

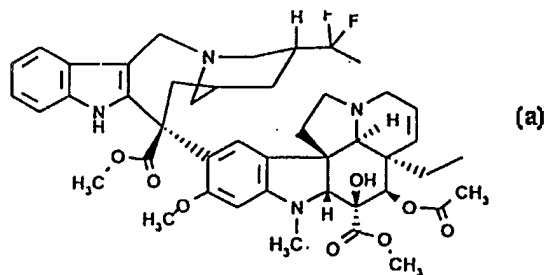
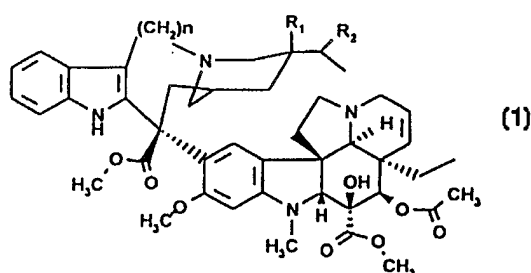


DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07D 519/04, A61K 31/395	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/45301 (43) Date de publication internationale: 15 octobre 1998 (15.10.98)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/00730 (22) Date de dépôt international: 10 avril 1998 (10.04.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/04398 10 avril 1997 (10.04.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): PIERRE FABRE MEDICAMENT [FR/FR]; 45, place Abel Gance, F-92100 Boulogne-Billancourt (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): DUFLOS, Alain [FR/FR]; 2, rue Emile Caraguel, F-81290 Labruguière (FR). FAHY, Jacques [FR/FR]; 41, avenue du Général de Gaulle, F-81290 Labruguière (FR). THILLAYE DU BOULAY, Valérie [FR/FR]; Les Dalbis Avens, F-81310 Lisle-sur-Tarn (FR). BARRET, Jean-Marc [FR/FR]; 2, rue du Trésor, F-81100 Castres (FR). HILL, Bridget [GB/FR]; 10, rue Malbec, F-81100 Castres (FR). (74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		(81) Etats désignés: AU, BR, CA, CN, JP, KR, MX, NZ, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i>

(54) Title: VINCA ALKALOID ANTIMITOTIC HALOGENATED DERIVATIVES

(54) Titre: DERIVES HALOGENES ANTIMITOTIQUES D'ALCALOIDES DE VINCA



(57) Abstract

The invention concerns novel halogenated derivatives of the vinblastine and vinorelbine family, corresponding to general formula (1) and their therapeutically acceptable salts. The invention also concerns the application of these compounds in therapy and their methods of preparation. The invention further concerns a novel method for preparing vinflunine or 20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine, of formula (a).

(57) Abrégé

Nouveaux dérivés halogénés de la famille de la vinblastine et de la vinorelbine, correspondant à la formule générale (1) ainsi que leurs sels thérapeutiquement acceptables. L'invention concerne également l'application de ces composés en thérapeutique et les procédés de préparation. L'invention a également pour objet un nouveau procédé de préparation de la vinflunine ou 20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine, de formule (a).

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

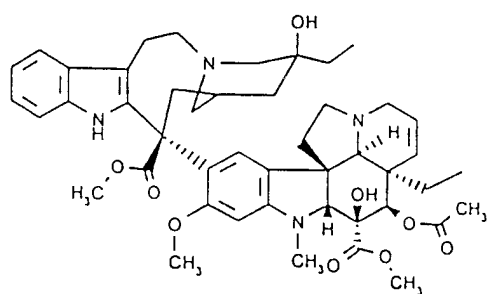
Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

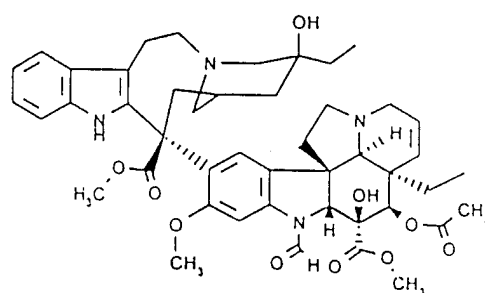
Dérivés halogénés antimitotiques d'alcaloïdes de Vinca

Les alcaloïdes dimères du *Catharanthus roseus* et leurs dérivés, couramment appelés alcaloïdes de Vinca, sont largement utilisés en chimiothérapie anticancéreuse depuis une trentaine d'années. Ils sont

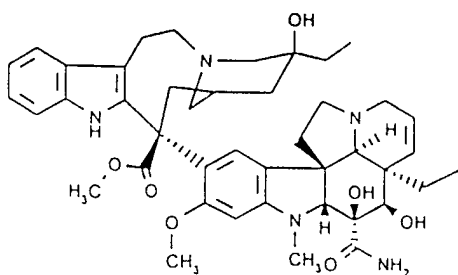
- deux composés naturels, la vinblastine et la vincristine,
- deux produits d'hémisynthèse, la vindésine obtenue à partir de la vinblastine, et la vinorelbine, synthétisée à partir des alcaloïdes monomères précurseurs, catharanthine et vindoline.



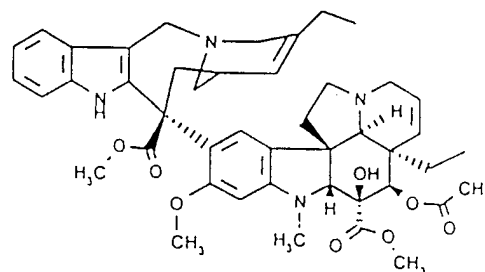
Vinblastine



Vincristine



Vindesine

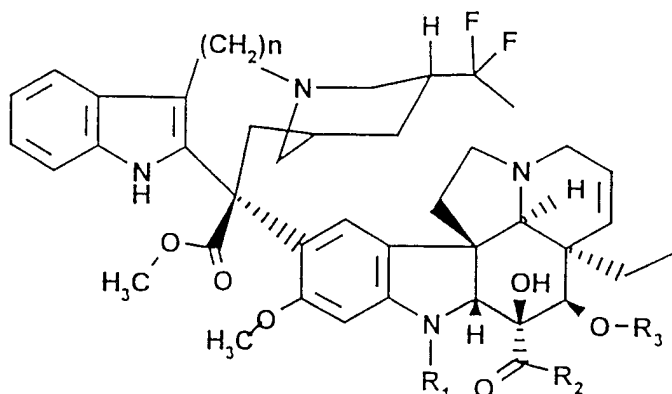


Vinorelbine

Structure des alcaloïdes de Vinca utilisés en chimiothérapie

Dans le cadre de nos travaux de recherche visant à obtenir de nouveaux dérivés de cette famille pouvant conduire à de nouvelles applications en chimiothérapie anticancéreuse, nous avons adopté une démarche originale consistant à utiliser la réactivité exceptionnelle des milieux superacides, susceptible d'induire de profondes modifications dans ces molécules hautement fonctionnalisées.

Nous avons ainsi déjà préparé une série de composés difluorés en position 20', qui sont inaccessibles aujourd'hui par les méthodes classiques de synthèse (brevet FR 2 707 988 du 21.07.93, WO 95/03312), et dont les propriétés pharmacologiques sont particulièrement intéressantes.

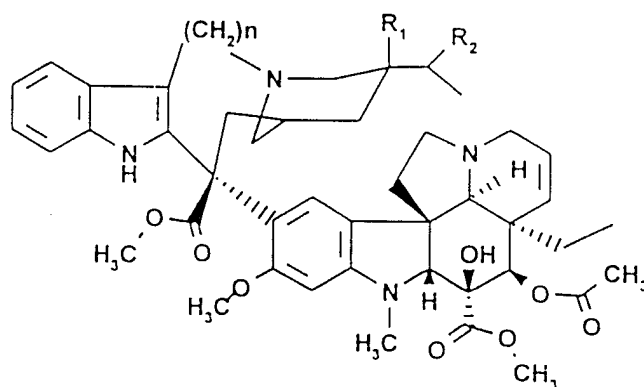


Formule générale des composés décrits dans le brevet FR 2 707 988

L'application de cette chimie inhabituelle à ce type de molécules complexes nous a permis de préparer une nouvelle famille de composés halogénés, également inaccessibles par la chimie classique.

La présente invention, réalisée au Centre de Recherche Pierre Fabre, a pour objet de nouveaux dérivés d'alcaloïdes de Vinca, leur mode de préparation et leur application en thérapeutique.

Les composés de l'invention possèdent la formule générale 1, schématisée ci-dessous :



Formule générale 1

dans laquelle :

$n = 1$ ou 2 ,

R_1 représente un atome d'hydrogène ou de fluor,

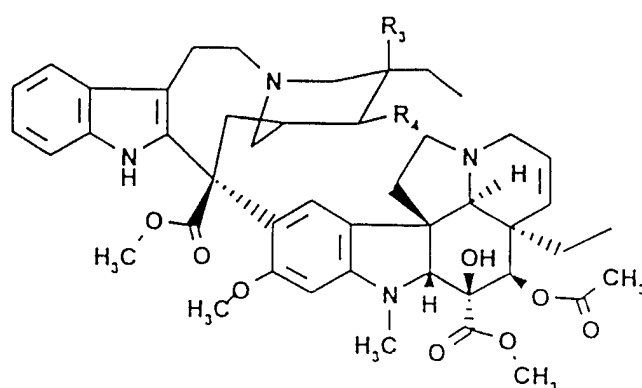
R_2 représente un atome de chlore.

L'invention concerne également les sels des composés de formule générale 1 avec des acides minéraux ou organiques pharmaceutiquement acceptables. L'acide employé peut être, à titre d'exemple non limitatif, l'acide sulfurique ou l'acide tartrique.

L'invention concerne aussi bien les isomères correspondant aux configurations R et S des carbones 4' et 20' des composés de formule générale 1, que leurs mélanges en toute proportion.

- 5 Les dérivés de l'invention sont préparés par réaction d'un composé de formule générale 2 en milieu superacide, provenant du mélange d'un acide fort de Bronsted comme l'acide fluorhydrique, et d'un acide de Lewis fort comme le pentafluorure d'antimoine, en présence d'un réactif générateur d'espèces de type superélectrophile, suivant la dénomination proposée par G. Olah (*Ang. Chem. Int. Ed. Engl.*, 32, 767-88, 1993). Ce réactif peut être constitué d'un
- 10 dérivé chloré comme le chlorure de méthylène, le chloroforme, le tétrachlorure de carbone, le 2,2-dichloropropane ou d'un mélange de ces dérivés en toutes proportions.

- 15 La structure des composés de formule 2 est décrite ci-dessous :



Composés de formule générale 2

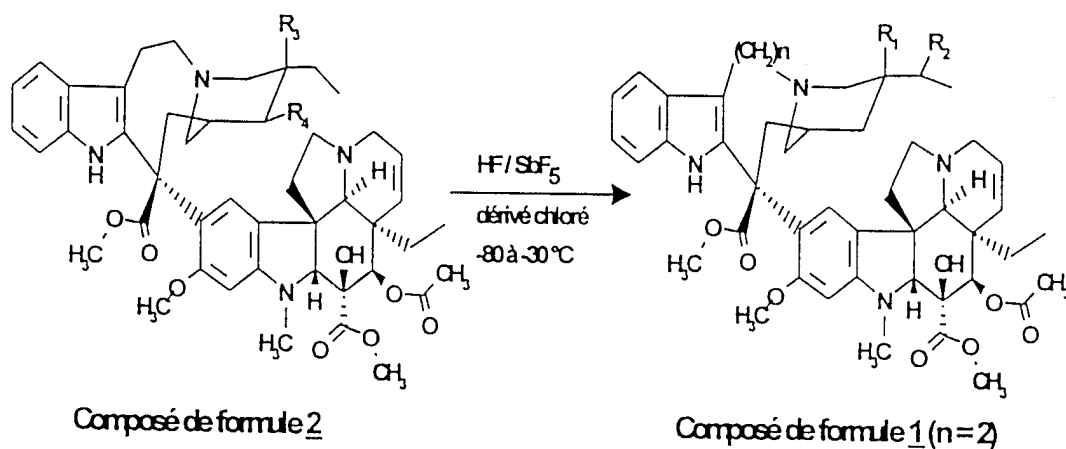
- 20 dans laquelle :
- R_3 représente un groupement hydroxyle et R_4 un atome d'hydrogène, dans ce cas le composé 2 correspond à la vinblastine, ou bien :
- R_3 et R_4 formant une double liaison, dans ce cas le composé de formule 2
- 25 correspond à la 3',4'-anhydrovinblastine.

- Les réactions en milieu superacide s'effectuent dans des récipients résistant à l'acide fluorhydrique comme le Téflon® ou un acier de composition adaptée. Le dérivé de formule 2, dans laquelle R_3 et R_4 sont définis comme
- 30 ci-dessus, est dissous dans l'acide fluorhydrique ou dans un dérivé chloré défini comme ci-dessus servant de solvant, et ajouté au mélange superacide,

qui peut éventuellement déjà contenir une fraction de dérivé chloré. Cette addition est effectuée en maintenant la température du milieu à une valeur choisie, comprise entre -80 et -30 °C.

- 5 A basse température et en présence de chlorure de méthylène ou de tétrachlorure de carbone, les composés de formule 1 dans laquelle $n = 2$, $R_1 = H$ et $R_2 = Cl$ sont isolés de façon majoritaire. Les composés de formule 1 dans laquelle $n = 2$, $R_1 = F$ et $R_2 = Cl$ sont isolés du même milieu réactionnel en proportion plus faible. Ceci est résumé dans le schéma ci-dessous :

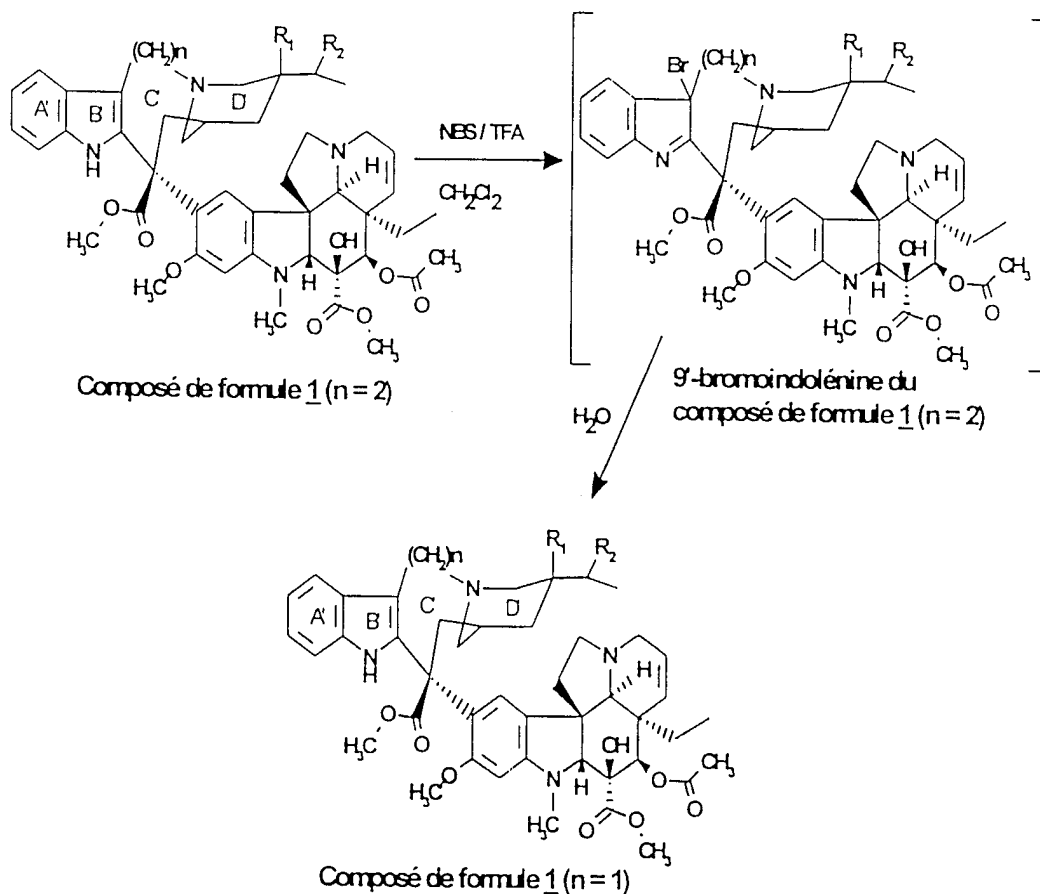
10



- Les dérivés de formule générale 1, dans lesquels $n = 1$, R_1 et R_2 étant définis comme ci-dessus, sont préparés par contraction du cycle C' ($n = 2 \rightarrow n = 1$) des composés de formule générale 1 dans lesquels $n = 2$, suivant les méthodes décrites dans la littérature (*Eur. J. Med. Chem.*, 18, 419-24, 1983), en particulier par action de la N-bromosuccinimide dans le chlorure de méthylène en présence d'un acide comme l'acide trifluoroacétique et à température inférieure à -10 °C. Après neutralisation en milieu basique, la 9'-bromoindolénine du dérivé de formule 1 dans laquelle $n = 2$, intermédiaire peu stable et non isolé, subit une hydrolyse de préférence dans un mélange [chlorure de méthylène : eau : tétrahydrofurane], en présence ou non de tétrafluoroborate d'argent ($AgBF_4$), à une température comprise entre -10° C et le reflux du solvant. L'addition d' $AgBF_4$ en quantité catalytique ou stœchiométrique par rapport au composé 1 ($n = 2$), permet d'accélérer le cours de la réaction, si celle-ci n'est pas terminée après l'étape de neutralisation.

Le produit majoritaire de la réaction correspond au composé de formule 1 dans laquelle $n = 1$. Cette réaction est schématisée ci-

dessous :



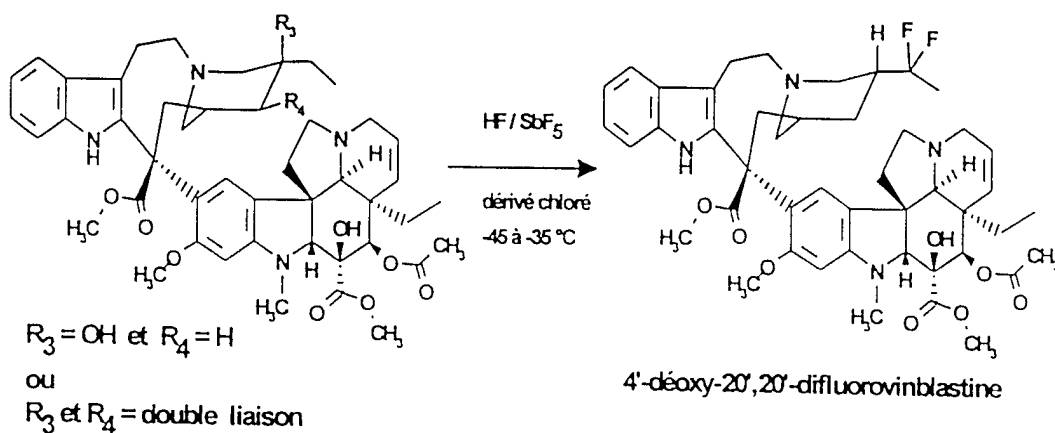
L'invention a également pour objet un nouveau procédé de synthèse de la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine, ainsi que de la 20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine ou vinflunine, composés revendiqués dans le brevet FR 2 707 988 du 21.07.93 (WO 95/03312).

En modifiant les conditions opératoires de la réaction en milieu superacide mettant en jeu les composés de formule 2 dans laquelle n = 2, R₃ et R₄ étant définis comme ci-dessus, on obtient préférentiellement la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine. Ces modifications de conditions opératoires consistent essentiellement à augmenter la température (entre -45 et -35 °C), à allonger le temps de réaction, ou à employer un superélectrophile de réactivité différente. En effet, nous avons montré dans une étude cinétique de la réaction que les composés isolables de formule 1 dans laquelle n = 2, R₁ = H et R₂ = Cl, majoritaires dans le cas précédent (41%) disparaissent au profit du produit difluoré en position 20' dans ces nouvelles conditions.

En optimisant les conditions opératoires, le rendement de cette réaction de difluoruration est meilleur (50%) que celui obtenu par le procédé décrit dans le brevet cité ci-dessus, qui met notamment en jeu la N-bromosuccinimide (NBS) comme agent électrophile. En effet, le rendement indiqué pour la difluoruration de la vinorelbine en présence de NBS n'est que de 25%.

Les composés de formule générale 2 sont la vinblastine quand $R_3 = OH$ et $R_4 = H$, et la 3',4'-anhydrovinblastine quand R_3 et R_4 forment ensemble une double liaison. Le dérivé de formule 2 est dissous dans le dérivé chloré, de préférence le chloroforme ou le 2,2-dichloropropane, ou un mélange contenant du chloroforme ou du 2,2-dichloropropane, et ajouté au milieu superacide, en maintenant la température de ce dernier entre -45 et -35 °C. Le dérivé difluoré, 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine, constitue alors le produit final majoritaire de la réaction. Le dosage par CLHP analytique indique une proportion de ce composé de l'ordre de 50%.

Cette réaction est illustrée dans le schéma suivant :

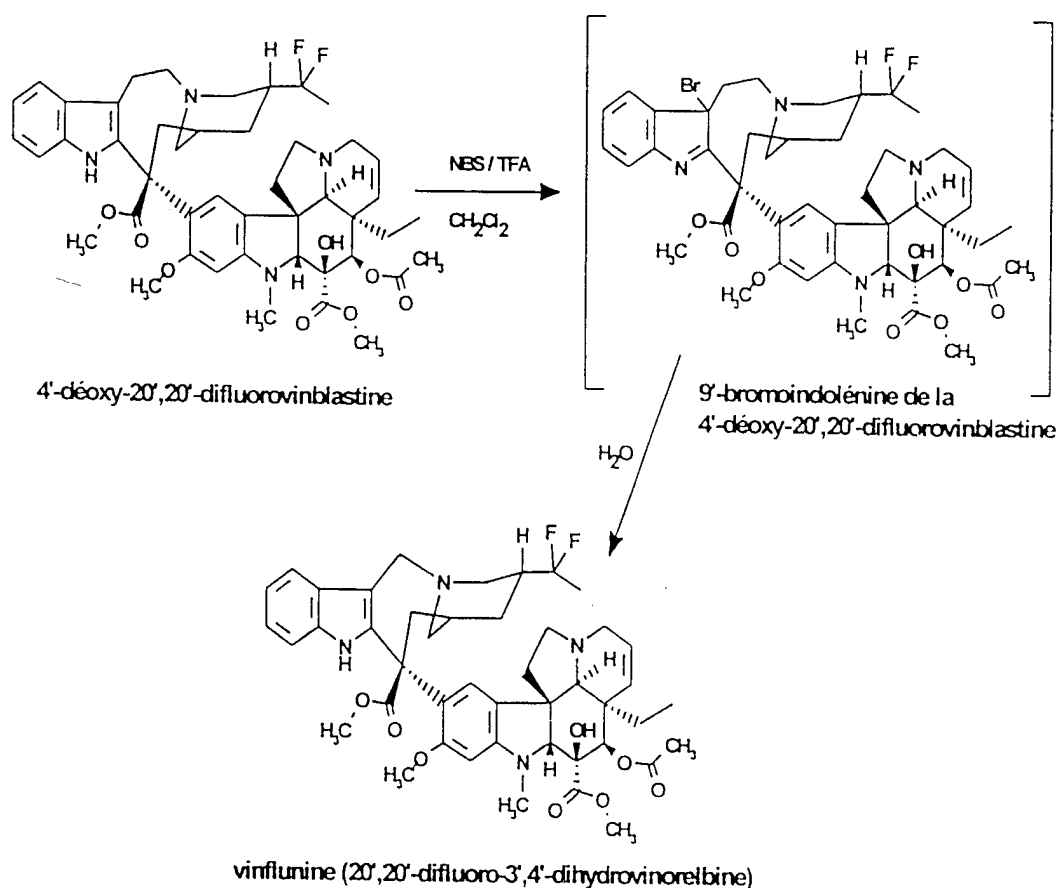


D'autres agents générateurs d'ions superélectrophiles comme le tétrabromure de carbone $CBBr_4$, le dibromométhane CH_2Br_2 ou le tribromure de bore BBr_3 conduisent également à la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine de façon majoritaire.

Cette méthode constitue donc un nouveau procédé de préparation de la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine, avec un rendement supérieur à celui obtenu par la technique antérieure.

La 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine obtenue suivant cette voie peut ensuite subir une contraction de son cycle C' ($n = 2 \rightarrow n = 1$), comme décrit ci-dessus, par réaction avec la N-bromosuccinimide dans le chlorure de méthylène en présence d'un acide comme l'acide trifluoroacétique à température inférieure à -10°C . Après neutralisation en milieu basique, le composé intermédiaire, 9'-bromoindolénine de la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine, peu stable et non isolé, subit une hydrolyse de préférence dans un mélange [chlorure de méthylène : eau : tétrahydrofurane], en présence ou non de tétrafluoroborate. De la même façon que ci-dessus, l'addition d' AgBF_4 permet d'accroître la vitesse de la réaction.

Le composé majoritaire obtenu avec un rendement de l'ordre de 80% correspond à la 20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine ou vinflunine. Le schéma ci-dessous résume cette réaction :



L'enchaînement de ces deux étapes constituent donc un nouveau procédé de synthèse de la vinflunine, plus avantageux que le précédent en ce sens que :

1) la réaction de fluoration en milieu superacide est effectuée à partir de composés naturels comme la vinblastine ou la 3',4'-anhydrovinblastine, accessibles directement par extraction des feuilles de *Catharanthus roseus*, et non plus à partir de la vinorelbine, produit d'hémisynthèse plus onéreux,

5

2) le rendement de la réaction de difluoration par ce nouveau procédé est de l'ordre de 50% contre 25% avec le procédé précédent,

3) la purification par chromatographie des composés obtenus, notamment de la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine est moins délicate que dans le cas précédent.

Les exemples suivants illustrent l'invention, sans toutefois en limiter la portée. Les caractéristiques spectroscopiques confirment la structure des composés obtenus selon l'invention.

15

Exemple 1 :

20'-chloro-4'-déoxyvinblastine 1.

($n = 2$, $R_1 = H$, $R_2 = Cl$)

20

Dans un récipient en Téflon de 250 ml, on prépare une solution de pentafluorure d'antimoine (60 g; 0,28 mole) dans 80 ml (4 moles) d'acide fluorhydrique anhydre que l'on refroidit à -60 °C. Sous agitation magnétique, on y ajoute successivement 1,63 ml (17 mmoles) de tétrachlorure de carbone, puis goutte-à-goutte une solution de 13,75 g (17 mmoles) de 3',4'-anhydrovinblastine 2 ($n = 2$, R_3 et R_4 formant une double liaison) dans 25 ml de chlorure de méthylène, en évitant que la température ne dépasse -40 °C. Après 30 minutes, le milieu réactionnel est versé avec grande précaution dans 1,5 litre d'une suspension aqueuse 3 M de Na_2CO_3 contenant 200 ml de chlorure de méthylène. Après décantation, la phase aqueuse est extraite par 100 ml de chlorure de méthylène. Les phases organiques sont regroupées, lavées par une solution saturée de NaCl, séchées sur $MgSO_4$ et évaporées.

25

30

L'analyse par CLHP analytique du résidu récupéré montre la présence de deux pics voisins intégrant au total pour 41% (21 et 20%) notés produit de l'Exemple 1a et produit de l'Exemple 1b dans les tableaux décrivant les spectres de RMN, correspondant aux deux diastéréoisomères en 20' de la 20'-chloro-4'-déoxyvinblastine.

35

La purification est effectuée par chromatographie sur colonne de silice, puis par CLHP préparative en phase inverse.

- 5 Les deux diastéréoisomères de la 20'-chloro-4'-déoxyvinblastine séparés sont salifiés sous forme de ditartrate par addition de deux équivalents (mole) d'acide tartrique dans l'eau, et lyophilisés.

$C_{46}H_{57}ClN_4O_8$, $2(C_4H_6O_6)$: 1129,62

Point de fusion : > 260 °C

- 10 IR (KBr) : 3448.17 1736.05 1615.36 1459.86 1372.51
1231.89 1121.18 1067.54 cm^{-1} .

Spectre de masse (D/CI NH_3) :

$MH^+ = 829.4$

15

Exemple 2 :

20'-chloro-4'-déoxyvinblastine 1.

($n = 2$, $R_1 = H$, $R_2 = Cl$)

20

Ce composé est obtenu en suivant le mode opératoire décrit à l'Exemple 1, en remplaçant la 3',4'-anhydrovinblastine 2 ($n = 2$, R_3 et R_4 formant une double liaison) par la vinblastine 2 ($n = 2$, $R_3 = OH$, $R_4 = H$).

- 25 Les caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques des produits isolés sont identiques à celles des composés obtenus à l'Exemple 1.

Exemple 3 :

- 30 20'-chloro-4'-déoxy-4'-fluorovinblastine 1.

($n = 2$, $R_1 = F$, $R_2 = Cl$)

- 35 Ce composé est isolé du mélange réactionnel obtenu à l'Exemple 1 ou à l'Exemple 2, à partir d'autres fractions moins polaires provenant de la chromatographie sur colonne de silice. La purification finale est effectuée par CLHP préparative en phase inverse.

La 20'-chloro-4'-déoxy-4'-fluorovinblastine est salifiée sous forme de ditartrate par addition de deux équivalents (mole) d'acide tartrique dans l'eau, et lyophilisée.

5 $C_{46}H_{56}ClFN_4O_8$, $2(C_4H_6O_6)$: 1147,61

Point de fusion : > 260 °C

IR (KBr) : 3470.13 2951.45 1735.92 1616.62 1458.44
1371.64 1228.52 1040.10 743.07 cm^{-1} .

10

Spectre de masse (D/CI NH_3) :

$MH^+ = 847.4$

Exemple 4 :

15 20'-chloro-3',4'-dihydrovinorelbine 1.

($n = 1$, $R_1 = H$, $R_2 = Cl$)

On dissout 900 mg (1,08 mmoles) de 20'-chloro-4'-déoxyvinblastine 1 ($n = 2$, $R_1 = H$, $R_2 = Cl$), isolée suivant l'**Exemple 1**, dans 5 ml de chlorure de méthylène, additionné de 95 μl (1,2 mmoles) d'acide trifluoroacétique, refroidi à -45 °C. On place le montage à l'abri de la lumière, et on ajoute en solution dans 2 ml de CH_2Cl_2 et 95 μl (1,2 mmoles) de TFA 193 mg (1,08 mmoles) de N-bromosuccinimide, et on laisse agiter pendant 30 minutes. Le mélange est alors neutralisé par addition de 5 ml d'une solution saturée de $NaHCO_3$, puis aussitôt d'une solution de 211 mg (1,08 mmoles) de tétrafluoroborate d'argent dans un mélange de 5 ml de tétrahydrofurane et 2 ml d'eau. On laisse revenir à température ambiante sous agitation magnétique pendant environ deux heures.

30 Après filtration, la phase organique est séparée, lavée par deux fois 10 ml d'eau, puis 10 ml d'une solution de NaCl saturé. Après séchage sur $MgSO_4$, la solution est évaporée et le résidu, est purifié par chromatographie sur colonne de silice, puis par CLHP préparative en phase inverse.

35 $C_{45}H_{55}ClN_4O_8$: 815,41

IR (KBr) : 3446 2950 1740.89 1459.16 1246.59
1200.65 1042 cm^{-1} .

Spectre de masse (D/CI NH₃) :

MH⁺ = 815.4

5

Exemple 5 :

20'-chloro-3',4'-dihydro-4'-fluorovinorelbine 1.

(n = 1, R₁ = F, R₂ = Cl)

10 Ce composé est obtenu en suivant le mode opératoire décrit à l'**Exemple 4**, en remplaçant la 20'-chloro-4'-déoxyvinblastine par la 20'-chloro-4'-déoxy-4'-fluorovinblastine 1 (n = 2, R₁ = F, R₂ = Cl). La 20'-chloro-3',4'-dihydro-4'-fluorovinorelbine est purifiée par chromatographie dans des conditions identiques.

15 C₄₅ H₅₄ Cl F N₄ O₈ : 833,40

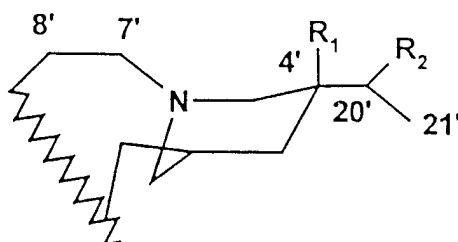
IR (KBr) : 3446.83 2950.98 1742.73 1617.73 1457.36
 1234.38 1042.23 996.50 742.15 cm⁻¹.

20 Spectre de masse (D/CI NH₃) :

MH⁺ = 833.5

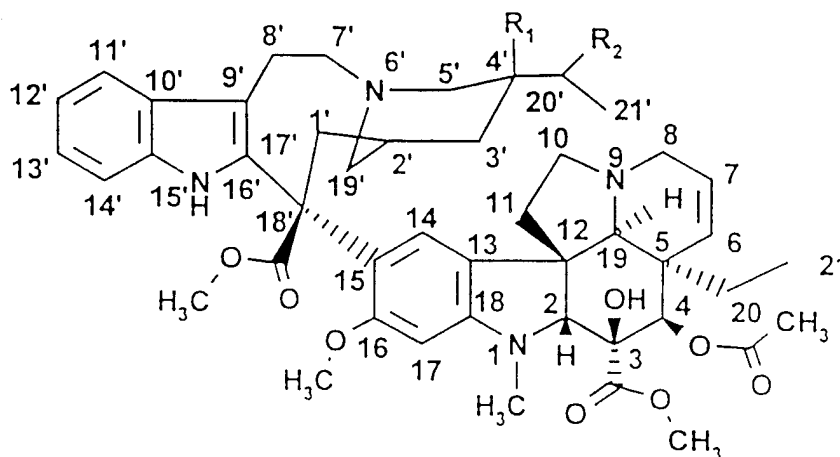
Les déplacements chimiques des protons caractéristiques des structures nouvelles préparées ci-dessus sont rassemblés dans le tableau suivant :

25



Atome d'hydrogène	Produit de l'Exemple			
	1a et 1b	3	4	5
H _{4'}	1,95 (m, 1H)	-	1,90 (m, 1H)	-
H _{7'}	3,1-3,3 (m, 2H)	3,1 (m, 1H)	4,32 (d, 1H)	4,38 (d, 1H)
		3,3 (m, 1H)	4,46 (d, 1H)	5,07 (d, 1H)
H _{8'}	3,1-3,25 (m, 2H)	3,05 (m, 1H)	-	-
		3,45 (m, 1H)		
H _{20'}	3,68 (m, 1H)	3,80 (m, 1H)	3,80 (m, 1H)	3,93 (m, 1H)
H _{21'}	1,50 (d, 3H)	1,44 (d, 3H)	1,50 (d, 3H)	1,57 (d, 3H)

La description des spectres de RMN ¹³C des produits nouveaux
5 obtenus suivant les exemples ci-dessus est détaillée dans le tableau suivant :



10

Numérotation des alcaloïdes de Vinca
(suivant les recommandations I.U.P.A.C.)

Exemple	1a	1b	3	4	5
Carbone n°					
1	N	N	N	N	N
2	83.348	83.348	82.72	83.5	83.26
3	79.71	79.71	79.01	80.07	79.74
4	76.496	76.466	75.78	76.78	76.46
5	42.69	42.69	42.04	42.95	42.66
6	130.04	130.01	129.41	130.31	130.08
7	124.583	124.583	123.89	124.94	124.54
8	50.27	50.209	49.64	50.75	50.49
9	N	N	N	N	N
10	50.27	50.209	49.64	50.55	50.38
11	44.6	44.63	44.03	44.8	44.48
12	53.332	53.332	52.63	53.55	53.23
13	122.673	122.733	122.07	123	122.64
14	123.431	123.461	122.87	123.37	123.17
15	121.066	121.036	120.48	120.2	120.84
16	158.086	158.056	157.52	158.3	158.12
17	94.142	94.142	93.63	94.19	94.01
18	152.75	152.719	152.07	153.01	152.65
19	65.369	65.399	64.83	65.64	65.45
20	30.835	30.835	30.17	31	30.71
21	8.368	8.399	7.72	8.42	8.1
22	38.415	38.385	37.76	38.65	38.45
23	171.669	171.669	171.06	171.95	171.69
24	52.271	52.271	51.57	52.51	52.23
25	55.849	55.849	55.29	56.04	55.49
26	170.941	170.941	170.13	171.22	170.88
27	21.193	21.193	20.45	21.45	21.15
1'	33.594	33.594	33	32.24	33.59
2'	30.016	30.077	28.56	29.67	29.71
3'	34.867	35.929	35.4	34.85	35.4
4'	38.779	39.355	92.52	31	95.92
5'	56.819	57.243	58.43	55	56.7
6'	N	N	N	N	N
7'	56.819	56.788	55.4	47.38	46.98
8'	28.986	29.076	27.69	Absent	Absent
9'	117.064	117.185	116.07	110.76	111.68
10'	129.252	129.282	128.72	129.09	128.7
11'	118.337	118.398	117.7	118.77	118.23
12'	118.883	118.913	118.2	120.1	119.56
13'	122.339	122.37	121.63	123.04	122.46
14'	110.575	110.545	109.9	110.76	110.52
15'	135.073	135.073	134.45	134.98	134.69
16'	N	N	N	N	N
17'	130.617	130.495	130.49	133.3	133.43
18'	55.454	55.424	54.95	55.04	55.77
19'	47.42	47.45	46.11	48.6	47.04
20'	62.155	62.428	60.7	62.7	61.24
21'	22.406	22.649	18.5	23.05	18.64
22'	174.883	174.883	174.17	175	175
23'	52.45	52.453	51.7	52.96	52.62

Caractéristiques de RMN ¹³C des composés préparés

Exemple 6 :

4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine.

5 Dans un réacteur en acier Asteloy de 6 litres, on prépare une solution de pentafluorure d'antimoine (750 g; 3,45 moles) dans 500 ml (25 moles) d'acide fluorhydrique anhydre que l'on refroidit à -45 °C. On y ajoute une solution de 107 g (0,12 mole) de dichlorhydrate de 3',4'-anhydrovinblastine dissous dans 250 ml de chloroforme en 30 minutes, en maintenant la température à -35 °C. On laisse sous agitation 30 minutes supplémentaires à cette température. On 10 introduit ensuite 200 ml d'acétone en 30 minutes à -30 °C, puis 150 ml d'eau en 15 minutes à -25 °C. En laissant remonter la température à 20 °C, on ajoute 900 ml de chlorure de méthylène puis 650 ml d'eau. Après décantation, la phase aqueuse est extraite par 100 ml de chlorure de méthylène. Les phases organiques sont regroupées, et neutralisées à température inférieure à 20 °C 15 par 600 ml de KOH à 10 %. Après décantation, la phase organique est agitée pendant une nuit en présence de 800 ml d'ammoniaque à 10% avant d'être lavée deux fois par 400 ml d'eau, séchée sur MgSO₄ puis évaporée.

20 La purification est effectuée par chromatographie sur colonne de silice éluee par un mélange toluène : acétone (65 : 35). Le résidu obtenu après évaporation est dissous dans 80 ml de chlorure de méthylène et précipité par addition de 350 ml d'éther isopropylique. Après filtration, on récupère 41 g (40%) de 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine.

25 Les caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques du composé isolé sont identiques à celles du produit obtenu suivant le procédé décrit dans le brevet FR 2 707 988 du 21.07.93 (WO 95/03312).

30 **Exemple 7 :**

4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine.

Dans un récipient en Téflon de 125 ml, on prépare une solution de pentafluorure d'antimoine (8,6 g; 40 mmoles) dans 7,2 ml (360 mmoles) 35 d'acide fluorhydrique anhydre que l'on refroidit à -45 °C. Sous agitation magnétique, on y ajoute successivement 0,94 ml (9 mmoles) de 2,2-dichloropropane, puis goutte-à-goutte une solution de 0,71 g (0,9 mmoles) de 3',4'-anhydrovinblastine 2 (n = 2, R₃ et R₄ formant une double liaison) dans

3,6 ml d'acide fluorhydrique, en évitant que la température ne dépasse -35 °C. Après 25 minutes, le milieu réactionnel est versé avec grande précaution dans 300 ml d'une solution aqueuse 3 M de Na₂CO₃. Après décantation, la phase aqueuse est extraite par 50 ml de chlorure de méthylène. Les phases
5 organiques sont regroupées, lavées par une solution saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄ et évaporées.

Le résidu contient 46% de 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine, identique au produit obtenu suivant le procédé décrit dans le brevet FR 2 707
10 988 du 21.07.93 (WO 95/03312).

Exemple 8 :

4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine
15

Ce composé est obtenu en suivant le mode opératoire décrit à l'**Exemple 7**, en remplaçant le 2,2-dichloropropane par le tétrabromure de carbone CBr₄ lors du traitement en milieu superacide.

20 Les caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques du composé isolé sont identiques à celles du produit obtenu suivant le procédé décrit dans le brevet FR 2 707 988 du 21.07.93 (WO 95/03312).

25 Exemple 9 :

4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine

Ce composé est obtenu en suivant le mode opératoire décrit à l'**Exemple 7**, en remplaçant le 2,2-dichloropropane par le tribromure de bore
30 BBr₃ lors du traitement en milieu superacide.

Les caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques du composé isolé sont identiques à celles du produit obtenu suivant le procédé décrit dans le brevet FR 2 707 988 du 21.07.93 (WO 95/03312).

35

Exemple 10 :

4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine

5 Ce composé est obtenu en suivant le mode opératoire décrit à l'**Exemple 7**, en remplaçant le 2,2-dichloropropane par le dibromométhane CH_2Br_2 lors du traitement en milieu superacide.

10 Les caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques du composé isolé sont identiques à celles du produit obtenu suivant le procédé décrit dans le brevet FR 2 707 988 du 21.07.93 (WO 95/03312).

Exemple 11 :

20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine (vinflunine).

15

On dissout 90 g (0,108 mole) de 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine dans 800 ml de chlorure de méthylène qu'on refroidit à -45°C , et auxquels on ajoute 10,4 ml (0,135 mole) d'acide trifluoroacétique. On place le montage à l'abri de la lumière, et on y verse durant environ 30 minutes une solution
20 composée de 19,3 g (0,108 mole) de N-bromosuccinimide dans un mélange de 200 ml de chlorure de méthylène et 10,4 ml (0,135 mole) d'acide trifluoroacétique, en veillant à ce que la température du milieu ne remonte pas au-dessus de -45°C .

25 Après 30 minutes, on neutralise le mélange par addition de 300 ml d'une solution à 10% de NaHCO_3 , puis aussitôt une solution de 23,4 g (0,12 mole) de tétrafluoroborate d'argent dans un mélange de 300 ml de tétrahydrofurane et 100 ml d'eau. On laisse revenir à température ambiante sous agitation pendant environ deux heures.

30

Après filtration, la phase organique est séparée, lavée par deux fois 150 ml d'eau. Après séchage sur MgSO_4 , la solution est évaporée et le résidu est dissous dans 500 ml de méthanol puis évaporé pour obtenir 97 g de résidu sec, contenant 88% de 20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine (vinflunine).

35

La purification est effectuée par CLHP préparative sur silice greffée C_{18} (granulométrie 15-25 μ), avec un éluant composé d'eau, d'acide acétique, d'acétate d'ammonium, de méthanol et d'acétonitrile. Les fractions purifiées

sont concentrées à moitié, amenées à pH = 7 et extraites deux fois par du toluène. La phase organique est lavée trois fois par de l'eau distillée, puis dosée par HPLC analytique.

- 5 La vinflunine, en solution dans le toluène, est extraite par une solution aqueuse contenant exactement deux équivalents (mole) d'acide tartrique. La phase aqueuse est ensuite lyophilisée pour obtenir le ditartrate de vinflunine.

- 10 Les caractéristiques physico-chimiques et spectroscopiques du composé isolé sont identiques à celles du produit obtenu suivant le procédé décrit dans le brevet FR 2 707 988 du 21.07.93 (WO 95/03312).

- 15 Comme les alcaloïdes antitumoraux du *Catharanthus roseus*, les composés préparés suivant l'invention sont des "poisons du fuseau mitotique".

- 20 Cette propriété a été confirmée par la mesure de l'inhibition de la polymérisation de la tubuline en microtubules en présence des composés de l'invention, en suivant la méthode décrite par R. C. Weisenberg (*Science* 177, 1196-7, 1972). Les résultats sont exprimés en IC₅₀, qui correspond à la concentration de composé qui provoque 50 % d'inhibition de la polymérisation. Ce phénomène est aisément suivi et quantifié par l'intermédiaire des variations de la densité optique.

- 25 A titre d'exemple, le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus avec deux dérivés préparés suivant l'invention :

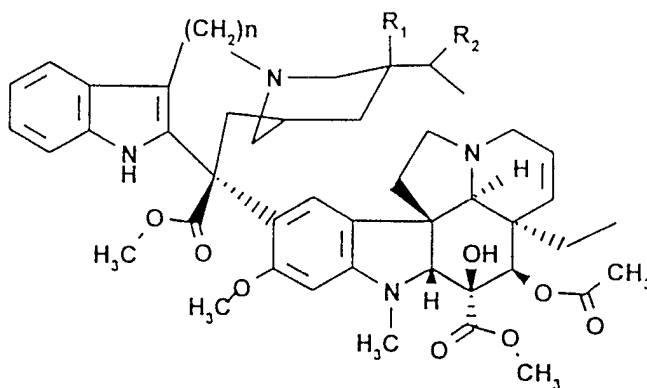
Produit	IC ₅₀ (μM)
Exemple 1	1.99
Exemple 3	1.54
Vinorelbine	1.70

- 30 Compte-tenu de cette propriété pharmacologique caractéristique des alcaloïdes de Vinca, les composés de la présente invention peuvent être utilisés en chimiothérapie anticancéreuse.

Les préparations pharmaceutiques contenant ces principes actifs peuvent être mises en forme pour l'administration par voie orale, intraveineuse ou sous-cutanée, de manière classique, bien connue de l'homme du métier.

REVENDICATIONS

1) Nouveaux dérivés antimitotiques des alcaloïdes de Vinca correspondant à la formule générale suivante :



1

dans laquelle :

$n = 1$ ou 2 ,

R_1 représente un atome d'hydrogène ou de fluor,

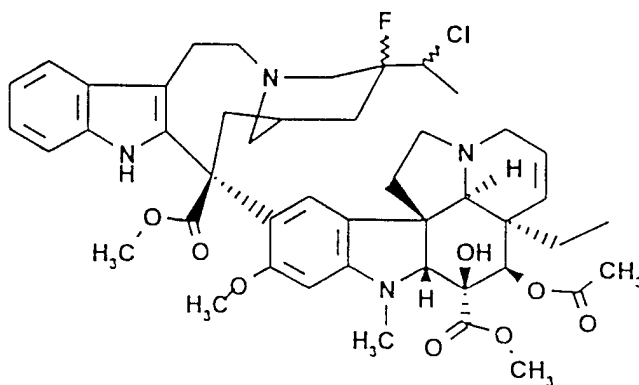
10 R_2 représente un atome de chlore,

ainsi que leurs sels avec des acides minéraux ou organiques thérapeutiquement acceptables, et les mélanges des diastéréoisomères correspondant aux configurations des carbones 4' et 20' des composés et leurs mélanges en toute proportion.

15

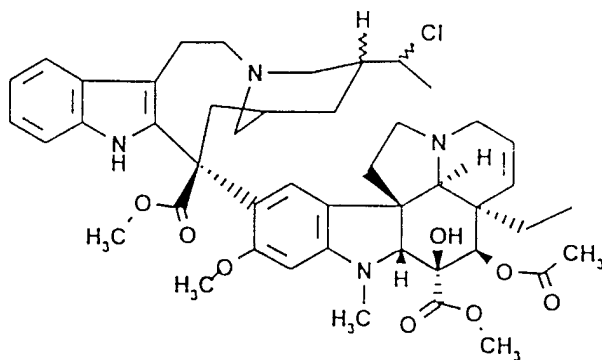
2) Composés de formule générale 1 selon la revendication 1, caractérisés par le fait qu'ils sont choisis parmi :

20'-chloro-4'-deoxy-4'-fluorovinblastine,

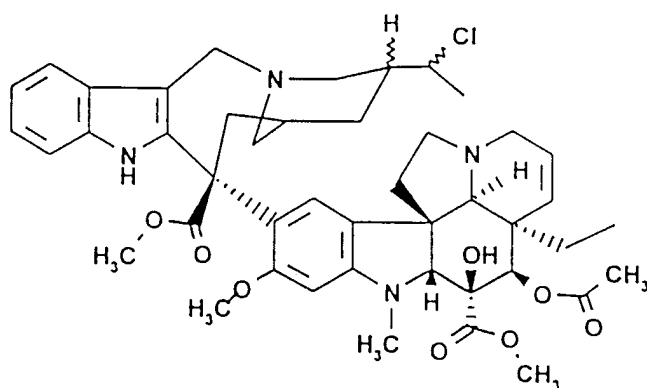


20

20'-chloro-4'-deoxyvinblastine:

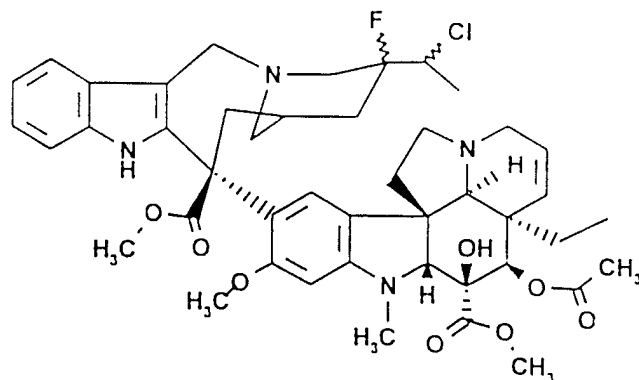


20'-chloro-3',4'-dihydrovinorelbine :



5

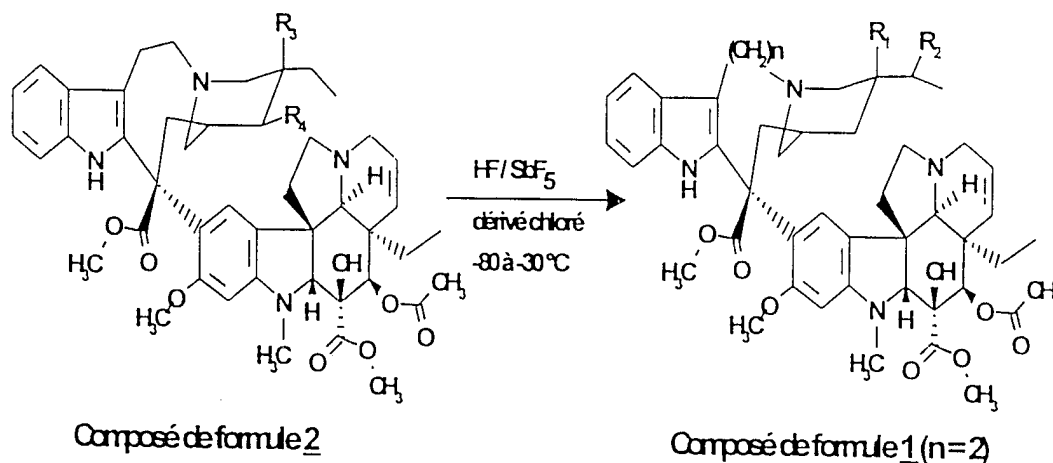
20'-chloro-3',4'-dihydro-4'-fluorovinorelbine :



10

- 3) Procédé de préparation des composés selon les revendications 1 et 2, caractérisé en ce que l'on fait réagir un composé de formule générale 2 en milieu superacide, provenant de l'association d'un acide de Bronsted comme l'acide fluorhydrique HF et d'un acide de Lewis comme le pentafluorure d'antimoine SbF₅, en présence d'un dérivé chloré générateur d'ions superélectrophiles selon le schéma :

15



4) Procédé de préparation de composés selon la revendication 3, caractérisé en ce que la réaction d'un composé de formule générale 2 en milieu superacide s'effectue à une température comprise entre -80 et -30 °C.

5) Procédé de préparation de composés selon la revendication 3, caractérisé en ce que le dérivé chloré générateur d'ions superélectrophiles est choisi parmi :

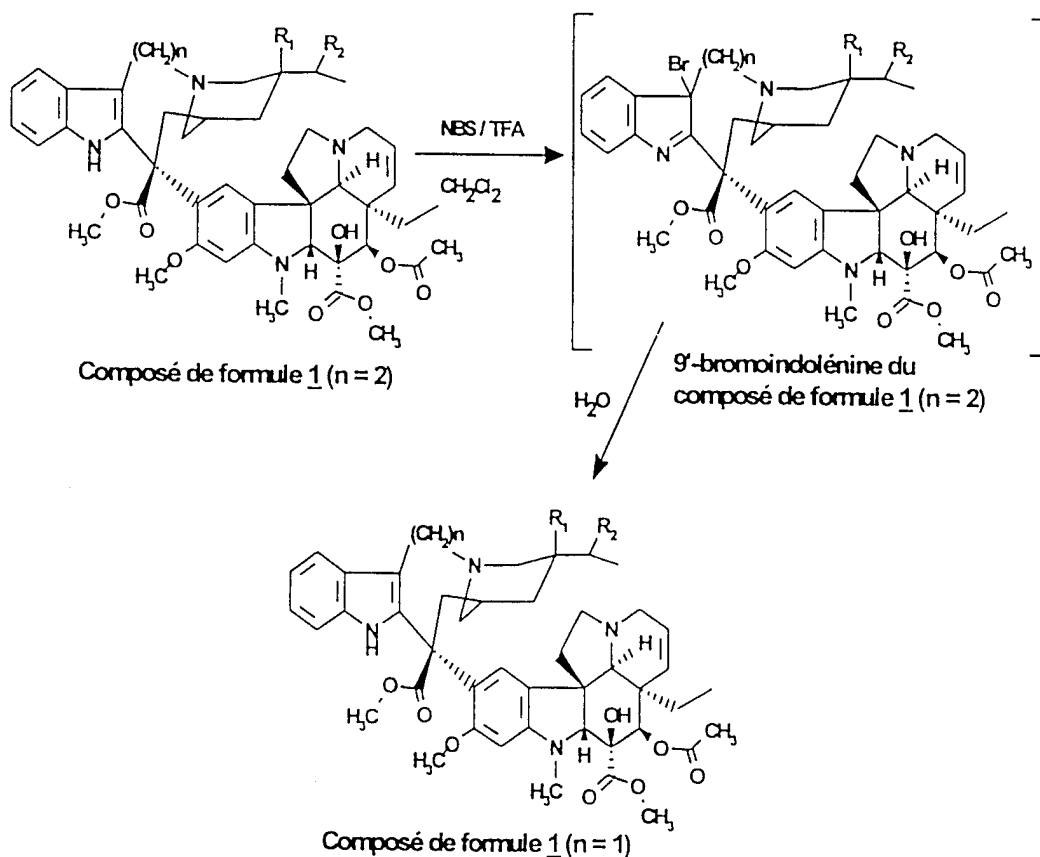
- le chlorure de méthylène,
- le chloroforme,
- le tétrachlorure de carbone,
- le 2,2-dichloropropane,

ou un mélange de ces dérivés en toutes proportions.

6) Procédé de préparation de composés selon les revendications 3 et 5, caractérisé en ce que le dérivé chloré générateur d'ions superélectrophiles utilisé pour obtenir les composés de formule générale 1 dans laquelle $n = 2$ est de préférence le chlorure de méthylène, le tétrachlorure de carbone, ou un mélange de ces dérivés en toutes proportions.

7) Procédé de préparation de composés selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on fait réagir un composé de formule générale 1 dans laquelle $n = 2$, R_1 et R_2 étant défini comme ci-dessus, avec agent halogénant comme la N-bromosuccinimide, dans un solvant chloré comme le chlorure de méthylène et en présence d'un acide comme l'acide trifluoroacétique à une température inférieure à -10 °C, conduisant à la 9'-bromoindolénine correspondante, intermédiaire non isolé.

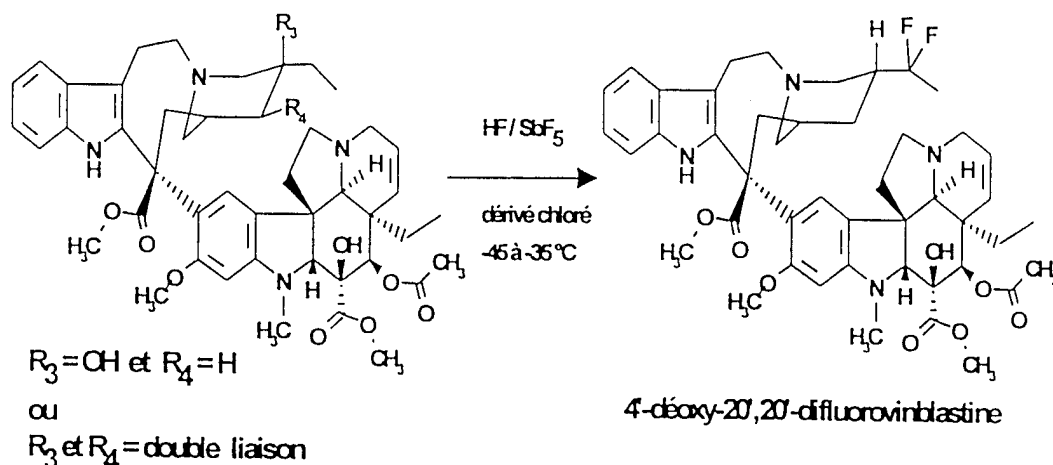
- 8) Procédé de préparation de composés selon la revendication 1 et 7, caractérisé en ce que l'on neutralise le mélange réactionnel contenant la 9'-bromoindolénine du composé de formule générale 1 dans laquelle $n = 2$ par un milieu basique, suivi d'une hydrolyse de préférence par un mélange [chlorure de méthylène : eau : tétrahydrofurane], en présence ou non de tétrafluoroborate d'argent à une température comprise entre -10°C et le reflux du solvant, pour obtenir le composé de formule générale 1 dans laquelle $n = 1$, selon le schéma suivant :



10

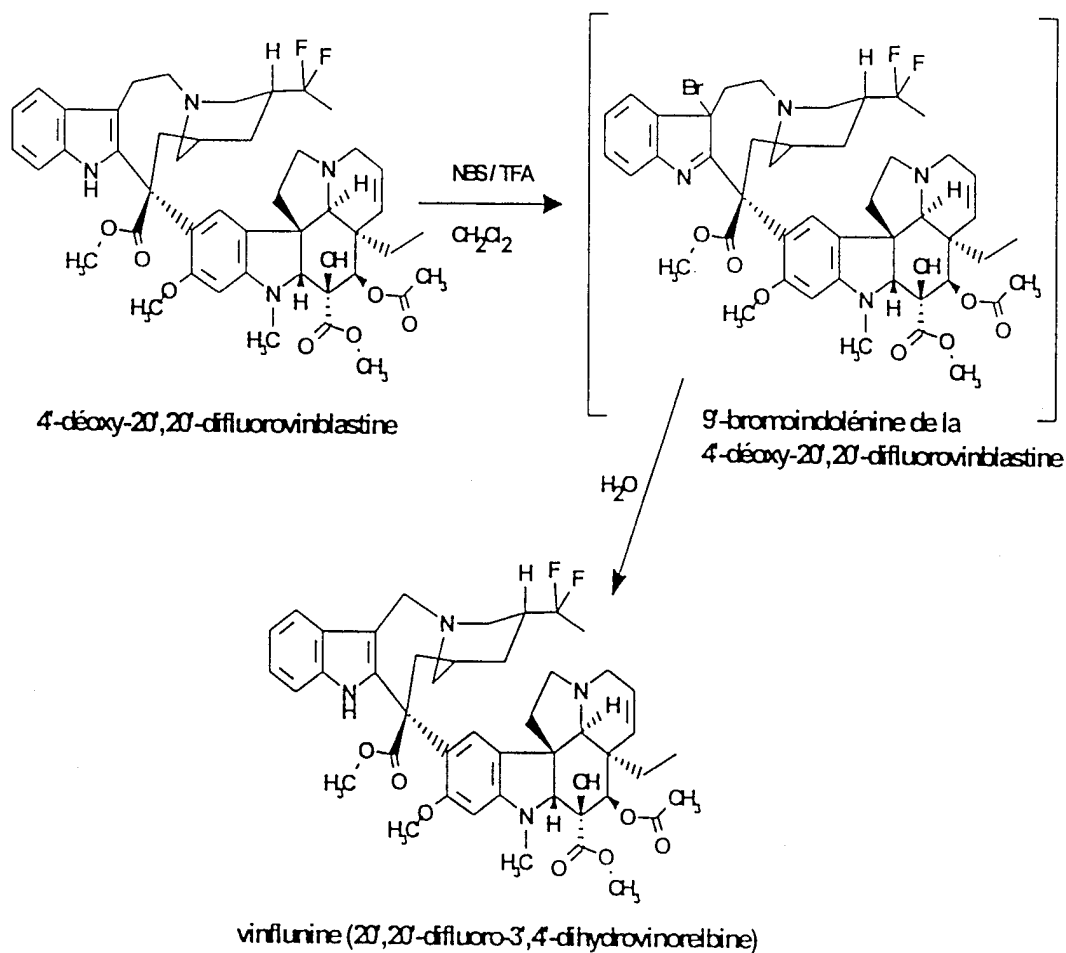
- 9) Procédé de préparation de la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine, caractérisé en ce que l'on fait réagir un composé de formule générale 2 en milieu superacide, provenant de l'association d'un acide de Bronsted comme l'acide fluorhydrique HF et d'un acide de Lewis comme le pentafluorure d'antimoine SbF_5 , en présence d'un dérivé chloré générateur d'ions superélectrophiles selon le schéma :

15



- 10) Procédé de préparation du composé selon la revendication 9, caractérisé en ce que la température du milieu réactionnel superacide est comprise entre -45 et -35 °C.
- 11) Procédé de préparation du composé selon la revendication 9, caractérisé en ce que le dérivé chloré générateur d'ions superélectrophiles est constitué de chloroforme ou de 2,2-dichloropropane, ou d'un mélange de dérivés chlorés contenant du chloroforme ou du 2,2-dichloropropane.
- 12) Procédé de préparation du composé selon la revendication 9, caractérisé en ce que le dérivé générateur d'ions superélectrophiles est constitué de tétrabromure de carbone CBr₄, de dibromométhane CH₂Br₂ ou de tribromure de bore BBr₃.
- 13) Procédé de préparation de la 20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine ou vinflunine, caractérisé en ce que l'on fait réagir la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine avec agent halogénant comme la N-bromosuccinimide, dans un solvant chloré comme le chlorure de méthylène et en présence d'un acide comme l'acide trifluoroacétique à une température inférieure à -10 °C, conduisant à la 9'-bromoindolénine de la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine correspondante, intermédiaire non isolé.
- 14) Procédé de préparation de la 20',20'-difluoro-3',4'-dihydrovinorelbine ou vinflunine selon la revendication 13, caractérisé en ce que l'on neutralise le mélange réactionnel contenant la 9'-bromoindolénine de la 4'-déoxy-20',20'-difluorovinblastine par un milieu basique, suivi d'une hydrolyse de préférence par un mélange [chlorure de méthylène : eau : tétrahydrofurane], en présence

ou non de tétrafluoroborate d'argent à une température comprise entre -10 °C et le reflux du solvant, selon le schéma suivant :



5

15) A titre de médicaments nouveaux utiles, par exemple en thérapeutique humaine dans le traitement de la pathologie cancéreuse, les composés définis selon l'une des revendications 1 et 2.

- 10 16) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient à titre de principe actif au moins un composé selon l'une des revendications 1 et 2, associé à un véhicule pharmaceutique acceptable.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/00730

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07D519/04 A61K31/395

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 707 988 A (PIERRE FABRE MEDICAMENT S.A.) 27 January 1995 cited in the application	1
X	the whole document	13, 14
P, X	--- JACQUES FAHY ET AL: "Vinca alkaloids in superacidic media: a method for creating a new family of antitumor derivatives." JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY., vol. 119, no. 36, - 10 September 1997 pages 8576-8577, XP002072890 DC US the whole document -----	1-5, 13, 14



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 July 1998

Date of mailing of the international search report

12/08/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Van Bijlen, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/00730

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2707988 A	27-01-1995	AT 146477 T	15-01-1997
		AU 693460 B	02-07-1998
		AU 7266694 A	20-02-1995
		CA 2167694 A	02-02-1995
		DE 69401216 D	30-01-1997
		DE 69401216 T	03-07-1997
		DK 710240 T	02-06-1997
		EP 0710240 A	08-05-1996
		ES 2097659 T	01-04-1997
		WO 9503312 A	02-02-1995
		GR 3022659 T	31-05-1997
		JP 9500634 T	21-01-1997
		US 5620985 A	15-04-1997

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der le Internationale No

PCT/FR 98/00730

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 C07D519/04 A61K31/395

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C07D A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FR 2 707 988 A (PIERRE FABRE MEDICAMENT S.A.) 27 janvier 1995 cité dans la demande	1
X	* document complet *	13, 14
P, X	JACQUES FAHY ET AL: "Vinca alkaloids in superacidic media: a method for creating a new family of antitumor derivatives." JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY., vol. 119, no. 36, - 10 septembre 1997 pages 8576-8577, XP002072890 DC US * document complet *	1-5, 13, 14



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

28 juillet 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

12/08/1998

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Van Bijlen, H

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De la Recherche Internationale No

PCT/FR 98/00730

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2707988 A	27-01-1995	AT 146477 T	15-01-1997
		AU 693460 B	02-07-1998
		AU 7266694 A	20-02-1995
		CA 2167694 A	02-02-1995
		DE 69401216 D	30-01-1997
		DE 69401216 T	03-07-1997
		DK 710240 T	02-06-1997
		EP 0710240 A	08-05-1996
		ES 2097659 T	01-04-1997
		WO 9503312 A	02-02-1995
		GR 3022659 T	31-05-1997
		JP 9500634 T	21-01-1997
		US 5620985 A	15-04-1997