



(12) **BREVET DE INVENȚIE**

**Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată
în termen de 6 luni de la data publicării**

(21) Nr. cerere: **97-01401**

(22) Data de depozit: **23.01.1996**

(30) Prioritate: **25.01.1995 FR 9500816;**

(41) Data publicării cererii:
BOPI nr.

(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
30.05.2000 BOPI nr. **5/2000**

(45) Data eliberării și publicării brevetului:
BOPI nr.

(61) Perfecționare la brevet:
Nr.

(62) Divizată din cererea:
Nr.

(86) Cerere internațională PCT:
Nr. **FR 96 / 00104 23.01.1996**

(87) Publicare internațională:
Nr. **WO 96/22984 01.08.1996**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
EP-A 0336840; 0400971

(71) Solicitant: **RHONE-POULENC RORER, ANTONY, FR;**

(73) Titular: **RHONE-POULENC RORER, ANTONY, FR;**

(72) Inventatori: **AUTHELIN JEAN RENE, SAINT GERMAIN LES ARPAJON, FR; DIDIER ERIC, PARIS, FR;**
LEVEILLER FRANCK, THIAIS, FR; TAILLEPIED ISABELLE, MAISONS ALFORT, FR;

(74) Mandatar: **CABINET ENPORA S.R.L. (AGENȚIE INTERNAȚIONALĂ DE BREVETE ȘI MĂRCI),**
BUCUREȘTI

(54) **DERIVAT DE TAXOL ȘI PROCEDEU PENTRU PREPARAREA
ACESTUIA**

(57) **Rezumat:** Invenția se referă la un derivat de taxol și anume, la trihidratul de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il, la

un procedeu pentru prepararea acestuia, prin cristalizare, pornind de la o soluție hidroalcolică, compus cu proprietăți anticanceroase și antileucemice, remarcabile.

Revendicări: 5
Figuri: 2

RO 115728 B1



Prezenta invenție se referă la un derivat de taxol și la un procedeu pentru prepararea acestuia, compus cu proprietăți anticanceroase și antileucemice remarcabile.

Derivatul de taxol, cunoscut, (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il, produs anhidru, sau paclitaxel, care prezintă proprietăți anticanceroase și antileucemice, poate fi separat plecând de la scoarta de tină, plecând de la baccatină III sau de la 10-desacetil-baccatină III (**EP 0336840, 0400971**).

Invenția de față lărgeste gama derivaților de taxol, cu un derivat care este trihidratul de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il.

Derivatul de taxol, conform invenției, se prepară prin cristalizarea (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatului de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il dintr-un amestec de apă și un alcool alifatic ce conține 1 până la 3 atomi de carbon, la un raport în greutate apă/alcool cuprins între 3/1 și 1/3, eventual, în prezența acidului ascorbic, apoi produsul obținut se usucă la o temperatură de până la 40°C și la presiune scăzută și se menține, eventual, într-o atmosferă cu umiditate relativă de peste 20%, produsul stabilizându-se la un conținut de apă de 6%.

Invenția prezintă avantaje, prin aceea, că, se obține un compus cu o stabilitate net superioară produsului anhidru.

Pentru realizarea procedurii, conform invenției, poate fi în particular mai avantajos: să se introducă (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il într-un alcool alifatic conținând 1...3 atomi de carbon, să se trateze soluția sau suspensia cu apă ce conține, eventual, o bază anorganică, cum ar fi, carbonat acid de sodiu, să se separe cristalele obținute, apoi să se usuce la presiune scăzută, apoi să se mențină, eventual, într-o atmosferă cu o umiditate relativă de peste 20% și la o temperatură, de aproximativ, de 25°C.

În general, (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il este dizolvat într-un exces de alcool alifatic, de preferință, metanol. De preferință, cantitatea de alcool este cuprinsă, între 6 și 12 părți, în greutate, raportate la (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il folosit.

În general, apa se adaugă, astfel, încât raportul în greutate apă/alcool să fie cuprins între 3/1 și 1/3. Apa adăugată poate conține până la 10% (greutate/volum) dintr-o bază minerală, cum ar fi, carbonatul acid de sodiu, astfel ca, pH-ul amestecului de reacție, înainte de separarea cristalelor, să fie mai mare sau egal cu 7, de preferință, cuprins între 7 și 8.

Trihidratul de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il care cristalizează, este separat, de preferință, prin filtrare sau centrifugare, iar, apoi este uscat. Uscarea se realizează la presiune redusă, cuprinsă între 1 și 7 kPa, la o temperatură de 40°C și produsul obținut este, eventual, menținut într-o atmosferă cu o umiditate relativă de peste 20% și o și o temperatură cuprinsă, între 0 și 60°C, de preferință, 25°C.

Pentru punerea în aplicare a procedurii, este avantajos să se efectueze cristalizarea în prezența acidului ascorbic, care se adaugă la dizolvarea sau la introducerea suspensiei de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -

benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il în alcool. Este posibil să se utilizeze până la 1%, în greutate, de acid ascorbic. 50

Trihidratul de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il a fost studiat prin analize termogravimetrice sau calorimetrice diferențiale și prin difracție cu raze X.

În special, analiza termogravimetrică arată o pierdere de masă de aproximativ 6% între 25 și 140°C, ce corespunde la 3 molecule de apă pentru o moleculă de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il. 55

Pentru punerea în aplicare a procedurii, conform invenției, dacă se utilizează paclitaxel semisintetic obținut prin procedeele cunoscute, care duc la obținerea ca intermediar a paclitaxelului cu grupări funcționale hidroxi protejate, este posibil să se lucreze direct cu soluția sau suspensia de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il după eliminarea grupelor protectoare a funcțiilor hidroxi din ciclul taxan și din catena laterală. Astfel, în condițiile prezentate, în **WO 94/07878** se obține ca intermediar (4S,5R)-3-benzoil-2-(4-metoxifenil)-4-fenil-1,3-oxazolidin-5-carboxilat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-7 β -trietilsililoxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il a cărui grupări protectoare pot fi eliminate cu acid trifluoroacetic în metanol. 60 65

Se dau, în continuare, exemple de realizare a procedurii conform invenției, în legătură și cu fig. 1 și 2, care reprezintă diagramele cu raze X ale produsului pulbere. 70

Exemplul 1. Într-un reactor ferit de lumină de introduc 5,014 g de (4S,5R)-3-benzoil-2-(4-metoxifenil)-4-fenil-1,3-oxazolidin-5-carboxilat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-7 β -trietilsililoxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il a cărui titru este de 98% (4,52 mmol) și 50 cm³ de metanol. Se adaugă rapid 7 cm³ de acid trifluoroacetic la suspensia albă, agitată. Temperatura crește la aproximativ 35°C. După răcire la o temperatură de aproximativ 5°C, se adaugă 110 cm³ de suspensie apoasă de carbonat acid de sodiu 6% (greutate/volum); pH-ul este egal cu 7. Cristalele se separă prin filtrare pe o frită de sticlă și se spală de 4 ori cu câte 15 cm³ de amestec metanol - apă (30 - 70 în vol.). După uscare sub presiune redusă, la 35°C, se obțin 3,676 g de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il cu titrul 93,1% și conținând 4,8% apă. 75 80

Produsul obținut este caracterizat prin diagrama cu raze X a produsului pulbere, reprezentată în fig. 1.

Randamentul produsului este de 89,3% raportat la esterul folosit. 85

Mentținând în condiții de umiditate relativă de peste 20%, produsul se stabilizează cu reținerea a 6% apă. Diagrama DPRX (diagrama cu raze X a pulberii), reprezentată în fig. 2, arată că produsul astfel obținut se prezintă sub forma unui trihidrat (valoarea teoretică a apei reținute în trihidratul (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il este de 5,95%). 90

Diagrama cu raze X a pulberii este realizată cu ajutorul unui aparat Philips PW 1700^R cu tub anticatod de cobalt ($\lambda K_{\alpha 1} = 1,7889\text{\AA}$), baleiajul fiind efectuat sub un unghi inițial de 5° 2 - θ , final de 40° 2 - θ , cu un pas de 0,02° 2 - θ , cu o secundă pe pas, folosind o pastilă de siliciu. 95

Exemplul 2. Într-un reactor ferit de lumină se introduc 3,006 g de (4S,5R)-3-benzoil-2-(4-metoxifenil)-4-fenil-1,3-oxazolidin-5-carboxilat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-7 β -trietilsililoxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il a cărui titru este de 98%

RO 115728 B1

- 100 (2,70 mmol) și 30 cm³ de metanol. La suspensia albă, agitată, se adaugă 6,3 cm³ de acid tri fluoroacetic 99%. După răcire, la o temperatură de 5°C se adaugă 7,5 cm³ de apă demineralizată, în 15 min. Se separă cristale prin filtrare pe o frită de sticlă și se spală de 3 ori cu 5 cm³ de amestec metanol - apă (80 - 20 vol.), la 5°C. După uscare, sub presiune redusă, la 35°C, se obțin, 1,989 g de (2R,3S)-3-benzoil-amino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il cu titrul 97,8%, conținând 6,8% apă. Randamentul este de 84,3% raportat la esterul folosit.
- 105

Revendicări

- 110 1. Derivat de taxol, **caracterizat prin aceea că** este trihidratul de (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il.
- 115 2. Procedeu pentru prepararea derivatului de taxol, definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că**, se cristalizează (2R,3S)-3-benzoilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatul de 4,10-diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1,7 β -dihidroxi-9-oxo-tax-11-en-13 α -il dintr-un amestec de apă și un alcool alifatic ce conține 1 până la 3 atomi de carbon, la un raport în greutate apă/alcool cuprins între 3/1 și 1/3, apoi produsul obținut se usucă, la o temperatură de până, la 40°C și la presiune scăzută și se menține, eventual, într-o atmosferă cu umiditate relativă de peste 20%, produsul stabilizându-se la un conținut de apă de 6%.
- 120 3. Procedeu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** alcoolul este metanol.
4. Procedeu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** cristalizarea se efectuează în prezența acidului ascorbic.
- 125 5. Procedeu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că**, se lucrează direct *in situ*, asupra esterului rezultat din esterificarea baccatinei III, a cărei grupare hidroxi din poziția 13 este protejată de un derivat de β -fenilizoserină, protejat după eliminarea grupărilor protectoare.

Președintele comisiei de examinare: **chim. Gruia Amelia**

Examinator: **ing. Marin Elena**

RO 115728 B1

(51) Int.Cl.⁷ C 07 D 305/14;
A 61 K 31/335;

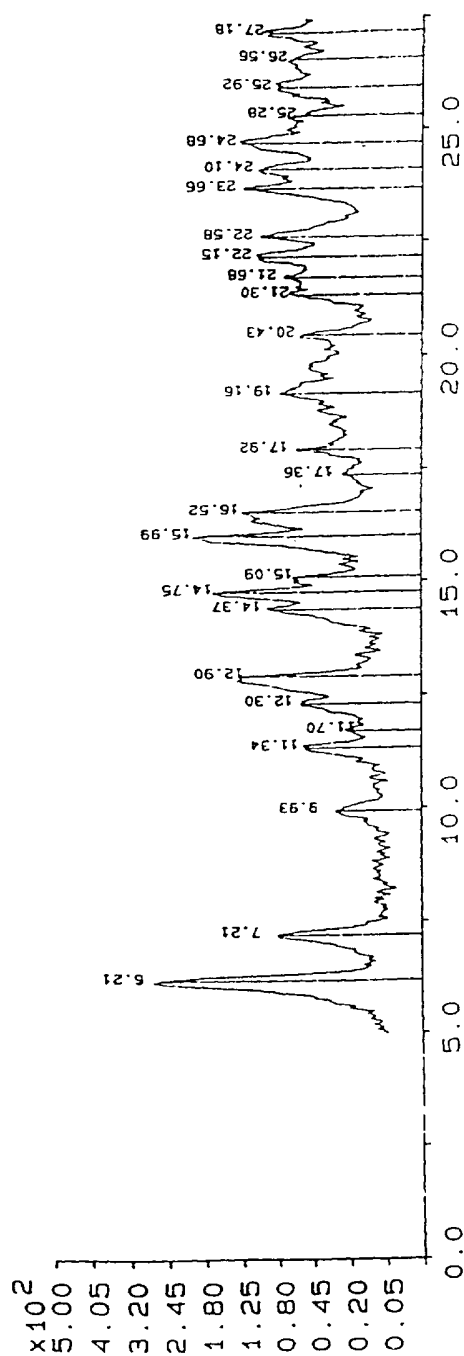


Fig. 1a

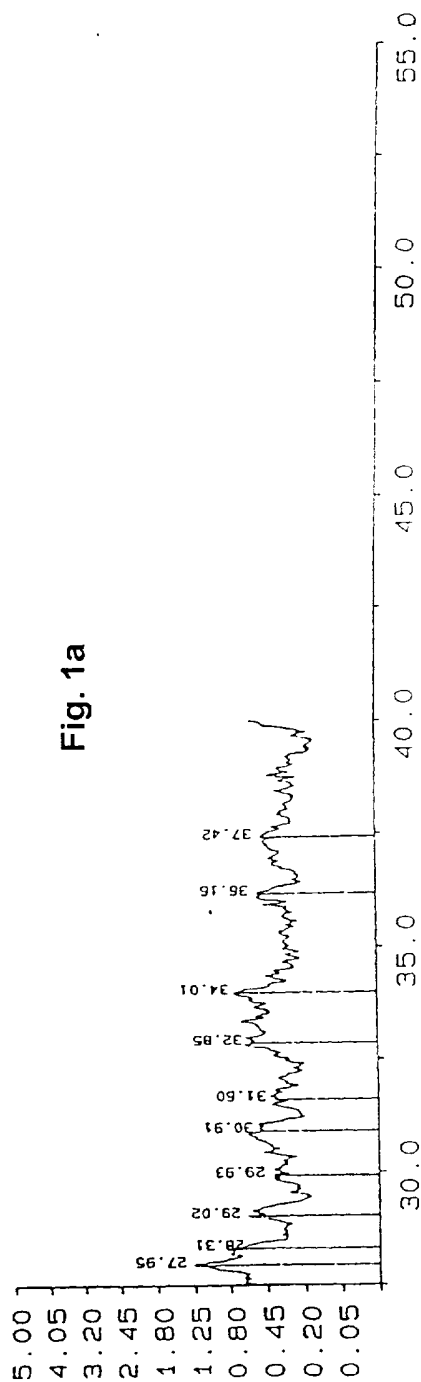


Fig. 1b

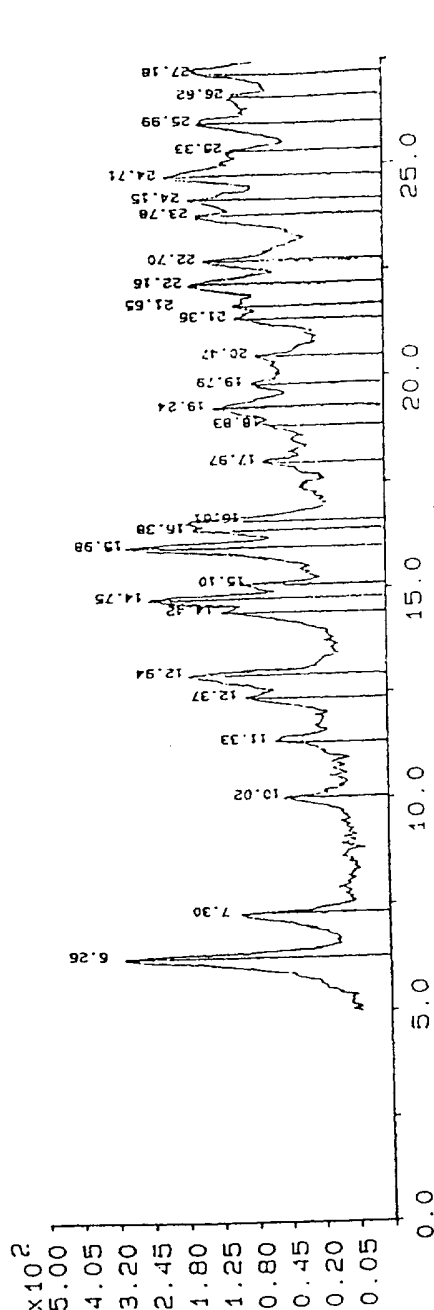


Fig. 2a

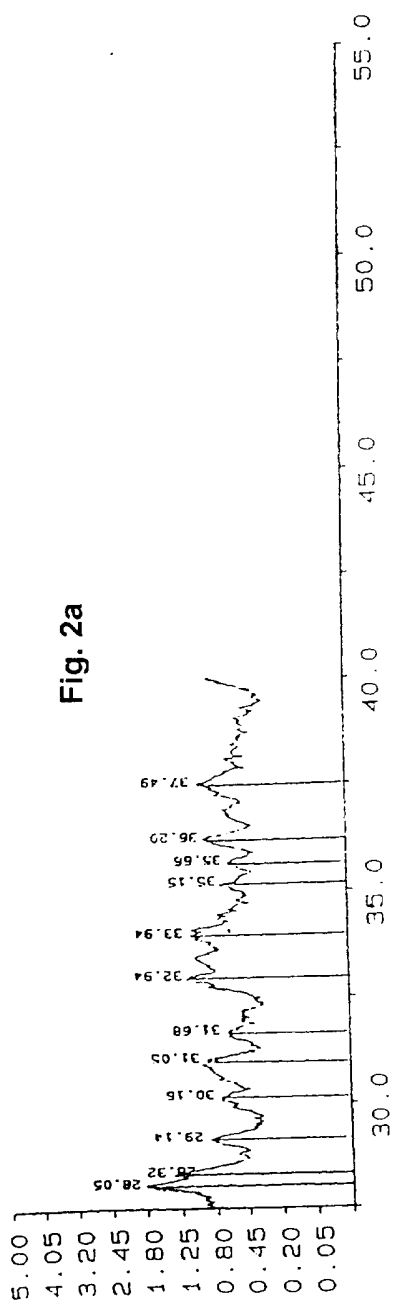


Fig. 2b