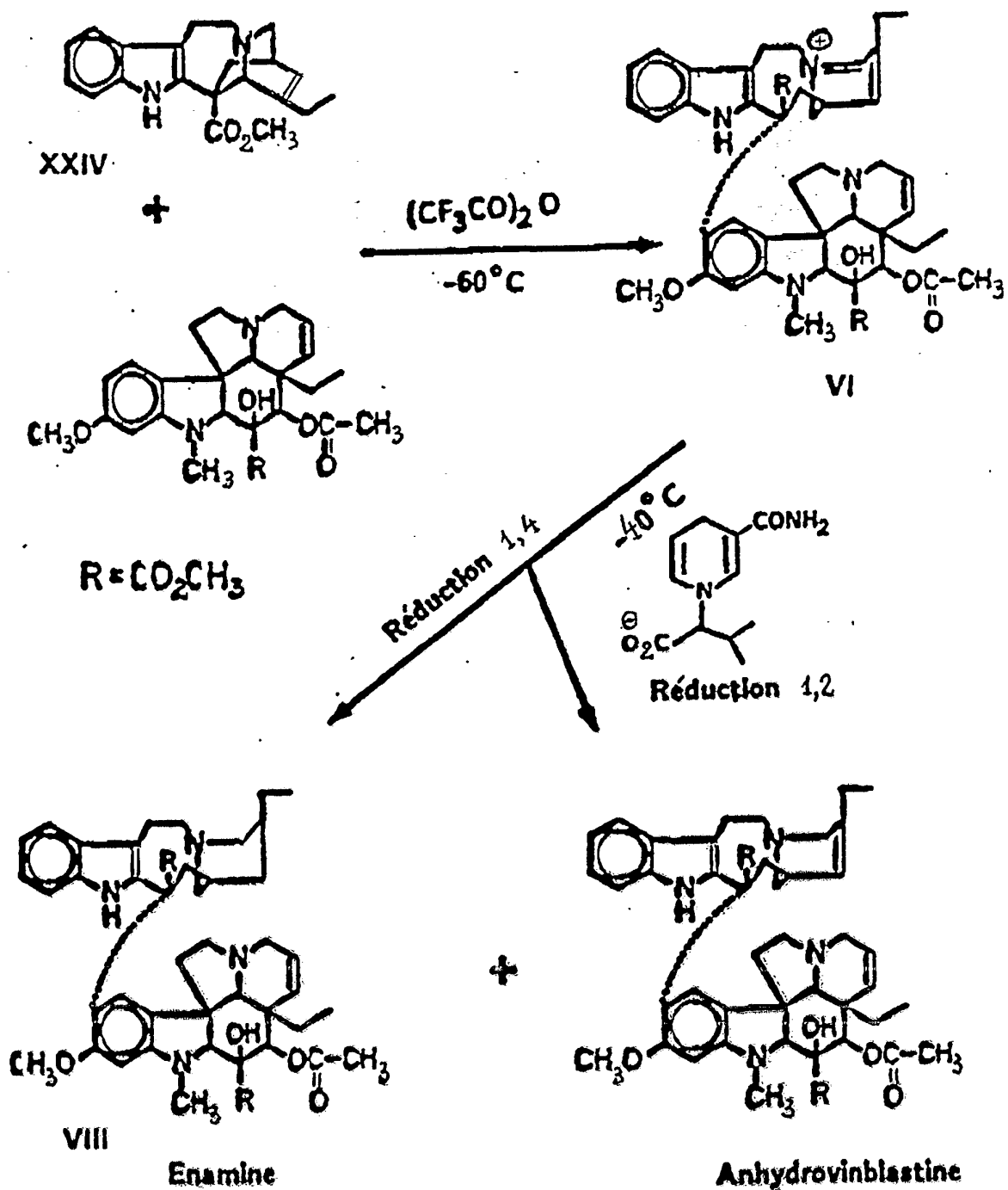
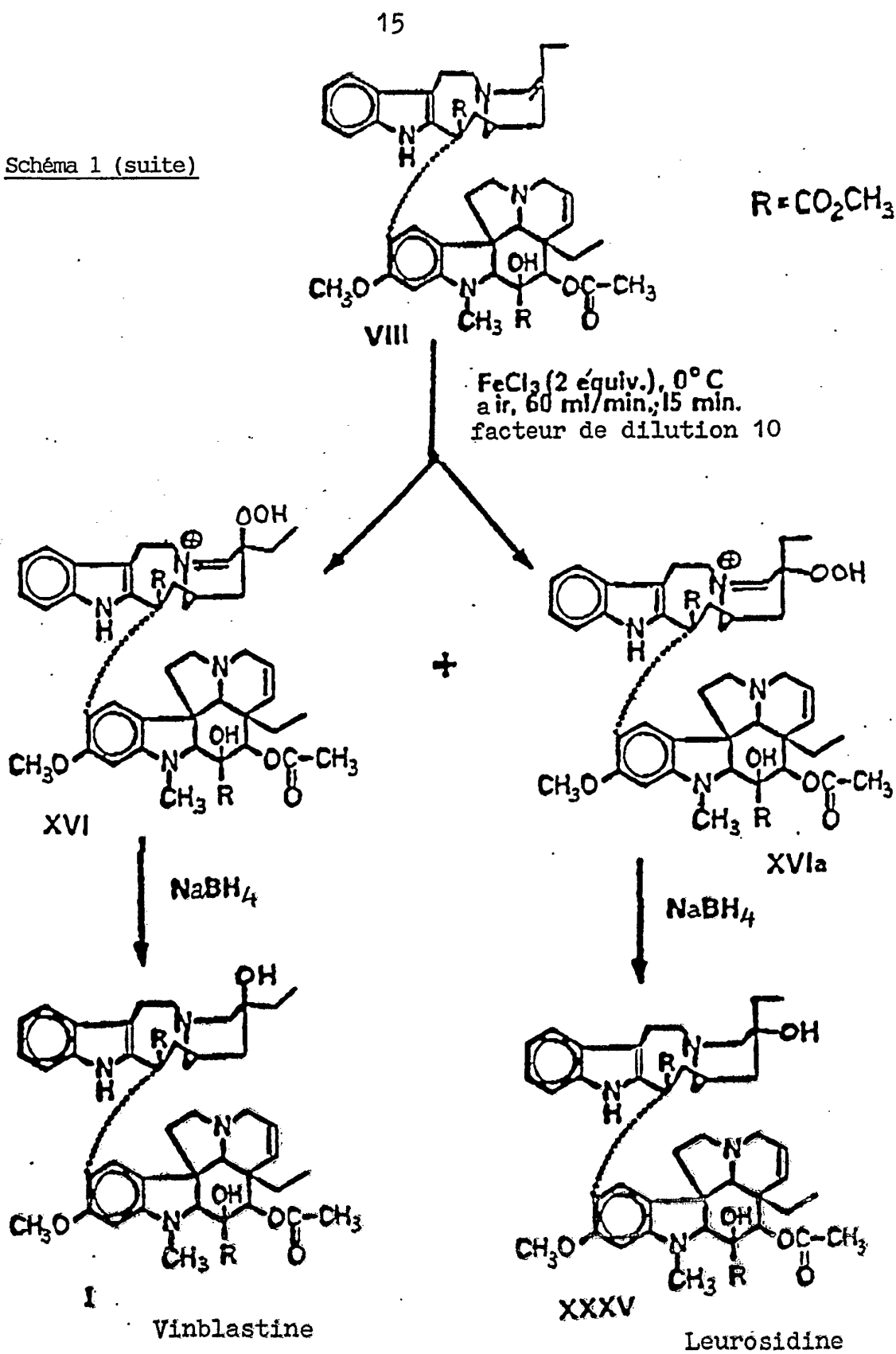


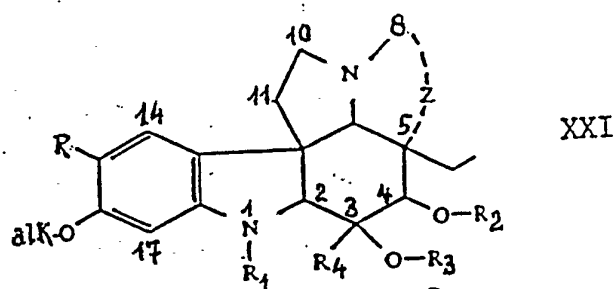
Schéma 1 (suite)



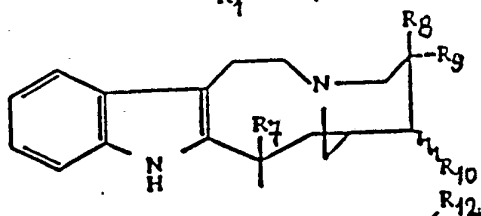
rendement global :

Vinblastine (42%) : Leurosidine (17%) :
 Anhydrovinblastine (18 %)

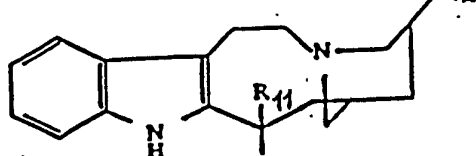
Le procédé de l'invention convient pour la production de dérivés dimères à partir de la catharanthine et de la dihydrocatharanthine, ainsi que de la vindoline, et des dérivés alkyle, phényle et amide des formules ci-après :



XXI



XXII



XXIII

Dans les composés de la formule XXI, alk représente un radical alkyle inférieur en C_1 à C_6 et de préférence en C_1 à C_3 ; la fonction aryle éventuelle est une fonction mono-aryle telle que benzyle, styryle ou xylyle; R_1 désigne un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle, CHO ou COR_5 , où R_5 est un radical alkyle ou aryle; R_2 et R_3 désignent chacun un atome d'hydrogène ou un groupe -CO-alkyle; R_4 représente un groupe COO-alkyle, $CONH-NH_2$, $CONH_2$, $CONHR_6$ ou $CON(R_6)_2$ avec R_6 = radical alkyle; $Z = -CH_2-CH_2-$ ou $-CH=CH-$ et R représente un groupe indole de la formule XXII, dans laquelle $R_7 = H$ ou COO-alkyle; $R_8 = H$, OH, O-alkyle, OCO-alkyle ou alkyle; $R_9 = H$, OH, O-alkyle, OCO-alkyle ou alkyle et $R_{10} = H$, OH, O-alkyle ou OCO-alkyle, ou de la formule XXIII, où $R_{11} = H$ ou COO-alkyle et $R_{12} =$ radical alkyle.

Le procédé de l'invention a pour objet la préparation des composés des formules XXI, XXII, XXIII indiquées ci-dessus; dans la formule XXI :

alk = CH₃ ou (CH₂)_nXH₃ avec n = 1 à 5

5 R₁ = CH₃ ou CHO

R₂ = H ou CO-alk

R₃ = H

R₄ = COO-alk ou CONR₁₃R₁₄, où R₁₃ et R₁₄ désignent chacun un atome d'hydrogène ou un radical

10 alkyle éventuellement substitué ou un groupe aryle éventuellement substitué

Z = -CH=CH- ou -CH₂-CH₂-

R = composé de la formule XXII ou XXIII

R₇ = H ou COO-alkyle

15 R₈ = H, OH, O-alkyle, OCO-alkyle ou alkyle

R₉ = H, OH, O-alkyle, OCO-alkyle ou alkyle

R₁₀ = H, OH, O-alkyle ou OCO-alkyle

R₁₁ = H ou COO-alkyle et

R₁₂ = H ou alkyle,

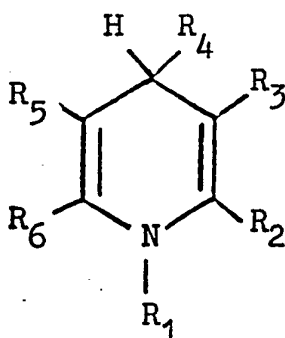
20

par un procédé de synthèse d'un dimère dérivé d'un indole de la famille naturelle des alcaloïdes de l'Iboga, contenant une fraction aza-bicyclo-octane et une fraction dihydro-indole des alcaloïdes naturels du genre Aspidosperma et Vinca avec une stéréochimie de la liaison carbone-carbone entre ces deux fractions identique à celle de la vinblastine, caractérisé en ce qu'il consiste:

30 a) à former à partir de la fraction indole, par l'oxydation de l'azote de pontage entre -70 et +40°C, un composé intermédiaire N-oxyde;

b) à soumettre ce N-oxyde d'indole intermédiaire non isolé, à l'aide d'un anhydride acétique éventuellement halogéné ou de chlorure d'acétyle à une
35 réaction de fragmentation selon Polonovski;

- c) à coupler le produit réactionnel du stade b) non isolé, en présence d'anhydride acétique éventuellement halogéné ou de chlorure d'acétyle, sous une atmosphère inerte et entre environ -70 et +40°C, avec un composé dihydro-indole;
- d) à isoler le produit réactionnel du stade c) par évaporation du solvant à basse température, de préférence entre -20 et 0°C;
- e) à réduire le produit réactionnel du stade d) par un dérivé de 1,4-dihydro-pyridine de la formule IX



IX

dans laquelle R_3 et R_5 représentent des groupes ester carboxylique (COO-alkyle) et R_1 , R_2 , R_4 et R_6 désignent chacun un atome d'hydrogène, un radical alkyle ou un groupe aryle (série des esters de Hantzsch), ou par un 1,4-dihydro-nicotine-amide N-substitué, dans lequel R_1 = alkyle ou aryle substitué, par exemple benzyle, et $R_3 = \text{CONR}_7\text{R}_8$, où R_7 et R_8 désignent chacun un atome d'hydrogène, un radical alkyle ou un groupe aryle;

- f) à isoler le produit réactionnel du stade e), une énamine de la formule VIII, par évaporation du solvant, de préférence à une température comprise entre -20 et 0°C; ou
- g) à diluer le produit réactionnel du stade e) de 5 à 50 fois et de préférence de 8 à 12 fois à l'aide du même solvant à une température réduite, comprise

entre 0 et -70°C et de préférence inférieure à -40°C;

- h) à utiliser l'énamine obtenue dans le stade f) ou la solution d'énamine du stade g) pour la préparation d'un intermédiaire iminium de la formule XVI ou XVIa par divers procédés d'oxydation tels que :
- 1) l'oxygénation par barbotage d'air dans la solution d'énamine agitée;
 - 2) comme sub 1) après addition d'un ion de métal;
 - 3) comme sub 1) en présence d'une coenzyme du type flavine de la formule XII pour l'obtention in situ de la coenzyme dihydro-1,5 flavine de la formule XIII;
 - 4) comme sub 1) en présence de peroxyde d'hydrogène et(ou) d'un hydro-péroxyde de la formule R-OOH, où R = radical alkyle ou groupe aryle;
- i) à isoler l'intermédiaire iminium obtenu dans le stade h) par évaporation du solvant à basse température, de préférence entre -20 et 0°C;
- j) à transformer le produit obtenu dans le stade i) ou la solution d'intermédiaire iminium obtenue dans le stade h)

en un composé de la formule XXI (vinblastine ou vincristine) et en leurosidine de la formule XXXV par la réduction, à l'aide d'un borohydrure de métal alcalin tel que NaBH_4 , KBH_4 ou LiBH_4 , dans le solvant organique ou aqueux, utilisé dans le processus d'oxydation du stade h).

Est particulièrement importante la présence de groupes fonctionnels riches en électrons tels que les groupes ester carboxylique et carboxylate dans le substituant R_1 de la formule IX, permettant de réaliser une coordination avec les intermédiaires iminium à charge positive de la formule VI, dont quelques exemples

sont indiqués dans le tableau 1 (composés des formules XXXI et XXXII).

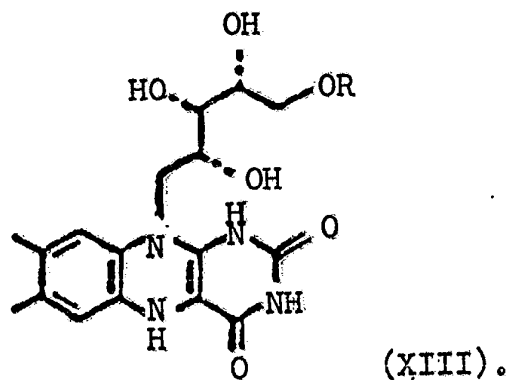
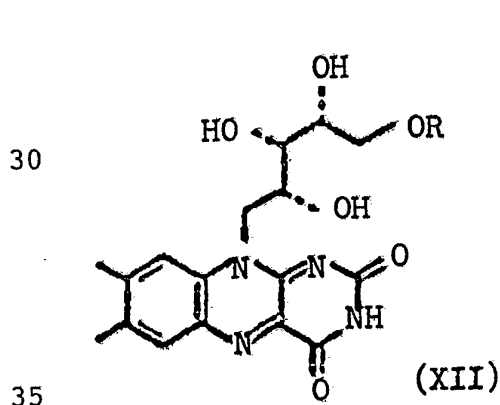
Cette coordination augmente la régio-sélectivité (réduction 1,4 versus réduction 1,2) aussi bien que le
 5 taux de réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI, permettant d'obtenir l'énamine de la formule VIII avec un rendement accru.

La réduction est réalisée sous une atmosphère inerte, entre -60 et +60°C et de préférence entre -20 et
 10 -40°C.

Comme solvants, on emploie des alcools, l'acétonitrile ou des nitriles supérieurs, le diméthylsulfoxyde, le diméthyl-formamide, des éthers tels que le dioxanne ou le tétrahydrofuranne, ou des hydrocarbures
 15 chlorés.

Les stades d'oxydation h(1) à h(4) sont réalisés dans les solvants organiques énumérés ci-dessus, ou dans un hydrocarbure aromatique tel que le benzène, le toluène, etc., entre -60 et +60°C, et éventuellement en
 20 présence d'un tampon aqueux tel qu'un phosphate ou du tris-HCl ou du MES, permettant de régler le pH entre 5 et 9 et de préférence entre 6 et 8.

La coenzyme du type flavine de la formule XII, dont question ci-dessus, permet de produire in situ la
 25 coenzyme 1,5-dihydro-flavine de la formule XIII



Exemples

Les exemples 1 à 8 ont été réalisés à 20°C.

Exemple 1

5 Réduction de l'intermédiaire iminium (VI) par le 1-diphénylméthyl-1,4-dihydro-nicotine-amide (formule IX avec R_1 = diphényl-méthyle; $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$; $R_3 = CONH_2$) - synthèse de l'énamine VIII - mode opératoire C

10 A la solution de l'intermédiaire iminium de la formule VI (100 mg) dans 6 ml d'éthanol dégazé, on ajoute sous atmosphère d'argon et en agitant, à raison de un équivalent par 60 minutes, la solution de 76 mg (2,5 équivalents) de 1-diphénylméthyl-1,4-dihydro-
15 nicotine-amide dans 6 ml d'alcool méthylique.

La chromatographie CLHP avec inversion de phase (cartouche Waters Radial-Pak C₁₈ ou cartouche CN avec un système solvant méthanol-H₂O-Et₃N) indique, entre autres produits, la formation d'énamine VIII et de
20 3',4'-dihydro-vinblastine VII dans un rapport de 0,9 : 1 avec un rendement de 60 %.

Exemple 2

Réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI
25 par la 1-benzyl-3-cyano-1,4-dihydropyridine de la formule IX avec R_1 = benzyle, $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$ et $R_3 = CN$ (formule XXXIII) - synthèse de l'énamine VIII par le mode opératoire D

30

A la solution de 100 mg de l'intermédiaire iminium de la formule VI dans 6 ml d'alcool méthylique dégazé, maintenue en mouvement, on ajoute sous atmosphère d'argon 206 mg (10 équivalents) de benzyl-1 cyano-3
35 dihydro-1,4 pyridine de la formule XXXIII dans 10 ml de

méthanol, l'agent réducteur étant ajouté par portions à raison d'un équivalent par soixante minutes.

L'analyse par CLHP à inversion de phase, décrite plus haut, indique la formation, à côté d'autres produits, d'énamine de la formule VIII et de 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VII dans le rapport 1:1 et avec un rendement de 40 %

Exemple 3

10 Réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI à l'aide du 1-benzyl-1,4-dihydro-nicotinyl-(2'-carbamoyl-pyrrolidinyl)-amide (formule IX avec $R_1 = \text{benzyle}$, $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$; $R_3 = (2'\text{-carbamoyl-pyrrolidinyl})\text{-carbonyle}$ = formule XXXIV - synthèse de l'énamine VIII
15 par le mode opératoire E

Sous une pression positive d'argon et sous agitation, on ajoute à la solution de 100 mg d'intermédiaire iminium de la formule VI dans 6 ml d'alcool méthylique dégazé la solution de 163 mg (5 équivalents) de 1-benzyl-1,4-dihydronicotinyl-(2'-carbamoyl-pyrrolidinyl)-amide de la formule XXXIV dans 5 ml de méthanol, l'agent réducteur étant ajouté par portions à raison de 1 équivalent toutes les trente
20 minutes.
25

L'analyse par CLHP avec inversion de phase, décrite précédemment, indique la formation, à côté d'autres composés, d'énamine de la formule VIII et de 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VII dans un rapport de 1,1:1 et avec un rendement de 60 %.

Exemple 4

Réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI à l'aide de l'amide 1,4-dihydro-1-(1-méthoxycarbonyl-isobutyl)-nicotinique de la formule XXVIII (formule IX
35

avec $R_1 = 1\text{-méthoxycarbonyl-isobutyle}$; $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$; $R_3 = \text{CONH}_2$) - Synthèse de l'énamine de la formule VIII par le mode opératoire F

5 Sous une pression positive d'argon et sous agitation, on ajoute à la solution de 100 mg de l'intermédiaire iminium de la formule VI dans 6 ml de méthanol dégazé la solution de 150 mg (6 équivalents) d'amide 1,4-dihydro-1-(1-méthoxy-carbonyl-isobutyl)-
10 nicotinique de la formule XXVIII dans 6 ml d'alcool méthylique, l'agent réducteur étant ajouté par portions à raison de 1 équivalent par trente minutes.

 L'analyse par CLHP, réalisée comme décrit plus haut, indique la présence, à côté d'autres composés, de
15 l'énamine de la formule VIII et de 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VII dans un rapport de 2:1 et avec un rendement de 65 %.

Exemple 5

20 Réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI à l'aide de l'amide 1-(2',3',4',6'-tétracétyl-(β)-D-glucopyranosidyl)-1,4-dihydro-nicotinique de la formule XXIX (formule IX avec $R_1 = (2',3',4',6'\text{-tétracétyl-(}\beta\text{)-D-glucopyranosidyle}$; $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$; $R_3 = \text{CONH}_2$)
25 - Synthèse de l'énamine VIII par le mode opératoire G

 Sous atmosphère d'argon et sous agitation, on ajoute la solution de 238 mg (5 équivalents) de l'amide 1-(2',3',4',6'-tétracétyl-(β)-D-glucopyranosidyl)-1,4-
30 dihydro-nicotinique de la formule XXIX dans 10 ml de méthanol à la solution de 100 mg d'intermédiaire iminium de la formule VI dans 6 ml d'alcool méthylique dégazé, l'addition de l'agent réducteur s'effectuant par portions à raison de 1 équivalent toutes les 60 minutes.

35 L'analyse subséquente par CLHP confirme la

formation, parmi d'autres composés, d'énamine de la formule VIII et de 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VII dans un rapport 1,5:1 et avec un rendement de 70 %.

5

Exemple 6

Réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI par l'amide 1,4-dihydro-1-(2'-méthoxycarbonyl-isopropyl)-nicotinique de la formule XXX (formule IX avec $R_1 =$
10 2'-méthoxycarbonyl-isopropyle; $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$; $R_3 = CONH_2$) - Synthèse de l'énamine de la formule VIII par le mode opératoire H

Sous atmosphère d'argon et en agitant, on ajoute la
15 solution de 82 mg (3,5 équivalents) de l'amide 1,4-dihydro-1-(2'-méthoxycarbonyl-isopropyl)-nicotinique de la formule XXX dans 7 ml de méthanol à la solution de 100 mg d'intermédiaire iminium de la formule VI dans 6 ml d'alcool méthylique dégazé, l'addition de l'agent
20 réducteur se faisant par portions à raison de 1'équivalent toutes les trente minutes.

L'analyse du mélange réactionnel par CLHP indique la formation, entre autres, d'énamine de la formule VIII et de 3',4'-déhydrovinblastine dans un rapport de 1,1:1
25 et avec un rendement de 65 %.

Exemple 7

Réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI à l'aide d'amide 1,4-dihydro-1-(1',2'-diméthoxycarbonyl-éthyl)-nicotinique de la formule XXXI ($R_1 = 1',2'$ -diméthoxycarbonyléthyle; $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = H$; $R_3 = CONH_2$)
30 - Synthèse de l'énamine VIII par le mode opératoire I

Sous atmosphère d'argon et une pression positive,
35 on ajoute en agitant la solution de 148 mg (5

équivalents) d'amide 1,4-dihydro-1-(1',2'-diméthoxycarbonyléthyl)-nicotinique de la formule XXXI dans 10 ml de méthanol à la solution dégazée de 100 mg de l'intermédiaire iminium de la formule VI dans 6 ml
5 d'alcool méthylique, l'addition de l'agent réducteur étant réalisée par portions à raison de 1 équivalent toutes les 30 minutes.

L'analyse subséquente du mélange réactionnel par CLHP avec inversion des phases montre la présence, parmi
10 d'autres produits, de l'énamine de la formule VIII et de 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VII dans un rapport de 1,1:1 et avec un rendement de 70 %.

Exemple 8

15 Réduction de l'intermédiaire iminium de la formule VI à l'aide de l'amide 1,4-dihydro-1-(Na-isobutyl-1-carboxylate)-nicotinique de la formule XXXII (formule IV avec $R_1 = \text{Na-isobutyl-1-carboxylate}$; $R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = \text{H}$; $R_3 = \text{CONH}_2$) - Synthèse de l'énamine VIII par le
20 mode opératoire J

Sous une pression positive d'argon et en agitant, on ajoute la solution de 130 mg (5 équivalents) d'amide 1,4-dihydro-1-(isobutyl-1-carboxylate de sodium)-nicotinique dans 6 ml de méthanol à la solution dégazée de 100
25 mg d'intermédiaire iminium de la formule VI dans 6 ml d'alcool méthylique, l'agent réducteur étant additionné par portions à raison de 1 équivalent toutes les trente minutes.

30 L'analyse du mélange réactionnel obtenu par CLHP indique la présence entre autres, d'énamine VIII et de 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VII dans un rapport de 2,2:1 et avec un rendement de 70 %.

Exemple 9

Réduction du composé iminium intermédiaire de la formule VI par l'amide nicotinique de la formule XXXII (cf. exemple 8) à basse température - Synthèse de l'énamine VIII par le mode opératoire K

- (i) En répétant le mode opératoire de l'exemple 8 à -20°C et avec 155 mg (6 équivalents) de l'amide nicotinique de la formule XXXII, additionnés en une fois, le mélange réactionnel obtenu après 45 minutes à -20°C contient l'énamine VIII et la 3',4'-déhydrovinblastine VII dans un rapport de 3,2:1, le rendement étant de 80 %.
- (ii) La même réaction, réalisée pendant soixante minutes à -40°C, donne un rapport VIII-VII de 4,2:1 et un rendement de 85 %.

Exemple 10

Synthèse de la vinblastine de la formule I par l'oxydation de l'énamine de la formule VIII en solution fortement diluée par de l'air en présence de chlorure ferrique (mode opératoire 5)

La solution d'énamine de la formule VIII, obtenue par le mode opératoire K(ii) à partir de 200 mg du composé intermédiaire iminium de la formule VI, est diluée cinq fois au méthanol (volume final : 120 ml). Après l'addition de 75 mg (2 équivalents) de chlorure ferrique et un barbotage d'air de vingt minutes à 0°C, on y ajoute 200 mg de borohydrure de sodium et concentre sous vide, ajoute 100 ml d'eau, puis extrait à trois reprises avec 200 ml d'acétate d'éthyle.

Les extraits organiques réunis sont séchés sur du sulfate de sodium, puis le solvant est évaporé sous vide.

Le produit réactionnel brut est purifié par une

chromatographie en couche mince sur colonne de gel de silice (15 g), l'éluant étant un mélange 10:7 d'éther et de chloroforme.

On obtient une première récolte de 18 mg (11 %) de
5 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VII, puis, en employant comme deuxième éluant un mélange 10:7:0,5 d'éther, de chloroforme et d'alcool méthylique, 62 mg (37 %) de vinblastine de la formule I.

10 Exemple 11

Mode opératoire pour la transformation de catharanthine de la formule II et de la vindoline de la formule III en vinblastine de la formule I et en leurosidine de la formule XXXV - Mode opératoire global réalisé dans un
15 seul et unique réacteur

Sous une atmosphère positive d'argon et à -15°C, on ajoute en une fois 330 mg (1,9 millimole) d'acide méta-chloro-perbenzoïque à la solution de 500 mg (1,5
20 millimole) de catharanthine de la formule II dans 4,5 ml de dichloro-méthane anhydre. Après une agitation de cinq minutes entre -10 et -15°C, le mélange réactionnel est refroidi à -40°C, puis on y ajoute successivement la solution de 450 mg (1 millimole) de vindoline de la
25 formule III dans 1 ml de dichloro-méthane anhydre et 1 ml (7,1 millimoles) d'anhydride trifluor-acétique, puis agite pendant deux heures à -60°C.

Après avoir éliminé les produits volatils sous le vide d'une pompe à vide poussé et mis le système
30 réactionnel sous atmosphère d'argon, on y ajoute 12 ml d'alcool méthylique anhydre dégazé.

On obtient une solution de coloration orange, qui est refroidie à -40°C et à laquelle on ajoute ensuite, sous pression d'argon, la solution de 1,5 g (6
35 millimoles) d'amide 1,4-dihydro-1-(isobutyl-1-carboxyla-

te de sodium)-nicotinique de la formule XXXII.

La réduction est suivie à l'aide d'une CLHP à inversion des phases et lorsqu'elle est totale, on ajoute 300 ml de méthanol froid, la température de la solution étant maintenue entre -5 et 0°C, ensuite 330 mg (2 millimoles) de chlorure ferrique, puis on y fait barboter pendant vingt minutes de l'air sec avec un débit de 60 ml par minute.

Après l'addition de 1 g de borohydrure de sodium, la solution est concentrée sous vide et, après l'addition de 100 ml d'eau, extraite à trois reprises avec 150 ml d'acétate d'éthyle.

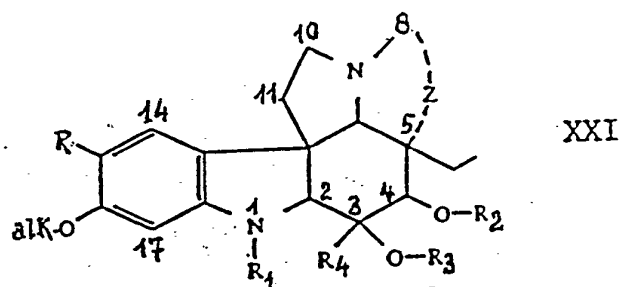
Les extraits organiques réunis sont séchés sur du sulfate de sodium et le solvant est évaporé sous vide; le produit brut obtenu est purifié par une chromatographie telle que décrite plus haut.

On a obtenu 95 mg (12 %) de 3',4'-déhydrovinblastine de la formule VIII, 315 mg (39 %) de vinblastine de la formule I et 130 mg (16 %) de leurosidine de la formule XXXV.

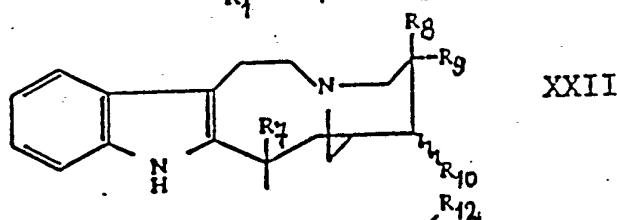
R e v e n d i c a t i o n s

1. Procédé de synthèse de composés représentés par les formules :

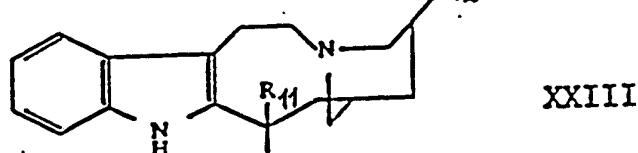
5



10



15



où, dans la formule XXI:

20

alkyle est un radical méthyle ou un groupe $(CH_2)_nCH_3$, dans lequel n a une valeur de 1 à 5

R_1 représente CH_3 ou CHO

R_2 représente H ou un groupe CO-alk

R_3 représente H

25

R_4 représente un groupe -COO-alk ou $CONR_{13}R_{14}$, où R_{13} et R_{14} peuvent être choisis dans le groupe comprenant l'hydrogène et une fonction alkyle, alkyle substitué, aryle ou aryle substitué

Z représente un groupe -CH=CH- ou -CH₂-CH₂-

30

R représente la formule XXII ou XXIII

R_7 représente H ou un groupe COO-alk

R_8 représente H, un groupe OH, O-alk, OCO-alk ou alkyle

R_9 représente H, un groupe OH, O-alk, OCO-alk ou alkyle

35

R₁₀ représente H, un groupe OH, O-alk, OCO-alk

R₁₁ représente H ou un groupe COO-alk

R₁₂ représente H ou un groupe alkyle,

procédé destiné à la synthèse d'un dimère dérivé d'un
5 motif indole de la famille naturelle des alcaloïdes de
l'Iboga contenant une portion aza-bicyclo-octane et d'un
motif dihydro-indole de la famille naturelle des
alcaloïdes d'Aspidosperma et de Vinca, la stéréochimie
de la liaison carbone-carbone entre ces deux motifs
10 étant identique à celle de la vinblastine, caractérisé
en ce qu'il consiste :

(a) à former un N-oxyde intermédiaire à froid à
une température de -70°C à +40°C à partir dudit motif
indole par oxydation de l'azote de pontage et sans
15 isolement dudit composé intermédiaire;

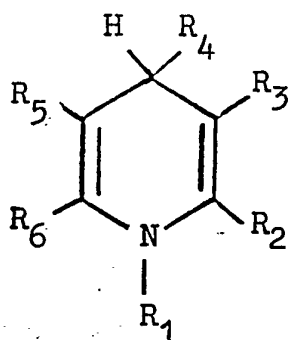
(b) à traiter le N-oxyde intermédiaire dérivé
d'indole en présence d'un membre du groupe comprenant
l'anhydride acétique, un anhydride acétique halogéné et
le chlorure d'acétyle pour effectuer une réaction de
20 fragmentation du type de Polonovski;

(c) sans isolement du produit de l'étape (b), à
coupler ledit produit de réaction avec un motif dihydro-
indole en présence d'anhydride acétique, d'anhydride
acétique halogéné ou de chlorure d'acétyle à une basse
25 température d'environ -70°C à +40°C dans des conditions
inertes;

(d) à isoler le produit du stade (c) par
évaporation du solvant, de préférence à basse
température dans l'intervalle de -20 à 0°C;

30 (e) à réduire le produit du stade (d) à l'aide de
dérivés de la 1,4-dihydropyridine représentés par la
formule IX





IX

dans laquelle R_3 et R_5 sont des esters carboxyliques (COO-alk) et R_1 , R_2 , R_4 et R_6 sont des membres du groupe comprenant H, des radicaux alkyle, aryle (de la série des esters de Hantzsch) ou des amides 1,4-dihydronicotiniques substitués sur l'atome d'azote, R_1 étant une fonction alkyle substitué ou aryle substitué et R_3 un groupe CONR_7R_8 , dans lequel R_7 et R_8 peuvent être choisis dans le groupe comprenant l'hydrogène et les fonctions alkyle ou aryle;

10 ensuite :

(f) le produit obtenu dans le stade (e), c'est-à-dire une énamine de la formule VIII, est isolé par évaporation du solvant à basse température, de préférence entre -20 et 0°C ;

15 (g) le produit obtenu dans le stade (e), à savoir une solution d'énamine de la formule VIII, est dilué de 5 à 50 et de préférence de 8 à 12 fois avec le solvant employé précédemment, de préférence entre 0°C et -70°C et plus particulièrement à une température inférieure à -40°C ;

20 (h) l'énamine obtenue au stade (f) ou la solution d'énamine provenant du stade (g) est utilisée pour préparer un intermédiaire iminium de la formule XVI ou XVIa par diverses réactions d'oxydation comme :

25

(1) une oxydation à l'aide d'un débit réglé d'air et(ou) d'oxygène, que l'on fait barboter dans la

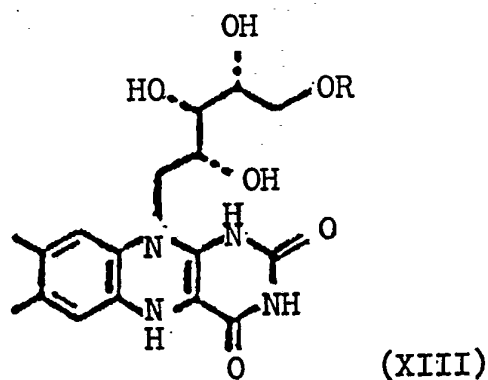
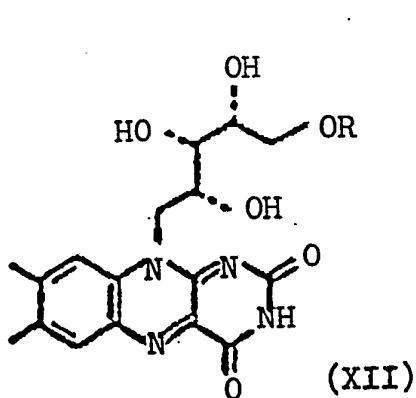
solution d'énamine, maintenue en agitation;

(2) une oxydation comme sub(1) en présence d'un ion de métal;

(3) une oxydation comme sub(1) en présence d'une co-enzyme du type flavine, de la formule XII, conduisant à la formation in situ de la co-enzyme du type dihydro-1,5 flavine correspondante de la formule XIII :

10

15



20

(4) une oxydation comme sub(1) en présence de peroxyde d'hydrogène et(ou) d'un hydroperoxyde de la formule $R-OOH$, où R représente un radical alkyle ou un groupe aryle;

(i) le produit réactionnel du stade (h), qui est un composé iminium intermédiaire ou un mélange de tels composés, est isolé par évaporation du solvant, de préférence dans la gamme de températures comprises entre -20 et $0^{\circ}C$;

(j) le produit réactionnel du stade (i) ou la solution du composé iminium obtenue dans le stade (h) est transformé dans un solvant approprié, organique et(ou) aqueux, tel que ceux mis en oeuvre dans la réaction d'oxydation du stade (h), par réduction à l'aide d'un borohydrure de métal alcalin ($NaBH_4$, KBH_4 , $LiBH_4$), en l'un des composés recherchés de la formule

XXI tels que la vinblastine et la vincristine ou en leurosidine de la formule XXXV.

2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'aucun des produits réactionnels des stades
5 intermédiaires 1d, 1f et 1i n'est isolé et que les diverses opérations conduisant d'un dérivé d'indole de la formule II, XXII ou XXIII et d'un dérivé de dihydroxy-indole de la formule XXI avec $R = H$ au produit final de la formule XXI sont réalisées dans un seul et
10 même réacteur.

3. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est mis en oeuvre pour combiner un N-oxyde d'indole intermédiaire avec un dérivé de dihydroxy-indole, le composé obtenu étant réduit par un dérivé de
15 la dihydro-1,4 pyridine de la formule IX suivant la revendication 1.

4. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que l'oxydation par barbotage d'air et(ou) d'oxygène est réalisée :
20 soit en présence de chlorure ferrique;
soit en présence d'une co-enzyme du type flavine, de la formule XII, conduisant à la formation in situ de la co-enzyme du type dihydro-1,5 flavine de la formule XIII.

5. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que le stade d'oxydation h1 est réalisé en
25 présence de peroxyde d'hydrogène ou d'un hydro-péroxyde de la formule $R-OOH$, où R désigne un radical alkyle ou un groupe aryle.

6. Procédé suivant la revendication 4, caractérisé en ce que le composé iminium intermédiaire de la formule
30 XVI ou XVIa, isolé par évaporation du solvant à basse température, c'est-à-dire entre 0 et $-20^{\circ}C$, est réduit à l'aide d'un borohydrure de métal alcalin en un alcaloïde du type Vinca tel que la vinblastine ou la leurosidine.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BE 8800908
BO 1334

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)
X	US-A-4 144 237 (J.P. KUTNEY) * Document complet *	1-3	C 07 D 519/00
A	--- CHEMISTRY AND INDUSTRY, 2 avril 1977, pages 277-278; T. MAKINO et al.: "Asymmetric reduction of alpha,beta-unsaturated iminium salt with N-glucopyranosyl-1,4-dihydronicotinamide s" -----	1	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
			C 07 D 519/00
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur	
20-03-1991		VAN BIJLEN H.	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

BE 8800908
BO 1334

БРОДОВИ ПОД

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82