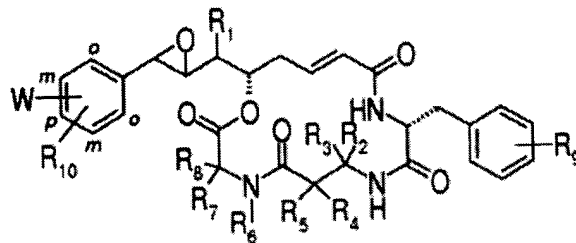


## (12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 43160 B1**
- (51) Cl. internationale : **A61K 31/395; C07D 413/14; C07D 413/06; A61P 35/00**
- (43) Date de publication : **31.12.2019**
- 
- (21) N° Dépôt : **43160**
- (22) Date de Dépôt : **03.11.2016**
- (30) Données de Priorité : **05.11.2015 EP 15306751**
- (86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/EP2016/076603 03.11.2016**
- (86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation: EP16791017.3
- (71) Demandeur(s) : **SANOFI, 54, rue La Boétie 75008 Paris (FR)**
- (72) Inventeur(s) : **ZHANG, Jidong ; BOUCHARD, Hervé ; BIGOT, Antony ; BRUN, Marie-Priscille ; CLERC, François**
- (74) Mandataire : **ATLAS INTELLECTUAL PROPERTY**
- 
- (54) Titre : **NOUVEAUX COMPOSES DE CRYPTOPHYCIN ET CONJUGUES, LEUR PREPARATION ET LEUR APPLICATION EN THERAPEUTIQUE**
- (57) Abrégé : La présente invention concerne des composés de cryptophycine de formule (I). L'invention concerne également les charges utiles de cryptophycine, les conjugués de cryptophycine, les compositions les contenant et leur utilisation thérapeutique, notamment comme agents anticancéreux. L'invention concerne également le procédé de préparation de ces conjugués.

## Revendications

1. Composé de cryptophycine de formule (I) :



(I)

5

10

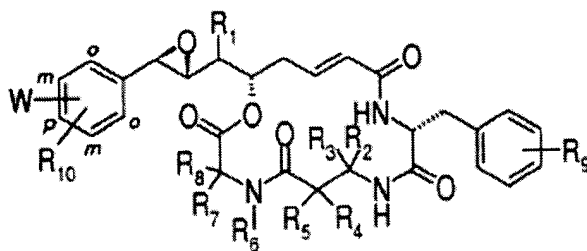
15

20

- R<sub>1</sub> représentant un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyle ;
- R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> représentant, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyle ;  
ou en variante R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> formant, conjointement avec l'atome de carbone auquel ils sont liés, un groupe C<sub>3-6</sub>-cycloalkyle ou C<sub>3-6</sub>-hétérocycloalkyle ;
- R<sub>4</sub> et R<sub>5</sub> représentant, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyle ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyl-NH(R<sub>12</sub>) ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyl-OH ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyl-SH ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyl-CO<sub>2</sub>H ;  
ou en variante R<sub>4</sub> et R<sub>5</sub> formant, conjointement avec l'atome de carbone auquel ils sont liés, un groupe C<sub>3-6</sub>-cycloalkyle ou C<sub>3-6</sub>-hétérocycloalkyle ;

- R<sub>6</sub> représentant un atome d'hydrogène ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyle ;
- R<sub>7</sub> et R<sub>8</sub> représentant, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyle ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyl-CO<sub>2</sub>H ou un groupe (C<sub>1-6</sub>-alkyl)-N(C<sub>1-6</sub>-alkyle)<sub>2</sub> ;  
ou en variante R<sub>7</sub> et R<sub>8</sub> formant, conjointement avec l'atome de carbone auquel ils sont liés, un groupe C<sub>3-6</sub>-cycloalkyle ou C<sub>3-6</sub>-hétérocycloalkyle ;
- R<sub>9</sub> représentant un ou plusieurs substituant(s) du noyau phényle choisi(s), indépendamment les uns des autres, parmi : un atome d'hydrogène, -OH, C<sub>1-4</sub>-alcoyle, un atome d'halogène, -NH<sub>2</sub>, -NH-C<sub>1-6</sub>-alkyle ou -N(C<sub>1-6</sub>-alkyle)<sub>2</sub> ou -NH-C<sub>1-6</sub>-cycloalkyle ou C<sub>3-6</sub>-hétérocycloalkyle ;
- R<sub>10</sub> représentant au moins un substituant du noyau phényle choisi parmi un atome d'hydrogène et C<sub>1-4</sub>-alkyle ;
- W représentant
  - C<sub>1-6</sub>-alkyl-NH(R<sub>11</sub>),
  - C<sub>1-6</sub>-alkyl-OH,
  - C<sub>1-6</sub>-alkyl-SH,
  - CO<sub>2</sub>H ou C(=O)NH<sub>2</sub> ;
  - C<sub>1-6</sub>-alkyl-CO<sub>2</sub>H ou C<sub>1-6</sub>-alkyl-C(=O)NH<sub>2</sub> ;
  - ou
  - C<sub>1-6</sub>-alkyl-N<sub>3</sub> ;
- R<sub>11</sub> et R<sub>12</sub> représentant, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène ou un groupe C<sub>1-6</sub>-alkyle.

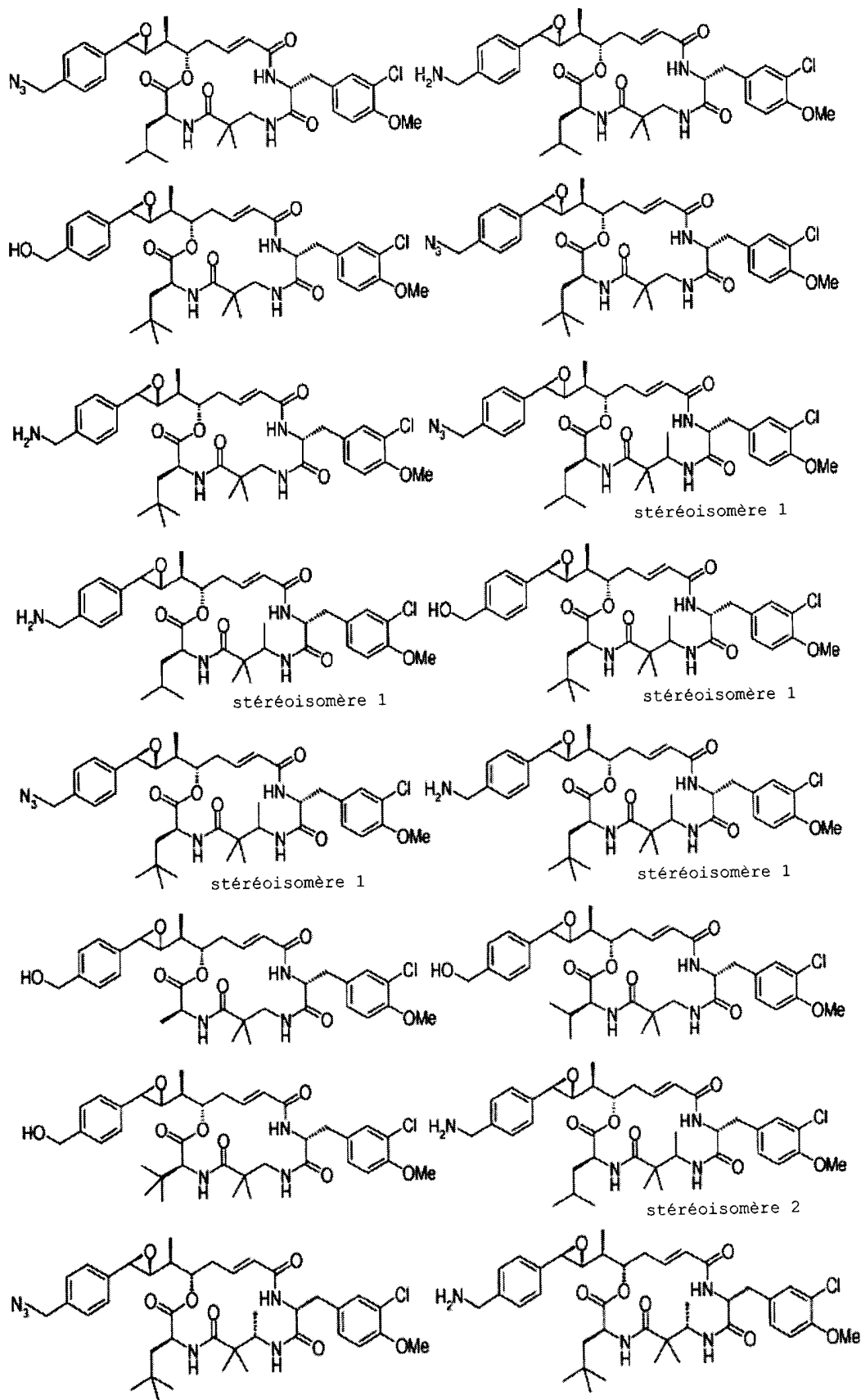
2. Composé de cryptophycine de formule (I) selon la revendication 1, possédant la structure suivante :

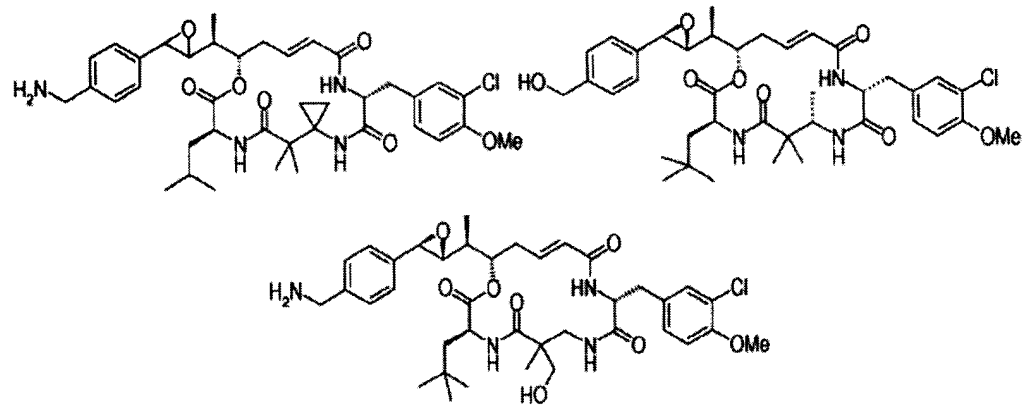


3. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une  
quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé  
5 en ce que R<sub>1</sub> représente un groupe méthyle.
4. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une  
quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé  
en ce que :
- 10 - chacun de R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> représente un atome  
d'hydrogène ou  
- un de R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> représente un groupe méthyle et  
l'autre représente un atome d'hydrogène ou  
- R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> forment, conjointement avec l'atome de  
15 carbone auquel ils sont liés, un groupe  
cyclopropyle.
5. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une  
quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé  
20 en ce que chacun de R<sub>4</sub> et R<sub>5</sub> représente un groupe  
méthyle.
6. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une  
quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé  
25 en ce que R<sub>6</sub> représente un atome d'hydrogène.
7. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une  
quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé  
en ce que R<sub>7</sub> et R<sub>8</sub> représentent, indépendamment  
30 l'un de l'autre, un atome d'hydrogène ou un groupe  
C<sub>1-6</sub>-alkyle.
8. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une  
quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé

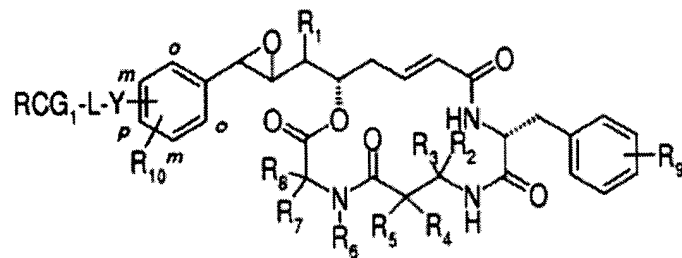
en ce que R<sub>9</sub> représente deux substituants choisis parmi un groupe méthoxyle et un atome de chlore.

- 5 9. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que R<sub>10</sub> représente un atome d'hydrogène.
- 10 10. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que :
- R<sub>1</sub> représente un C<sub>1-6</sub>-alkyle ;
  - chacun de R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> représente un atome d'hydrogène ;
  - R<sub>6</sub> représente un atome d'hydrogène ;
  - 15 - R<sub>9</sub> représente deux substituants choisis parmi un groupe méthoxyle et un atome de chlore ; et
  - R<sub>10</sub> représente un atome d'hydrogène.
- 20 11. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que :
- R<sub>1</sub> représente un C<sub>1-6</sub>-alkyle ;
  - R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> représente un C<sub>1-6</sub>-alkyle et l'autre représente un atome d'hydrogène ;
  - 25 - R<sub>6</sub> représente un atome d'hydrogène ;
  - R<sub>9</sub> représente deux substituants choisis parmi un groupe méthoxyle et un atome de chlore ; et
  - R<sub>10</sub> représente un atome d'hydrogène.
- 30 12. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que W est choisi parmi C<sub>1-6</sub>-alkyl-NHR<sub>11</sub>, C<sub>1-6</sub>-alkyl-OH, C<sub>1-6</sub>-alkyl-SH et C<sub>1-6</sub>-alkyl-CO<sub>2</sub>H, préférablement W représente un groupe
- 35 CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> ou un groupe CH<sub>2</sub>-OH.
13. Composés de cryptophycine de formule (I) selon la revendication 1 qui sont choisis dans la liste suivante :





14. Charge utile de cryptophycine de formule (II) :

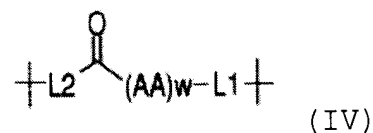


(II)

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9$  et  $R_{10}$  étant tels que définis selon la revendication 1 à 11 et

- Y étant choisi parmi les groupes  $C_{1-6}$ -alkyl- $NR_{11}$ ,  $C_{1-6}$ -alkyl-O,  $C_{1-6}$ -alkyl-S,  $C(=O)O$ ,  $C(=O)NH$ ,  $C_{1-6}$ -alkyl- $C(=O)O$ ,  $C_{1-6}$ -alkyl- $C(=O)NH$  ou  $(C_{1-6}$ -alkyl)-triazole ;
- $R_{11}$  représentant un atome d'hydrogène ou un groupe  $C_{1-6}$ -alkyle ;
- L représentant un lieur ;
- RCG1 représentant un groupe chimique réactif présent à l'extrémité du lieur,

L étant de formule (IV) :



dans laquelle :

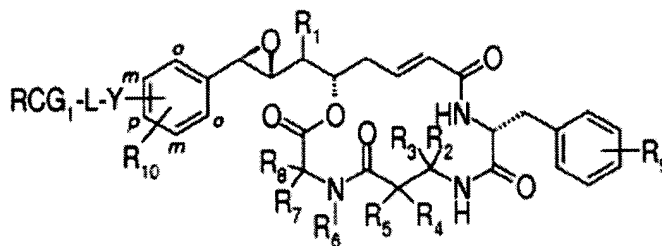
- L1 représente
  - o une simple liaison ou un groupe  $(NR_{16}(\text{hétéro})\text{aryl})-CR_{15}R_{14}-O-C(=O)$  si Y =  $C_{1-6}$ -alkyl-N( $R_{11}$ ) ;

- o un groupe  $\text{NR}_{18}-(\text{C}_{2-6}\text{-alkyl})-\text{NR}_{17}-\text{C}(=\text{O})$  ou un groupe  $(\text{NR}_{16}(\text{hétéro})\text{aryl})-\text{CR}_{15}\text{R}_{14}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}_{18}-(\text{C}_{2-6}\text{-alkyl})-\text{NR}_{17}-\text{C}(=\text{O})$  si  $\text{Y} = \text{C}_{1-6}\text{-alkyl}-\text{O}$  ou  $\text{C}_{1-6}\text{-alkyl}-\text{S}$  ;
- 5 o un groupe  $(\text{NR}_{16}(\text{hétéro})\text{aryl})-\text{CR}_{15}\text{R}_{14}-$  si  $\text{Y} = \text{C}(=\text{O})\text{O}$ ,  $\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ ,  $\text{C}_{1-6}\text{-alkyl}-\text{C}(=\text{O})\text{O}$  ou  $\text{C}_{1-6}\text{-alkyl}-\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ ;
- $\text{R}_{11}$ ,  $\text{R}_{14}$ ,  $\text{R}_{15}$ ,  $\text{R}_{16}$ ,  $\text{R}_{17}$  et  $\text{R}_{18}$  représentent, indépendamment les uns des autres, un atome d'hydrogène ou un groupe  $\text{C}_{1-6}\text{-alkyle}$  ;
  - $(\text{AA})_w$  représente une séquence de  $w$  acides aminés  $\text{AA}$  reliés ensemble via des liaisons peptidiques ;
  - $w$  représente un entier dans la plage de 1 jusqu'à 12 ;
  - $\text{L2}$  représente une liaison simple ou un groupe  $\text{C}_{1-6}\text{-alkyle}$  ou un groupe  $(\text{C}_{1-6}\text{-alkyl})-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$  ou un groupe  $(\text{C}_{1-6}\text{-alkyl})-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{O}-(\text{C}_{1-6}\text{-alkyle})$  ou un groupe  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i-(\text{C}_{1-6}\text{-alkyle})$  ou un groupe  $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-\text{C}_{1-6}\text{-alkyle}$  ou un groupe  $(\text{C}_{1-6}\text{-alkyl})-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$  ou un groupe  $(\text{C}_{1-6}\text{-alkyl})-\text{cyclohexyle}$  ou un groupe  $\text{NR}_{19}-\text{C}_{1-6}\text{-alkyle}$  ou un groupe  $\text{NR}_{20}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i-(\text{C}_{1-6}\text{-alkyle})$  ou un groupe  $\text{NR}_{21}\text{-aryle}$  ou un groupe  $\text{NR}_{21}\text{-hétéroaryle}$  ou un groupe  $(\text{C}_{1-6}\text{-alkyl})-\text{NR}_{22}\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_{1-6}\text{-alkyle})$  ou un groupe  $(\text{C}_{1-6}\text{-alkyl})-\text{NR}_{22}\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_{1-6}\text{-alkyl})-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$  ;
  - $\text{R}_{19}$ ,  $\text{R}_{20}$ ,  $\text{R}_{21}$  et  $\text{R}_{22}$  représentent, indépendamment les uns des autres, un atome d'hydrogène ou un groupe  $\text{C}_{1-6}\text{-alkyle}$  ;
  - $i$  représente un entier entre 1 et 50 ;
- $\text{AA}$  désigne un acide aminé naturel ou non naturel, de configuration D ou L, choisi parmi : l'alanine (Ala), la  $\beta$ -alanine, l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique, l'acide 2-amino-2-cyclohexylacétique, l'acide 2-amino-2-phénylacétique, l'arginine (Arg), l'asparagine (Asn), l'acide aspartique (Asp), la citruline



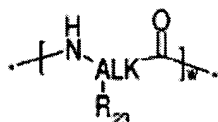
(Cit), la cystéine (Cys), l'acide  $\alpha,\alpha$ -  
 diméthyl- $\gamma$ -aminobutyrique, l'acide  $\beta,\beta$ -  
 diméthyl- $\gamma$ -aminobutyrique, la glutamine (Gln),  
 l'acide glutamique (Glu), la glycine (Gly),  
 5 l'histidine (His), l'isoleucine (Ile), la  
 leucine (Leu), la lysine (Lys), l' $\epsilon$ -  
 acétyllysine (AcLys), la méthionine (Met),  
 l'ornithine (Orn), la phénylalanine (Phe), la  
 proline (Pro), la sérine (Ser), la thréonine  
 10 (Thr), le tryptophane (Trp), la tyrosine (Tyr),  
 la valine (Val).

15. Charge utile de cryptophycine de formule (II)  
 selon la revendication 14, possédant la structure  
 15 suivante :



16. Charge utile de cryptophycine de formule (II)  
 20 selon l'une quelconque des revendications 14 ou  
 15, caractérisée en ce que Y représente  $C_{1-6}$ -  
 alkyl- $NR_{11}$ , préférablement Y représente  $CH_2-NH$ .

17. Charge utile de cryptophycine de formule (II)  
 25 selon la revendication 14, caractérisée en ce que  
 la séquence  $(AA)_w$  possède la formule :



dans laquelle  $R_{23}$  représente la chaîne latérale  
 de AA.

30

18. Charge utile de cryptophycine de formule (II)  
 selon l'une quelconque des revendications 14 ou

17, caractérisée en ce que la séquence AA représente l'alanine (Ala), la citruline (Cit), la glutamine (Gln), la glycine (Gly), l'ε-acétyllysine (AcLys), la valine (Val).

5

19. Charge utile de cryptophycine de formule (II) selon l'une quelconque des revendications 14 à 18, caractérisée en ce que RCG1 est choisi parmi :

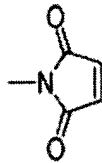
- groupe  $-C(=O)-Z_aR_a$  pour lequel

10           o  $Z_a$  représente une simple liaison, O ou NH et

              o  $R_a$  représente H ou un groupe  $C_{1-6}$ -alkyle,  $C_{3-7}$ -cycloalkyle,  $C_{5-10}$ -aryle,  $C_{5-10}$ -hétéroaryle ou  $C_{3-7}$ -hétérocycloalkyle ou un groupe succinimidyle ;

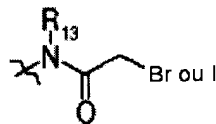
15

- un des groupes réactifs suivants : le groupe



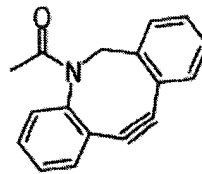
maléimido

; le groupe halogénoacétamido



,  $R_{13}$  représentant un atome d'hydrogène ou un groupe  $C_{1-6}$ -alkyle ;  $-Cl$  ;  $-N_3$  ;  $-OH$  ;  $-SH$  ;  $-NH_2$  ;

20



$-C\equiv CH$ , un groupe

ou un groupe O-

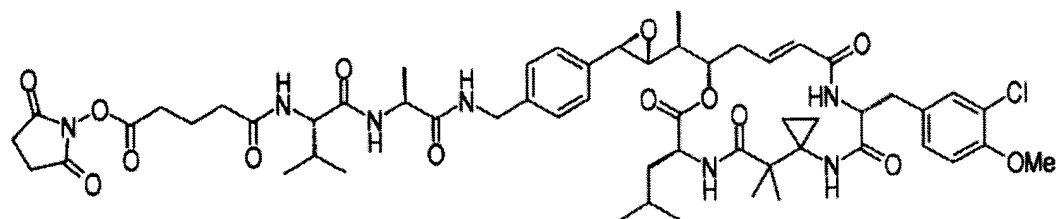
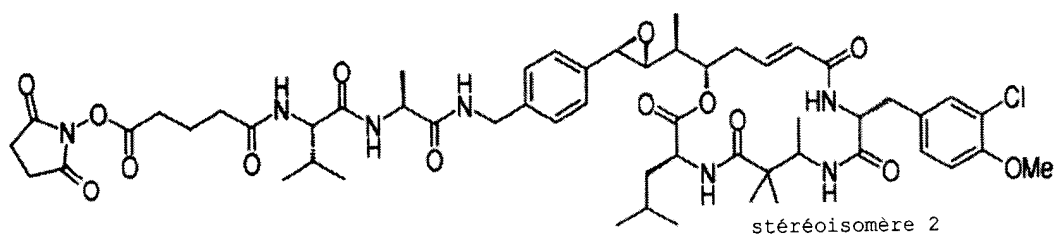
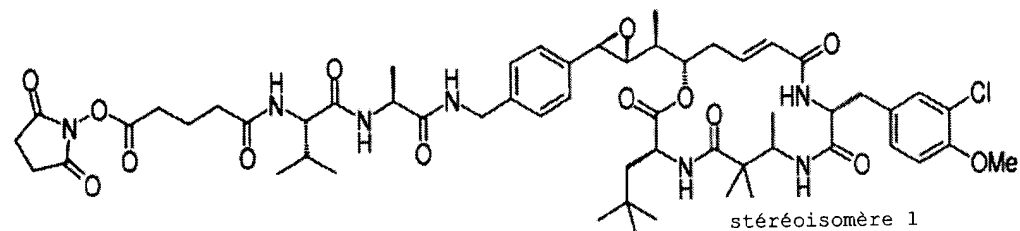
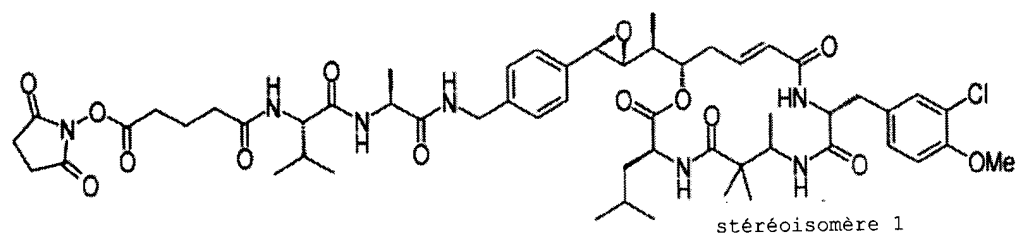
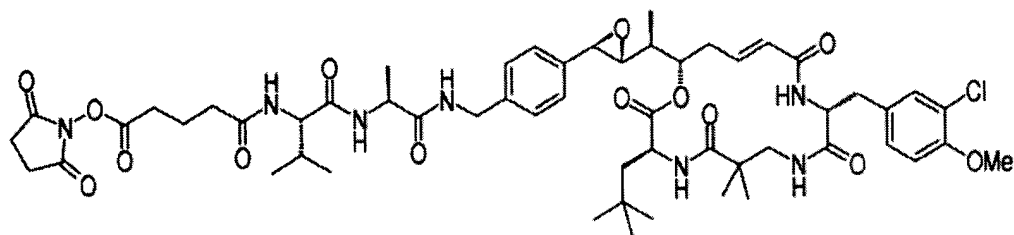
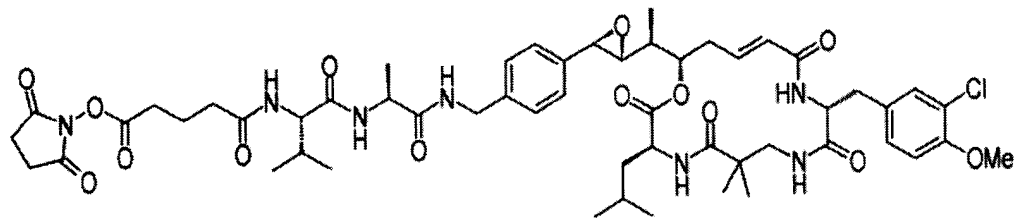
( $C_{1-6}$ -alkyle)-hydroxylamine.

20. Charge utile de cryptophycine de formule (II) selon l'une quelconque des revendications 14 à 18, caractérisée en ce que L2 représente un groupe  $C_{1-6}$ -alkyle ou un groupe  $(C_{1-6}\text{-alkyl})-(OCH_2CH_2)_i$  ou un groupe  $CH(SO_3H)-C_{1-6}$ -alkyle.

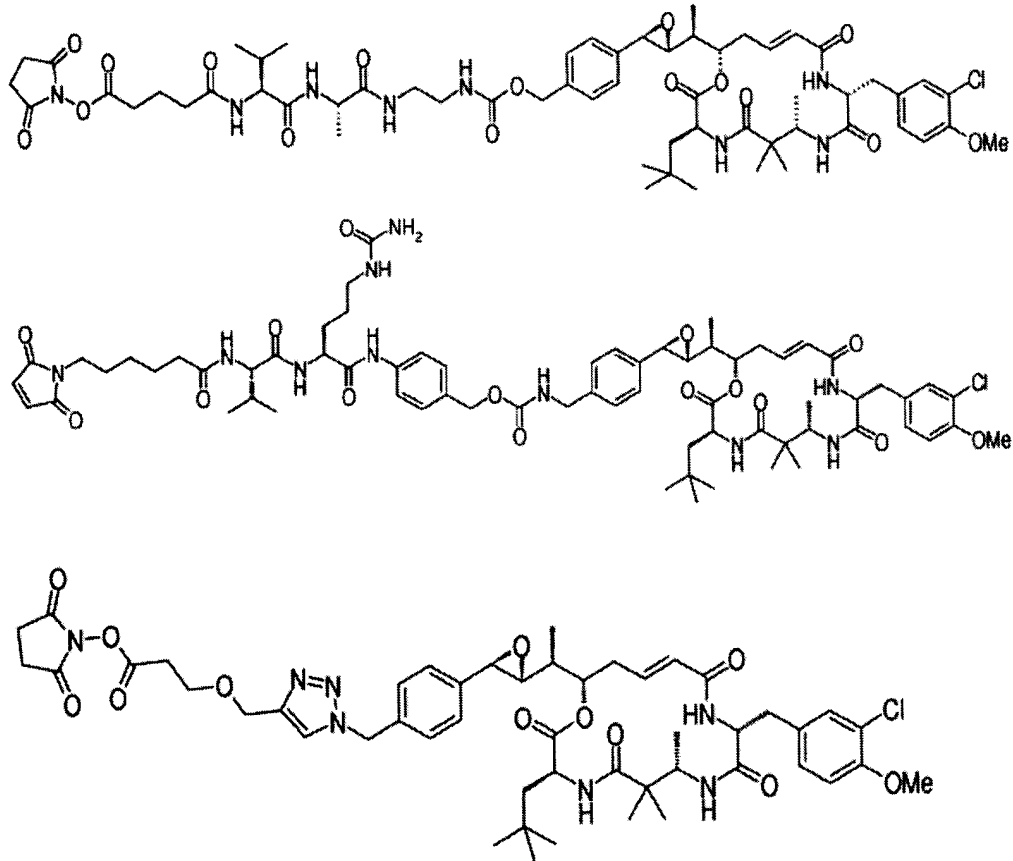
25

- 10 -

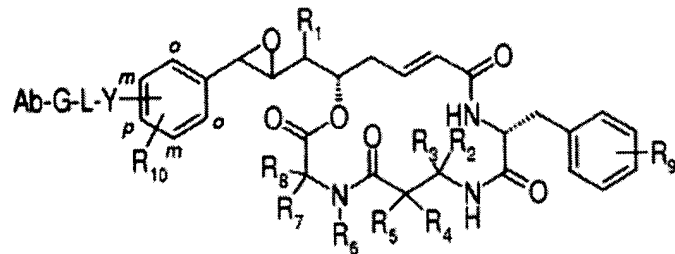
21. Charges utiles de cryptophycine de formule (II) selon la revendication 14, qui sont choisies dans la liste suivante :



- 11 -



22. Conjugué de formule (III) :

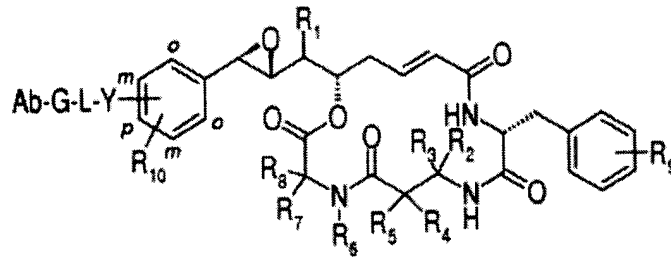


(III)

- 5
- $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9$  et  $R_{10}$  étant tels que définis selon la revendication 1 à 11 ;
  - Y et L étant tels que définis selon les revendications 14 à 18 ;
- 10
- G représentant le produit de réaction entre RCG1, un groupe réactif présent à l'extrémité du lieur et RCG2, un groupe réactif orthogonal présent sur Ab ;
  - Ab représentant un anticorps.

15

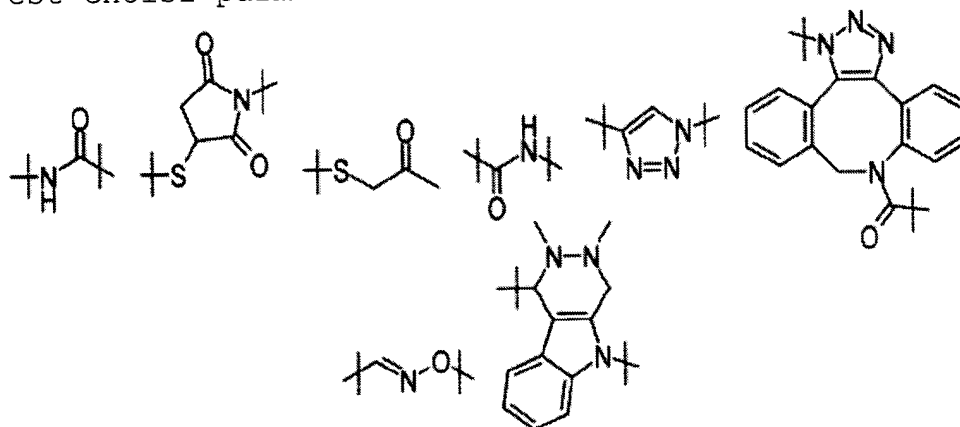
23. Conjugué de formule (III) selon la revendication 22 possédant la structure suivante :



24. Conjugué de formule (III) selon l'une quelconque des revendications 22 ou 23, caractérisé en ce que RCG2 est choisi parmi :
- les groupes  $\epsilon$ -amino de lysines portés par les chaînes latérales des résidus de lysine présents à la surface d'un anticorps ;
  - les groupes  $\alpha$ -amino d'acides aminés N-terminaux de chaînes lourdes et légères d'anticorps ;
  - les groupes saccharide de la région charnière ;
  - les thiols de cystéines générés par la réduction de liaisons disulfure intra-chaînes ou les thiols de cystéines incorporées ;
  - les groupes amide portés par les chaînes latérales de certains résidus de glutamine qui sont présents à la surface d'un anticorps ;
  - les groupes aldéhyde introduits à l'aide d'une enzyme de génération de formylglycine.
25. Conjugué de formule (III) selon l'une quelconque des revendications 22 ou 23, caractérisé en ce que :
- lorsque RCG1 représente un ester de N-hydroxysuccinimidyle, RCG2 représente un groupe  $-NH_2$  ;

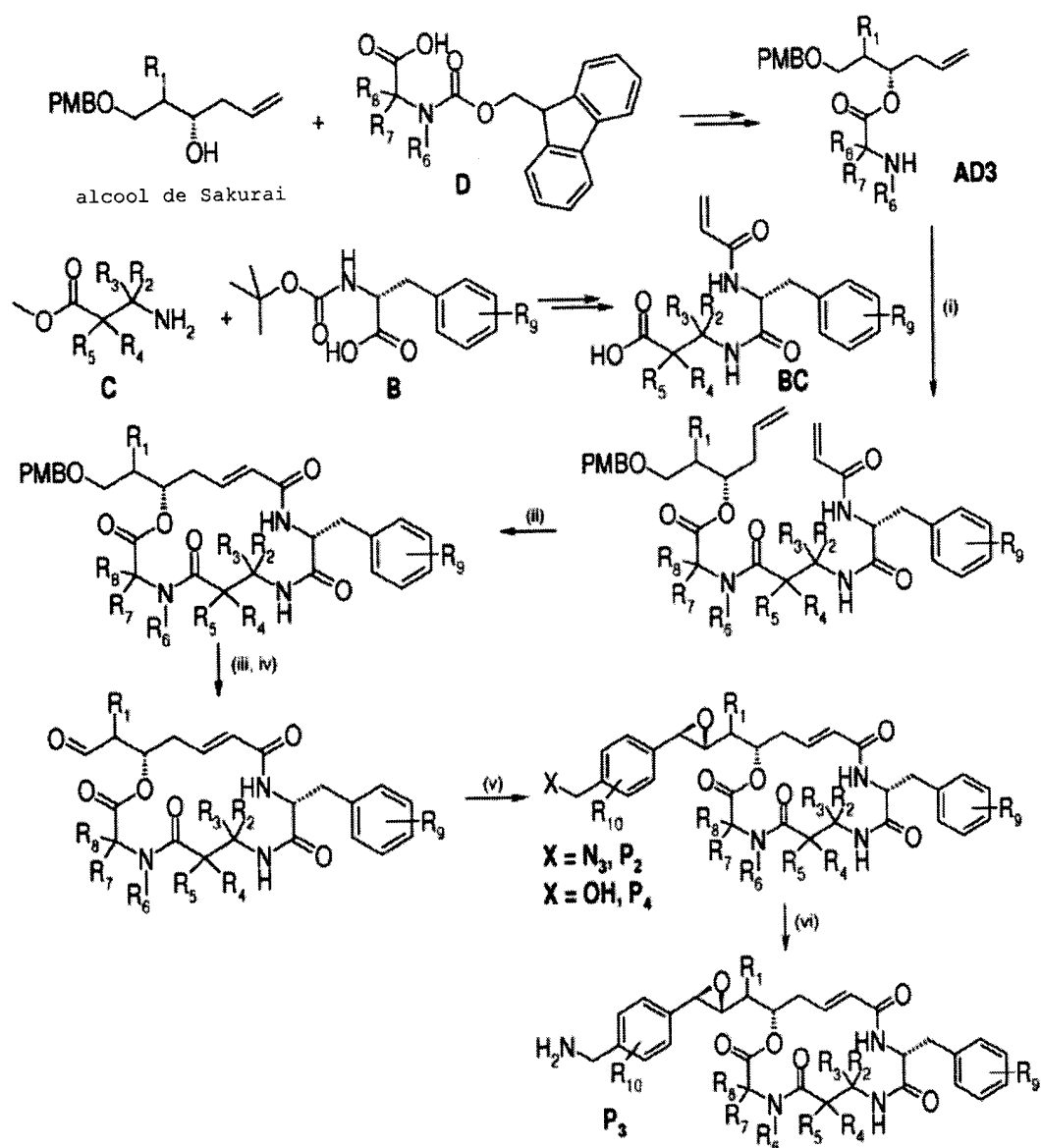
- lorsque RCG1 représente une fonction maléimido ou halogénoacétamido ou un groupe -Cl, RCG2 représente un groupe -SH ;
- lorsque RCG1 représente un groupe -N<sub>3</sub>, RCG2 représente un groupe -C≡CH ou C≡C activé ;
- lorsque RCG1 représente un groupe -OH ou un groupe -NH<sub>2</sub>, RCG2 représente une fonction acide ou amide carboxylique ;
- lorsque RCG1 représente un groupe -SH, RCG2 représente une fonction maléimido ou halogénoacétamido ;
- lorsque RCG1 représente une fonction -C≡CH ou C≡C activé, RCG2 représente un groupe -N<sub>3</sub> ;
- lorsque RCG1 représente une fonction O-alkyl-hydroxylamine ou un substrat de la réaction de Pictet-Spengler, RCG2 représente une fonction aldéhyde ou cétone.

26. Conjugué de formule (III) selon l'une quelconque des revendications 22 à 25, caractérisé en ce que G est choisi parmi :



27. Procédé pour la préparation du composé de cryptophycine de formule (I) comprenant l'étape :

- 14 -



- 5
- l'étape (i) étant un couplage peptidique entre les fragments AD3 et les différents BC en présence de réactifs de couplage ;
  - l'étape (ii) étant une macrocyclisation par métathèse par fermeture de cycle en présence d'un catalyseur ;
  - l'étape (iii) étant une déprotection de l'éther de *p*-méthoxybenzyle en conditions acides ;
- 10
- l'étape (iv) étant une oxydation de l'alcool à l'aide d'un agent d'oxydation ;
  - l'étape (v) étant une introduction de l'époxyde par réaction de Corey-Chaykovsky asymétrique à l'aide d'un sulfonium chiral dérivé de

l'isothiocinéol substitué de manière appropriée en présence d'une base ;  
- l'étape (vi) étant une réduction du groupe azido.

5

28. Procédé pour la préparation d'un conjugué de formule (III) comprenant les étapes consistant à :

(i) mettre en contact et laisser réagir :

- 10 - une solution aqueuse éventuellement tamponnée d'un anticorps, éventuellement modifié au moyen d'un agent de modification, et
- 15 - une solution d'une charge utile de cryptophycine de formule (II) telle que définie selon l'une des revendications 14 à 21, le groupe chimique RCG1 de la charge utile de cryptophycine de formule (II) étant réactif vis-à-vis des groupes chimiques RCG2 présents
- 20 sur l'anticorps, en particulier vis-à-vis des groupes amino présents sur des anticorps, lesdits groupes chimiques RCG2 ayant été introduits, s'il y a lieu, par l'agent de modification,
- 25 de sorte à lier la charge utile de cryptophycine de formule (II) à l'anticorps par la formation d'une liaison covalente ;
- (ii) puis éventuellement séparer le conjugué formé dans l'étape (i) de la charge utile
- 30 de cryptophycine de formule (II) et/ou de l'anticorps n'ayant pas réagi et/ou de quelconques agrégats qui auraient pu se former.

35

29. Médicament, caractérisé en ce qu'il comprend un conjugué de formule (III) selon l'une quelconque des revendications 22 à 26.



- 16 -

- 5
30. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend un conjugué de formule (III) selon l'une quelconque des revendications 22 à 26 et également au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.
- 10
31. Composé de cryptophycine de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 pour une utilisation dans le traitement du cancer.
32. Conjugué de formule (III) selon l'une quelconque des revendications 22 à 26 pour une utilisation dans le traitement du cancer.