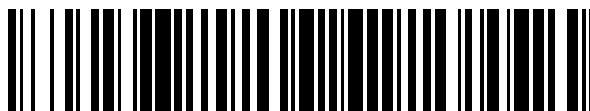


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 459 918**

51 Int. Cl.:

**C07D 207/46** (2006.01)

**C07D 213/71** (2006.01)

**C07D 401/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2009** **E 09802171 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2014** **EP 2379501**

54 Título: **Procedimiento de preparación de ésteres de activados**

30 Prioridad:

**17.12.2008 FR 0807090**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**12.05.2014**

73 Titular/es:

**SANOFI (100.0%)**  
**54, rue La Boétie**  
**75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**BIGOT, ANTONY**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

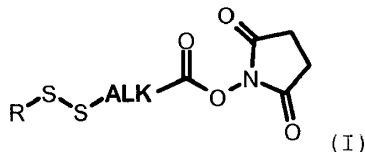
ES 2 459 918 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento de preparación de ésteres de activados

La presente invención se refiere a la preparación de ésteres activados de fórmula (I):



5 en la que R representa un grupo alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo y Alk representa un grupo alquileno(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>). Estos ésteres activados se pueden utilizar en la preparación de conjugados, es decir, de anticuerpos a los que se unen por enlace covalente de los compuestos químicos biológicamente activos tales como los compuestos citotóxicos. Se encontrarán más detalles sobre la química de los conjugados, por ejemplo en Birch y Lennox, Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Cap. 4, Wiley-Liss, Nueva York, N.Y. (1995).

10 [Técnica anterior]

El documento WO 2004/016801 describe ésteres activados que comprenden un resto nitro-succinimida. Las preparaciones de estos compuestos descritos en las figuras 1 a 6 se basan en reacciones diferentes de la contemplada en la presente invención.

15 J. Med. Chem. 2006, 49(14), 4392-4408 describe la preparación de ésteres activados, particularmente el N-succinimidil-[4-metil-4-(metilditio)]pentanoato sobre el esquema, por reacciones diferentes de la contemplada en la presente invención.

Langmuir 2000, 16(1), 81-86 describe sobre el esquema 1 la preparación del succinimidil-3-(2-piridilditio)butirato (SPDB) por acoplamiento del ácido correspondiente con la N-hidroxisuccinimida.

20 Los documentos de patente US 6407263, US 5872261, US 5892057 y US 5942628 describen ésteres activados y su método de preparación.

Can. J. Chem. 1982, 60, 976 describe la preparación de la sal de dicitohexilamina de la N-hidroxisuccinimida (P<sub>2</sub>) por reacción entre la dicitohexilamina y la N-hidroxisuccinimida en acetona. Este compuesto tiene N° CAS 82911-72-6.

25 Can. J. Chem. 1986, 64(11), 2097-2102; J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1985, 4, 765-8; Bull. Soc. Chem. Jpn 1986, 59(8), 2505-8; Coll. Czech. Chem. Comm. 1985, 50(12), 2925-2936 describen la preparación de ésteres succinimida a partir de sales de dicitohexilamina pero sin utilizar carbonato de disuccinimidilo.

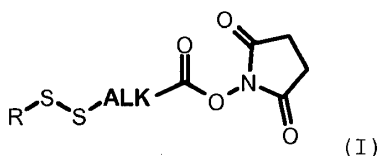
Tetrahedron Letters 1979, 49, 4745-4746 describe el DSC y su interés en síntesis (véase el esquema 2).

Biochem. J. 1978, 173, 723-737 describe la preparación de ésteres activados en presencia de N-hidroxisuccinimida y de dicitohexilcarbodiimida.

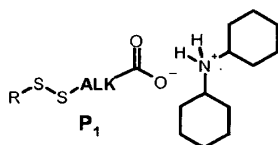
30 JACS 2003, 125(30), 8994-8995 recoge los antecedentes de la técnica.

[Descripción breve de la invención]

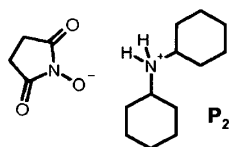
La invención se refiere a un procedimiento de preparación de un éster activado de fórmula (I):



35 en la que R representa un grupo alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), lineal o ramificado, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo y Alk representa un grupo alquileno(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), lineal o ramificado, que consiste en hacer reaccionar la sal de dicitohexilamina P<sub>1</sub>:

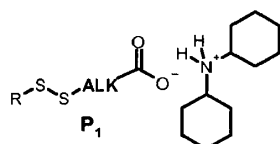


y carbonato de disuccinimidilo (DSC) en un disolvente en el que la sal dicitclohexilamina de la N-hidroxisuccinimida P<sub>2</sub>

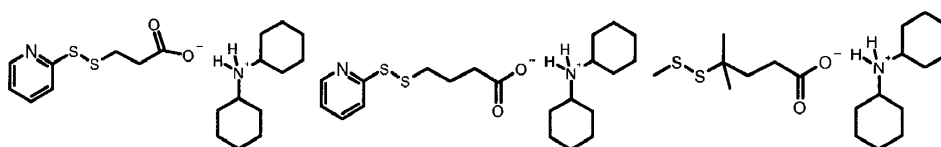


precipita.

5 La invención también se refiere a los productos de fórmula P<sub>1</sub>:



más particularmente a los de fórmula:

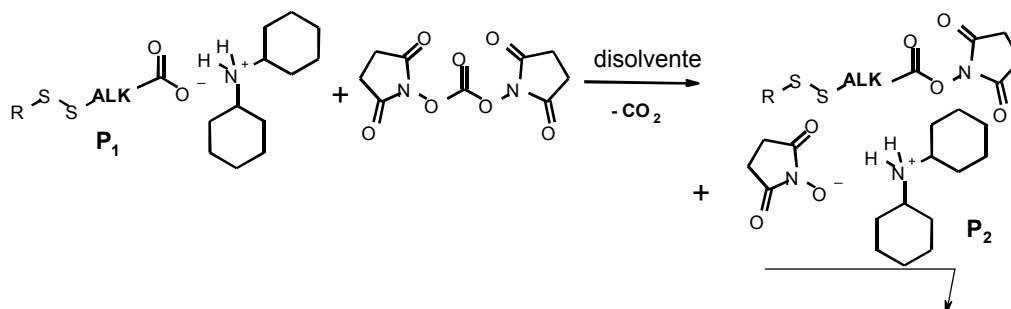


[Descripción de la invención]

10 Definiciones

- grupo alquilo: un grupo hidrocarbonado alifático saturado, lineal o ramificado, obtenido quitando un átomo de hidrógeno de un alcano. Se pueden citar principalmente los grupos siguientes: metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, 2-metilbutilo, 2-metilpentilo, 1-metilpentilo;
- grupo alquileno: un grupo divalente obtenido quitando dos átomos de hidrógeno de un alcano. Se pueden citar principalmente los grupos siguientes: metileno (-CH<sub>2</sub>-), etileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), n-propileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), butileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-);
- grupo cicloalquilo: un grupo alquilo acíclico que tiene de 3 a 10 átomos de carbono introducidos en la estructura cíclica. Se pueden citar principalmente los grupos siguientes: ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo;
- grupo arilo: un grupo aromático de 6 a 10 átomos de carbono. Se pueden citar principalmente los grupos siguientes: fenilo, naftilo, indenilo, fluorenilo;
- grupo heteroarilo: un grupo aromático de 5 a 10 eslabones que comprende como átomos que forman el ciclo, uno o varios heteroátomos elegidos entre O, S o N;
- grupo heterocicloalquilo: un grupo cicloalquilo tal como se ha definido anteriormente que comprende además como átomo(s) que forman el ciclo, uno o varios heteroátomos elegidos entre N, O o S.


25 La preparación se basa en la reacción entre la sal de dicitclohexilamina P<sub>1</sub> y el carbonato de disuccinimidilo (DSC) en un disolvente en el que la sal de dicitclohexilamina de la N-hidroxisuccinimida P<sub>2</sub> precipita (Esquema I).



Esquema 1

R representa un grupo:

- alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>): por ejemplo un grupo metilo, etilo, propilo, butilo o pentilo, opcionalmente ramificado;
- cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>): por ejemplo el grupo ciclopropilo;
- arilo: por ejemplo el grupo fenilo;

- 5
- heteroarilo: por ejemplo el grupo 2-piridinilo ();
  - heterocicloalquilo: por ejemplo el grupo piperidinilo.

Alk representa un grupo alquileo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), por ejemplo un grupo propileno, butileno o pentileno, opcionalmente ramificado. Se trata más particularmente del grupo (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, designando n un número entero que va de 1 a 6.

10 La función de la dicitohexilamina es promover la reacción e insolubilizar la N-hidroxil-succinimida que se libera. Esta reacción presenta las siguientes ventajas:

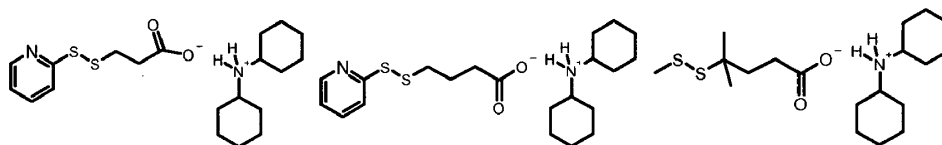
- facilidad de realización: puesta en contacto sencilla, no hay calentamiento, liberación lenta y controlada de CO<sub>2</sub>;
  - estando el compuesto P<sub>1</sub> en forma de carboxilato, no es necesario añadir una base adicional para activar la reacción;
- 15
- el compuesto P<sub>2</sub> que se libera solo es poco soluble en el disolvente empleado y precipita. La mayor parte de P<sub>2</sub> por lo tanto puede fácilmente ser eliminada por una simple separación mecánica, por ejemplo una filtración;
  - la reacción permite obtener fácilmente el éster activado con un buen rendimiento y una buena pureza.

P<sub>2</sub> se prepara por neutralización del ácido correspondiente con la dicitohexilamina. El DSC es un producto comercial.

20 El disolvente es una cetona que presenta menos problemas toxicológicos que los disolventes habitualmente utilizados para este tipo de reacción (diclorometano o dimetilformamida). La cetona puede ser por ejemplo acetona o metil-isobutil-cetona (MIBK). Se prefiere MIBK porque es poco miscible en agua (1,55% p/p a 20°C), permite un lavado acuoso del producto, facilitando así la eliminación de P<sub>2</sub> residual. Permite igualmente eliminar el agua residual por destilación azeotrópica. Por último, la MIBK es un buen disolvente del éster activado pero no de los compuestos P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> y de el DSC, lo que permite una reacción lenta y moderada entre P<sub>1</sub> y el DSC: así, los reactivos pueden mezclarse inicialmente en totalidad sin que ello plantee problemas en términos de seguridad (reacción rápida con liberación incontrolada de CO<sub>2</sub>).

30 La reacción se conduce a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C). P<sub>2</sub> puede precipitar espontáneamente en algunos disolventes. Con el fin de favorecer la precipitación de P<sub>2</sub>, se puede, después de haber hecho reaccionar P<sub>1</sub> y DSC, enfriar la mezcla de reacción (por ejemplo a una temperatura próxima a 0°C).

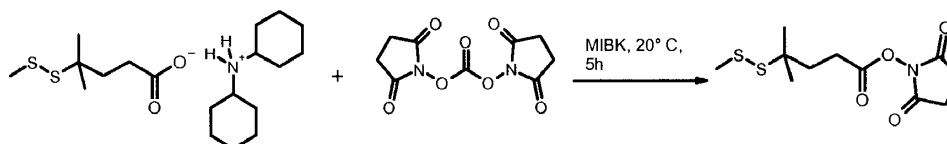
Esta reacción permite particularmente preparar los ésteres activados siguientes: N-succinimidil-3-(2-piridilditio)propionato (SPDP), N-succinimidil-3-(2-piridilditio)butirato (SPDB) o N-succinimidil-[4-metil-4-(metilditio)]pentanoato a partir de las sales de ácido correspondiente, a saber respectivamente:



35 [Ejemplos]

Ejemplo 1: preparación de N-succinimidil-[4-metil-4-(metilditio)]pentanoato

La reacción es la siguiente:

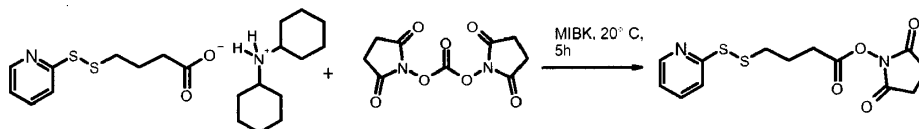


Una suspensión de la sal de dicitohexilamina del ácido 4-metil-4-(metilditio)pentanoico (23 g) y de DSC (18,2 g, 1,1 eq.) en 161 ml de MIBK se agita a aproximadamente 20°C durante 5 h. Entonces la suspensión se enfría a aproximadamente 0°C, se agita 1 h a esta temperatura, después se filtra.

5 El sólido se lava con 2x23 ml de MIBK. Las fases orgánicas se reúnen, se lavan con 2x58 ml de una disolución acuosa de HCl 6N, después con 92 ml de agua desmineralizada. La fase orgánica se concentra después a sequedad a vacío. El sólido resultante se solubiliza en 230 ml de diclorometano (DCM) y la disolución resultante se trata con 46 g de sílice, se agita 10 min, después la sílice se filtra y se lava con 2x69 ml de DCM. Esta operación se repita una segunda vez. La fase orgánica se concentra entonces a aproximadamente 2 volúmenes, después a aproximadamente 20°C, se añaden 391 ml de n-heptano en aproximadamente 30 min. La suspensión blanca resultante se agita a esta temperatura durante aproximadamente 1 h, se enfría a aproximadamente -10°C en aproximadamente 1 h, después se agita a esta temperatura durante aproximadamente 1 h. El sólido se filtra después, se lava con 2x23 ml de n-heptano enfriado a aproximadamente -10°C, después se seca a vacío a 40°C durante 15 h. El 4-N-hidroxisuccinimidil-[4-metil-4-(metilditio)]pentanoato se aísla con un rendimiento de 70,6%. Su pureza determinada por HPLC es de 99,65 % (sin disolventes).

15 Ejemplo 2: preparación de N-succinimidil-3-(2-piridilditio)-butirato (SPDB)

La reacción es la siguiente:

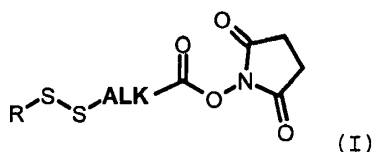


20 La sal de dicitohexilamina (40 g, 1 eq.) y el DSC (28,7 g, 1,1 eq.) se ponen en suspensión en 280 ml de MIBK. La mezcla se agita durante 4 h a 20±3°C. La suspensión se enfría a 0±3°C, se deja 30 min a esta temperatura, se filtra y el sólido obtenido se lava con MIBK helada (120 ml). Las aguas madres se lavan con agua (3x176 ml) y se evaporan a sequedad a presión reducida con un rotavapor con un baño a 50°C hasta obtener una cantidad de MIBK≤2,5 %. El SPDB bruto se obtiene en forma de aceite amarillo.

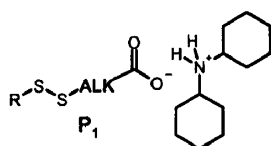
25 El SPDB (32,5 g) se disuelve a continuación en etanol (455 ml) a 35±2°C. La disolución obtenida se enfría a 18±2°C: el SPDB puro comienza a cristalizar. se añaden 90 ml de n-heptano en 10 min, la cristalización se intensifica. La mezcla se enfría a 0±3°C y se añaden 820 ml de n-heptano en 20 min. La mezcla se agita durante 1 h a 0±3°C. El SPDB puro se aísla por filtración, se lava con 2x90 ml de n-heptano helado y se seca en estufa (30°C, 50 mbar). rendimiento: 84,8%, pureza HPLC: 98,7%.

REIVINDICACIONES

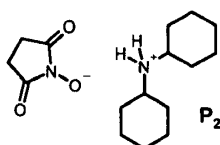
1. Procedimiento de preparación de un éster activado de fórmula (I)



5 en la que R representa un grupo alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), lineal o ramificado, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo y Alk representa un grupo alquileno(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), lineal o ramificado, que consiste en hacer reaccionar la sal de dicitclohexilamina P<sub>1</sub>



y carbonato de disuccinimidilo (DSC) en un disolvente en el que la sal dicitclohexilamina de la N-hidroxisuccinimida P<sub>2</sub>



10 precipita, en el que dicho disolvente es una cetona.

2. Procedimiento según la reivindicación 1 en el que R representa un grupo metilo, etilo, propilo, butilo o pentilo, opcionalmente ramificado o el grupo 2-piridinilo.

15 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2 en el que Alk representa un grupo propileno, butileno o pentileno, opcionalmente ramificado.

4. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2 en el que Alk representa el grupo (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, designando n un número entero que va de 1 a 6.

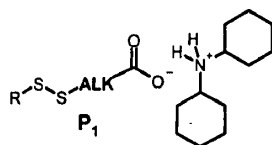
5. Procedimiento según la reivindicación 1 en el que la cetona es la MIBK.

20 6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que después de haber hecho reaccionar P<sub>1</sub> y DSC, se enfría la mezcla de reacción para favorecer la precipitación de P<sub>2</sub>.

7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 6 en el que P<sub>2</sub> se elimina mediante una separación mecánica.

8. Procedimiento según la reivindicación 7 en el que la separación mecánica es una filtración.

9. Producto de fórmula P<sub>1</sub>:



25 en la que R y Alk son tal como se definen en una de las reivindicaciones 1 a 4.

10. Producto según la reivindicación 9 de fórmula:

