PROCEDE DE PREPARATION DU TRIHYDRATE DU (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE DE 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β–DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YLE

La présente invention concerne un procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyl-oxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle.

Le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle (ou paclitaxel) présente des propriétés anticancéreuses et antileucémiques remarquables.

Le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle peut être soit isolé à partir de l'écorce des ifs soit préparé à partir de la baccatine III ou de la 10-désacétyl-baccatine III selon les procédés qui sont décrits plus particulièrement dans les demandes de brevets européens EP 0 336 840 ou EP 0 400 971 ou dans la demande internationale PCT WO 94/07878.

Il a été trouvé que le trihydrate du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle présente une stabilité très nettement supérieure à celle du produit anhydre.

Selon l'invention, le trihydrate du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle peut être obtenu après cristallisation du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans un mélange d'eau et d'un alcool aliphatique contenant 1 à 3 atomes de carbone, suivi du séchage du produit obtenu sous pression réduite et ensuite d'un maintien dans une humidité relative supérieure à 20 % à une température voisine de 25°C.

This Sheet Has Been Replaced



Pour la mise en oeuvre du procédé selon l'invention, il peut être particulièrement avantageux

- de mettre en solution ou en suspension le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans un alcool aliphatique contenant 1 à 3 atomes de carbone,
- de traiter la solution ou la suspension par de l'eau contenant éventuellement une base minérale telle que l'hydrogénocarbonate de sodium,
- de séparer les cristaux obtenus, puis
- de les sécher sous pression réduite, puis
- de les maintenir éventuellement en atmosphère dont l'humidité relative est supérieure à 20 % à une température voisine de 25°C.

Généralement, le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle est dissous dans un excès de l'alcool aliphatique, de préférence le méthanol. De préférence, la quantité d'alcool est comprise entre 6 et 12 parties en poids par rapport au (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle mis en oeuvre.

Généralement, l'eau est ajoutée de telle façon que le rapport pondéral eau/alcool soit compris entre 3/1 et 1/3. L'eau ajoutée peut contenir jusqu'à 10 % (p/v) d'une base minérale telle que l'hydrogénocarbonate de sodium de façon que le pH du mélange réactionnel soit supérieur ou égal à 7, de préférence compris entre 7 et 8, avant la séparation des cristaux.

Le trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle qui cristallise est séparé, de préférence par filtration ou centrifugation, puis séché. Le séchage est effectué sous pression réduite, comprise entre 1 et 7 kPa, à une température voisine de 40°C et le produit obtenu est éventuellement maintenu dans une atmosphère dont l'humidité relative est supérieure à 20 % et à une température comprise entre 0 et 60°C, de préférence voisine de 25°C.

Pour la mise en oeuvre du procédé, il peut être avantageux d'effectuer la cristallisation en présence d'acide ascorbique qui est ajouté lors de la dissolution ou de

This Sheet Has Been Replaced

la mise en suspension du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans l'alcool. Il est possible d'utiliser jusqu'à 1 % en poids d'acide ascorbique.

Le trihydrate du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle a été étudié par analyses thermogravimétrique et calorimétrique différentielle et par diffraction par les rayons X.

Plus particulièrement, l'analyse thermogravimétrique montre une perte de masse entre 25 et 140°C voisine de 6 %, ce qui correspond à trois molécules d'eau pour une molécule de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle.

Pour la mise en oeuvre du prodédé selon l'invention, lorsque l'on utilise du paclitaxel semi-synthétique obtenu selon les procédés qui sont décrits par exemple dans les brevets européens EP 0 336 840 ou EP 0 400 971 ou dans la demande internationale PCT WO 94/07878 qui conduisent intermédiairement au paclitaxel dont les fonctions hydroxy sont protégées, il est possible d'opérer directement sur la solution ou sur la suspension du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle obtenu après élimination des groupements protecteurs des fonctions hydroxy du cycle taxane et de la chaîne latérale. Par exemple, en opérant dans les conditions de la demande internationale PCT WO 94/07878, on obtient intermédiairement le (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-méthoxy-phényl)-4-phényl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1-hydroxy-7β-triéthylsilyloxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dont les groupements protecteurs peuvent être éliminés au moyen d'acide trifluoroacétique dans le méthanol.

Les exemples suivants illustrent la présente invention.

EXEMPLE 1

Dans un réacteur à l'abri de la lumière, on introduit 5,014 g de (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-méthoxyphényl)-4-phényl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate de 4,10-

This Sheet Has Been Replaced

diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1-hydroxy-7β-triéthylsilyloxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dont le titre est de 98 % (4,52 mmoles) et 50 cm3 de méthanol. A la suspension blanche agitée, on ajoute rapidement 7 cm3 d'acide trifluoroacétique. La température monte au voisinage de 35°C. Après refroidissement à une température voisine de 5°C, on ajoute 110 cm3 d'une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium à 6 % (p/v). Le pH est égal à 7. On sépare les cristaux par filtration sur verre fritté et les lave par 4 fois 15 cm3 d'un mélange méthanol-eau (30-70 en volumes). Après séchage sous pression réduite à 35°C, on obtient 3,676 g de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle titrant 93,1 % et contenant environ 4,8 % d'eau.

Le produit obtenu est caractérisé par le diagramme de poudre aux rayons X représenté par la figure 1.

Le rendement en produit pur est de 89,3 % par rapport à l'ester mis en oeuvre.

Maintenu dans des conditions d'humidité relative supérieure à 20 %, le produit se stabilise avec une teneur en eau voisine de 6 %. Le diagramme DPRX (diagramme de poudre aux rayons X), représenté par la figure 2, montre que le produit ainsi obtenu se présente sous forme d'un trihydrate (valeur théorique de la teneur en eau du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyl-oxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle de 5,95 %).

Le diagramme de poudre aux rayons X est réalisé au moyen d'un appareil Philips PW 1700® à tube anti-cathode de cobalt ($\lambda K_{\alpha 1}$ = 1,7889 Å), le balayage étant effectué sous un angle de balayage initial de 5° 2-θ, de balayage final de 40° 2-θ, avec un pas de 0,02°0 2-θ à raison de 1 seconde par pas et en utilisant une pastille de silicium.

This Sheet Has Been Replaced

EXEMPLE 2

Dans un réacteur à l'abri de la lumière, on introduit 3,006 g de (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-méthoxyphényl)-4-phényl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1-hydroxy-7β-triéthylsilyloxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dont le titre est de 98 % (2,70 mmoles) et 30 cm3 de méthanol. A la suspension blanche agitée, on ajoute 6.3 cm3 d'acide trifluoroacétique à 99 %. Après refroidissement à une température voisine de 5°C, on ajoute 7,5 cm3 d'eau déminéralisée en 15 minutes. On sépare les cristaux par filtration sur verre fritté et les lave par 3 fois 5 cm3 d'un mélange méthanol-eau (80-20 en volumes) à 5°C. Après séchage sous pression réduite à 35°C, on obtient 1,989 g de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle titrant 97,8 % et contenant environ 6,8 % d'eau.

Le rendement est de 84,3 % par rapport à l'ester mis en oeuvre.

This Sheet Has Been Replaced



REVENDICATIONS

1 - Procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle caractérisé en ce que l'on cristallise le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans un mélange d'eau et d'un alcool aliphatique contenant 1 à 3 atomes de carbone, puis sèche du produit obtenu sous pression réduite puis le maintient éventuellement dans des conditions d'humidité relative supérieures à 20 %.

2 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le rapport pondéral eau/alcool est compris entre 3/1 à 1/3.

3 - Procédé selon l'une des revendications 1 ou 2 caractérisé en ce que l'alcool est le méthanol.

4 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le séchage est effectué à un température voisine de 40°C sous pression réduite et que le produit se stabilise vers 6% d'eau dans une atmosphère dans laquelle l'humidité relative est supérieure à 20 %.

5 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que la cristallisation est effectuée en présence d'acide ascorbique.

6 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que l'on opère directement in situ sur l'ester résultant de l'estérification de la baccatine III dont la fonction hydroxy en -13 est protégée par un dérivé de la β-phénylisosérine protégé après élimination des groupements protecteurs.

7 - Le trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle.

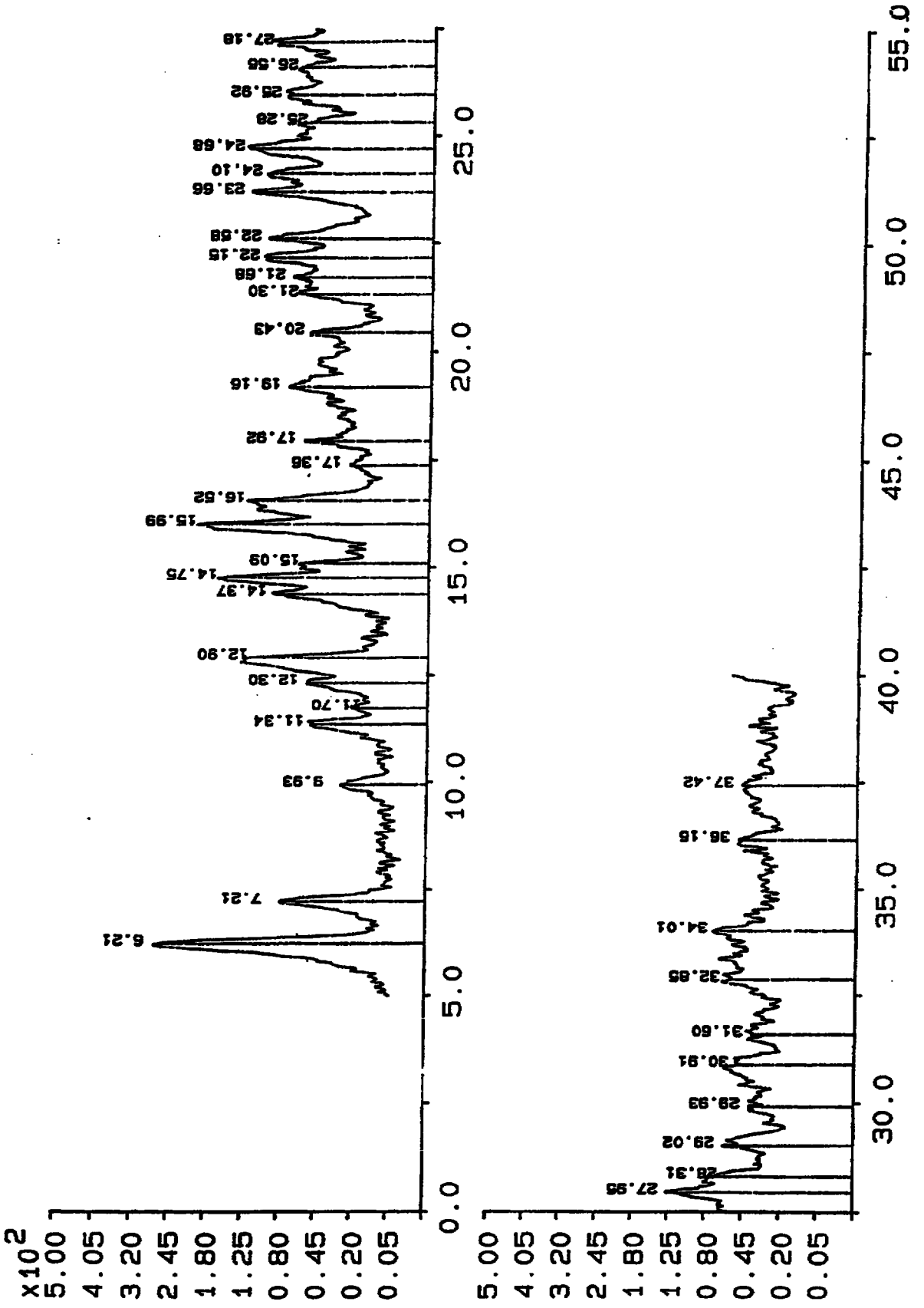


Figure 1

This Sheet Has Been Repla

This Sheet Has Been Replaced

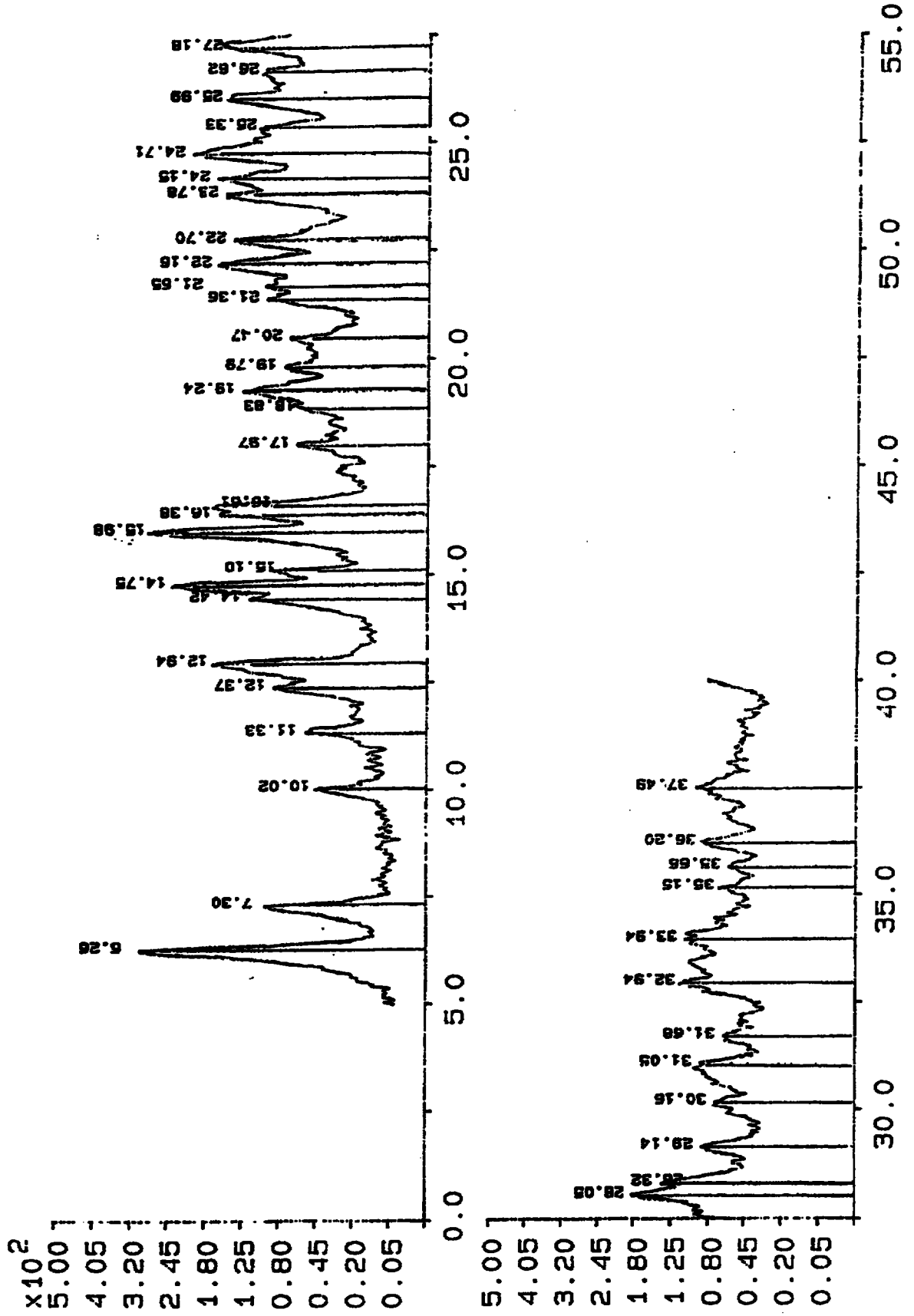


Figure 2

VERSION CORRIGEE*

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets 6 : C07D 305/14, A61K 31/335

A1

(11) Numéro de publication internationale: WO 96/22984

(43) Date de publication internationale: 1er août 1996 (01.08.96)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR96/00104

(22) Date de dépôt international: 23 janvier 1996 (23.01.96)

(30) Données relatives à la priorité:
95/00816 25 janvier 1995 (25.01.95) FR

(71) Déposant *(pour tous les Etats désignés sauf US)*: RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond-Aron, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants *(US seulement)*: AUTHELIN, Jean-René [FR/FR]; 51, résidence Les Cendrennes, F-91180 Saint-Germain-lès-Arpajon (FR). DIDIER, Eric [FR/FR]; 69, avenue des Gobelins, F-75013 Paris (FR). LEVEILLER, Franck [FR/FR]; 2, rue Paul-Cézanne, F-94320 Thiais (FR). TAILLEPIED, Isabelle [FR/FR]; 121, avenue Gambetta, F-94700 Maisons Alfort (FR).

(74) Mandataire: PILARD, Jacques; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond-Aron, F-92165 Antony Cédex (FR).

(81) Etats désignés: AL, AM, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, EE, FI, GE, HU, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, brevet ARIPO (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée
Avec rapport de recherche internationale.

(54) Title: METHOD FOR PREPARING 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YL (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE TRIHYDRATE

(54) Titre: PROCEDE DE PREPARATION DU TRIHYDRATE DU (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE DE 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YLE

(57) Abstract

A method for preparing 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-en-yl-13α (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate by crystallisation from a water/alcohol solution.

(57) Abrégé

Procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-yle-13α par cristallisation à partir d'une solution hydro-alcoolique.

PROCEDE DE PREPARATION DU TRIHYDRATE DU (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE DE 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YLE

La présente invention concerne un procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyl-oxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle.

Le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle (ou paclitaxel) présente des propriétés anticancéreuses et antileucémiques remarquables.

Le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle peut être soit isolé à partir de l'écorce des ifs soit préparé à partir de la baccatine III ou de la 10-désacétyl-baccatine III selon les procédés qui sont décrits plus particulièrement dans les demandes de brevets européens EP 0 336 840 ou EP 0 400 971 ou dans la demande internationale PCT WO 94/07878.

Il a été trouvé que le trihydrate du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle présente une stabilité très nettement supérieure à celle du produit anhydre.

Selon l'invention, le trihydrate du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle peut être obtenu après cristallisation du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans un mélange d'eau et d'un alcool aliphatique contenant 1 à 3 atomes de carbone, suivi du séchage du produit obtenu sous pression réduite et ensuite d'un maintien dans une humidité relative supérieure à 20 % à une température voisine de 25°C.

Pour la mise en oeuvre du procédé selon l'invention, il peut être particulièrement avantageux

- de mettre en solution ou en suspension le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans un alcool aliphatique contenant 1 à 3 atomes de carbone,
- de traiter la solution ou la suspension par de l'eau contenant éventuellement une base minérale telle que l'hydrogénocarbonate de sodium,
- de séparer les cristaux obtenus, puis
- de les sécher sous pression réduite, puis
- de les maintenir éventuellement en atmosphère dont l'humidité relative est supérieure à 20 % à une température voisine de 25°C.

Généralement, le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle est dissous dans un excès de l'alcool aliphatique, de préférence le méthanol. De préférence, la quantité d'alcool est comprise entre 6 et 12 parties en poids par rapport au (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle mis en oeuvre.

Généralement, l'eau est ajoutée de telle façon que le rapport pondéral eau/alcool soit compris entre 3/1 et 1/3. L'eau ajoutée peut contenir jusqu'à 10 % (p/v) d'une base minérale telle que l'hydrogénocarbonate de sodium de façon que le pH du mélange réactionnel soit supérieur ou égal à 7, de préférence compris entre 7 et 8, avant la séparation des cristaux.

Le trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle qui cristallise est séparé, de préférence par filtration ou centrifugation, puis séché. Le séchage est effectué sous pression réduite, comprise entre 1 et 7 kPa, à une température voisine de 40°C et le produit obtenu est éventuellement maintenu dans une atmosphère dont l'humidité relative est supérieure à 20 % et à une température comprise entre 0 et 60°C, de préférence voisine de 25°C.

Pour la mise en oeuvre du procédé, il peut être avantageux d'effectuer la cristallisation en présence d'acide ascorbique qui est ajouté lors de la dissolution ou de

la mise en suspension du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans l'alcool. Il est possible d'utiliser jusqu'à 1 % en poids d'acide ascorbique.

Le trihydrate du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle a été étudié par analyses thermogravimétrique et calorimétrique différentielle et par diffraction par les rayons X.

Plus particulièrement, l'analyse thermogravimétrique montre une perte de masse entre 25 et 140°C voisine de 6 %, ce qui correspond à trois molécules d'eau pour une molécule de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle.

Pour la mise en oeuvre du prodédé selon l'invention, lorsque l'on utilise du paclitaxel semi-synthétique obtenu selon les procédés qui sont décrits par exemple dans les brevets européens EP 0 336 840 ou EP 0 400 971 ou dans la demande internationale PCT WO 94/07878 qui conduisent intermédiairement au paclitaxel dont les fonctions hydroxy sont protégées, il est possible d'opérer directement sur la solution ou sur la suspension du (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle obtenu après élimination des groupements protecteurs des fonctions hydroxy du cycle taxane et de la chaîne latérale. Par exemple, en opérant dans les conditions de la demande internationale PCT WO 94/07878, on obtient intermédiairement le (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-méthoxy-phényl)-4-phényl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1-hydroxy-7β-triéthylsilyloxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dont les groupements protecteurs peuvent être éliminés au moyen d'acide trifluoroacétique dans le méthanol.

Les exemples suivants illustrent la présente invention.

EXEMPLE 1

Dans un réacteur à l'abri de la lumière, on introduit 5,014 g de (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-méthoxyphényl)-4-phényl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate de 4,10-

diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1-hydroxy-7β-triéthylsilyloxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dont le titre est de 98 % (4,52 mmoles) et 50 cm3 de méthanol. A la suspension blanche agitée, on ajoute rapidement 7 cm3 d'acide trifluoroacétique. La température monte au voisinage de 35°C. Après refroidissement à une température voisine de 5°C, on ajoute 110 cm3 d'une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium à 6 % (p/v). Le pH est égal à 7. On sépare les cristaux par filtration sur verre fritté et les lave par 4 fois 15 cm3 d'un mélange méthanol-eau (30-70 en volumes). Après séchage sous pression réduite à 35°C, on obtient 3,676 g de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle titrant 93,1 % et contenant environ 4,8 % d'eau.

Le produit obtenu est caractérisé par le diagramme de poudre aux rayons X représenté par la figure 1.

Le rendement en produit pur est de 89,3 % par rapport à l'ester mis en oeuvre.

Maintenu dans des conditions d'humidité relative supérieure à 20 %, le produit se stabilise avec une teneur en eau voisine de 6 %. Le diagramme DPRX (diagramme de poudre aux rayons X), représenté par la figure 2, montre que le produit ainsi obtenu se présente sous forme d'un trihydrate (valeur théorique de la teneur en eau du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyl-oxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle de 5,95 %).

Le diagramme de poudre aux rayons X est réalisé au moyen d'un appareil Philips PW 1700® à tube anti-cathode de cobalt ($\lambda K_{\alpha 1}$ = 1,7889 Å), le balayage étant effectué sous un angle de balayage initial de 5° 2-θ, de balayage final de 40° 2-θ, avec un pas de 0,02°0 2-θ à raison de 1 seconde par pas et en utilisant une pastille de silicium.

EXEMPLE 2

Dans un réacteur à l'abri de la lumière, on introduit 3,006 g de (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-méthoxyphényl)-4-phényl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1-hydroxy-7β-triéthylsilyloxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dont le titre est de 98 % (2,70 mmoles) et 30 cm3 de méthanol. A la suspension blanche agitée, on ajoute 6.3 cm3 d'acide trifluoroacétique à 99 %. Après refroidissement à une température voisine de 5°C, on ajoute 7,5 cm3 d'eau déminéralisée en 15 minutes. On sépare les cristaux par filtration sur verre fritté et les lave par 3 fois 5 cm3 d'un mélange méthanol-eau (80-20 en volumes) à 5°C. Après séchage sous pression réduite à 35°C, on obtient 1,989 g de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle titrant 97,8 % et contenant environ 6,8 % d'eau.

Le rendement est de 84,3 % par rapport à l'ester mis en oeuvre.

REVENDICATIONS

1 - Procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle caractérisé en ce que l'on cristallise le (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle dans un mélange d'eau et d'un alcool aliphatique contenant 1 à 3 atomes de carbone, puis sèche du produit obtenu sous pression réduite puis le maintient éventuellement dans des conditions d'humidité relative supérieures à 20 %.

2 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le rapport pondéral eau/alcool est compris entre 3/1 à 1/3.

3 - Procédé selon l'une des revendications 1 ou 2 caractérisé en ce que l'alcool est le méthanol.

4 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le séchage est effectué à un température voisine de 40°C sous pression réduite et que le produit se stabilise vers 6% d'eau dans une atmosphère dans laquelle l'humidité relative est supérieure à 20 %.

5 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que la cristallisation est effectuée en présence d'acide ascorbique.

6 - Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que l'on opère directement in situ sur l'ester résultant de l'estérification de la baccatine III dont la fonction hydroxy en -13 est protégée par un dérivé de la β-phénylisosérine protégé après élimination des groupements protecteurs.

7 - Le trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-13α-yle.

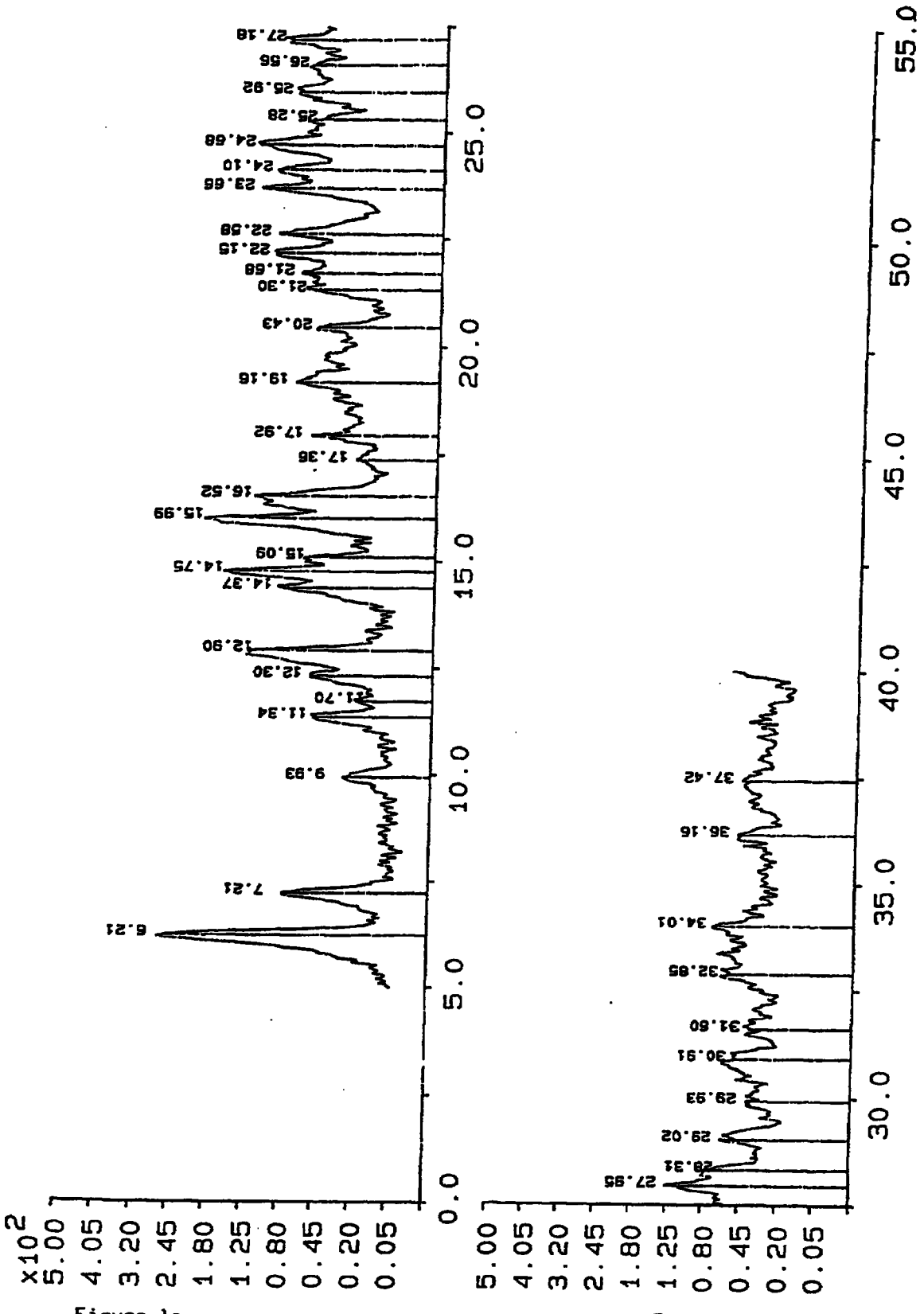


Figure 1a

Figure 1b

FIGURE 1

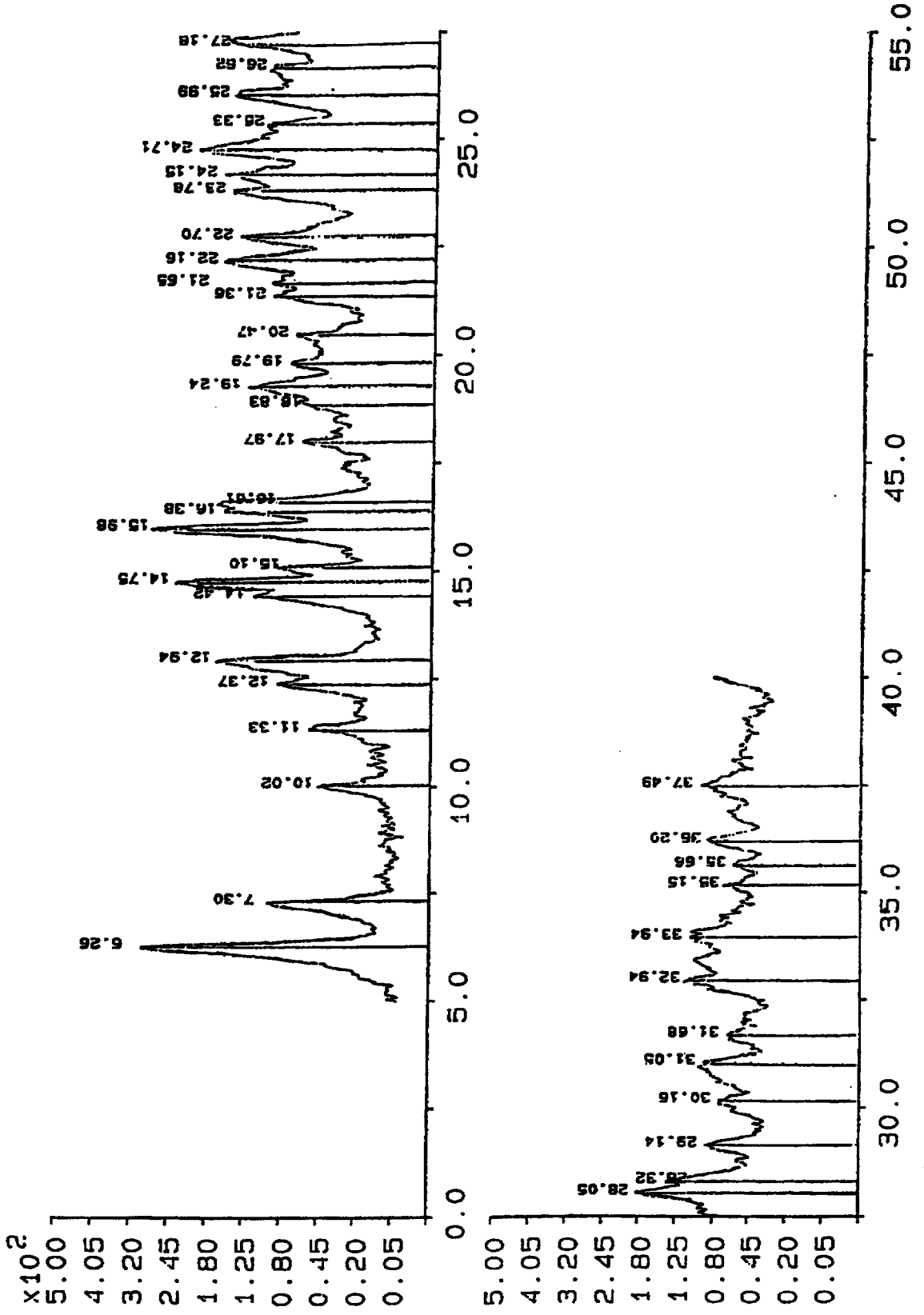


Figure 2a

Figure 2b

FIGURE 2

PCT WORLD ORGANISATION FOR INTELLECTUAL PROPERTY
International Office

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International patent classification[6] : C07D 305/14, A61K 31/335 — A1

(11) International publication number: WO 96/22984
(43) International publication date: 1st August 1996 (01.08.96)

(21) International application number: PCT/FR96/00104

(22) International filing date: 23 January 1996 (23.01.96)

(30) Data relating to the priority:
95/00,816 25 January 1995 (25.01.95) FR

(71) Applicant (for all designated States except US): RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond-Aron, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (US only): Jean-René AUTHELIN [FR/FR]; 51, résidence Les Cendrennes, F-91180 Saint-Germain-lès-Arpajon (FR). Eric DIDIER [FR/FR]; 69, avenue des Gobelins, F-75013 Paris (FR). Franck LEVEILLER [FR/FR]; 2, rue Paul-Cézanne, F-94320 Thiais (FR). Isabelle TAILLEPIED [FR/FR]; 121, avenue Gambetta, F-94700 Maisons Alfort (FR).

(74) Representative: Jacques PILARD; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Patents Directorate, 20, avenue Raymond-Aron, F-92165 Antony Cédex (FR).

(81) Designated States: AL, AM, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, EE, FI, GE, HU, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, ARIPO Patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), European Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published
With the International Search Report.

As printed

(54) **Title: METHOD FOR PREPARING 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YL (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE TRIHYDRATE**

(54) **Titre: PROCEDE DE PREPARATION DU TRIHYDRATE DU (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE DE 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YLE**

(57) **Abstract**

A method for preparing 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-en-yl-13α (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate by crystallisation from a water/alcohol solution.

(57) **Abrégé**

Procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-en-yle-13α par cristallisation à partir d'une solution hydro-alcoolique.

This Sheet Has Been Replaced



ONLY FOR INFORMATION

Codes used to identify the PCT member States on the flyleaves of the brochures in which international applications made under the PCT are published.

AT	Armenia
AT	Austria
AU	Australia
BB	Barbados
BE	Belgium
BF	Burkina Fasso
BG	Bulgaria
BJ	Benin
BR	Brazil
BY	Belarus
CA	Canada
CF	Central African Republic
CG	Congo
CH	Switzerland
CI	Ivory Coast
CM	Cameroon
CN	China
CS	Czechoslovakia
CZ	Czech Republic
DE	Germany
DK	Denmark
EE	Estonia
ES	Spain
FI	Finland
FR	France
GA	Gabon
GB	United Kingdom
GE	Georgia
GN	Guinea
GR	Greece
HU	Hungary
IE	Ireland
IT	Italy
JP	Japan
KE	Kenya
KG	Kyrghyzstan
KP	Democratic People's Republic of Korea
KR	Republic of Korea
KZ	Kazakhstan
LI	Liechtenstein
LK	Sri Lanka
LR	Liberia
LT	Lithuania
LU	Luxembourg
LV	Latvia
MC	Monaco
MD	Republic of Moldova
MG	Madagascar
ML	Mali
MN	Mongolia
MR	Mauritania
MW	Malawi
MX	Mexico
NE	Niger
NL	Netherlands
NO	Norway
NZ	New Zealand
PL	Poland
PT	Portugal
RO	Romania
RU	Russian Federation
SD	Sudan
SE	Sweden
SG	Singapore
SI	Slovenia
SK	Slovakia
SN	Senegal
SZ	Swaziland
TD	Chad
TG	Togo
TJ	Tajikistan
TT	Trinidad and Tobago
UA	Ukraine
UG	Uganda
US	United States of America
UZ	Uzbekistan
VN	Vietnam

This Sheet Has Been Replaced



PROCESS FOR THE PREPARATION OF 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YL (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE TRIHYDRATE

The present invention relates to a process for the preparation of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate.

4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate (or paclitaxel) has noteworthy anticancer and antileukaemia properties.

4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate may either be isolated from yew bark or prepared from baccatin III or from 10-desacetylbaccatin III according to the processes which are described more particularly in European patent applications EP 0,336,840 or EP 0,400,971 or in PCT international application WO 94/07878.

It has been found that 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate has a stability which is

This Sheet Has Been Replaced

markedly superior to that of the anhydrous product.

According to the invention, 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate may be obtained after crystallization of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate from a mixture of water and an aliphatic alcohol containing 1 to 3 carbon atoms, followed by drying of the product obtained then is dried under reduced pressure and then maintained in a relative humidity of greater than 20% at a temperature in the region of 25°C.

In order to carry out the process according to the invention, it may be particularly advantageous

- to dissolve or suspend the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate in an aliphatic alcohol containing 1 to 3 carbon atoms,
- to treat the solution or the suspension with water optionally containing an inorganic base such as sodium hydrogen carbonate,
- to separate the crystals obtained, then
- to dry them under reduced pressure, and then
- optionally to maintain them in an atmosphere whose relative humidity is greater than 20% at a temperature in the region of 25°C.

This Sheet Has Been Replaced



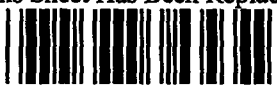
Generally, the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate is dissolved in an excess of the aliphatic alcohol, preferably methanol. The amount of alcohol is preferably between 6 and 12 parts by weight relative to the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate used.

Generally, water is added such that the water/alcohol weight ratio is between 3/1 and 1/3. The water added may contain up to 10% (w/v) of an inorganic base such as sodium hydrogen carbonate, so that the pH of the reaction mixture is above or equal to 7, preferably between 7 and 8, before separation of the crystals.

The 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate which crystallizes is separated out, preferably by filtration or centrifugation, and then dried. The drying is carried out under reduced pressure, between 1 and 7 kPa, at a temperature in the region of 40°C and the product obtained is optionally maintained in an atmosphere whose relative humidity is greater than 20% and at a temperature of between 0 and 60°C, preferably in the region of 25°C.

In order to carry out the process, it may be

This Sheet Has Been Replaced



advantageous to perform the crystallization in the presence of ascorbic acid which is added during the dissolution or suspending of the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate in the alcohol. It is possible to use up to 1% by weight of ascorbic acid.

4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate has been studied by thermogravimetric and differential calorimetric analyses and by X-ray diffraction.

More particularly, the thermogravimetric analysis shows a loss of mass between 25 and 140°C in the region of 6%, which corresponds to three molecules of water per one molecule of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate.

In order to carry out the process according to the invention, when semi-synthetic paclitaxel is used, which is obtained according to the processes described, for example, in European patents EP 0,336,840 or EP 0,400,971 or in international PCT application WO 94/07878 which lead to a paclitaxel intermediate whose hydroxyl functions are protected, it is possible to work directly on the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-

This Sheet Has Been Replaced



13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate solution or suspension obtained after removal of the protecting groups from the hydroxyl functions of the taxane ring and of the side chain. For example, by working under the conditions of international PCT application WO 94/07878, the intermediate 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1-hydroxy-7β-triethylsilyloxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate is obtained in which the protecting groups may be removed using trifluoroacetic acid in methanol.

The examples which follow illustrate the present invention.

EXAMPLE 1

5.014 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1-hydroxy-7β-triethylsilyloxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate assaying at 98% (4.52 mmol) and 50 cm^3 of methanol are introduced into a reactor sheltered from the light. 7 cm^3 of trifluoroacetic acid are added rapidly to the stirred white suspension. The temperature rises to about 35°C. After cooling to a temperature of about 5°C, 110 cm^3 of aqueous 6% (w/v) sodium hydrogen carbonate solution are added. The pH is equal to 7. The crystals are separated out by filtration on a sinter funnel and are washed with 4 times 15 cm^3 of a methanol/water mixture (30/70

This Sheet Has Been Replaced

by volume). After drying under reduced pressure at 35°C, 3.676 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate assaying at 93.1% and containing about 4.8% water are obtained.

The product obtained is characterized by the X-ray powder diagram represented in Figure 1.

The yield of pure product is 89.3% relative to the ester used.

When maintained under relative humidity conditions of greater than 20%, the product stabilizes with a water content of about 6%. The XRPD diagram (X-ray powder diagram), represented in Figure 2, shows that the product thus obtained is in the form of a trihydrate (theoretical value of the water content in the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate of 5.95%).

The X-ray powder diagram is obtained using a Philips PW 1700® machine with a cobalt anti-cathode tube (λ $K_{\alpha 1}$ = 1.7889 Å), the sweeping being performed at an initial sweep angle of 5° 2-θ, final sweep angle of 40° 2-θ, with an increment of 0.02°0 2-θ at a rate of 1 second per increment and using a silicon pastille.

EXAMPLE 2

3.006 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1-hydroxy-7β-triethylsilyloxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-

This Sheet Has Been Replaced



phenyl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate assaying at 98% (2.70 mmol) and 30 cm^3 of methanol are introduced into a reactor sheltered from the light. 6.3 cm^3 of 99% trifluoroacetic acid are added to the stirred white suspension. After cooling to a temperature of about 5°C, 7.5 cm^3 of demineralized water are added over 15 minutes. The crystals are separated out by filtration on a sinter funnel and are washed with 3 times 5 cm^3 of a methanol/water mixture (80/20 by volume) at 5°C. After drying under reduced pressure at 35°C, 1.989 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate are obtained, assaying at 97.8% and containing about 6.8% water.

The yield is 84.3% relative to the ester used.

This Sheet Has Been Replaced



This Sheet Has Been Replaced

CLAIMS

1. Process for the preparation of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate, characterized in that 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate is crystallized from a mixture of water and an aliphatic alcohol containing 1 to 3 carbon atoms, then the product obtained is dried under reduced pressure and then optionally maintained under relative humidity conditions of greater than 20%.

2. Process according to claim 1, characterized in that the water/alcohol weight ratio is between 3/1 to 1/3.

3. Process according to either of claims 1 and 2, characterized in that the alcohol is methanol.

4. Process according to claim 1, characterized in that the drying is carried out at a temperature in the region of 40°C under reduced pressure and that the product stabilizes at about 6% water in an atmosphere in which the relative humidity is greater than 20%.

5. Process according to claim 1, characterized in that the crystallization is carried out in the presence of ascorbic acid.

6. Process according to claim 1, characterized in that the process is performed directly

* C L M S *

in situ on the ester resulting from the esterification of baccatin III, whose 13-hydroxy function is protected, with a protected β-phenylisoserine derivative after removal of the protecting groups.

7. 4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate.

This Sheet Has Been Replaced





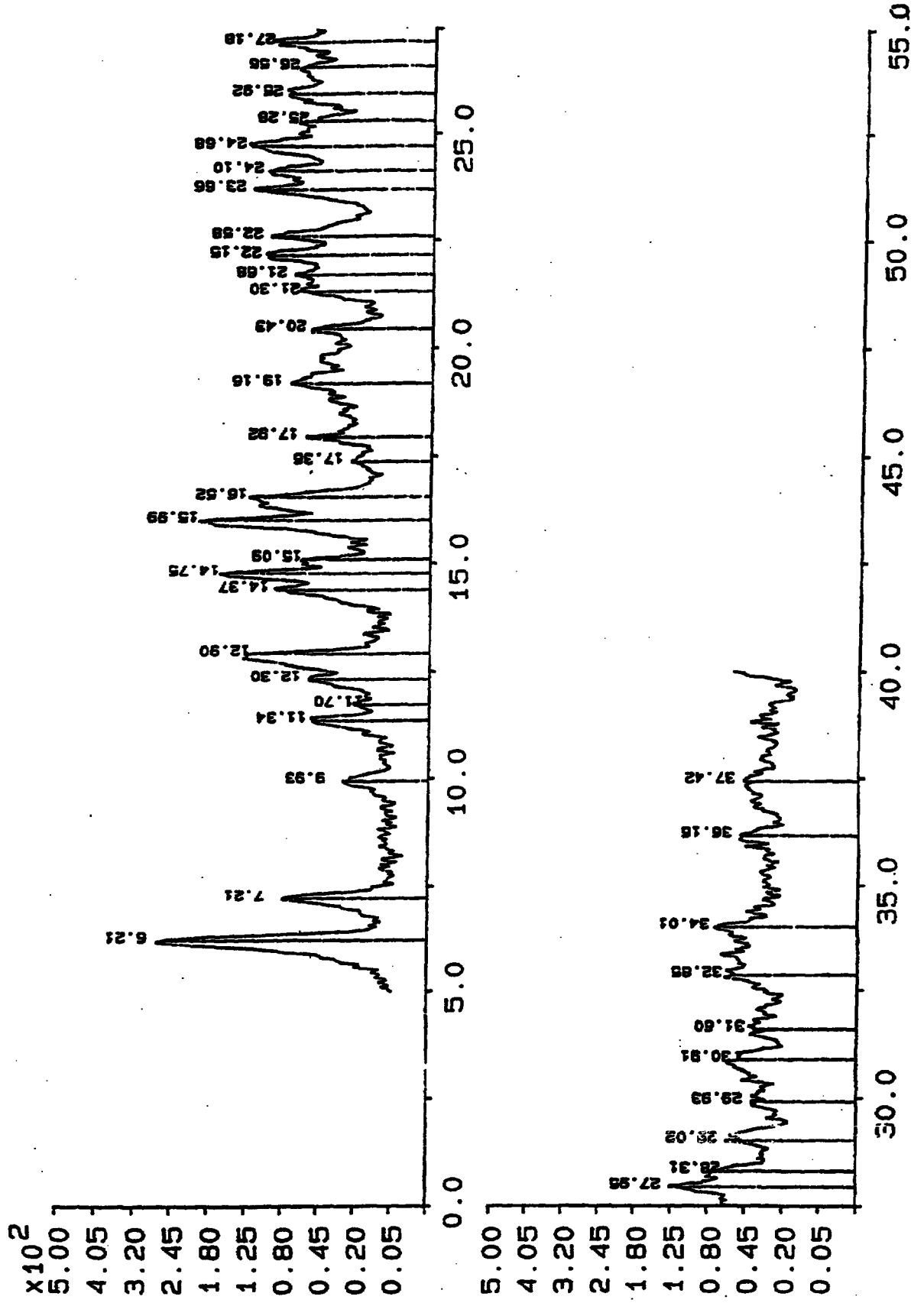


Figure 1

This Sheet Has Been Replaced

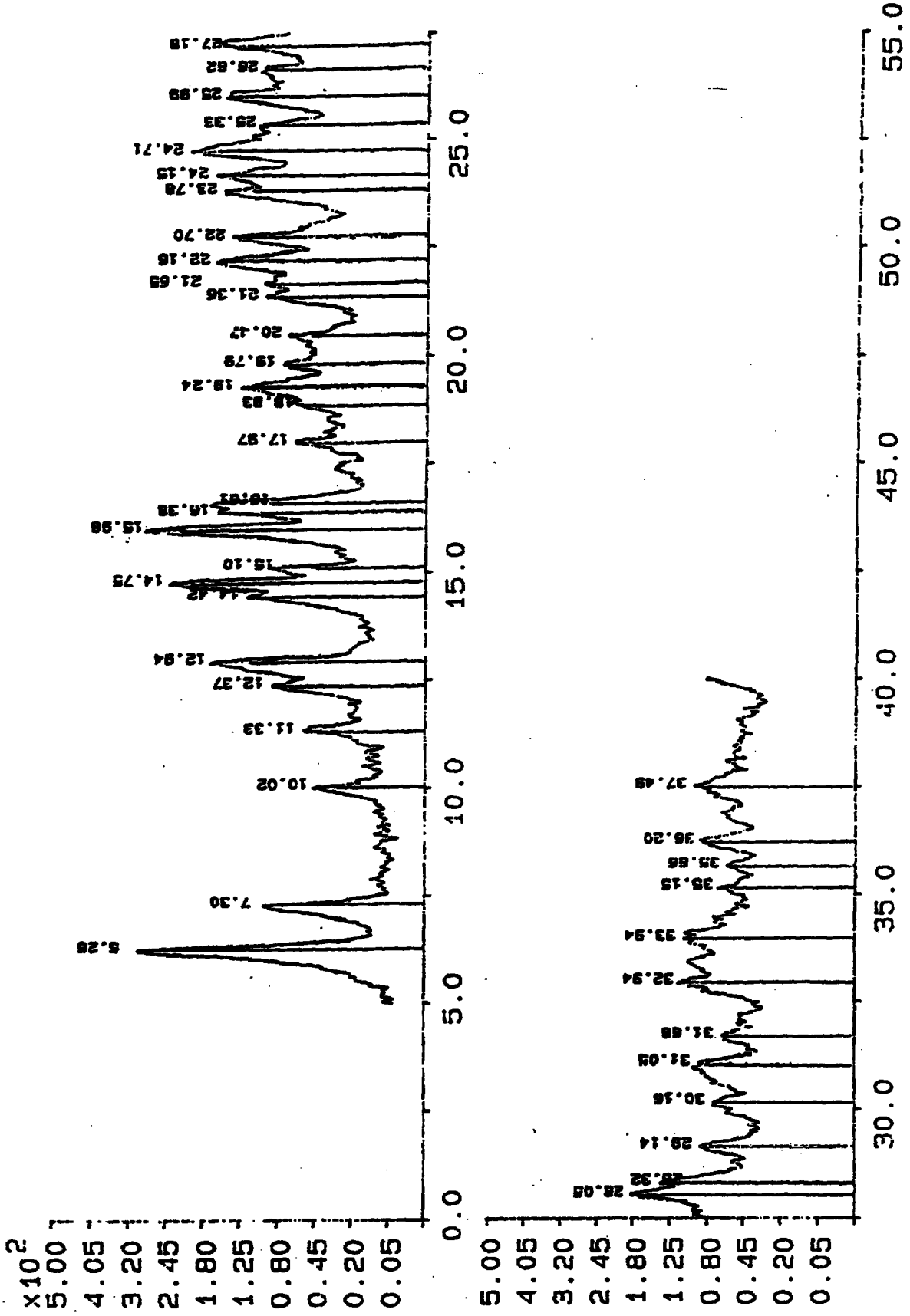


Figure 2

This Sheet Has Been Replaced

CORRECTED VERSION*

PCT WORLD ORGANISATION FOR INTELLECTUAL PROPERTY
International Office

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International patent classification[6] : C07D 305/14, A61K 31/335 — A1

(11) International publication number: WO 96/22984
(43) International publication date: 1st August 1996 (01.08.96)

(21) International application number: PCT/FR96/00104

(22) International filing date: 23 January 1996 (23.01.96)

(30) Data relating to the priority:
95/00,816 25 January 1995 (25.01.95) FR

(71) Applicant (for all designated States except US): RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond-Aron, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (US only): Jean-René AUTHELIN [FR/FR]; 51, résidence Les Cendrennes, F-91180 Saint-Germain-lès-Arpajon (FR). Eric DIDIER [FR/FR]; 69, avenue des Gobelins, F-75013 Paris (FR). Franck LEVEILLER [FR/FR]; 2, rue Paul-Cézanne, F-94320 Thiais (FR). Isabelle TAILLEPIED [FR/FR]; 121, avenue Gambetta, F-94700 Maisons Alfort (FR).

(74) Representative: Jacques PILARD; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Patents Directorate, 20, avenue Raymond-Aron, F-92165 Antony Cédex (FR).

(81) Designated States: AL, AM, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, EE, FI, GE, HU, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, ARIPO Patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), European Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published
With the International Search Report.

As printed

(54) Title: METHOD FOR PREPARING 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YL (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE TRIHYDRATE

(54) Titre: PROCEDE DE PREPARATION DU TRIHYDRATE DU (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE DE 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YLE

(57) Abstract

A method for preparing 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-en-yl-13α (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate by crystallisation from a water/alcohol solution.

(57) Abrégé

Procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-en-yle-13α par cristallisation à partir d'une solution hydro-alcoolique.

* (See PCT Gazette No. 48/1996, Section II)

ONLY FOR INFORMATION

Codes used to identify the PCT member States on the flyleaves of the brochures in which international applications made under the PCT are published.

AT	Armenia
AT	Austria
AU	Australia
BB	Barbados
BE	Belgium
BF	Burkina Faso
BG	Bulgaria
BJ	Benin
BR	Brazil
BY	Belarus
CA	Canada
CF	Central African Republic
CG	Congo
CH	Switzerland
CI	Ivory Coast
CM	Cameroon
CN	China
CS	Czechoslovakia
CZ	Czech Republic
DE	Germany
DK	Denmark
EE	Estonia
ES	Spain
FI	Finland
FR	France
GA	Gabon
GB	United Kingdom
GE	Georgia
GN	Guinea
GR	Greece
HU	Hungary
IE	Ireland
IT	Italy
JP	Japan
KE	Kenya
KG	Kyrghyzstan
KP	Democratic People's Republic of Korea
KR	Republic of Korea
KZ	Kazakhstan
LI	Liechtenstein
LK	Sri Lanka
LR	Liberia
LT	Lithuania
LU	Luxembourg
LV	Latvia
MC	Monaco
MD	Republic of Moldova
MG	Madagascar
ML	Mali
MN	Mongolia
MR	Mauritania
MW	Malawi
MX	Mexico
NE	Niger
NL	Netherlands
NO	Norway
NZ	New Zealand
PL	Poland
PT	Portugal
RO	Romania
RU	Russian Federation
SD	Sudan
SE	Sweden
SG	Singapore
SI	Slovenia
SK	Slovakia
SN	Senegal
SZ	Swaziland
TD	Chad
TG	Togo
TJ	Tajikistan
TT	Trinidad and Tobago
UA	Ukraine
UG	Uganda
US	United States of America
UZ	Uzbekistan
VN	Vietnam

PROCESS FOR THE PREPARATION OF 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YL (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE TRIHYDRATE

The present invention relates to a process for the preparation of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate.

4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate (or paclitaxel) has noteworthy anticancer and antileukaemia properties.

4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate may either be isolated from yew bark or prepared from baccatin III or from 10-desacetylbaccatin III according to the processes which are described more particularly in European patent applications EP 0,336,840 or EP 0,400,971 or in PCT international application WO 94/07878.

It has been found that 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-

phenylpropionate trihydrate has a stability which is markedly superior to that of the anhydrous product.

According to the invention, 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate may be obtained after crystallization of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate from a mixture of water and an aliphatic alcohol containing 1 to 3 carbon atoms, followed by drying of the product obtained then is dried under reduced pressure and then maintained in a relative humidity of greater than 20% at a temperature in the region of 25°C.

In order to carry out the process according to the invention, it may be particularly advantageous

- to dissolve or suspend the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate in an aliphatic alcohol containing 1 to 3 carbon atoms,
- to treat the solution or the suspension with water optionally containing an inorganic base such as sodium hydrogen carbonate,
- to separate the crystals obtained, then
- to dry them under reduced pressure, and then
- optionally to maintain them in an atmosphere whose

relative humidity is greater than 20% at a temperature in the region of 25°C.

Generally, the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate is dissolved in an excess of the aliphatic alcohol, preferably methanol. The amount of alcohol is preferably between 6 and 12 parts by weight relative to the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate used.

Generally, water is added such that the water/alcohol weight ratio is between 3/1 and 1/3. The water added may contain up to 10% (w/v) of an inorganic base such as sodium hydrogen carbonate, so that the pH of the reaction mixture is above or equal to 7, preferably between 7 and 8, before separation of the crystals.

The 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate which crystallizes is separated out, preferably by filtration or centrifugation, and then dried. The drying is carried out under reduced pressure, between 1 and 7 kPa, at a temperature in the region of 40°C and the product obtained is optionally maintained in an atmosphere whose relative humidity is greater than 20%

and at a temperature of between 0 and 60°C, preferably in the region of 25°C.

In order to carry out the process, it may be advantageous to perform the crystallization in the presence of ascorbic acid which is added during the dissolution or suspending of the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate in the alcohol. It is possible to use up to 1% by weight of ascorbic acid.

4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate has been studied by thermogravimetric and differential calorimetric analyses and by X-ray diffraction.

More particularly, the thermogravimetric analysis shows a loss of mass between 25 and 140°C in the region of 6%, which corresponds to three molecules of water per one molecule of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate.

In order to carry out the process according to the invention, when semi-synthetic paclitaxel is used, which is obtained according to the processes described, for example, in European patents EP 0,336,840 or EP 0,400,971 or in international PCT

application WO 94/07878 which lead to a paclitaxel intermediate whose hydroxyl functions are protected, it is possible to work directly on the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate solution or suspension obtained after removal of the protecting groups from the hydroxyl functions of the taxane ring and of the side chain. For example, by working under the conditions of international PCT application WO 94/07878, the intermediate 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1-hydroxy-7β-triethylsilyloxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate is obtained in which the protecting groups may be removed using trifluoroacetic acid in methanol.

The examples which follow illustrate the present invention.

EXAMPLE 1

5.014 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1-hydroxy-7β-triethylsilyloxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate assaying at 98% (4.52 mmol) and 50 cm^3 of methanol are introduced into a reactor sheltered from the light. 7 cm^3 of trifluoroacetic acid are added rapidly to the stirred white suspension. The temperature rises to about 35°C.

After cooling to a temperature of about 5°C, 110 cm^3 of aqueous 6% (w/v) sodium hydrogen carbonate solution are added. The pH is equal to 7. The crystals are separated out by filtration on a sinter funnel and are washed with 4 times 15 cm^3 of a methanol/water mixture (30/70 by volume). After drying under reduced pressure at 35°C, 3.676 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate assaying at 93.1% and containing about 4.8% water are obtained.

The product obtained is characterized by the X-ray powder diagram represented in Figure 1.

The yield of pure product is 89.3% relative to the ester used.

When maintained under relative humidity conditions of greater than 20%, the product stabilizes with a water content of about 6%. The XRPD diagram (X-ray powder diagram), represented in Figure 2, shows that the product thus obtained is in the form of a trihydrate (theoretical value of the water content in the 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate of 5.95%).

The X-ray powder diagram is obtained using a Philips PW 1700® machine with a cobalt anti-cathode tube ($\lambda K_{\alpha 1}$ = 1.7889 Å), the sweeping being performed at an initial sweep angle of 5° 2-θ, final sweep angle of 40°

2-θ, with an increment of 0.02°0 2-θ at a rate of 1 second per increment and using a silicon pastille.

EXAMPLE 2

3.006 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1-hydroxy-7β-triethylsilyloxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (4S,5R)-3-benzoyl-2-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-1,3-oxazolidine-5-carboxylate assaying at 98% (2.70 mmol) and 30 cm^3 of methanol are introduced into a reactor sheltered from the light. 6.3 cm^3 of 99% trifluoroacetic acid are added to the stirred white suspension. After cooling to a temperature of about 5°C, 7.5 cm^3 of demineralized water are added over 15 minutes. The crystals are separated out by filtration on a sinter funnel and are washed with 3 times 5 cm^3 of a methanol/water mixture (80/20 by volume) at 5°C. After drying under reduced pressure at 35°C, 1.989 g of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate are obtained, assaying at 97.8% and containing about 6.8% water.

The yield is 84.3% relative to the ester used.

CLAIMS

1. Process for the preparation of 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate, characterized in that 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate is crystallized from a mixture of water and an aliphatic alcohol containing 1 to 3 carbon atoms, then the product obtained is dried under reduced pressure and then optionally maintained under relative humidity conditions of greater than 20%.

2. Process according to claim 1, characterized in that the water/alcohol weight ratio is between 3/1 to 1/3.

3. Process according to either of claims 1 and 2, characterized in that the alcohol is methanol.

4. Process according to claim 1, characterized in that the drying is carried out at a temperature in the region of 40°C under reduced pressure and that the product stabilizes at about 6% water in an atmosphere in which the relative humidity is greater than 20%.

5. Process according to claim 1, characterized in that the crystallization is carried out in the presence of ascorbic acid.

6. Process according to claim 1,

* C L M S *

characterized in that the process is performed directly in situ on the ester resulting from the esterification of baccatin III, whose 13-hydroxy function is protected, with a protected β-phenylisoserine derivative after removal of the protecting groups.

7. 4,10-Diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxotax-11-en-13α-yl (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate.

* C L M S *

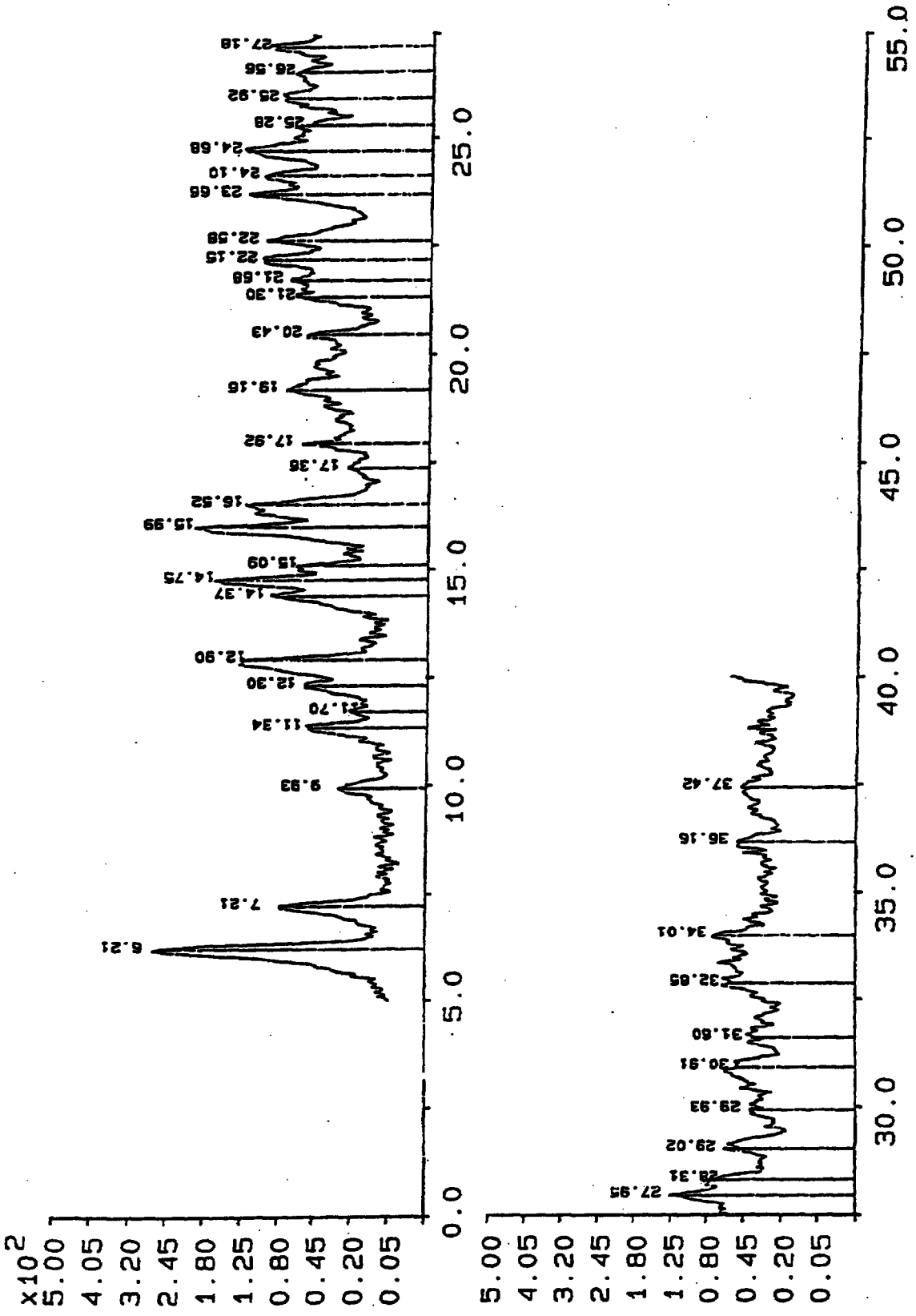


Figure 1a

Figure 1b

FIGURE 1

REPLACEMENT SHEET (RULE 26)

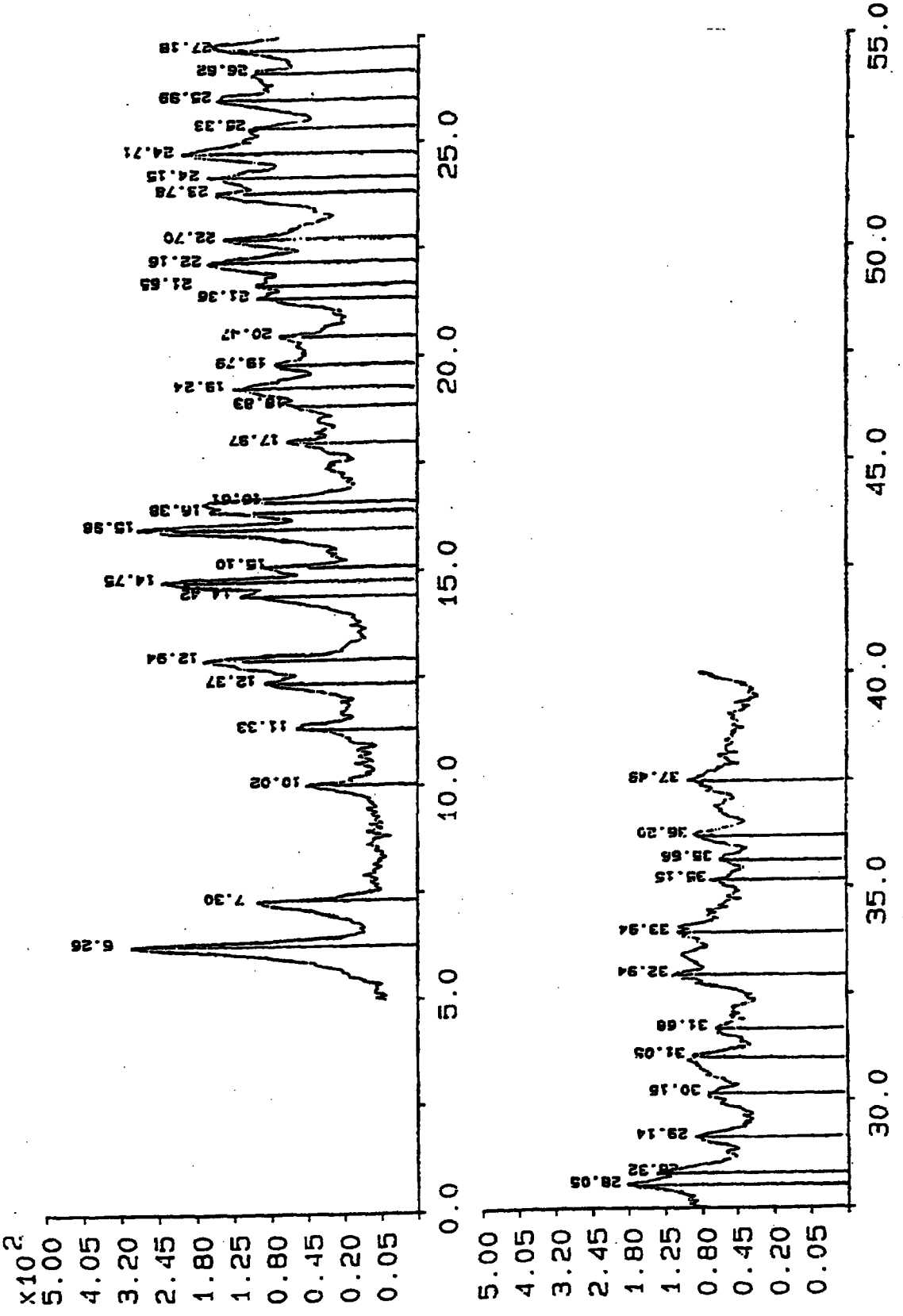


Figure 2a

Figure 2b

FIGURE 2

9705669-1

RTMP'S COPY

RECEIVED 20 JUL 1998 REGISTRY OF TRADE MARKS & PATENTS SINGAPORE

PCT ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets 6 : C07D 305/14, A61K 31/335

A1

(11) Numéro de publication internationale: WO 96/22984

(43) Date de publication internationale: 1er août 1996 (01.08.96)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR96/00164

(22) Date de dépôt international: 23 janvier 1996 (23.01.96)

(30) Données relatives à la priorité:
95/00816 25 janvier 1995 (25.01.95) FR

(71) Déposant *(pour tous les Etats désignés sauf US)*: RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond-Aron, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants *(US seulement)*: AUTHELIN, Jean-René [FR/FR]; 51, résidence Les Cendrennes, F-91180 Saint-Germain-lès-Arpajon (FR). DIDIER, Eric [FR/FR]; 69, avenue des Gobelins, F-75013 Paris (FR). LEVEILLER, Franck [FR/FR]; 2, rue Paul-Cézanne, F-94320 Thiais (FR). TAILLEPIED, Isabelle [FR/FR]; 121, avenue Gambetta, F-94700 Maisons Alfort (FR).

(74) Mandataire: PILARD, Jacques; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond-Aron, F-92165 Antony Cédex (FR).

(81) Etats désignés: AL, AM, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, EE, FI, GE, HU, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, brevet ARIPO (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée
Avec rapport de recherche internationale.

(54) Title: METHOD FOR PREPARING 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YL (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE TRIHYDRATE

(54) Titre: PROCEDE DE PREPARATION DU TRIHYDRATE DU (2R,3S)-3-BENZOYLAMINO-2-HYDROXY-3-PHENYLPROPIONATE DE 4,10-DIACETOXY-2α-BENZOYLOXY-5β,20-EPOXY-1,7β-DIHYDROXY-9-OXO-TAX-11-EN-13α-YLE

(57) Abstract

A method for preparing 4,10-diacetoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-epoxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-en-yl-13α (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate trihydrate by crystallisation from a water/alcohol solution.

(57) Abrégé

Procédé de préparation du trihydrate de (2R,3S)-3-benzoylamino-2-hydroxy-3-phénylpropionate de 4,10-diacétoxy-2α-benzoyloxy-5β,20-époxy-1,7β-dihydroxy-9-oxo-tax-11-èn-yle-13α par cristallisation à partir d'une solution hydro-alcoolique.

This Sheet Has Been Replaced