

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(11) **PI9807944-1 B1**

(22) Data de Depósito: 10/04/1998
(45) Data da Concessão: 08/02/2011
(RPI 2092)



* B R P I 9 8 0 7 9 4 4 B 1 *

(51) *Int.Cl.:*
C07D 519/04
A61K 31/395

(54) Título: **DERIVADOS ANTIMITÓTICOS DOS ALCALÓIDES DA VINCA, PROCESSO PARA PREPARAR OS MESMOS E USO DOS DERIVADOS.**

(30) Prioridade Unionista: 10/04/1997 FR 97/04398

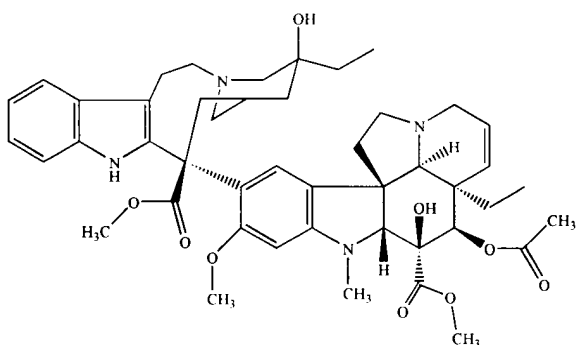
(73) Titular(es): Pierre Fabre Medicament

(72) Inventor(es): Alain Duflos, Bridget Hill, Jacques Fahy, Jean-Marc Barret, Valérie Thillaye du Boulay

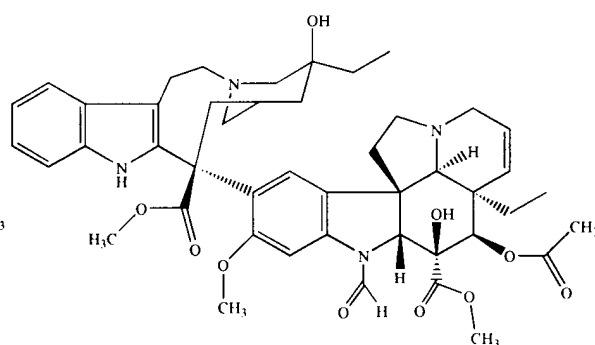
"DERIVADOS ANTIMITÓTICOS DOS ALCALÓIDES DA VINCA, PROCESSO PARA PREPARAR OS MESMOS E USO DOS DERIVADOS".

Os alcalóides diméricos do *Catharanthus roseus* e seus derivados, comumente aludido como alcalóides Vinca, têm sido amplamente usados na quimioterapia contra o câncer, por cerca de 30 anos. São representados por quatro produtos:

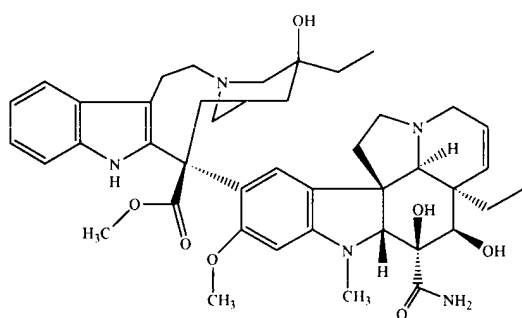
- dois compostos naturais: vinblastina e vincristina,
- dois produtos semi sintéticos: vindessina, obtida da vinblastina e vinorelbina, sintetizada a partir dos precursores alcalóides monoméricos, catarantina e vindolina.



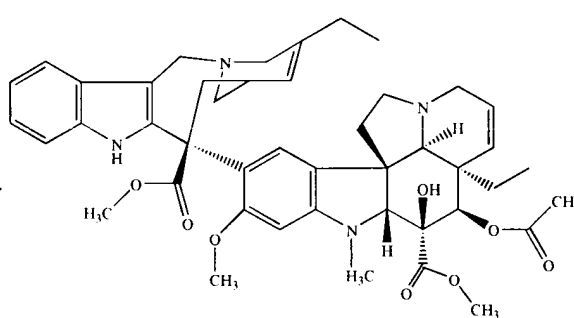
VINBLASTINA



VINCRISTINA



VINDESINA



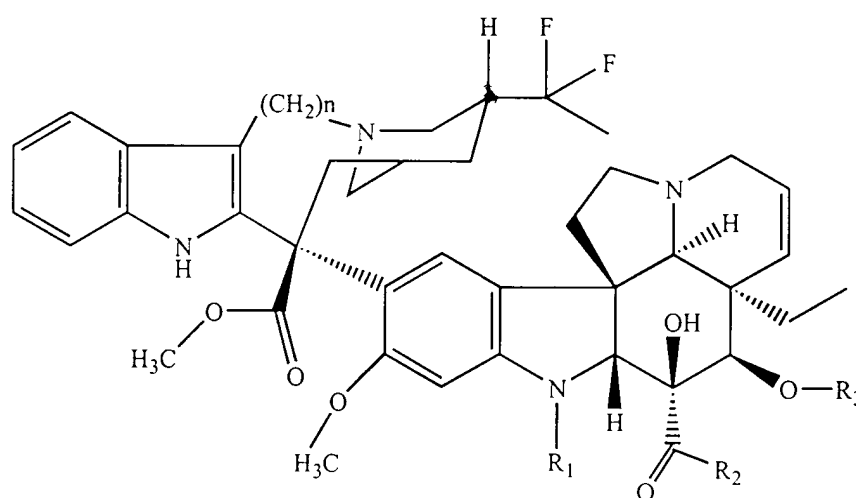
VINORELBINA

Estruturas dos alcalóides da vinca usados em quimioterapia

No contexto de nossa pesquisa os estudos direcionados para a

obtenção de derivados desta família que poderiam conduzir a aplicações na quimioterapia contra o câncer, adotamos um método original, que consiste em usar a excepcional reatividade do meio super ácido, que é capaz de induzir profundas mudanças nestas moléculas altamente funcionalizadas.

5 Temos assim anteriormente preparado uma série de compostos difluorados na posição 20', que tem sido até agora inacessível pelos métodos sintéticos padrão (Patente FR 2.707.988 de 21.07.93, WO 95/03312), e cujas propriedades farmacológicas são particularmente vantajosas.

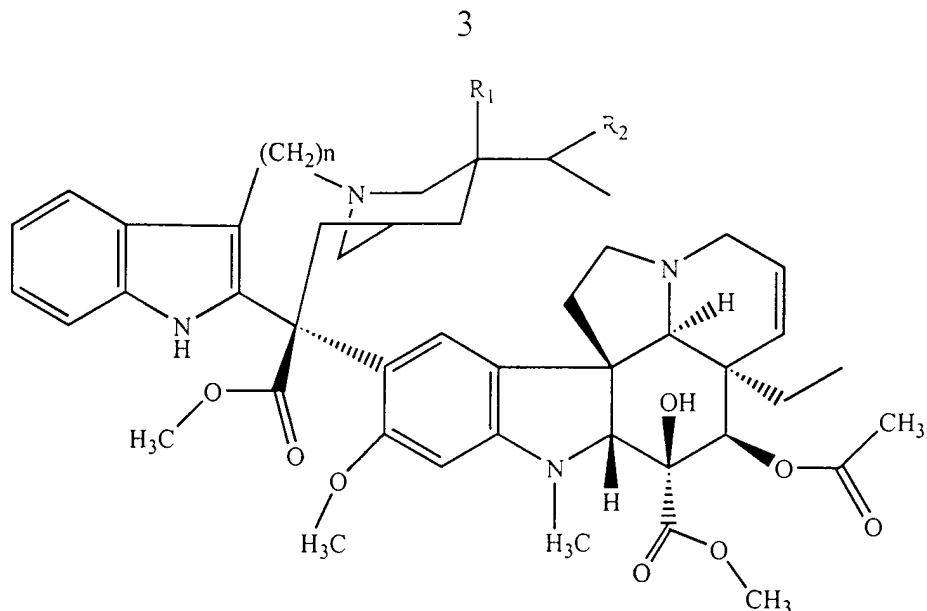


Fórmula geral dos compostos descritos na Patente FR 2.707.988.

10 A aplicação desta química incomum para moléculas complexas deste tipo nos permitiu preparar uma família de compostos halogenados, que também são inacessíveis pela química padrão.

O tema da presente invenção, realizado no Pierre Fabre Research Center, é, derivados dos alcalóides da Vinca, um método para sua
15 preparação e sua aplicação terapêutica.

Os compostos da invenção têm a fórmula geral 1, representada esquematicamente abaixo:



Fórmula geral 1

em que:

$n = 1$ ou 2 ,

R_1 representa um átomo de hidrogênio ou de flúor,

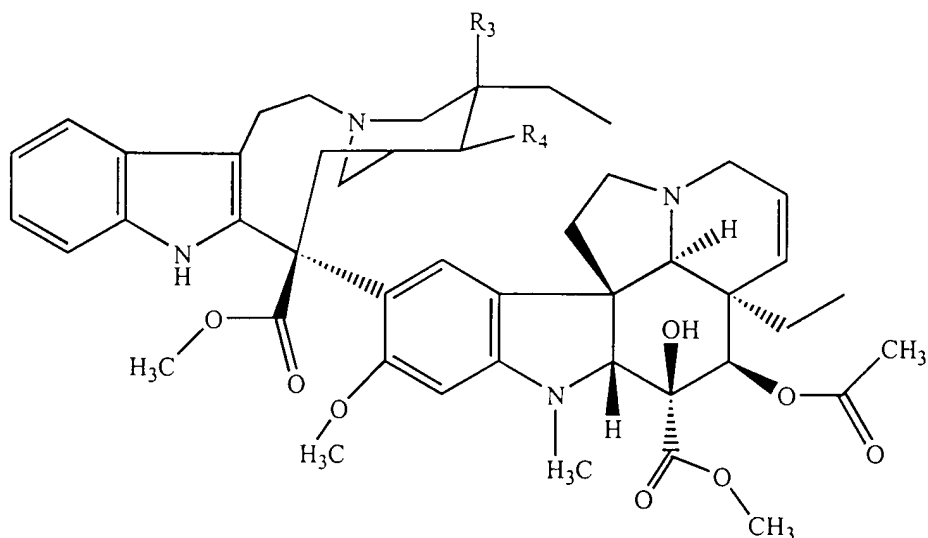
R_2 representa um átomo de cloro.

5 A invenção também diz respeito aos sais dos compostos da fórmula geral 1 com ácidos inorgânicos ou orgânicos, farmacologicamente aceitáveis. O ácido usado pode ser, por via de exemplo não limitante, ácido sulfúrico ou ácido tartárico.

10 A invenção diz respeito tanto aos isômeros que correspondem à configuração R quanto à configuração S dos carbonos 4' e 20' dos compostos da fórmula geral 1, e suas misturas em qualquer proporção.

Os derivados da invenção são preparados pela reação de um composto da fórmula geral 2 em meio super ácido, obtido misturando-se um ácido forte de Bronsted tal como o ácido fluorídrico e um ácido forte de Lewis tal como pentafluoreto de antimônio, na presença de um reagente que gere espécies do tipo super eletrofílico, de acordo com a terminologia proposta por G. Olah (Ang. Chem. Int. Ed. Engl., 32, 767 a 788, 1993). Este reagente pode consistir de um derivado de cloro tal como cloreto de metileno, clorofórmio, tetracloreto de carbono, 2,2-dicloropropano ou uma mistura
 15
 20 destes derivados em todas as proporções.

A estrutura dos compostos da fórmula 2 é descrita abaixo:



Compostos da fórmula geral 2

em que:

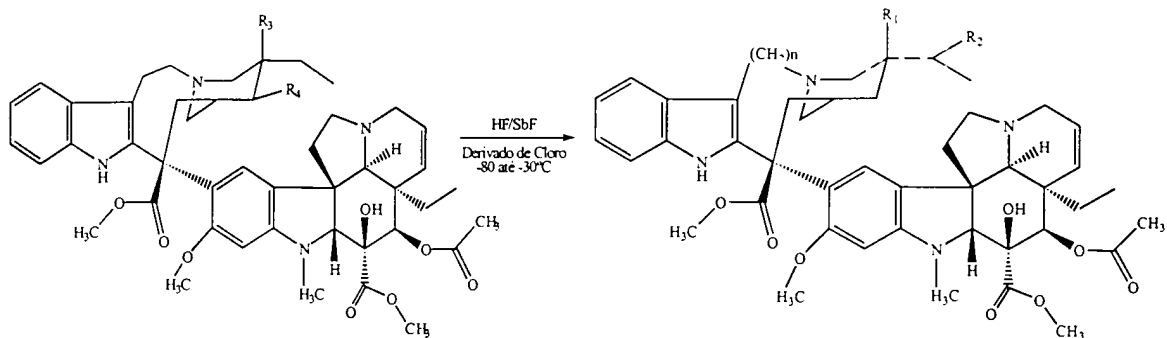
R_3 representa um grupo hidroxila e R_4 representa um átomo de hidrogênio, no caso em que o composto 2 corresponde à vinblastina,

5 ou alternativamente:

R_3 e R_4 formam uma ligação dupla, no caso em que o composto da fórmula 2 corresponde à 3',4'-anidrovinblastina.

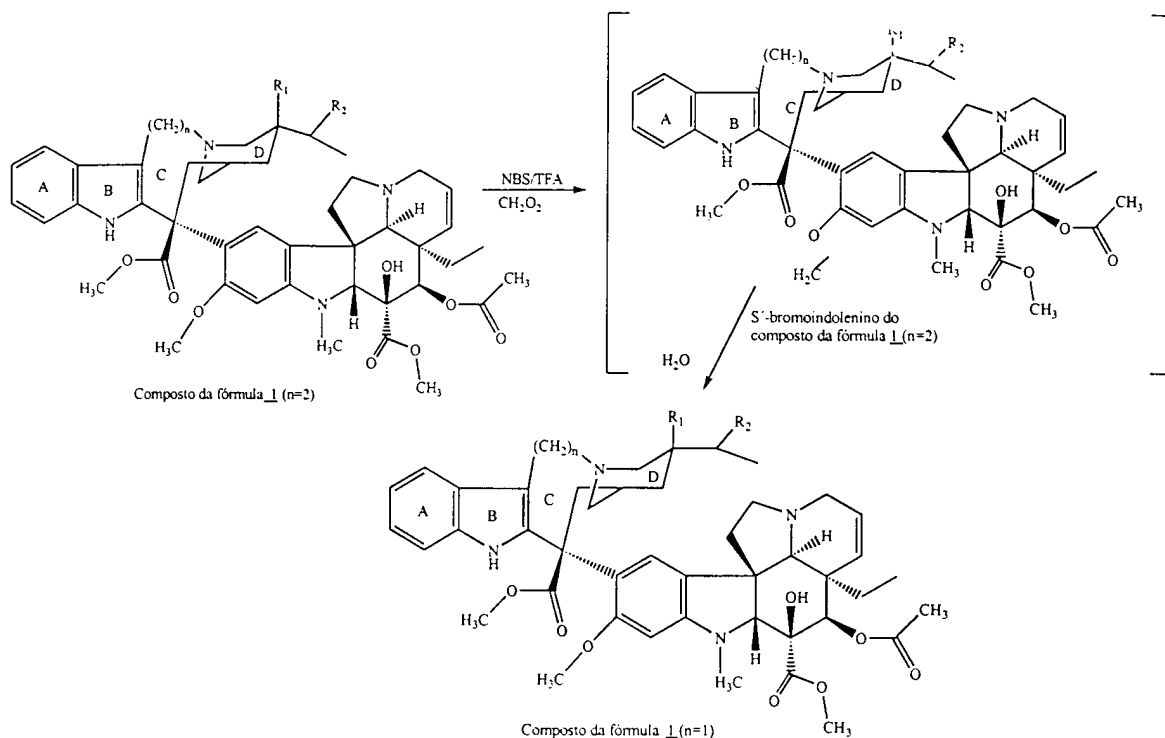
As reações no meio super ácido são realizadas em recipientes resistentes ao ácido fluorídrico, tais como Teflon[®] ou aço, de composição adequada. O derivado da fórmula 2, em que R^3 e R^4 são definidos como
10 acima, é dissolvido no ácido fluorídrico ou em um derivado do cloro, definido como acima, que atua como solvente e adicionado à mistura super ácida, que pode opcionalmente já conter uma fração do derivado do cloro. Esta adição é realizada enquanto se mantém a temperatura do meio em um
15 valor escolhido entre -80 e -30°C.

Em temperatura baixa e na presença de cloreto de metileno ou tetracloreto de carbono, os compostos da fórmula 1 em que $n = 2$, $R_1 = H$ e $R_2 = Cl$ são predominantemente isolados. Os compostos da fórmula 1 em que $n = 2$, $R_1 = F$ e $R_2 = Cl$ são isolados do mesmo meio de reação em proporção
20 mais baixa. Isto está resumido no esquema abaixo:

Composto da fórmula 2Composto da fórmula 1 (n = 2)

Os derivados da fórmula geral 1, em que n = 1, R₁ e R₂ definidos como acima, são preparados contraindo-se o anel C' (n = 2 → n = 1) dos compostos da fórmula geral 1 em que n = 2, de acordo com os métodos descritos na literatura (Eur. J. Med. Chem., 18, 419 a 424, 1983), em particular pela ação da N-bromossuccinimida em cloreto de metileno, na presença de um ácido tal como o ácido trifluoroacético e em uma temperatura abaixo de -10°C. Após a neutralização em meio básico, a 9'-bromoindolenila do derivado da fórmula 1 em que n = 2, um intermediário relativamente instável que não é isolado, sofre uma hidrólise, preferivelmente em uma mistura de [cloreto de metileno : água : tetraidrofurano], na presença ou na ausência de tetrafluoroborato de prata (AgBF₄), a uma temperatura entre -10°C e o ponto de refluxo do solvente. A adição do AgBF₄, em quantidade catalítica ou estequiométrica em relação ao composto 1 (n = 2), torna possível acelerar o curso da reação, se esta reação não estiver completa após a etapa de neutralização.

O produto principal da reação corresponde ao composto da fórmula 1 em que n = 1. Esta reação é representada esquematicamente abaixo:



Um tema da invenção é também um processo para a síntese da 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina, bem como da 20',20'-difluoro-3',4'-diidrovinorelbina ou vinflunina, compostos reivindicados na Patente FR 2.707.988 de 21.07.93 (WO 95/03312).

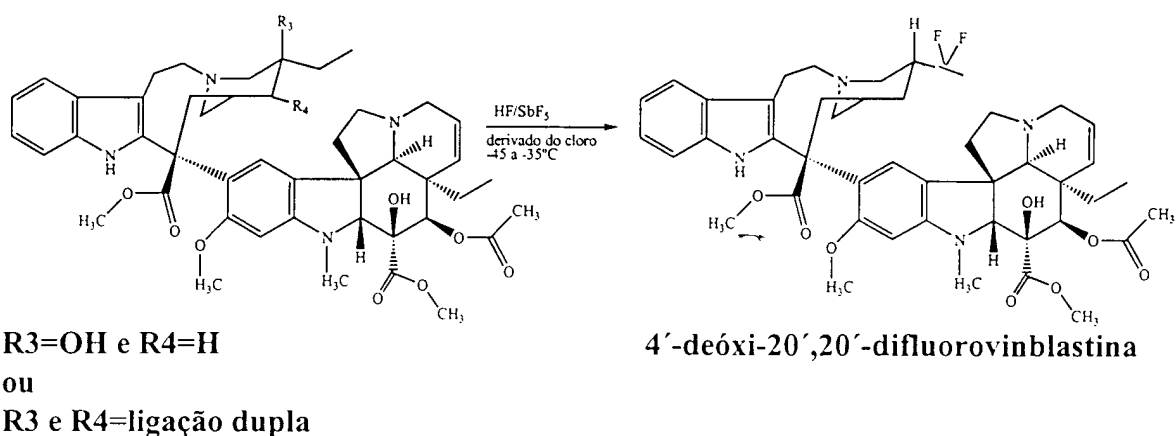
Modificando-se as condições de operação da reação em meio super ácido, usando-se os compostos da fórmula 2 em que $n = 2$, R_3 e R_4 sendo definidos como acima, obtém-se preferivelmente a 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina. Estas mudanças nas condições de operação consistem essencialmente em se aumentar a temperatura (entre -45 e -35°C , estendendo-se o tempo de reação ou usando-se um super eletrófilo de reatividade diferente. Na realidade, mostramos, em um estudo das cinéticas da reação, que os compostos da fórmula 1 que podem ser isolados, em que $n = 2$, $R_1 = \text{H}$ e $R_2 = \text{Cl}$, que são predominantes no caso acima (41%), desaparecem às custas do produto que é difluorado na posição 20' sob estas condições.

Otimizando-se as condições de operação, o rendimento para esta reação de difluorinação é melhor (50%) do que aquela obtida pelo processo descrito na patente citada acima, que usa em particular a N-bromossuccinimida (NBS), como agente eletrofílico, visto que o rendimento

indicado para a difluorinação da vinorrelbina na presença da NBS é de apenas 25%.

Os compostos da fórmula geral 2 são vinblastina quando $R_3 =$ OH e $R_4 =$ H, e 3',4'-anidrovinblastina quando R_3 e R_4 juntos formam uma ligação dupla. O derivado da fórmula 2 é dissolvido no derivado de cloro, preferivelmente clorofórmio ou 2,2-dicloropropano ou uma mistura contendo clorofórmio ou 2,2-dicloropropano, e adicionado ao meio super ácido, enquanto a temperatura deste meio é mantida entre -45 e -35°C . O derivado de difluoro, a 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina, deste modo constitui o produto final principal da reação. O teste por HPLC analítico indica uma proporção deste composto de cerca de 50%.

Esta reação é ilustrada no esquema abaixo:



Outros agentes que geram íons super eletrofílicos, tais como tetrabrometo de carbono CBr_4 , dibromometano CH_2Br_2 ou tribrometo de boro BBr_3 , também dão predominantemente a 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina.

Este método constitui assim um processo para se preparar a 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina, em um rendimento um rendimento maior do que aquele obtido pela técnica anterior.

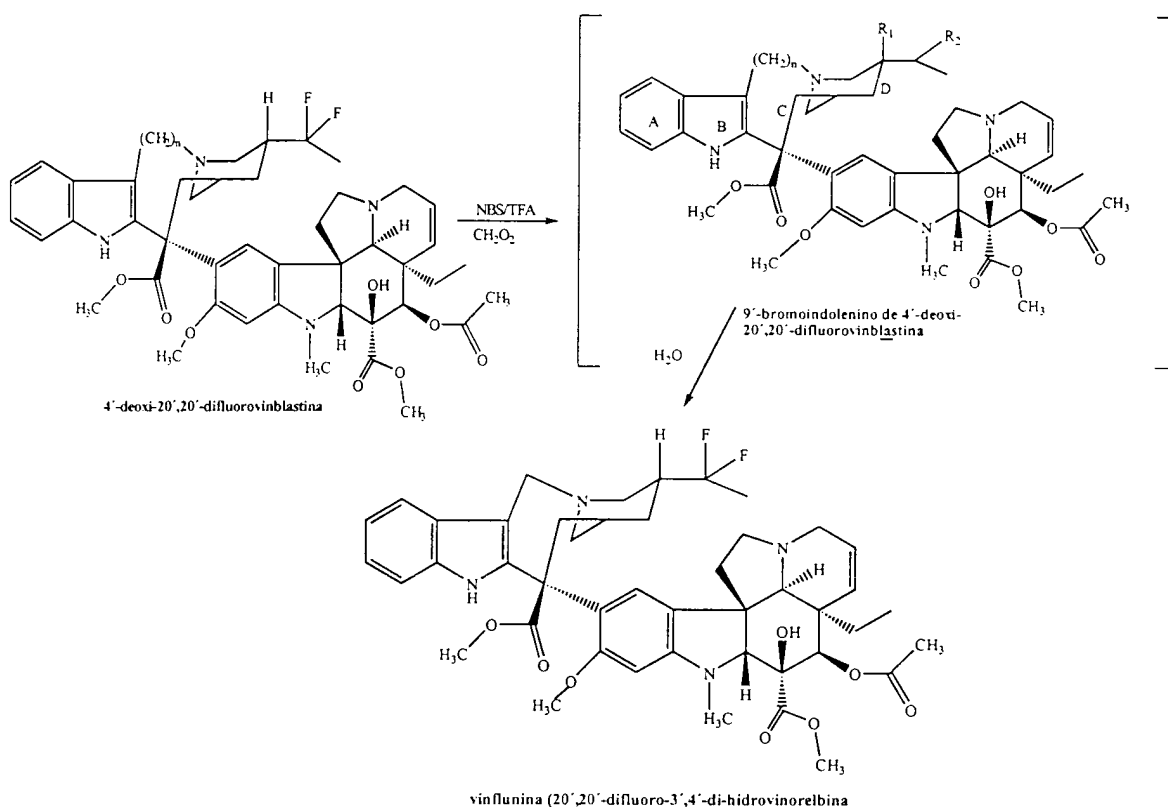
A 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina obtida de acordo com este caminho pode então sofrer uma concentração do seu anel C' ($n = 2 \rightarrow n = 1$), como descrito acima, pela reação com N-bromossuccinimida em cloreto

de metileno, na presença de um ácido tal como o ácido trifluoroacético, em uma temperatura abaixo de -10°C . Após a neutralização em meio básico, o composto intermediário, a 9'-bromoindolenina, da 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina, que é relativamente instável e não isolado, sofre uma

5 hidrólise, preferivelmente em uma mistura de [cloro de metileno : água : tetrahydrofurano], na presença ou na ausência de tetrafluoroborato. Do mesmo modo como acima a adição do AgBF_4 torna possível aumentar a velocidade da reação.

O composto principal obtido, em um rendimento de cerca de

10 80%, corresponde ao 20',20'-difluoro-3',4'-diidrovinorelbina ou vinflunina. O esquema abaixo resume esta reação:



Esta seqüência de duas etapas constitui assim um processo

15 para a síntese da vinflunina, que é mais vantajoso do que o anterior no sentido de que:

1) a reação de fluorinação em meio super ácido é realizada usando-se compostos naturais tais como a vinblastina ou a 3',4'-anidrovinblastina, que são diretamente acessíveis pela extração das folhas da

Catharanthus roseus, ao invés da vinorrelbina que é um produto semi-sintético mais caro,

2) o rendimento da reação de difluorinação por este processo é de cerca de 50%, como comparado aos 25% com o processo anterior,

5 3) a purificação cromatográfica dos compostos obtidos, em particular da 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina, é menos difícil do que no caso anterior.

Os exemplos que seguem ilustram a invenção sem, entretanto, limitar seu escopo. As características espectroscópicas confirmam a estrutura
10 dos compostos obtidos de acordo com a invenção.

EXEMPLO 1

20'-CLORO-4'-DESOXIVINBLASTINA 1.

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

Uma solução de pentafluoreto de antimônio (60 g; 0,28 mol)
15 em 80 ml (4 moles) de ácido fluorídrico anidro é preparada em um recipiente de Teflon de 250 ml e esfriada a $-60^{\circ}C$. Com agitação magnética, 1,63 ml (17 mmoles) de tetracloreto de carbono é então a ela adicionado, seguido pela
adição às gotas de uma solução de 13,75 g (17 mmoles) de 3',4'-
anidrovinblastina 2 ($n = 2$, R_3 e R_4 formando uma ligação dupla) em 25 ml de
20 cloreto de metileno, enquanto assegura-se de que a temperatura não exceda $-40^{\circ}C$. Após 30 minutos, um meio de reação é vertido muito cuidadosamente em 1,5 litro de uma suspensão aquosa 3 M de Na_2CO_3 contendo 200 ml de
cloreto de metileno. Após a separação das fases por decantação, a fase aquosa
é extraída com 100 ml de cloreto de metileno. As fases orgânicas são
25 combinadas, lavadas com solução saturada de NaCl, secadas em $MgSO_4$ e evaporadas.

A análise por HPLC analítica do resíduo recuperado mostra a presença de dois picos próximos que integram um total de 41% (21 e 20%), conhecidos como o produto do Exemplo 1a e o produto do Exemplo 1b nas

tabelas que descrevem o espectro da RNM, que correspondem aos dois diastereoisômeros em 20' da 20'-cloro-4'-desoxivinblastina.

A purificação é realizada por cromatografia em uma coluna de sílica e então por HPLC preparativa de fase reversa.

- 5 Os dois diastereoisômeros separados da 20'-cloro-4'-desoxivinblastina são salificados na forma de bitartarato, pela adição de dois equivalentes (molares) de ácido tartárico em água, e liofilizados.

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

Ponto de fusão: > 260°C

- 10 IR (KBr): 3448,17 1736,05 1615,36 1459,86 1372,51 1231,89

1121,18 1067,54 cm^{-1}

Espectro de massa (D/CI NH_3):

$MH^+ = 829,4$

EXEMPLO 2

- 15 20'-CLORO-4'-DESOXIVINBLASTINA 1.

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

Este composto é obtido de acordo com o procedimento descrito no Exemplo 1, substituindo-se a 3',4'-anidrovinblastina 2 ($n = 2, R_3$ e R_4 formando uma ligação dupla) pela vinblastina 2 ($n = 2, R_3 = OH, R_4 =$
20 H).

As características físico-químicas e espectroscópicas dos produtos isolados são idênticas àquelas dos compostos obtidos no Exemplo 1.

EXEMPLO 3

- 25 20'-CLORO-4'-DESÓXI-4'-FLUOROVINBLASTINA 1.

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

Este composto é isolado da mistura de reação obtida no Exemplo 1 ou no Exemplo 2, de outras frações menos polares, derivadas da cromatografia em uma coluna de sílica. A purificação final é realizada por

HPLC preparativa de fase reversa.

A 20'-cloro-4'-desóxi-4'-fluorovinblastina é salificada na forma de bitartarato pela adição de dois equivalentes (molares) de ácido tartárico em água, e liofilizado.

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

Ponto de fusão: > 260°C

IR (KBr): 3470,13 2951,45 1735,92 1616,62 1458,44 1371,64

1228,52 1040,10 743,07 cm^{-1}

Espectro de massa (D/CI NH_3):

10 $MH^+ = 847,4$

EXEMPLO 4

20'-CLOORO-3',4'-DIIDROVINORRELBINA 1.

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

900 mg (1,08 mmol) de 20'-cloro-4'-desoxivinblastina 1 ($n =$
 15 2, $R_1 = H$, $R_2 = Cl$), isolados de acordo com o Exemplo 1, são dissolvidos em
 5 ml de cloreto de metileno contendo 95 μl (1,2 mmol) de ácido
 trifluoroacético, esfriado a -45°C. A montagem é colocada sob uma proteção
 à prova de luz e 193 mg (1,08 mmol) de N-bromossuccinimida são
 adicionados como uma solução em 2 ml de CH_2Cl_2 e 95 μl (1,2 mmol) de
 20 TFA, e a mistura é deixada agitar por 30 minutos. A mistura é então
 neutralizada pela adição de 5 ml de solução saturada de $NaHCO_3$,
 imediatamente seguido por uma adição de 211 mg (1,08 mmol) de
 tetrafluoroborato de prata em uma mistura de 5 ml de tetraidrofurano e 2 ml
 de água. A mistura resultante é deixada retornar à temperatura ambiente com
 25 agitação magnética por cerca de duas horas.

Após filtração, a fase orgânica é separada e lavada duas vezes
 com 10 ml de água e então 10 ml de solução saturada de NaCl. Após
 secagem em $MgSO_4$, a solução é evaporada e o resíduo é purificado por
 cromatografia em uma coluna de sílica, e então por HPLC preparativa de fase

reversa.

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

IR (KBr): 3446 2950 1740,89 1459,16 1246,59 1200,65 1042 cm^{-1}

Espectro de massa (D/CI NH_3):

5 $MH^+ = 815,4$

EXEMPLO 5

20'-CLORO-3',4'-DIIDRO-4'-FLUOROVINORRELBINA 1.

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

10 Este composto é obtido de acordo com o procedimento descrito no Exemplo 4, substituindo-se a 20'-cloro-4'-desoxivinblastina pela 20'-cloro-4'-desóxi-4'-fluorovinblastina 1 ($n = 2$, $R_1 = F$, $R_2 = Cl$).

A 20'-cloro-3',4'-diidro-4'-fluorovinorrelbina é purificada por cromatografia sob condições idênticas.

$C_{45}H_{54}ClFN_4O_8$: 833,40

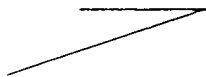
15 IR (KBr): 3446,83 2950,98 1742,73 1617,73 1457,36 1234,38

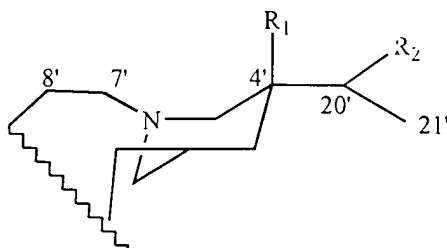
1042,23 996,50 742,15 cm^{-1}

Espectro de massa (D/CI NH_3):

$MH^+ = 833,5$

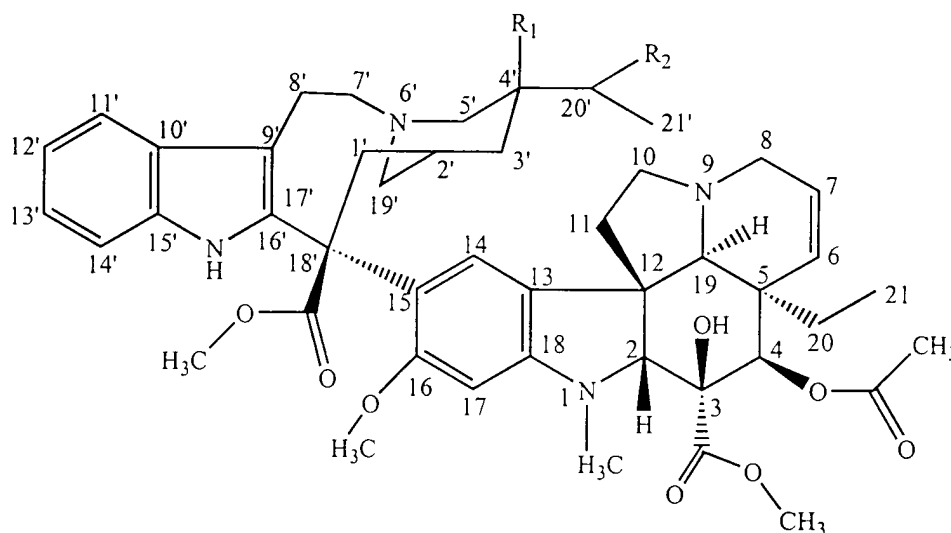
20 As substituições químicas dos prótons característicos das estruturas preparadas acima são confrontadas na tabela abaixo:





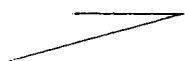
Átomo Hidrogênio	Produto do exemplo			
	1a e 1b	3	4	5
H _{4'}	1,95 (m, 1H)	-	1,90 (m, 1H)	-
H _{7'}	3,1-3,3 (m, 2H)	3,1 (m, 1H) 3,3 (m, 1H)	4,32 (d, 1H) 4,46 (d, 1H)	4,38 (d, 1H) 5,07 (d, 1H)
H _{8'}	3,1-3,25 (m, 2H)	3,05 (m, 1H) 3,45 (m, 1H)	-	-
H _{20'}	3,68 (m, 1H)	3,80 (m, 1H)	3,80 (m, 1H)	3,93 (m, 1H)
H _{21'}	1,50 (d, 3H)	1,44 (d, 3H)	1,50 (d, 3H)	1,57 (d, 3H)

A descrição do espectro da RNM ¹³C dos produtos obtidos de acordo com os exemplos acima, está detalhada na tabela abaixo:



Numeração dos alcalóides da Vinca

(de acordo com as recomendações da I.U.P.A.C.)



Exemplo	1a	1b	3	4	5
Nº do Carbono					
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'	28,936	29,076	27,69	AUSENTE	AUSENTE
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	110,56
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

Características de ^{13}C RMN dos compostos preparados

EXEMPLO 6

4'-DESÓXI-20',20'-DIFLUOROVINBLASTINA.

Uma solução de pentafluoreto de antimônio (750 g; 3,45 moles) em 500 ml (25 moles) de ácido fluorídrico anidro é preparada em um reator de aço Astelloy de 6 litros e é esfriada a -45°C. Uma solução de dicloridreto de 3',4'-anidrovinblastina dissolvido em 250 ml de clorofôrmio é a ela adicionada durante 30 minutos, enquanto mantêm-se a temperatura em -35°C. A mistura é deixada em agitação por um adicional de 30 minutos nesta temperatura. 200 ml de acetona são então introduzidos durante 30 minutos a -30°C, seguido por 150 ml de água durante 15 minutos a -25°C. Enquanto se permite a temperatura elevar a 20°C, 900 ml de cloreto de metileno são adicionados, seguidos por 600 ml de água. Após a separação das fases por decantação, a fase aquosa é extraída com 100 ml de cloreto de metileno. As fases orgânicas são combinadas e neutralizadas a uma temperatura abaixo de 20°C com 600 ml de KOH a 10%. Após a separação das fases por decantação, a fase orgânica é agitada durante a noite na presença de 800 ml de amônia aquosa a 10%, seguido por lavagem duas vezes com 400 ml de água, secagem em MgSO₄ e evaporação.

A purificação é realizada por cromatografia em uma coluna de sílica eluída com uma mistura de tolueno e acetona (65/35). O resíduo obtido após a evaporação é dissolvido em 80 ml de cloreto de metileno e precipitado pela adição de 350 ml de éter isopropílico. Após a filtração, 41 g (40%) da 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina são recuperados.

As características físico-químicas e espectroscópicas dos compostos isolados são idênticas àquelas dos produtos obtidos de acordo com o processo descrito na patente FR 2.707.988 de 21.07.93 (WO 95/03312).

EXEMPLO 7

4'-DESÓXI-20',20'-DIFLUOROVINBLASTINA.

Uma solução de pentafluoreto de amônio (8,6 g; 40 mmoles) em 7,2 ml (360 mmoles) de ácido fluorídrico anidro é preparada em um recipiente de Teflon de 125 ml e esfriada a -45°C . Com agitação magnética, 0,94 ml (9 mmoles) de 2,2-dicloropropano é então a ela
5 adicionado, seguido pela adição às gotas de uma solução de 0,71 g (0,9 mmol) de 3',4'-anidrovínblastina 2 ($n = 2$, R_3 e R_4 formando uma ligação dupla) em 3,6 ml de ácido fluorídrico, enquanto assegura-se de que a temperatura não exceda -35°C . Após 25 minutos, o meio de reação é vertido
10 muito cuidadosamente em 300 ml de solução aquosa 3 M de Na_2CO_3 . Após a separação das fases por decantação, a fase aquosa é extraída com 50 ml de cloreto de metileno. As fases orgânicas são combinadas, lavadas com solução saturada de NaCl, secadas em MgSO_4 e evaporadas.

O resíduo contém 46% da 4'-desóxi-20',20'-difluorovínblastina, que é idêntico ao produto obtido de acordo com o
15 processo descrito na patente FR 2.707.988 de 21.07.93 (WO 95/03312).

EXEMPLO 8

4'-DESÓXI-20',20'-DIFLUOROVINBLASTINA.

Este composto é obtido de acordo com o procedimento descrito no Exemplo 7, substituindo-se o 2,2-dicloropropano por
20 tetrabrometo de carbono CBr_4 , durante o tratamento no meio super ácido.

As características físico-químicas e espectroscópicas do composto isolado são idênticas às daquelas dos produtos obtidos de acordo com o processo descrito na patente FR 2.707.988 de 21.07.93 (WO 95/03312).

EXEMPLO 9

4'-DESÓXI-20',20'-DIFLUOROVINBLASTINA.

Este composto é obtido de acordo com o procedimento descrito no Exemplo 7, substituindo-se o 2,2-dicloropropano por
tetrabrometo de boro BBr_4 , durante o tratamento no meio super ácido.

As características físico-químicas e espectroscópicas do

composto isolado são idênticas àquelas dos produtos obtidos de acordo com o processo descrito na patente FR 2.707.988 de 21.07.93 (WO 95/03312).

EXEMPLO 10

4'-DESÓXI-20',20'-DIFLUOROVINBLASTINA.

5 Este composto é obtido de acordo com o procedimento descrito no Exemplo 7, substituindo-se o 2,2-dicloropropano por dibromometano CH_2Br_2 , durante o tratamento no meio super ácido.

As características físico-químicas e espectroscópicas do composto isolado são idênticas àquelas dos produtos obtidos de acordo com o processo descrito na patente FR 2.707.988 de 21.07.93 (WO 95/03312).

EXEMPLO 11

20',20'-DIFLÚORO-3',4'-DIIDROVINORRELBINA (VINFLUNINA)

90 g (0,108 mol) de 4'-desóxi-20',20'-difluorovinblastina são dissolvidos em 800 ml de cloreto de metileno e esfriados a -45°C , à cuja solução são adicionados 10,4 ml (0,135 mol) de ácido trifluoroacético. A montagem é colocada sob uma proteção à prova de luz e uma solução composta de 19,3 g (0,108 mol) de N-bromossuccinimida em uma mistura de 200 ml de cloreto de metileno e 10,4 ml (0,135 mol) de ácido trifluoroacético é a ela adicionada por cerca de 30 minutos, enquanto toma-se cuidado para assegurar que a temperatura do meio não se eleve acima de -45°C .

Após 30 minutos, a mistura é neutralizada pela adição de 300 ml de solução a 10% de NaHCO_3 , imediatamente seguido por uma solução de 23,4 g (0,12 mol) de tetrafluoroborato de prata em uma mistura de 300 ml de tetraidrofurano e 100 ml de água. A mistura resultante é deixada retornar à temperatura ambiente com agitação por cerca de duas horas.

Após filtração, a fase orgânica é separada e lavada duas vezes com 150 ml de água. Após secagem em MgSO_4 , a solução é evaporada e o resíduo é dissolvido em 500 ml de metanol e então evaporado de modo a se obter 97 g do resíduo seco, contendo 88% da 20',20'-difluoro-3',4'-

diidrovinorrelbina (vinflunina).

A purificação é realizada por HPLC preparativa em sílica enxertada com C_{18} (tamanho de partícula de 15 a 25 μ), com um eluente composto de água, ácido acético, acetato de amônio, metanol e acetonitrila.

5 As frações purificadas são concentradas até a metade de seu volume, levadas ao pH = 7 e extraídas duas vezes como tolueno. A fase orgânica é lavada três vezes com água destilada e então ensaiada por HPLC analítica.

A vinflunina, em solução em tolueno, é extraída com uma solução aquosa que contenha exatamente dois equivalentes (molares) de

10 ácido tartárico. A fase aquosa é então liofilizada de modo a se obter o ditartarato de vinflunina.

As características físico-químicas e espectroscópicas do composto isolado são idênticas àquelas dos produtos obtidos de acordo com o processo descrito na patente FR 2.707.988 de 21.07.93 (WO 95/03312).

15 Do mesmo modo que com os alcalóides contra tumor da *Catharanthus roseus*, os compostos preparados de acordo com a invenção são “venenos do fuso mitótico”.

Esta propriedade foi confirmada medindo-se a inibição da polimerização da tubulina em micro túbulos, na presença dos compostos da

20 invenção, de acordo com o método descrito por R. C. Weisenberg (Science 177, 1196 e 1197, 1972). Os resultados são expressos em termos de IC_{50} , que corresponde à concentração do composto que conduz a cerca de 50% de inibição da polimerização. Este fenômeno é facilmente monitorado e quantificado por meio das mudanças na densidade ótica.

25 Por via de exemplo, a tabela abaixo apresenta os resultados obtidos com dois derivados preparados de acordo com a invenção:

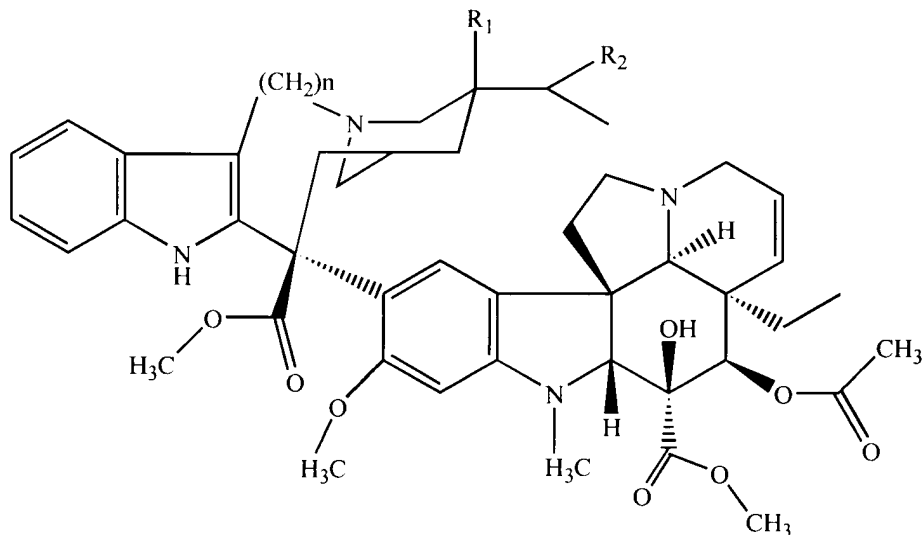
Produto	IC50 (μM)
Exemplo 1	1,99
Exemplo 3	1,54
Vinorelbina	1,70

Dando estas propriedades farmacológicas características dos alcalóides da Vinca, os compostos da presente invenção podem ser usados em quimioterapia contra o câncer.

5 As preparações farmacêuticas que contenham estes princípios ativos podem ser formuladas para administração oral, intravenosa ou subcutânea, em uma maneira convencional, que é bem conhecida por aqueles habilitados na técnica.

REIVINDICAÇÕES

1. Derivados antimitóticos dos alcalóides da Vinca, caracterizados pelo fato de que correspondem à fórmula geral abaixo:



1

em que:

5 $n = 1$ ou 2 ,

R_1 representa um átomo de hidrogênio ou de flúor,

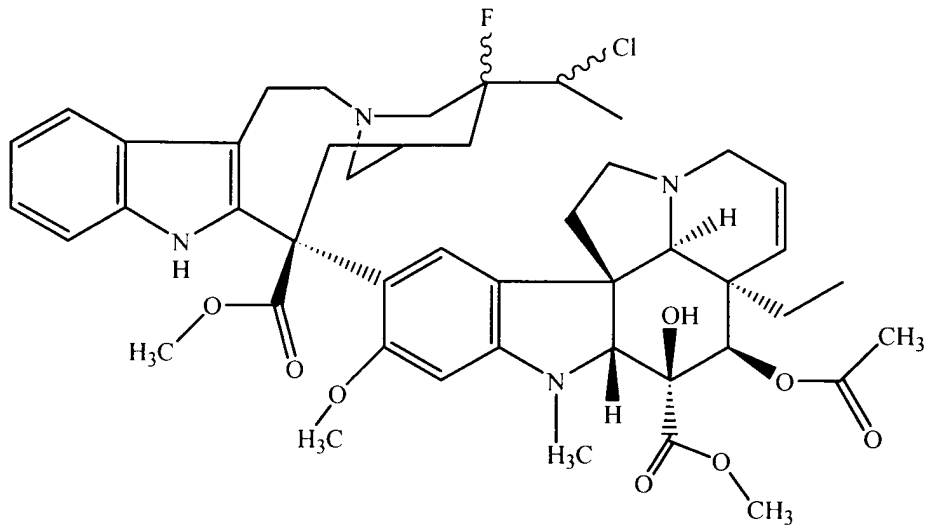
R_2 representa um átomo de cloro,

10 bem como aos sais destes, com ácidos inorgânicos ou orgânicos, terapeuticamente aceitáveis e às misturas dos diastereoisômeros que correspondam às configurações dos carbonos 4' e 20' dos compostos e de suas misturas em qualquer proporção.

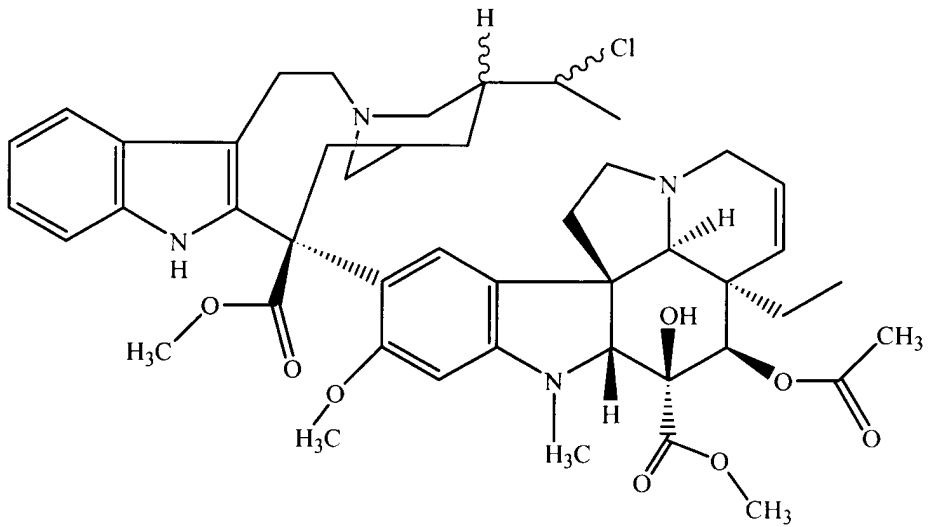
2. Derivados da fórmula geral 1 de acordo com a reivindicação 1, caracterizados pelo fato de que são escolhidos de:

20'-cloro-4'-desóxi-4'-fluorovinblastina,

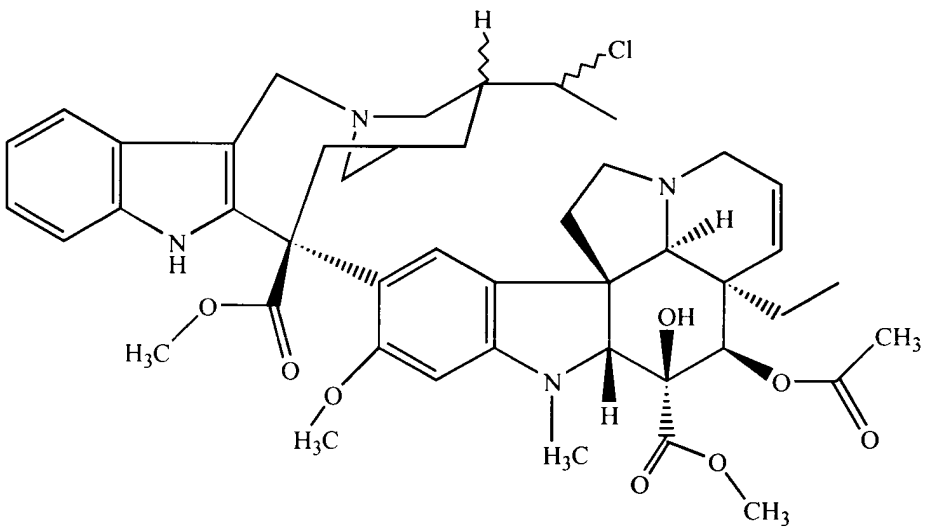
2



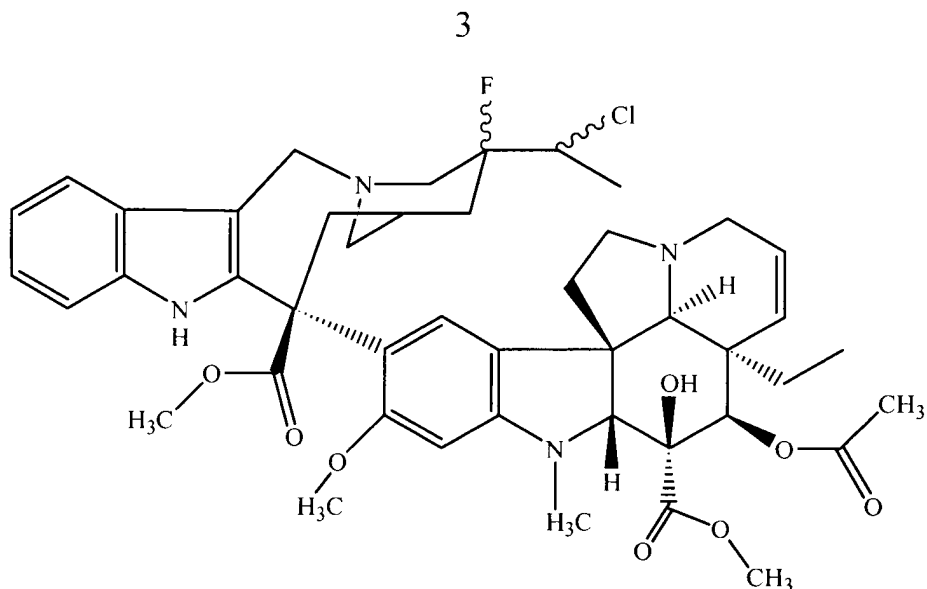
20'-cloro-4'-desoxivinblastina:



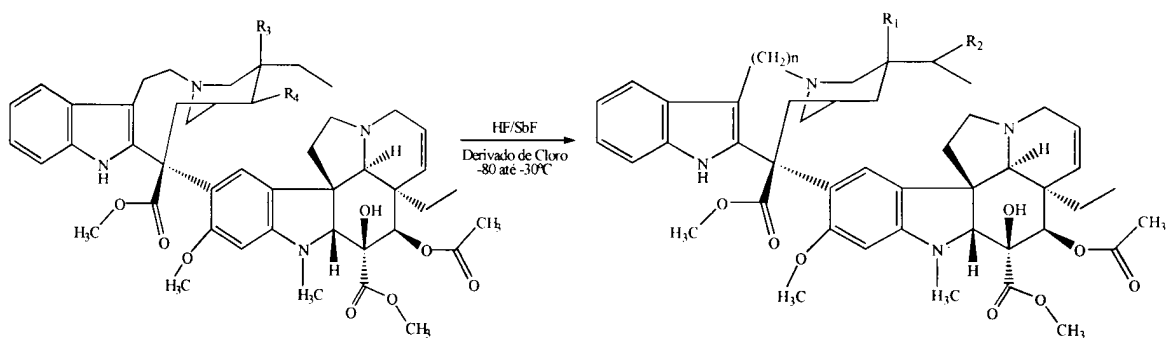
20'-cloro-3',4'-diidrovonorrelbina:



20'-cloro-3',4'-diidro-4'-fluorovonorrelbina:



3. Processo para preparar os derivados de fórmula 1 em que $n = 2$ como definidos na reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que um composto de fórmula geral 2 reage em uma temperatura de -60° a -40° C em meio super ácido, obtido pela combinação de um ácido de Bronsted, tal como o ácido fluorídrico HF, e um ácido de Lewis, tal como pentafluoreto de antimônio SbF_5 , na presença de tetracloreto de carbono, de acordo com o esquema:



Composto da fórmula 2

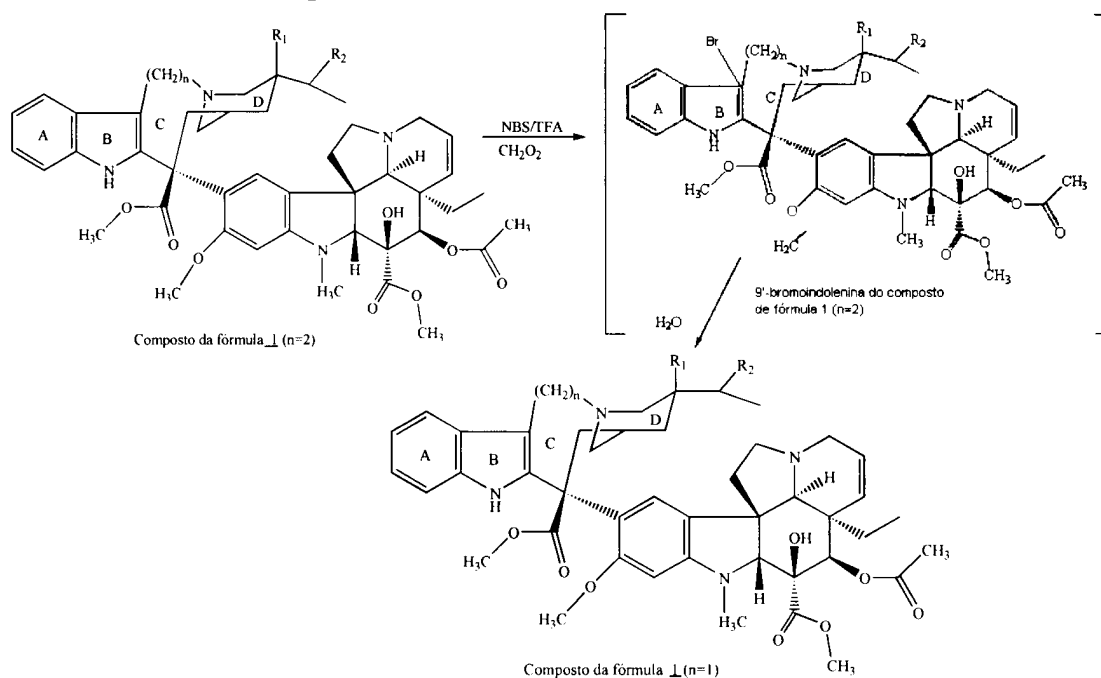
Composto da fórmula 1 ($n = 2$)

4. Processo para preparar os derivados de fórmula 1 em que $n = 1$ como definidos na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que

10 a) um composto da fórmula 1, em que $n = 2$, R_1 e R_2 sendo definidos como acima, reage com um agente de halogenação, tal como a N-bromossuccinimida, em um solvente clorado, tal como o cloreto de metileno, e na presença de um ácido, tal como o ácido trifluoroacético, em uma temperatura de -45° C, levando à 9'-bromoindolenina correspondente, cujo intermediário não é isolado, e

15

b) a mistura de reação contendo a 9'-bromoindolenina dos compostos de fórmula geral 1, em que $n = 2$, é neutralizada com um meio básico, seguido de uma hidrólise, preferencialmente com uma mistura [cloreto de metileno:água:tetraidrofurano], na presença ou ausência de tetrafluoroborato de prata em uma temperatura entre -45°C e a temperatura ambiente, de modo a obter-se o composto da fórmula geral 1, em que $n = 1$, de acordo com o esquema abaixo:

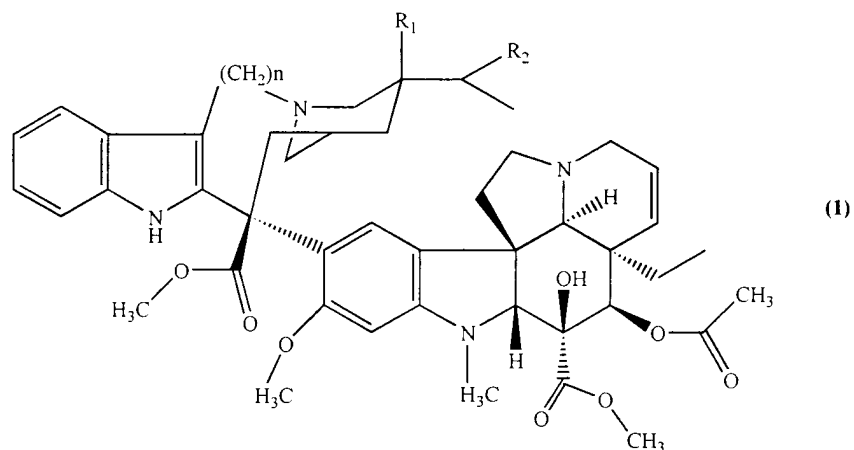


5. Use dos derivados como definidos na reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de ser para a manufatura de um medicamento destinado ao tratamento de patologia do câncer em terapia humana.

RESUMO

"DERIVADOS ANTIMITÓTICOS DOS ALCALÓIDES DA VINCA, PROCESSO PARA PREPARAR OS MESMOS E USO DOS DERIVADOS".

5 A invenção diz respeito a derivados halogenados da família da vinblastina e da vinorelbina, que correspondem à fórmula geral (I):



e seus sais terapeuticamente aceitáveis. A invenção também diz respeito a aplicação destes compostos em terapia e seus métodos de preparação. A invenção ainda diz respeito a um método para preparar a vinflunina ou a

10 20',20'-difluoro-3',4'-diidrovinoelbina, da fórmula (a).

