

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 649**

51 Int. Cl.:

**C07D 491/22** (2006.01)

**C07F 7/08** (2006.01)

**C07F 7/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.10.2015 PCT/US2015/056499**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.04.2016 WO16064900**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2015 E 15852329 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3209666**

54 Título: **Métodos y sistemas para la síntesis del análogo de camptotecina**

30 Prioridad:

**22.10.2014 US 201462067065 P**

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

**20.04.2020**

73 Titular/es:

**VIVACITAS ONCOLOGY INC. (100.0%)  
1990 North California Boulevard, 8th Floor  
Walnut Creek CA 94596 , US**

72 Inventor/es:

**LI, BIN-FENG y  
YUAN, KE**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 754 649 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).

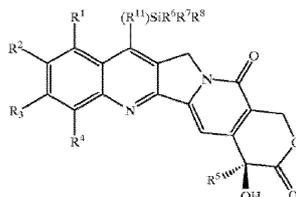
## DESCRIPCIÓN

Métodos y sistemas para la síntesis del análogo de camptotecina

## Antecedentes

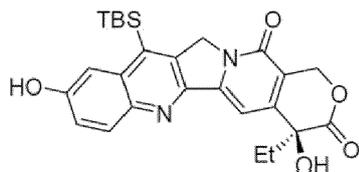
5 La camptotecina es un inhibidor de topoisomerasa I aislado originalmente a partir de la corteza y tallo de *Camptotheca acuminata* (*Camptotheca*, árbol feliz), un árbol nativo de China.

Los análogos de camptotecina que tienen propiedades anti-cancerígenas y anti-tumorales se describen en la Patente de EE.UU. número 6.136.978. En un aspecto, estos análogos de camptotecina tienen la siguiente estructura general (Fórmula I) descrita en la Patente de EE.UU. número 6.136.978 ("patente '978"):



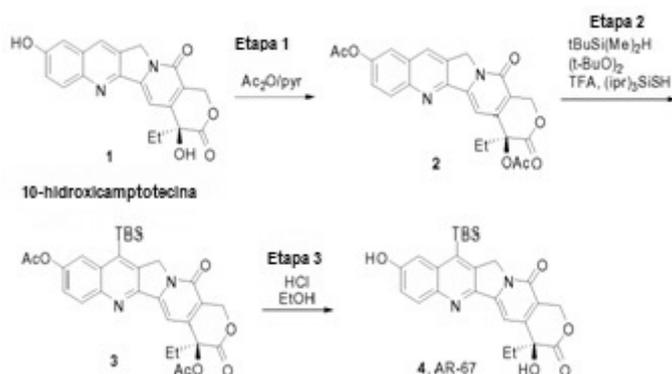
10 Donde R<sup>1</sup>-R<sup>11</sup> se definen como en la '978 (p.ej., col. 3, línea 35 – col. 4, línea 65).

De particular interés es un análogo de camptotecina conocido como AR-67 o DB-67-10-hidroxi-7-terc-butildimetilsilicamptotecina)) (Fórmula II) que tiene la estructura mostrada a continuación:



15 Las topoisomerasas regulan el enrollado y desenrollado de las hebras de ADN. Las camptotecinas son inhibidores de ADN topoisomerasa I que estabilizan las roturas monocatenarias en el ADN que llevan a la apoptosis y muerte celular. Un esquema general para sintetizar el compuesto de Fórmula I se proporciona en la Figura 1 de la patente '978.

Un esquema general conocido para sintetizar AR-67 (el compuesto de Fórmula II) se muestra a continuación:



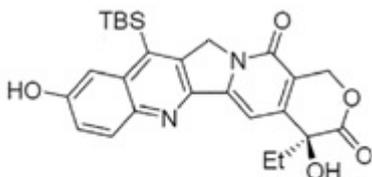
20 En este método de síntesis, el material de partida, 10-hidroxicamptotecina, es un producto natural obtenido de *Camptotheca acuminata* que necesita un manejo especial debido a la toxicidad. Además, el coste de este material de partida es alto. Por consiguiente, el uso de métodos de síntesis conocidos para fabricar los análogos de camptotecina de Fórmula I y, en particular, AR-67, pueden tener un coste prohibitivo debido al coste de los materiales de partida e instalaciones y manejo especiales necesarios para los materiales de partida e intermedios.

El documento US 6.372.906 B1 describe un proceso para preparar AR-67 partiendo de la camptotecina.

25 Lo que se necesita es un método menos costoso, mejorado, para hacer, formar o sintetizar los compuestos de Fórmula I, que incluyen AR-67, con mayores rendimientos, menos impurezas, menor coste y menos riesgo.

**Compendio**

En otro aspecto, los métodos se describen en la presente memoria para la síntesis del compuesto de Fórmula II:



Fórmula II

En aún un aspecto, un método ejemplar para sintetizar los compuestos de Fórmula II se muestra en la Figura 1.

- 5 En este aspecto, los materiales sintéticos pueden usarse como materiales de partida (p.ej., propano-1,3-ditioil y 3-hidroxibenzaldehído) dando por resultado menor riesgo de toxicidad. En otro aspecto, los métodos de síntesis descritos en la presente memoria dan por resultado rendimientos de Fórmula II de más de aproximadamente 0,4%.

**Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 muestra un esquema de síntesis de ocho pasos ejemplar para AR-67;

- 10 La Figura 2 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AP4622-1 en la etapa 1 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

La Figura 3 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AP4622-2 en la etapa 2 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

- 15 La Figura 4 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AP4622-3 en la etapa 3 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

La Figura 5 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AP4622-4 en la etapa 4 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

La Figura 6 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AP4622-5 en la etapa 5 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

- 20 La Figura 7 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AP4622-6 en la etapa 6 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

La Figura 8 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AP4622 en la etapa 7 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

- 25 La Figura 9 muestra un espectro LC-MS ejemplar para la síntesis de AP4622 en la etapa 7 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

La Figura 10 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AR-67 en la etapa 8 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

La Figura 11 muestra un espectro HPLC ejemplar para la síntesis de AR-67 en la etapa 8 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

- 30 La Figura 12 muestra un espectro HPLC quiral ejemplar para la síntesis de AR-67 en la etapa 8 del esquema de síntesis de la Fig. 1; y

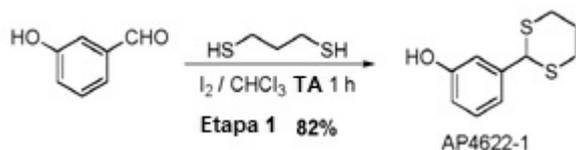
La Figura 13 muestra un espectro RMN ejemplar para la síntesis de AR-67-RAC en la etapa 9 del esquema de síntesis de la Fig. 1;

**Descripción detallada**

- 35 Antes de describir varios aspectos ejemplares descritos en la presente memoria, se va a entender que la invención no está limitada a los detalles de construcción o etapas de proceso descritos en la siguiente descripción. Los aspectos descritos en la presente memoria son capaces de ponerse en práctica o realizarse de varias formas. Por ejemplo, el (los) compuesto(s) en cada etapa del método de síntesis ejemplar puede convertirse a otro compuesto mediante una variedad de metodologías conocidas por los expertos en la técnica además de los métodos descritos en la presente memoria (p.ej., reactivos alternativos, temperaturas, tiempo de reacción y tiempos de agitación).
- 40

Los aspectos descritos en la presente memoria proporcionan métodos y sistemas para la síntesis de AR-67 (Fórmula II). En un aspecto, los métodos y sistemas usan materiales de partida sintéticos y significativamente menos tóxicos que los métodos y sistemas anteriores y dan por resultado un rendimiento aumentado con menos impurezas. En otro aspecto, se proporcionan los intermedios en la síntesis de los análogos de camptotecina.

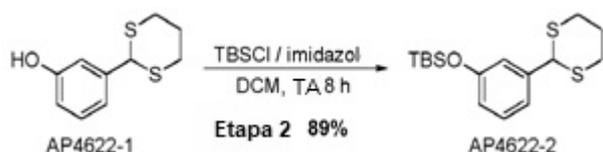
5 En un aspecto, la etapa 1 de un método de síntesis ejemplar comprende:



10 En la etapa 1, se añade propano-1,3-ditio (21,64 g, 200 mmoles) en gotas a una disolución de yodo (5,08 g, 20 mmoles) y 3-hidroxibenzaldehído (24,42 g, 200 mmoles) en  $\text{CHCl}_3$  (500 mL) a temperatura ambiente (TA). La mezcla de reacción se agita durante 1 hora a TA, después se desactiva mediante la adición de una disolución de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5%, 150 mL) y se extrajo con DCM (250 mL x 2).

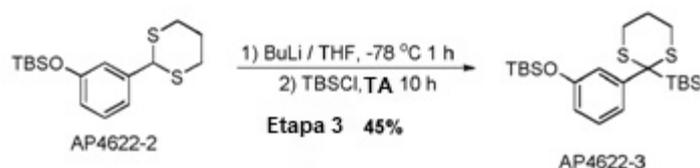
Las fases orgánicas combinadas pueden secarse sobre  $\text{MgSO}_4$ , concentrarse *al vacío* y purificarse por cromatografía rápida (AE:Hex = 1:5) para dar AP4622-1 como un polvo blanco, 34,82 g, 82% de rendimiento.  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,20 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 7,8, 2,1 Hz, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,89 (s, 1H), 3,02 (m, 2H), 2,92 (m, 2H), 2,16 (m, 1H), 1,95 (m, 1H) (Figura 2).

15 En este aspecto, la etapa 2 de un método de síntesis ejemplar comprende:



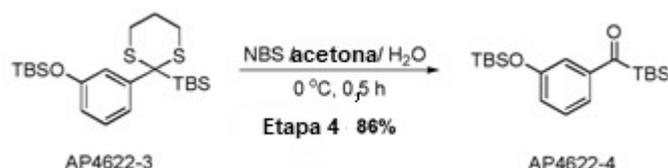
20 En la etapa 2, en argón, una disolución de TBSCl (120 mmoles, 18,09 g) en DCM (50 mL) se añade en gotas a una disolución de AP4622-1 (100 mmoles, 21,23 g) e imidazol (130 mmoles, 8,85 g) en DCM (250 mL) a  $0^\circ\text{C}$ . Después, la mezcla de reacción se agita toda la noche a TA, se lava con agua (200 mL, 2), se seca sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentra *al vacío*. El residuo puede purificarse por cromatografía rápida (AE:Hex = 1:20) para dar AP4622-2 como un aceite amarillo claro, 29,07 g, 89% de rendimiento.  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,20 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,98 (t, J = 1,8 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 7,8, 1,8 Hz, 1H), 5,12 (s, 1H), 3,07 (m, 2H), 2,94 (m, 2H), 2,17 (m, 1H), 1,98 (m, 1H), 1,02 (s, 9H), 0,23 (s, 6H) (Figura 3).

En este aspecto, la etapa 3 de un método de síntesis ejemplar comprende:



25 En la etapa 3, en argón, n-BuLi (43,6 mL, 2,2 M en hexano, 96 mmoles) se añade en gotas a una disolución de AP4622-2 (26,13 g, 80 mmoles) en THF (350 mL) a  $-78^\circ\text{C}$ . La mezcla resultante puede agitarse durante 1h adicional a  $-78^\circ\text{C}$  seguido por adición de TBSCl (16,58 g, 110 mmoles) y agitación adicional durante 10 horas a TA. Una disolución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (150 mL) puede añadirse para desactivar la reacción. La mezcla puede extraerse con AE (acetato de etilo) (250 mL x 2) y las fases orgánicas combinadas pueden secarse en  $\text{MgSO}_4$ , concentrarse al vacío, y purificarse por cromatografía rápida (AE:Hex = 1:50) para dar AP4622-3 como un aceite incoloro, 15,87 g, 45% de rendimiento.  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,57 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,21 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 6,67 (dd, J = 7,8, 2,1 Hz, 1H), 2,83 (m, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,07 (m, 1H), 1,88 (m, 1H), 1,00 (s, 9H), 0,83 (s, 9H), 0,23 (s, 6H), 0,16 (s, 9H) (Figura 4).

35 En este aspecto, la etapa 4 de un método de síntesis ejemplar comprende:



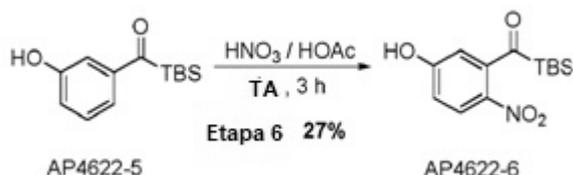
En la etapa 4, una disolución de AP4622-3 (4,41 g, 10 mmoles) en acetona (35 mL) se añade en gotas a una disolución de NBS (8,90 g, 50 mmoles) en acetona/agua (60 mL/50 mL) a 0°C. Durante la adición, el pH se mantiene neutro por adición simultánea de Et<sub>3</sub>N. La mezcla resultante se agita durante 0,5 h adicionales a 0°C. Una disolución de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (5%, 150 mL) se añade para desactivar la reacción. La mezcla se extrajo con AE (100 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se concentraron *al vacío* y se purificaron por cromatografía rápida (AE: Hex = 1:100) para dar AP4622-4 como un aceite amarillo, 3,02 g, 86% de rendimiento. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,41 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,32 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,23 (s, 1H), 6,99 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 0,99 (s, 9H), 0,96 (s, 9H), 0,36 (s, 6H), 0,21 (s, 9H) (Figura 5).

En este aspecto, la etapa 5 del método de síntesis ejemplar comprende:



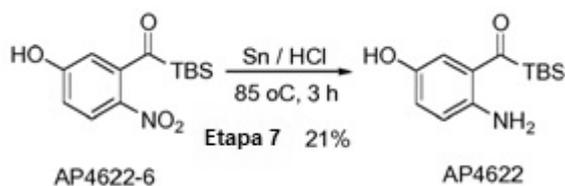
15 En la etapa 5, se añade trihidrato de fluoruro de tetrabutilamonio (3,155 g, 10,0 mmoles) a una disolución de AP4622-4 (1,753 g, 5,0 mmoles) en MeOH (20 mL) y la mezcla de reacción se agita durante 2 horas a TA. El disolvente se evaporó *al vacío*. El residuo se diluye con acetato de etileno (AE) (100 ml), se lava con agua (50 mL x 3), se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, y se concentra *al vacío* para proporcionar AP4622-5 como un polvo amarillo, 1,075 g, 91% de rendimiento. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,40 (m, 1H), 7,32 (m, 2H), 7,04 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 6,04 (s, 1H), 0,96 (s, 9H), 0,37 (s, 6H) (Figura 6).

En este aspecto, la etapa 6 del método de síntesis ejemplar comprende:



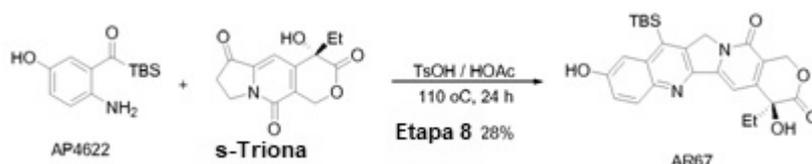
25 En la etapa 6, se añade HNO<sub>3</sub> (35%, 1,44 g, 8,0 mmoles) en gotas a una disolución de AP4622-5 (945 mg, 4,0 mmoles) en HOAc (10 mL) a 16°C, la mezcla de reacción se agita durante 3 h a TA, se vierte en agua helada (50 mL) y se extrae con acetato de etileno (30 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavan con agua (20 mL) y salmuera (20 mL), se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se concentra *al vacío*, y se purifica por cromatografía rápida (AE:Hex = 1:6) para dar AP4622-6 como un polvo amarillo, 304 mg, 27% de rendimiento. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,07 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,99 (s, br, 1H), 6,90 (dd, J = 2,7, 9,0 Hz, 1H), 6,51 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 0,96 (s, 9H), 0,19 (s, 6H) (Figura 7).

En este aspecto, la etapa 7 del método de síntesis ejemplar comprende:



30 En la etapa 7, se añade polvo de estaño (594 mg, 5,0 mmoles) a una mezcla de AP4622-6 (281 mg, 1,0 mmoles) y HCl (3 M, 10 mL) y la mezcla de reacción se agita durante 3 horas a 85°C. Después de enfriar, la mezcla se extrae con diclorometano (DCM) (20 mL x 3), las fases orgánicas combinadas se neutralizan con Et<sub>3</sub>N, se secan sobre MgSO<sub>4</sub>, se concentran *al vacío* y se purifican por cromatografía rápida (AE:Hex = 1:10) para dar AP4622-7 como un polvo amarillo, 53 mg, 21% de rendimiento. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,76 (s, 1H), 7,12 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 6,76 (m, 3H), 6,60 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,31 (s, 6H) (Figura 8). LCMS: M+1 = 252 (Figura 9).

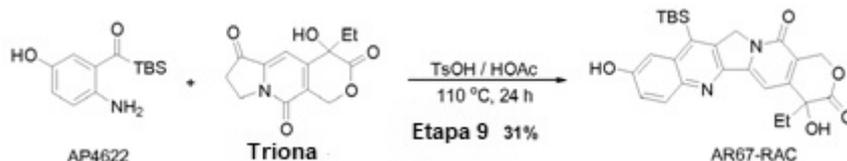
En este aspecto, la etapa 8 del método de síntesis ejemplar comprende:



En la etapa 8, una disolución de AP4622 (2,01 g, 8,0 mmoles), s-Triona (1,84 g, 7,0 mmoles) y TsOH (10 mg, cat) en

HOAc (25 mL) se agita durante 24 horas a 110°C. Después de enfriar, el disolvente se elimina *al vacío*. El residuo se purifica por cromatografía rápida (MeOH:DCM = 1:100) para dar AR67 como un polvo amarillo, 950 mg, 28% de rendimiento. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,35 (s, 1H), 8,02 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,39 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,21 (s, 2H), 1,85 (m, 2H), 0,96 (s, 9H), 0,87 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,65 (s, 6H) (Figura 10). Pureza de HPLC: 99,1% (Figura 11). Pureza de HPLC quiral: >99% (Figura 12).

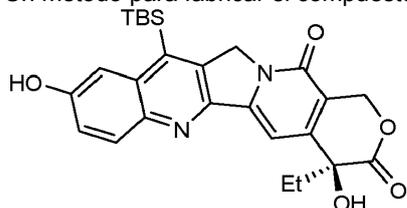
En este aspecto, la etapa 9 del método de síntesis ejemplar comprende:



En esta etapa, una disolución de AP4622 (2,01 g, 8,0 mmoles), Triona (1,84 g, 7,0 mmoles) y TsOH (10 mg, cat) en HOAc (25 mL) se agita durante 24 h a 110°C. Después de enfriar, el disolvente se elimina *al vacío*. El residuo se purificó por cromatografía rápida (MeOH:DCM = 1:100) para dar AP4622-RAC (racémico) como un polvo amarillo, 1,04 g, 31% de rendimiento. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,35 (s, 1H), 8,03 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,38 (dd, J = 2,4, 9,0 Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,21 (s, 2H), 1,85 (m, 2H), 0,96 (s, 9H), 0,87 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,65 (s, 6H) (Figura 13).

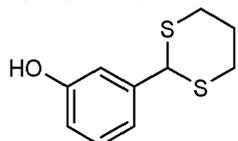
REIVINDICACIONES

1. Un método para fabricar el compuesto AR-67



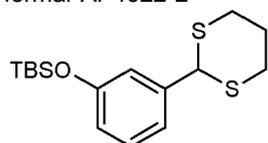
5 Que comprende:

Formar AP4622-1

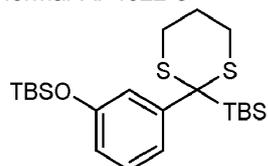


A partir de propano-1,3-ditio y 3-hidroxibenzaldehído;

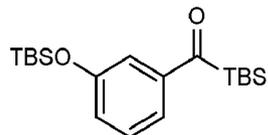
Añadir una disolución a TBSCl (cloruro de *tert*-butildimetilsililo) a una disolución de AP4622-1 e imidazol para formar AP4622-2



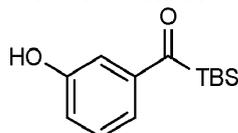
10 Añadir *n*-BuLi a una disolución de AP4622-2 para formar una primera mezcla y añadir TBSCl a la mezcla para formar AP4622-3



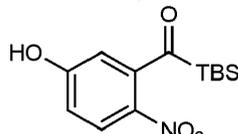
Añadir a la disolución de AP4622-3 a una disolución de NBS (N-bromosuccinimida para formar AP4622-4



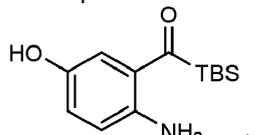
15 Añadir trihidrato de fluoruro de tetrabutilamonio a una disolución de AP4622-4 para formar AP4622-5



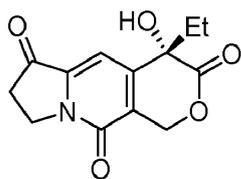
Añadir HNO<sub>3</sub> a una disolución de AP4622-5 para formar AP4622-6



20 Añadir polvo de estaño a una mezcla de AP4622-6 para formar AP4622



combinar AP4622 y s-triona



En presencia de TsOH (ácido toluensulfónico) para formar AR67.



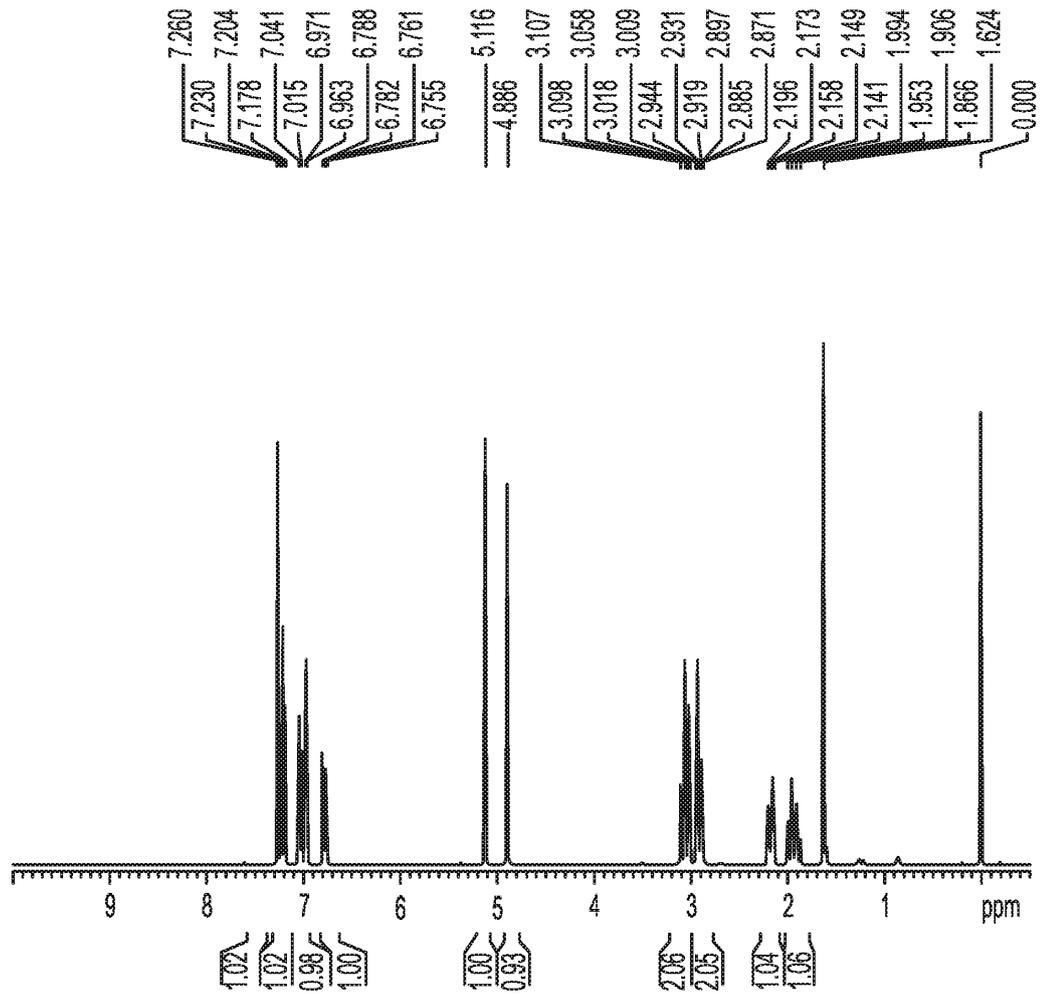


FIG. 2

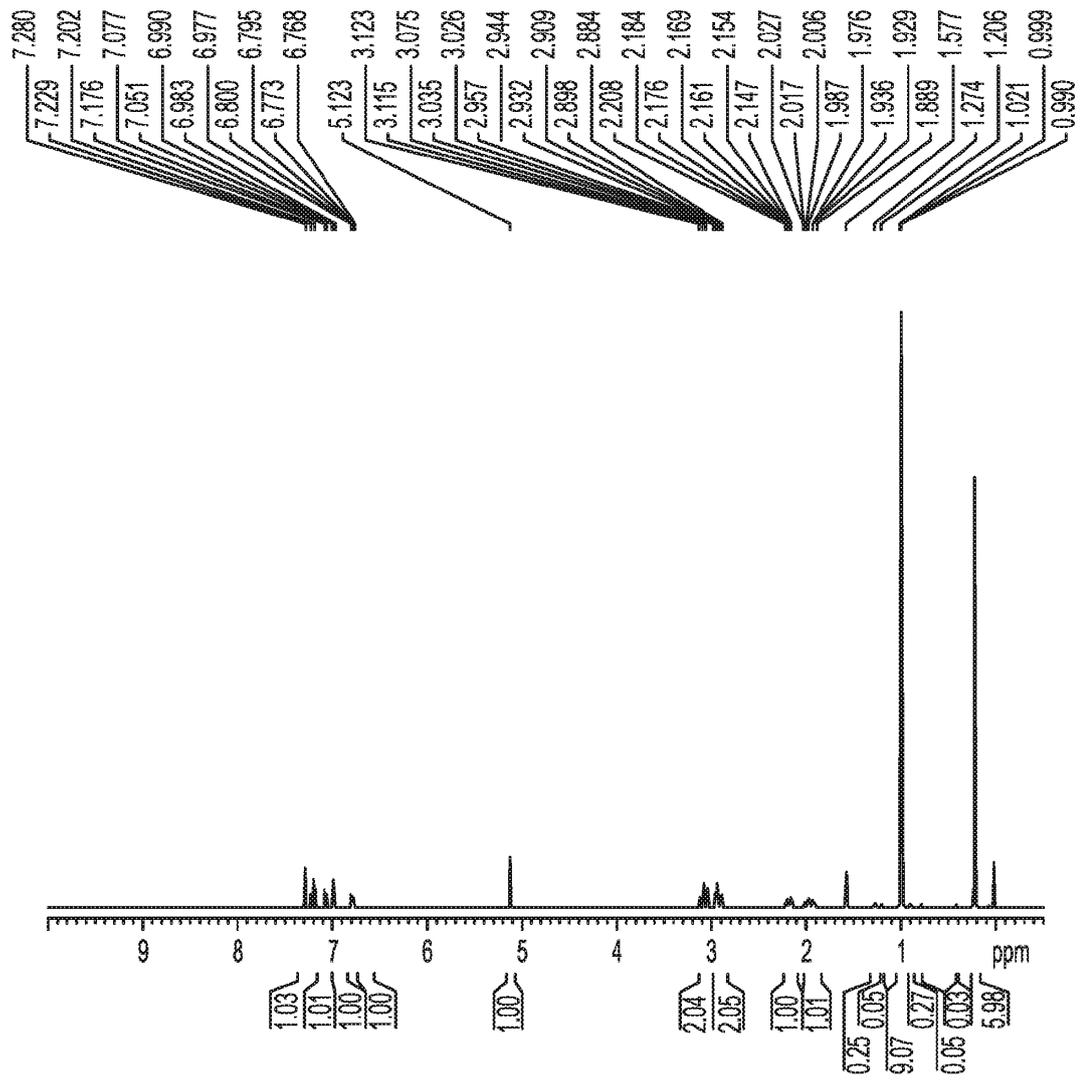


FIG. 3

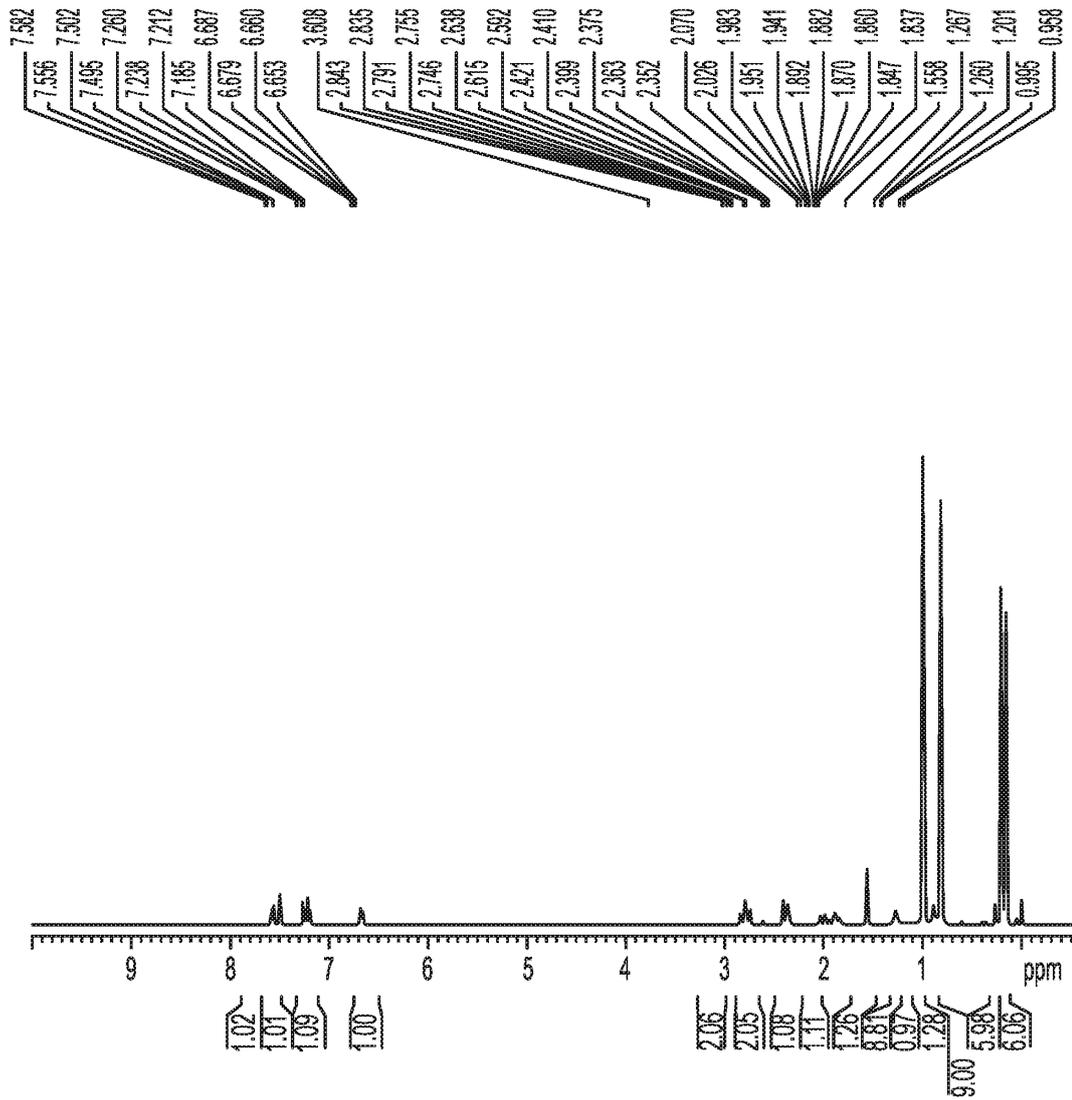


FIG. 4

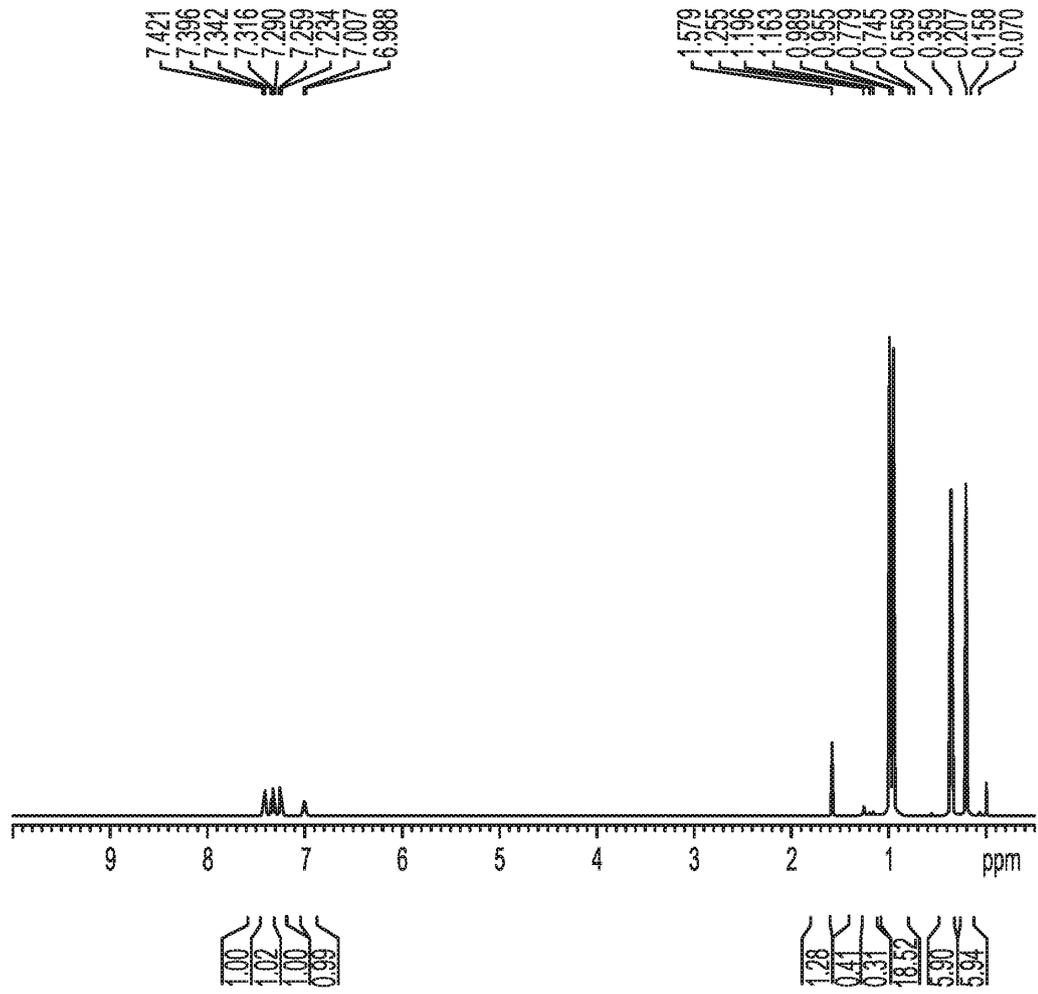


FIG. 5

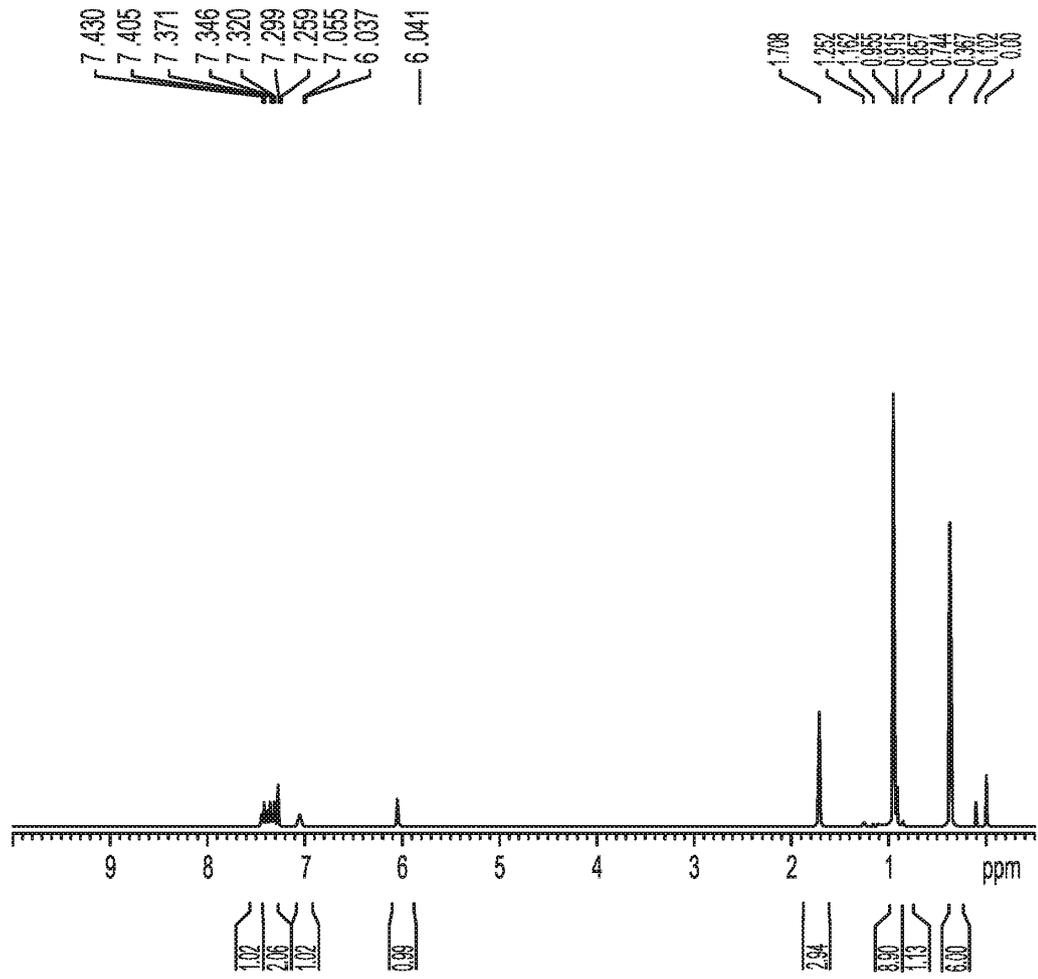


FIG. 6

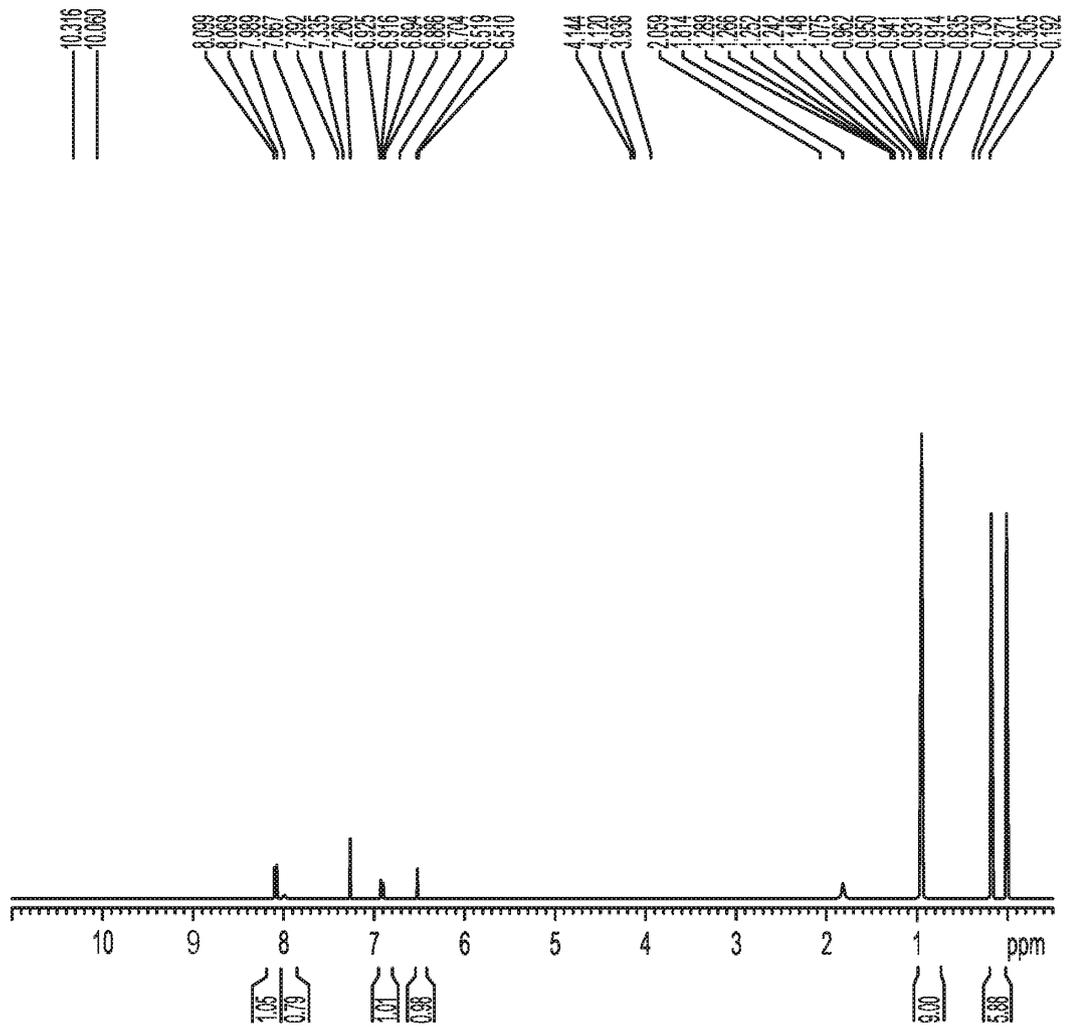


FIG. 7

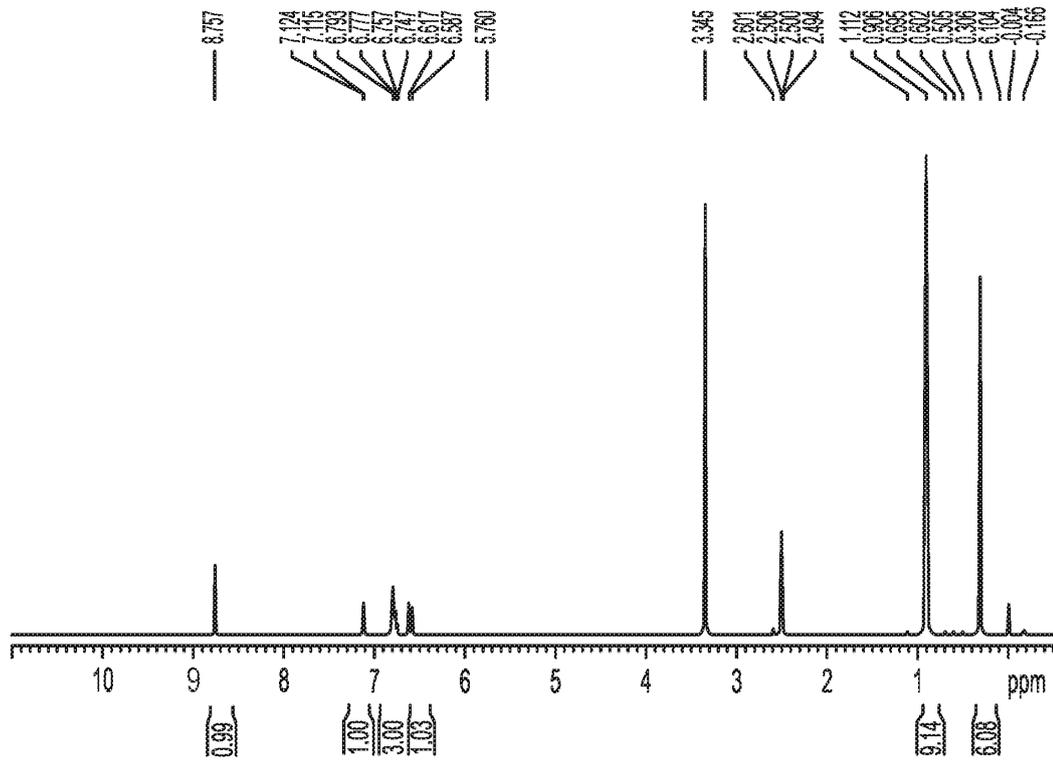


FIG. 8

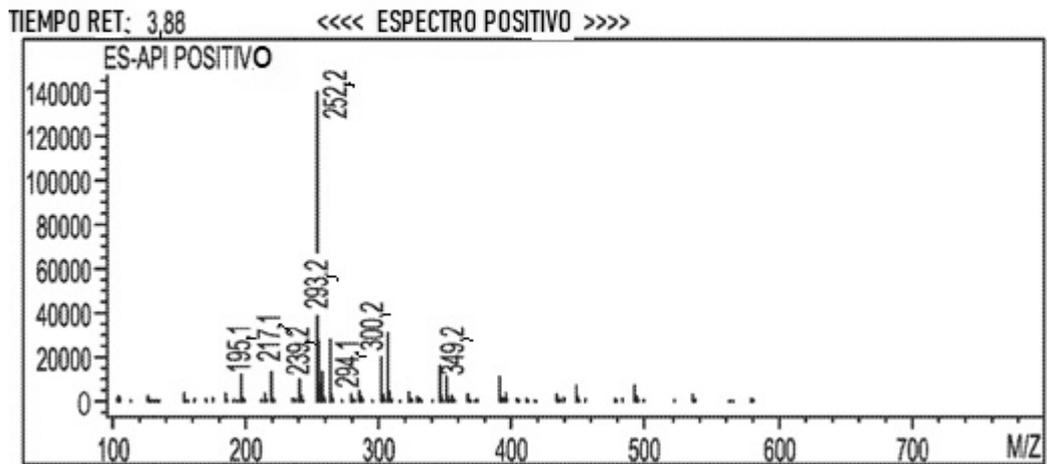
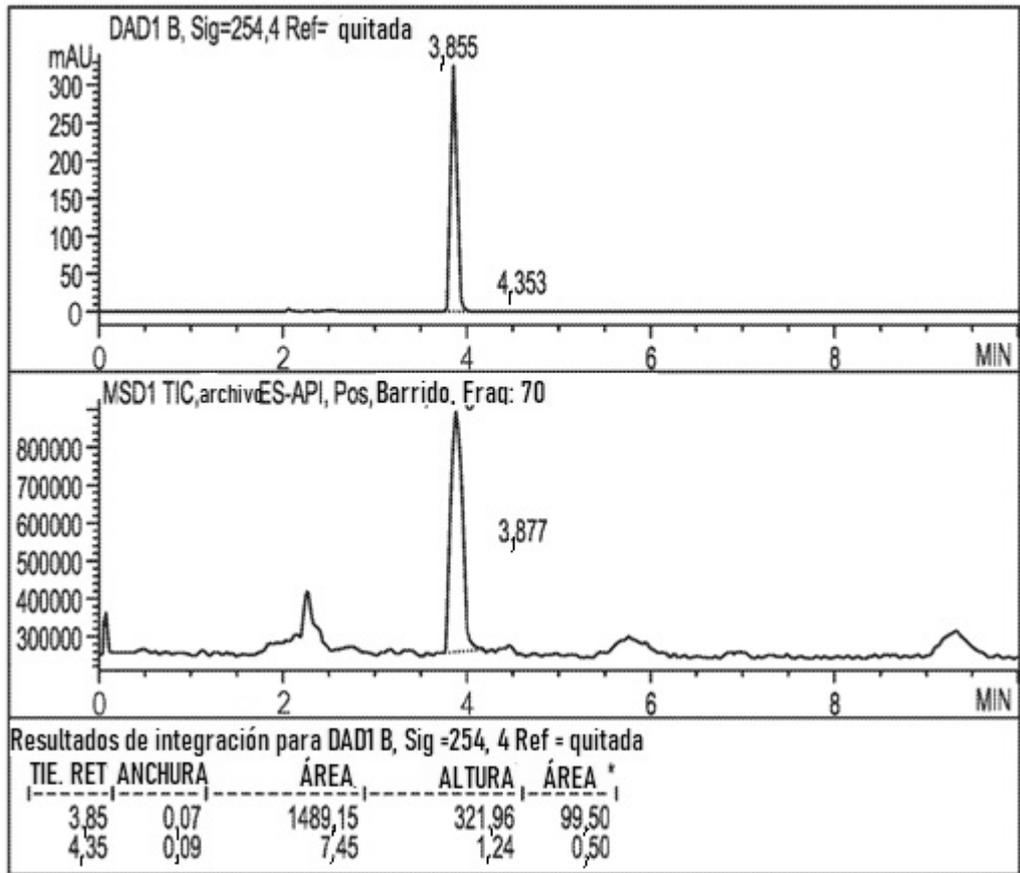


FIG. 9

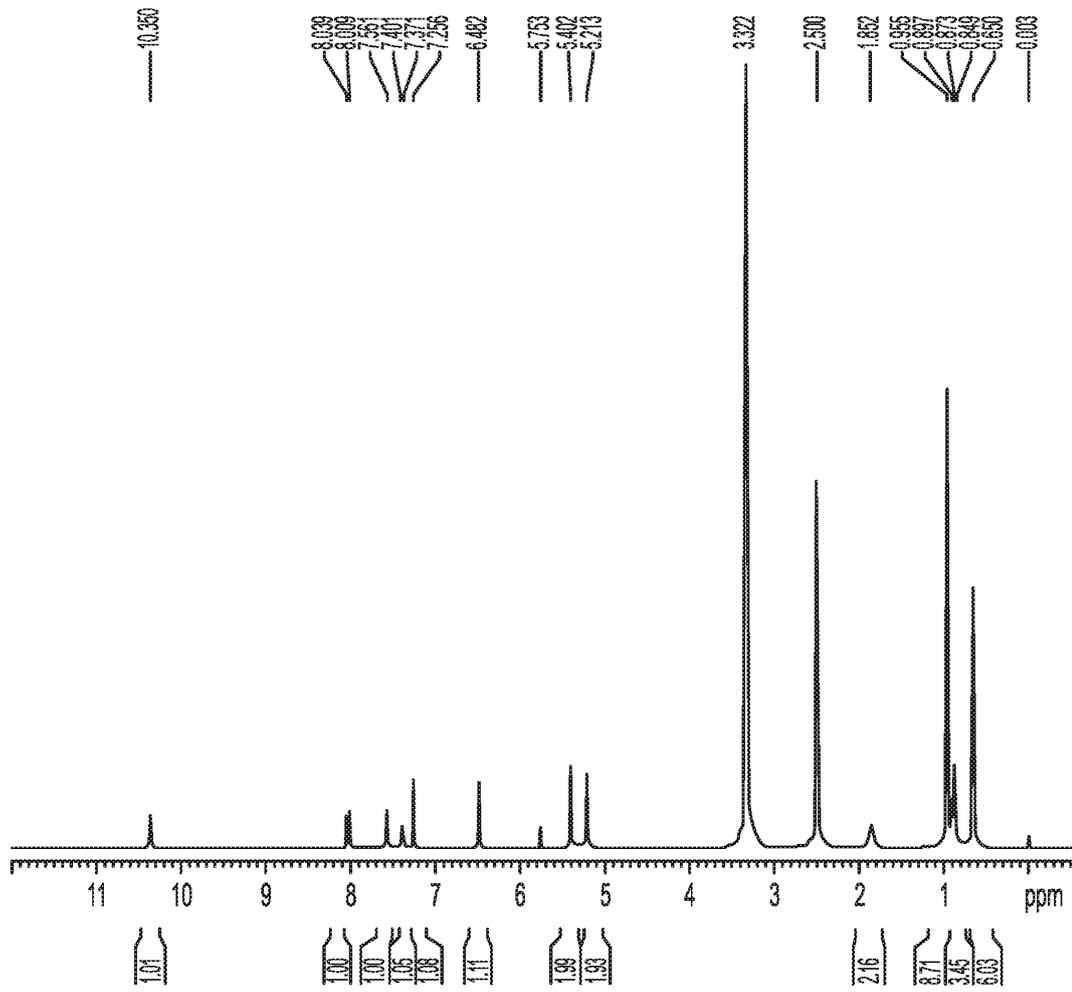
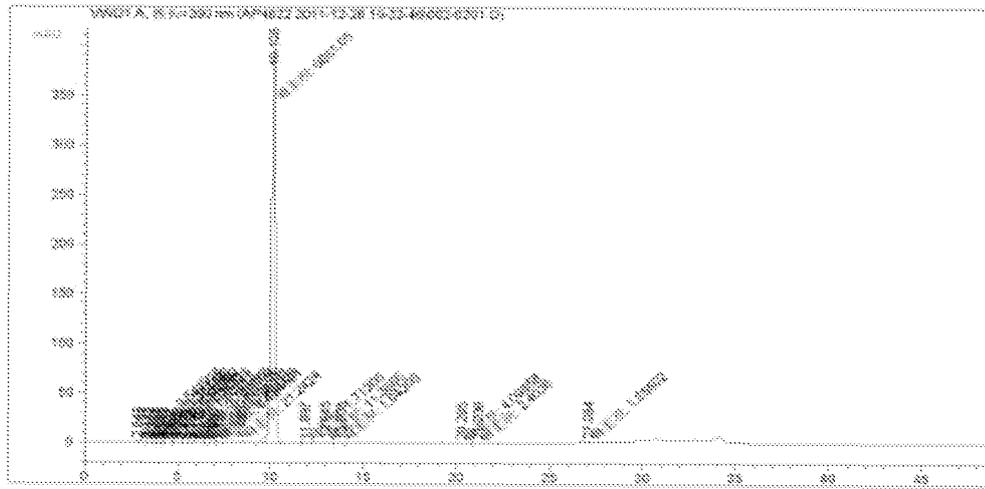


FIG. 10



#	[m/z]	[int]	label	isotope	abundance	error
1	2.144	100			1.134001e+1	0.007e+0
2	3.121	100			3.074666e+0	0.166e+0
3	3.442	100			1.964077e+1	0.022e+0
4	3.788	100			4.487454e+0	0.747e+0
5	3.784	100			0.155070e+1	0.0215
6	4.010	100			0.105400e+0	0.108e+0
7	4.431	100			0.105080e+0	0.108e+0
8	4.969	100			0.100000e+0	0.0000
9	5.471	100			0.170170e+0	0.0100
10	6.109	100			1.200000e+0	1.700e+0
11	6.110	100			0.180000e+0	0.0101
12	6.628	100			1.370000e+0	1.800e+0
13	6.709	100			0.170000e+0	0.110e+0
14	7.107	100			1.107000e+0	1.010e+0
15	8.480	100			1.007100	0.4400
16	10.109	100			0.000000e+0	0.0000
17	11.047	100			0.107000e+0	0.0100
18	12.045	100			4.470000e+1	0.1000
19	13.000	100			0.100000e+0	0.0000
20	20.000	100			0.000000e+0	0.0000
21	31.000	100			0.000000e+0	0.0000
22	43.000	100			0.000000e+0	0.0000
23	55.000	100			0.000000e+0	0.0000
24	67.000	100			0.000000e+0	0.0000

Fig. 11

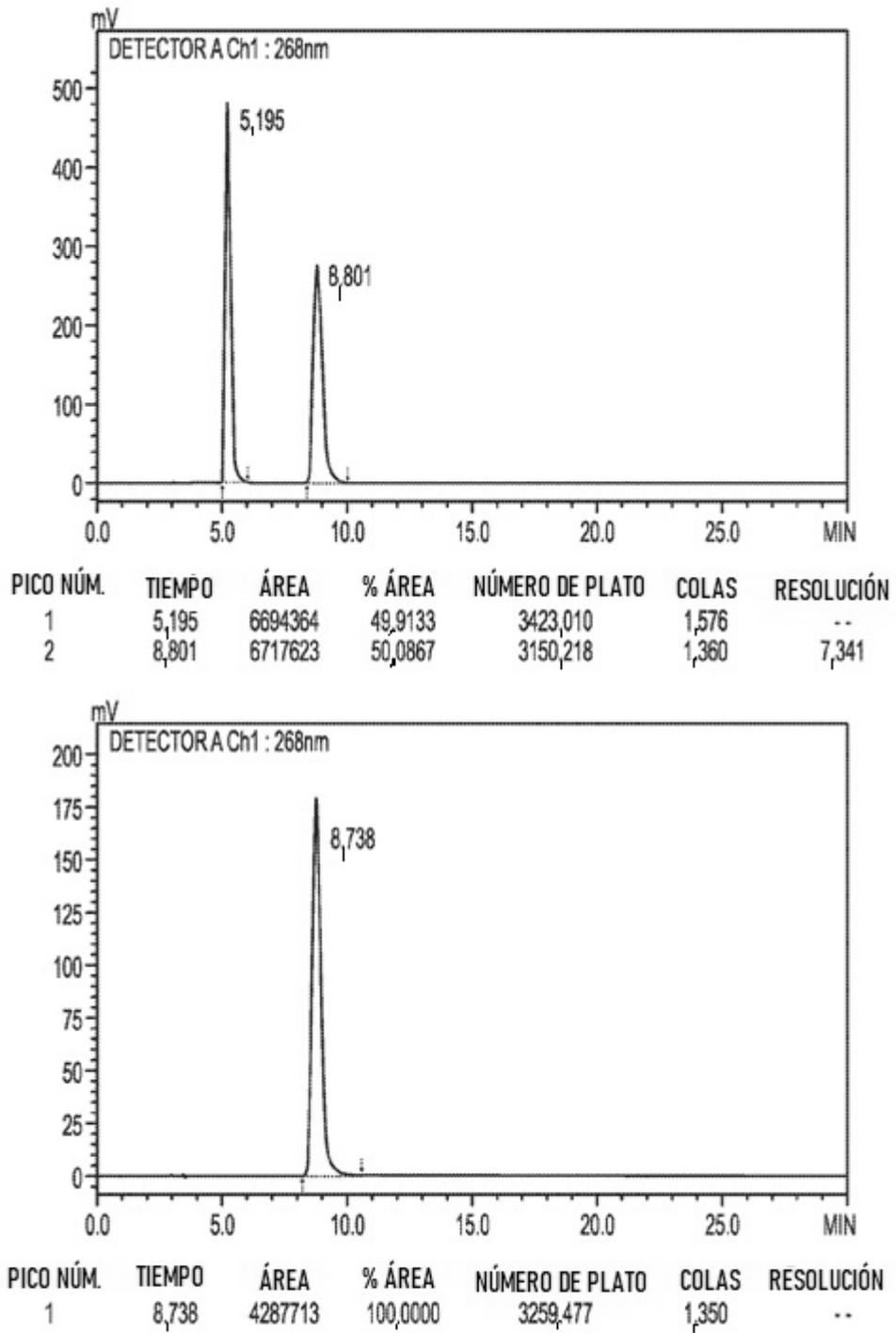


FIG. 12

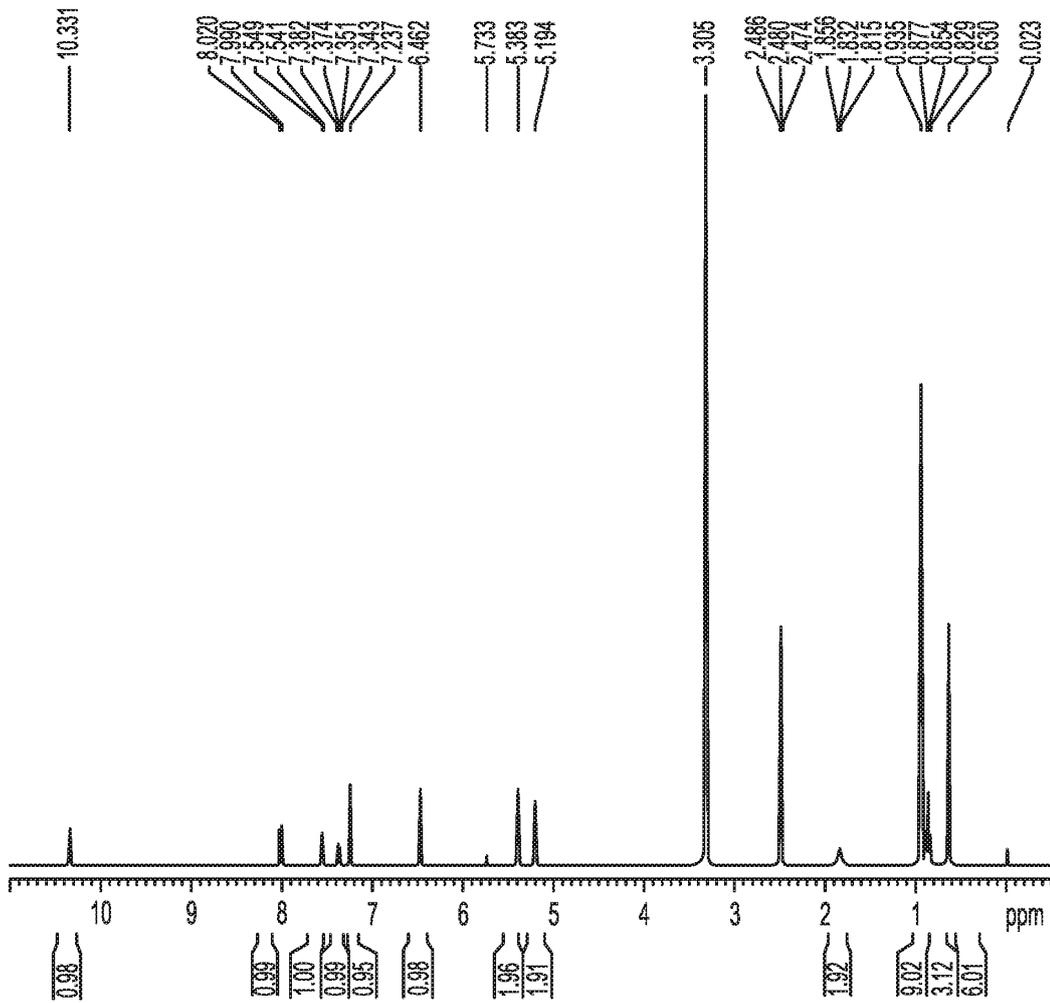


FIG. 13