



(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: **98-01069**

(61) Perfecționare la brevet:
Nr.

(22) Data de depozit: **09.12.1996**

(62) Divizată din cererea:
Nr.

(30) Prioritate: **14.12.1995 FR 95 14841;**

(86) Cerere internațională PCT:
Nr. **FR 96 / 01957 09.12.1996**

(41) Data publicării cererii:
BOPI nr.

(87) Publicare internațională:
Nr. **WO 97/21695 19.06.1997**

(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
28.07.2000 BOPI nr. **7/2000**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
WO 94/13654

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

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

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

(72) Inventatori: **DIDIER ERIC, PARIS, FR; LAVIGNE MICHEL, CHILLY MAZARIN, FR; AUTHELIN JEAN
RENE, SAINT GERMAIN LES ARPAJON, FR;**

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

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

(57) **Rezumat:** Prezenta invenție se referă la un derivat de taxol și anume dihidrat de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclo-

propa[g]tax-11-en-13 α -il și la un procedeu pentru prepararea acestuia, compus cu proprietăți anticanceroase și antileucemice remarcabile.

Revendicări: 6

RO 115880 B1



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

Este cunoscut compusul (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il, anhidru, precum și prepararea acestuia (**WO 94/13654**).

Invenția de față lărgeste gama derivaților de taxol, cu un compus care este dihidratul de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il.

Derivatul de taxol, conform invenției, se prepară prin cristalizarea (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il sau prin recristalizarea hidratului său într-un amestec de apă și un alcool alifatic cu 1 până la 3 atomi de carbon sau într-un amestec de apă și cetonă cu 3 până la 4 atomi, după care produsul obținut se usucă sub presiune redusă și se menține, eventual, în condiții de umiditate relativă superioare sau egale cu 40% sau se usucă produsul direct în condiții de umiditate relativă superioare sau egale cu 40%.

Invenția prezintă avantaje prin aceea că se obține un compus cu o stabilitate net superioară față de produsul anhidru.

Pentru realizarea procedurii conform invenției poate fi avantajos, în special :

- aducerea în soluție a (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il sau hidratului său într-un alcool alifatic cu 1 până la 3 atomi de carbon sau într-o cetonă cu 3 până la 4 atomi de carbon,

- tratarea soluției cu apă,

- însămânțarea soluției cu dihidratul, apoi tratarea din nou cu apă,

- separarea cristalelor obținute, apoi

- uscarea acestora sub presiune redusă, apoi menținerea eventual într-o atmosferă a cărei umiditate relativă este superioară sau egală cu 40%, adică, de exemplu, pentru o umiditate relativă de 40%, o uscare sub o presiune reziduală de aproximativ 1,33 kPa pentru o temperatură de 25°C și sub o presiune reziduală de aproximativ 3,86 kPa pentru o temperatură de 45°C,

- sau uscarea lor direct într-o atmosferă a cărei umiditate relativă este superioară sau egală cu 40%, adică, de exemplu, pentru o umiditate relativă de 40%, o uscare sub o presiune reziduală de aproximativ 1,33 kPa pentru o temperatură de 25°C și sub o presiune reziduală de aproximativ 3,86 kPa pentru o temperatură de 45°C.

În general, (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatul de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il sau hidratul său este dizolvat într-un exces de alcool alifatic, de preferință, etanol sau un exces de cetonă, de preferință, acetone. De preferință, cantitatea de alcool sau de cetonă este cuprinsă între 4 și 16 părți în volum față (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatul de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il, în greutate, luat în lucru.

În general, apa este adăugată astfel încât raportul volumului final apă/alcool sau apă/cetonă să fie cuprins între 1/3 și 3/1.

Dihidratul de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il care cristalizează este separat, de preferință, prin filtrare sau centrifugare. Uscarea sau menținerea eventual într-o atmosferă a cărei umiditate relativă este superioară sau egală cu 40% este efectuată sub presiune redusă, cuprinsă, în general, între 0,5 și 30 kPa, de preferință, aproape 5kPa, la o temperatură cuprinsă între 10 și 70°C, de preferință, în jur de 40°C.

50

Pentru aplicarea procedeului, conform invenției, se poate acționa direct în soluția etanolică de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il obținut, după deprotejarea în mediu acid a (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-(4-metoxifenil)-4-feniloxazolidin-5-carboxilatului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il.

55

Se dau în continuare mai multe exemple de realizare a procedeului conform invenției.

60

Exemplul 1. Se introduc într-un balon tricol 2 g de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il brut și 20 cm³ etanol absolut. La soluția agitată la 50°C, se adaugă, în timp de 45 min, aproape 20 cm³ apă, apoi suspensia obținută este răcită la o temperatură în jur de 20°C. După filtrare, produsul se spală pe filtru cu 20 cm³ dintr-un amestec etanol absolut - apă (1/1 în volume), apoi produsul se usucă la 40°C sub presiune redusă (5,3 kPa). Se obțin dihidrat de 1,64 g (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il, care conține 3,8 % apă prin ATG (valoare teoretică a conținutului de apă a dihidratului de 4,15%). Randamentul obținut este de aproape 80%, diagrama DPRX (diagrama pulberii în raze X) arată că produsul astfel obținut prezintă caracteristicile dihidratului.

65

70

Diagrama pulberii în raze X este realizată cu ajutorul unui Philips PW 1700 ® la tub anticatod de cobalt ($\lambda K_{\alpha 1} = 1,7889 \text{ \AA}$), baleiajul fiind efectuat sub un unghi de baleiaj de 5° 2 $\ominus$, cu un pas de 0,02° 2 $\ominus$, pe baza unui pas de 1 sec și utilizând o pastilă de siliciu.

75

Analiza termogravimetrică (ATG) este efectuată cu ajutorul unei termobalanțe Perkin-Elmer TGA 7® la o temperatură inițială de 25°C și la o temperatură finală de 300°C, cu un gradient de temperatură de 10°C per minut.

80

Exemplul 2. Într-un reactor purjat cu azot, se introduc 515 g de dihidrat de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il brut și 4 l de etanol absolut. Se încălzește suspensia la 35...40°C până la dizolvare și reactorul este pus sub o presiune redusă de 8 kPa. Se distilează aproximativ 8 l de solvent la volum constant, alimentând continuu reactorul cu etanol (8 l). După repunerea reactorului la presiunea atmosferică, soluția se clarifică prin trecerea pe un filtru echipat cu o pânză filtrantă de 0,45 μm . După clătirea filtrului cu 1 l de etanol absolut, se adaugă în timp de 1 h, la 40°C, pentru întreaga soluție aproximativ 1,8 l de apă. După amorsare cu 8 g dihidrat de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-

85

90

19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il, amestecul se răcește la o temperatură apropiată de 20°C, timp de 15 h. Așadar, suspensia se încălzește la 40°C, apoi se adaugă, în timp de 4 h, 1,66 l de apă. Amestecul se răcește la o temperatură apropiată de 20°C și se lasă sub agitare, timp de 17 h.

Suspensia se filtrează pe frită de sticle și produsul zvântat se spală cu 1,25 l dintr-un amestec alcool - apă (50/50 în volume). Produsul se usucă într-o etuvă la 35°C sub 5,3 kPa timp de 72 h, în prezența unei rezerve de apă, apoi la 35°C sub 2,7 kPa timp de 8 h, fără rezervă de apă, și din nou la 35°C sub 5,3 kPa, timp de 16 h, în prezența unei rezerve de apă. Se obțin astfel 491 g de dihidrat de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il cu conținut de 4,0% apă (Karl Fischer). Diagrama DPRX (diagrama pulberii în raze X) arată că produsul astfel obținut se prezintă sub forma unui hidrat (valoarea teoretică a conținutului în apă a (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat dihidratului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il de 4,15%).

Diagrama pulberii în raze X s-a realizat în condițiile descrise în exemplul 1.

Exemplul 3. Intr-un balon tricol, se introduc 2 g de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il brut și 20 cm³ de acetonă. La soluția care este agitată la o temperatură apropiată de 20°C, se adaugă, în timp de 35 min, aproximativ 20 cm³ de apă. Suspensia obținută se agită timp de aproximativ 15 min. După filtrare, produsul se spală de două ori pe filtru cu 20 cm³ dintr-un amestec de acetonă - apă (1/1 în volume), apoi produsul se usucă la 40°C sub presiune redusă (5,3 kPa). Se obțin astfel 1,28 g de dihidrat de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il. Randamentul obținut este de aproximativ 75%. Diagrama DPRX (diagrama pulberii în raze X) arată că produsul astfel obținut se prezintă sub forma unui hidrat.

Diagrama pulberii în raze X s-a realizat în condițiile descrise în exemplul 1.

Exemplul 4. Intr-un reactor purjat cu azot, se introduc 120 g de (2R,4S,5R)-3-*tert*-butoxicarbonil-2-(4-metoxifenil)-4-feniloxazolidin-5-carboxilat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il și 1,08 l de acetat de etil. Suspensia se agită la o temperatură apropiată de 20°C, apoi se introduc 3,25 cm³ dintr-o soluție de acid clorhidric de 36% în 17,6 cm³ de apă. După menținere timp de 3 h și 30 min, se încarcă în reactor o soluție de 3,5 g carbonat acid de sodiu în 350 cm³ de apă și se agită timp de 15 min. După decantarea și scurgerea fazei apoase, se spală de două ori succesiv cu 350 cm³ de apă. Faza organică se concentrează sub presiune redusă, la aproximativ 25°C până la un volum rezidual de 350 cm³, apoi se introduc 350 cm³ de etanol absolut. Distilarea sub presiune redusă se realizează la aproximativ 30°C până la epuizarea acetatului de etil, alimentând cu 1,5 l de etanol absolut. Soluția se încălzește la 40°C, apoi se adaugă în 15 min 470 cm³ de apă. Soluția se însămânțează cu o suspensie de 1 g de dihidrat de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,2O-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il într-un amestec de 40 cm³ de apă și 40 cm³ de etanol absolut. După menținere timp de 15 h la

RO 115880 B1

aproximativ 40°C, se adaugă, în timp de 4...5 h, o cantitate de 410 cm³ de apă, apoi se răcește la 20°C. După filtrarea și spălarea produsului pe filtru, produsul se usucă timp de 15 h sub presiune redusă (2,7 kPa) la 25°C, apoi timp de 24 h la 35°C. Se obțin astfel 102 g de dihidrat de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10β-diacetoxi-2α-benzoiloxi-5β,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13α-il, conținând 4,3% apă (Karl Fischer), cu un randament de aproximativ 93%. Diagrama DPRX (diagrama pulberii în raze X) arată că produsul astfel obținut se prezintă sub forma unui hidrat.

Diagrama pulberii în raze X s-a realizat în condițiile descrise în exemplul 1.

Dihidratul de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10β-diacetoxi-2α-benzoiloxi-5β,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13α-il a fost studiat prin izoterma activității în apă a produsului. Astfel, probe de (2R,3S)-3-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10β-diacetoxi-2α-benzoiloxi-5β,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13α-il dihidrat deshidratate, după dorință, prin uscare prelungită, s-au menținut în atmosferă cu umiditate relativă (HR) controlată la 25°C. Conținuturile de apă, determinate prin ATG, arată că produsele se stabilizează la conținuturi aproape de 4% (între 3 și 5%), atunci când umiditatea relativă este superioară sau egală cu 40% [conținutul în apă teoretic de 4,15% pentru un dihidrat].

Izoterma activității în apă la 25°C

Condiții de uscare inițiale	Forma inițială prin DX	ATG inițială	HR%	Timp de ședere	Pierdere prin ATG	Formă prin DX
20°C, 48 h 1,3 kPa	Dihidrat	1,6%/32 la 71°C stabilitate ponderală de la 71 la 200°C	0	18 zile 31 zile	0,8%/34 la 170°C 0,99%/33 la 55°C	Dihidrat Dihidrat
			5	55 zile	1,69%/32 la 63°C	Dihidrat
			11	55 zile	1,17%/33 la 65 °C	Dihidrat
			20	19 zile 31 zile	1,96%/33 la 68°C 2,06%/34 la 61°C	Dihidrat Dihidrat
			42	19 zile 31 zile	3,77%/33 la 65°C 4,07%/34 la 60°C	Dihidrat
			58	19 zile 31 zile	3,30%/34 la 63°C 3,59%/34 la 65°C	Dihidrat
			80	19 zile 31 zile	3,98%/34 la 63°C 4,22%/34 la 65°C	Dihidrat
			98	19 zile 31 zile	4,61%/34 la 68°C 4,63%/34 la 65°C	Dihidrat
			0	35 zile	0,85%/31 la 60°C	Dihidrat
			11	37 zile	0,90%/31 la 60°C	Dihidrat
			20	35 zile	0,95%/32 la 54°C	Dihidrat
			42	35 zile	3,51%/32 la 60°C	Dihidrat
			58	35 zile	2,35%/32 la 60°C	Dihidrat
			80	35 zile	3,75%/32 la 70°C	Dihidrat
			98	37 zile	3,97%/32 la 60°C	Dihidrat

Revendicări

185

1. Derivat de taxol, **caracterizat prin aceea că** este dihidrat de (2R,3S)-3-*terț*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionat de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il.

190

2. Procedeu pentru prepararea derivatului de taxol definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** se cristalizează (2R,3S)-3-*terț*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatul de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il sau hidratul său într-un amestec de apă și un alcool alifatic cu 1 până la 3 atomi de carbon sau într-un amestec de apă și o cetonă cu 3 până la 4 atomi de carbon, după care produsul obținut se usucă sub presiune redusă și se menține, eventual, în condiții de umiditate relativă superioare sau egale cu 40% sau se usucă produsul direct în condiții de umiditate relativă superioare sau egale cu 40%.

195

3. Procedeu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** raportul volumetric final apă/alcool și apă/cetonă este cuprins între 3/1 și 1/3.

200

4. Procedeu, conform revendicărilor 2 sau 3, **caracterizat prin aceea că**, alcoolul este etanol și cetona este acetonă.

5. Procedeu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** uscarea sau menținerea eventual sub o umiditate relativă superioară sau egală cu 40% este efectuată la o temperatură care nu depășește 40°C, sub o presiune care nu depășește 5 kPa și produsul se stabilizează în aceste condiții, între 3 și 5% apă.

205

6. Procedeu, conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** se realizează direct, plecând de la soluția etanolică a (2R,3S)-3-*terț*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-3-fenilpropionatului de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il, obținut prin deprotejarea în mediu acid a esterului (2R,4S,5R)-3-*terț*-butoxicarbonil-2-(4-metoxifenil)-4-feniloxazolidin-5-carboxilatul de 4,10 β -diacetoxi-2 α -benzoiloxi-5 β ,20-epoxi-1-hidroxi-9-oxo-19-nor-ciclopropa[g]tax-11-en-13 α -il.

210

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

Examinator : **ing. Marin Elena**

