



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 24.12.1969 (P. 137792)

Pierwszeństwo _____

Zgłoszenie ogłoszono: 31.03.1973

Opis patentowy opublikowano: 30.04.1976

MKP C07c 173/02

Int. Cl.² C07J 19/00

CZYTELNIJA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórcy wynalazku: Rudolf Megges, Renate Franke, Barbara Streckenbach, Hans-Jörg, Schmidt, Kurt Repke

Uprawniony z patentu: VEB Arzneimittelwerk Dresden, Radebeul (Niemiecka Republika Demokratyczna)

Sposób wytwarzania acylowych pochodnych steroidów nasercowych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania acylowych pochodnych steroidów nasercowych, takich jak digitoksyna, gitoksyna, gitoksygenina, lanatozyd B, purpureaglikozyd B, digoksyna, lanatozyd C, dezacetylolanatozyd C, strofantydyna, strofantydol, ouabaina, lanatozyd A, dezacetyloanatozyd A, 7- β -OH-digitoksygenina, 16-epigitoksyna, strofantyna, helwetykozyd, konwalatoksyne, strofantol, cymarol, helwetykozol, konwalatoksol i proscylarydyna, na drodze selektywnego acylowania.

Steroidy nasercowe zawierają mniejszą lub większą liczbę grup wodorotlenowych, które można acylować za pomocą zdolnych do reakcji pochodnych kwasowych (opis patentowy Niemieckiej Republiki Demokratycznej nr 47610 i opis patentowy Niemieckiej Republiki Federalnej DAS nr 1063160). Sposoby opisane w tych publikacjach umożliwiają jednak wytwarzanie tylko niektórych spośród teoretycznie możliwych pochodnych acylowych nasercowych glikozydów.

Rodniki acylowe są bowiem przyłączane do cząsteczki steroidu w pewnej określonej kolejności, zależnej od podatności grup wodorotlenowych do reakcji i od przestrzennej budowy tej cząsteczki, przy czym warunki reakcji acylowania nie mają wpływu na tę kolejność. Tak na przykład reakcja gitoksyny z bezwodnikiem kwasu octowego w stosunku molowym 1:80, prowadzona w temperaturze 22°C w ciągu 10 minut, daje przeważnie pochodną β -acetylową. Jeżeli reakcję tę prowadzi się

2

w ciągu 1 godziny, wówczas głównym produktem jest pochodna β ,16-dwuacetylowa, po upływie 8 godzin otrzymuje się pochodną α , β ,16-trójacetylową, zaś po upływie 21 godzin powstają prawie równe ilości pochodnej α , β , γ ,16-czteroacetylowej i α , β , δ ,16-czteroacetylowej.

Z opisu patentowego Niemieckiej Republiki Demokratycznej nr 47610 wiadomo, że całkowite acetylowanie gitoksyny następuje, gdy utrzymuje się ją w stanie wrzenia z bezwodnikiem kwasu octowego w ciągu 1 godziny. W wyniku bezpośredniego acetylowania, spośród 31 teoretycznie możliwych acetylomitoksyn powstaje w godnych uwagi ilościach tylko 6, zaś pozostałe nie powstają wcale lub w nieznacznych tylko ilościach.

Reakcja steroidów nasercowych z czteroocetoboranem znana jest z opisu patentowego Niemieckiej Republiki Demokratycznej nr 58507. Według tej metody z zastosowanych steroidów otrzymuje się zawsze jedną lub dwie pochodne zawierające bor, przy czym ich budowa nie została wyjaśniona, to znaczy pozycje przyłączenia reszt zawierających bor nie są znane.

Wynalazek umożliwia selektywne acylowanie steroidów nasercowych i wytwarzanie dotychczas niedostępnych lub trudnodostępnych pochodnych acylowych tych steroidów. Sposób według wynalazku polega na tym, że steroidy nasercowe poddaje się reakcji z reaktywnymi kwasami tlenowymi boru lub arsenu lub z ich pochodnymi, otrzy-

mane estry acyluje się częściowo lub całkowicie w znany sposób, po czym przyłączone grupy zawierające bor lub arsen odszczepia się.

Sposobem według wynalazku reakcję steroidów nasercowych, na przykład gitoksyny, digitoksyny, digoksyny, lanatozydu B lub oubainy z reaktywnymi kwasami tlenowymi boru lub ich pochodnymi, korzystnie z kwasem ortoborowym, kwasem metaborowym, kwasami poliborowymi lub z ich solami, estrami, bezwodnikami lub arylo-, alkilo-, dwuarylo- lub chlorowco-pochodnymi tych kwasów, prowadzi się w stosunkach molowych 5:1—1:10 w temperaturze 0°C—300°C, ewentualnie w obecności rozpuszczalników, takich jak alkohole, ketony, chlorowcowęgłowodory lub aminy. Nieoczekiwanie tworzą się tylko odpowiednie estry borowe określonych ugrupowań OH w steroidach nasercowych. Reagujące w ten sposób grupy OH są przeważnie ugrupowaniami 1,2- i 1,3-diolów, w których grupy OH są względem siebie w położeniu cis lub mogą być w tym położeniu, gdy występują grupy hydroksyalkilowe. Te grupy wodorotlenowe mogą być pierwszorzędowe, drugorzędowe lub trzeciorzędowe, mogą być podstawnikami w 5- lub 6-członowych izo- lub heterocyklicznych pierścieniach lub w rodnikach alkilowych. I tak w przypadku gitoksyny najpierw acylują się nieoczekiwanie grupy OH znajdujące się w pozycjach 14 i 16, a następnie acylują się grupy OH w pozycjach α i β . Otrzymane związki zawierają jeszcze wolne grupy OH, które można częściowo lub całkowicie zacylować przez reakcję z reaktywnymi pochodnymi kwasowymi, korzystnie z pochodnymi ewentualnie podstawionych alifatycznych, aryloalifatycznych lub aromatycznych kwasów karboksylowych jak i z pochodnymi kwasu węglowego. Zestryfikowana gitoksyna zawiera na przykład jeszcze 2 wolne grupy OH w pozycjach γ i δ , dające się zacylować.

Gitoksygeninę, acetylo-gitoksyne- α , acetylo-gitoksyne- β , lanatozyd B, purpureaglikozyd B, diginityne, strofantydol, konwalatoksol lub strofantydynę można poddawać reakcji z kwasem fenyloborowym w stosunku molowym 1:1, otrzymując estry 1,3-diolowe. 16-acetylogitoksyne, digitoksyne, lanatozyd C, 16-epi-gitoksyne lub ouabainę poddaje się w analogiczny sposób reakcji z kwasem fenyloborowym w stosunku molowym 1:10, otrzymując przeważnie odpowiednie estry 1,2-diolowe. W porównaniu ze związkami macierzystymi wykazują one znacznie wyższą prędkość migracji w metodzie chromatografii podziałowej. Jeżeli na przykład gitoksygeninę, gitoksyne, lanatozyd B, α - lub β -acetylo-gitoksyne, strofantydynę, strofantydol lub konwalatoksol poddaje się reakcji z kwasem dwufenyloborowym w sposób opisany w przykładzie IV lub VIII, wówczas otrzymuje się odpowiednie estry 1,3-diolowe, które w porównaniu ze związkami macierzystymi wykazują większą prędkość migracji w metodzie chromatografii podziałowej. Po odszczepieniu reszt kwasu fenyloborowego otrzymuje się z powrotem związki macierzyste.

Z otrzymanych w ten sposób produktów można znanymi metodami, przez traktowanie wodą, alkoholami, alkali, adsorbentami lub zasadowymi

jonitami, odszczepić odpowiednie reszty kwasu borowego, otrzymując acylowe pochodne steroidów nasercowych, które zawierają tylko te w drugiej operacji wprowadzone reszty acylowe.

Na przykład z gitoksyny, po przeprowadzeniu reakcji według wynalazku, otrzymuje się pochodną γ,δ -dwuacetylową, która jest niedostępna na drodze bezpośredniego acetylowania. Reakcję steroidów nasercowych z reaktywnymi kwasami tlenowymi arsenu lub z ich pochodnymi, korzystnie z tlenkami arsenu, takimi jak trójtlenek arsenu i pięciotlenek arsenu, prowadzi się w stosunkach molowych 5:1—1:10 w temperaturze 0°C—300°C, korzystnie w temperaturze 20°C—120°C. Na ogół korzystne jest stosowanie rozpuszczalników lub mieszanin rozpuszczalników, które rozpuszczają zarówno steroid jak i związek arsenu. Jako rozpuszczalnik stosuje się między innymi mieszaninę pirydyna/woda.

Według wynalazku reakcja zachodzi też przez stopienie składników. Po tej reakcji nie osłonięte grupy OH acyluje się znanym sposobem częściowo lub całkowicie, korzystnie reaktywnymi pochodnymi ewentualnie podstawionych alifatycznych, aryloalifatycznych lub aromatycznych kwasów karboksylowych lub pochodnymi kwasu węglowego. Następnie odszczepia się wprowadzone w pierwszej operacji reszty zawierające arsen, działając wodą lub siarkowodorem, względnie chromatograficznie lub obiema tymi metodami łącznie. Otrzymuje się wtedy związki zawierające reszty acylowe wprowadzone tylko podczas drugiej operacji. Na przykład można w ten sposób wytworzyć 12-acetylogitoksyne i 16-acetylogitoksyne, które na drodze bezpośredniego acetylowania powstają w bardzo nieznacznych ilościach. Wybór reaktywnych kwasów tlenowych boru lub arsenu lub ich pochodnych zależy od specyfiki ich działania przy tworzeniu osłony dla grup OH.

Związki boru osłaniają przede wszystkim ugrupowania cis-1,3-diolowe, natomiast osłanianie ugrupowań cis-1,2-diolowych wymaga energiczniejszych warunków i odbywa się zawsze dopiero po osłonięciu ewentualnie istniejących ugrupowań cis-1,3-diolowych. Reakcje ze związkami arsenu zaleca się w przypadku wytwarzania pochodnych acylowych z wolnymi ugrupowaniami cis-1,2-diolowymi, gdyż związki arsenu reagują przede wszystkim z ugrupowaniami cis-1,2-diolowymi. Poza tym trójtlenek arsenu z powodu niskiej ceny szczególnie nadaje się do zastosowania przemysłowego.

Sposób według wynalazku umożliwia wytwarzanie dotychczas nieznanych lub trudnodostępnych acylowych pochodnych steroidów nasercowych. Dzięki temu można modyfikować w wielu kierunkach działanie farmakologiczne steroidów, a tym samym ich stosowanie w lecznictwie. Na przykład, dzięki wywołanej przez acylowanie grup OH zmianie rozpuszczalności w lipidach i/lub w wodzie, uzyskuje się lepszą resorpcję oraz reguluje czas działania steroidu, związany ze zmianą szybkości usuwania go z organizmu. Ponadto, uzyskane w pierwszej operacji sposobu według wynalazku, pochodne boru i arsenu nadają się do dalszej syntezy, w której określone grupy OH powinny być

osłanianie. Wynalazek bliżej wyjaśniono w niżej podanych przykładach.

Przykład I. 200 mg gitoksyny i 16,0 mg kwasu ortoborowego (stosunek molowy 1:1) ogrzewa się w 5 ml pirydyny i po 10 minutowym odstaniu roztwór odparowuje się do sucha, a pozostałość ogrzewa w ciągu 10 minut do temperatury 100°C. Otrzymuje się 14,16-ester gitoksyny z kwasem borowym. Z układu chloroform/eter dwu-n-propylowy powstają kryształy o temperaturze topnienia 323,5°C—325,5°C, analiza spektralna w podczerwieni:

a) B—O 1410 cm⁻¹

b) C=O 1745 cm⁻¹

a) nieco intensywniejsze niż b).

Dobra rozpuszczalność w chlorku metylenu, pirydynie; rozpuszczalność > 10% w chloroformie, czterowodorofuranie, dioksanie; rozpuszczalność > 1% w octanie etylu; słaba rozpuszczalność w eterze dwu-n-propylowym, benzenie, cykloheksanone, czterochlorku węgla, wodzie i amoniaku. W metanolu i acetonie rozpuszcza się więcej niż 10%, jednak zaraz po rozpuszczeniu wytrąca się krystaliczny osad. Trudnej rozpuszczalności gitoksyny w stosowanych rozpuszczalnikach, niedogodnej przy nanoszeniu w chromatografii na tlenku glinowym lub na żelu krzemionkowym, można uniknąć stosując 14,16-ester gitoksyny z kwasem borowym, który rozkłada się zupełnie na adsorbencie, dając czystą gitoksyne.

Przykład II. 200 mg gitoksyny i 31,2 mg kwasu fenyloborowego (stosunek molowy 1:1) poddaje się reakcji w sposób opisany w przykładzie I. Otrzymuje się 14,16-ester gitoksyny z kwasem fenyloborowym o temperaturze topnienia 170°C—171°C. Jego rozpuszczalność jest zbliżona do rozpuszczalności 14,16-estru gitoksyny z kwasem borowym. W chromatografii adsorpcyjnej na żelu krzemionkowym następuje tylko częściowy rozkład tego związku do gitoksyny. Otrzymany 14,16-ester gitoksyny z kwasem fenyloborowym rozpuszcza się w 6 ml pirydyny, traktuje 2 ml bezwodnika octowego i ogrzewa w ciągu 3 godzin w temperaturze 100°C. Otrzymany 14,16-ester $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -czteroacetylogitoksyny z kwasem fenyloborowym uwalnia się od estrów kwasu fenyloborowego przez reakcję z 1,3-propanodiolem, otrzymując $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -czteroacetylogitoksyne. Wydzielona z układu chloroform/cykloheksanon ma temperaturę topnienia 184°C—186,5°C.

Charakterystyczny współczynnik chromatograficzny w układzie stanowiącym mieszaninę eteru propylowego z czterowodorofuranem w stosunku objętościowym 2:1, nasyconą formamidem, wynosi $R_f = 0,80$. Zielona fluorescencja w ultrafiolecie, powstająca po wywołaniu chromatogramu za pomocą odczynnika kwas trójchlorooctowy — chloroamina T, jest charakterystyczna dla związku. Próba na cis-glikol i na migrację grup acetylowych wypada negatywnie. Podczas częściowej hydrolizy kwaśnej powstaje γ,δ -dwuacetylogitoksygenino-bis-digitoksozyd, γ -acetylogitoksygenino-jedno-digitoksozyd i gitoksygenina.

Przykład III. Z 200 mg gitoksyny i 93,6 mg kwasu fenyloborowego (stosunek molowy 1:3), postępując w sposób opisany w przykładzie I, otrzymuje się 14,16,3'''4'''-ester gitoksyny z kwasem fenyloborowym o temperaturze topnienia 173—176°C.

Przykład IV. 200 mg gitoksyny i 312 mg kwasu fenyloborowego (stosunek molowy 1:10) poddaje się reakcji w sposób opisany w przykładzie I. Acetyluje się za pomocą 2 ml bezwodnika octowego w 6 ml pirydyny w ciągu 4 godzin w temperaturze 100°C. Otrzymany 14,16,3'''4'''-ester- γ,δ -dwuacetylogitoksyny z kwasem fenyloborowym topi się w temperaturze 212°C—217°C (długie igły z cykloheksanonu). Rozpuszczalność: w CHCl₃ dobra, we wrzącym cykloheksanone około 5%. Analiza spektralna w podczerwieni:

C—O (octan): 1265 cm⁻¹

B—O (octan): 1355 cm⁻¹ (bardzo silna)

C=O (octan): 1752 cm⁻¹ (słaba).

Przykład V. Otrzymany według przykładu IV 14,16,3'''4'''-ester γ,δ -dwuacetylogitoksyny z kwasem fenyloborowym poddaje się obróbce chromatograficznej na 100 g żelu krzemionkowego. Następuje odszczepienie reszt kwasu fenyloborowego i utworzenie γ,δ -dwuacetylogitoksyny. Z układu aceton/cykloheksanon otrzymuje się igły o temperaturze topnienia 253°C—259°C. Analiza spektralna w podczerwieni:

a) C—O (aceton): 1255 cm⁻¹ (silne)

b) C=O (aceton): 1742 cm⁻¹ (silne)

b) jest nieco intensywniejsze niż a).

$R_f = 0,17$ (układ według przykładu II). Zielona fluorescencja w ultrafiolecie po wywołaniu chromatogramu za pomocą odczynnika kwas trójchlorooctowy — chloroamina T. Próba na cis-glikol pozytywna, próba na migrację grup acetylowych negatywna. Częściowa hydroliza kwaśna dostarcza takich samych produktów jak podane w przykładzie II.

Przykład VI. 40 mg gitoksyny i 3,2 mg kwasu ortoborowego rozpuszcza się w 2 ml pirydyny i po dodaniu 2 ml bezwodnika kwasu octowego zostawia mieszaninę w ciągu 7 dni w temperaturze pokojowej. Produkt reakcji składa się z 50% $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -czteroacetylogitoksyny ($R_f = 0,76$, układ jak w przykładzie V); 35% α,β,γ - + α,β,δ -trójacetylogitoksyny ($R_f = 0,62$) i 15% α,β -dwuacetylogitoksyny ($R_f = 0,41$).

Przykład VII. 100 mg lanatozydu B i 12,2 mg kwasu fenyloborowego (stosunek molowy 1:1) w pirydynie poddaje się reakcji w temperaturze pokojowej, otrzymując 14,16-ester lanatozydu B z kwasem fenyloborowym. Po 6 godzinach dodaje się 3,5 ml bezwodnika octowego i ogrzewa do temperatury 60°C—90°C w ciągu 2 godzin. Po odparowaniu roztworu do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymuje się 14,16-ester 2',3',4',6', γ,δ -sześciacetylolanatozydu B z kwasem fenyloborowym (w nazwie cyfry ze znakiem ' oznaczają atomy węgla w reszcie glukozowej).

Odszczepienie reszt kwasu borowego za pomocą

glikolu-1,3-propylenowego w acetonie prowadzi do 2',3',4',6', γ , δ -sześćcioacetylanatozydu B. Z układu cykloheksan/aceton otrzymuje się igły o temperaturze topnienia 221°C—225°C. Produkt jest dobrze rozpuszczalny w acetonie, chloroformie, benzenie, octanie etylu, rozpuszczalny w metanolu, nierozpuszczalny w cykloheksanie, eterze naftowym, eterze propylowym. Analiza spektralna w podczerwieni

a) C—O (octan) 1250 cm⁻¹

b) C=O (octan) 1750 cm⁻¹

Cieężar cząsteczkowy

obliczony: 1237,3

znaleziony: 1230,0

Grupy acetylowe w cząsteczce

obliczone: 7,0

znalezione: 7,1

Hydroliza kwaśna daje gitoksygeninę, a nie daje 16-acetylogitoksygeniny.

Przykład VIII. 200 mg lanatozydu B i 244 mg kwasu fenyloborowego (stosunek molowy 1:10) w pirydynie poddaje się reakcji w temperaturze pokojowej, otrzymując mieszaninę 14,16-estru i 4',6',14,16-estru lanatozydu B z kwasem fenyloborowym. Po 6 godzinach roztwór reakcyjny odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem i otrzymana pozostałość poddaje się reakcji z 7 ml bezwodnika octowego w pirydynie w ciągu 4 godzin w temperaturze 90°C. Po odparowaniu do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymuje się mieszaninę 14,16-estru 2',3',4',6', γ , δ -sześćcioacetylanatozydu B i 4',6',14,16-estru 2',3', γ , δ -czteroacetylanatozydu B z kwasem fenyloborowym.

Odszczepienia reszt kwasu fenyloborowego z mieszaniny dokonuje się tak, jak opisano w przykładzie VII, otrzymując mieszaninę 2',3', γ , δ -czteroacetylanatozydu B i opisanego w przykładzie VII 2',3',4',6', γ , δ -sześćcioacetylanatozydu B w stosunku 35:65. Czteroacetylanatozyd B wyosobniony metodą chromatografii cienkowarstwowej ma temperaturę topnienia 210°C—216°C.

Analiza spektralna w podczerwieni

a) C—O (octan) 1250 cm⁻¹

b) C=O (octan) 1745 cm⁻¹

Cieężar cząsteczkowy

obliczony: 1153,2

znaleziony: 1170,0

Grupy acetylowe w cząsteczce

obliczone: 5,0

znalezione: 5,2

Przykład IX. 150 mg lanatozydu B i 9,3 mg kwasu ortoborowego w pirydynie poddaje się reakcji w temperaturze pokojowej, otrzymując 14,16-ester lanatozydu B z kwasem borowym. Po 1 godzinie dodaje się 10,5 ml bezwodnika octowego i mieszaninę reakcyjną pozostawia w ciągu 11 dni w temperaturze pokojowej. Po odszczepieniu reszt kwasu borowego, przez wielokrotne odparowywanie z metanolem, otrzymuje się trzy związki:

1. pięcioacetylanatozyd B (26,5%; $R_F = 0,69$) w układzie stanowiącym mieszaninę eteru propylowego z czterowodorofuranem w stosunku objętościowym 2:3, nasyconą formamidem,

2. sześćcioacetylanatozyd B (38,5%; $R_F = 0,80$),

3. pięcioacetylanatozyd B (34,8%; $R_F = 0,89$).

Przykład X. 400 mg digoksyny i 624 mg kwasu fenyloborowego rozpuszcza się w 12 ml pirydyny i po 10 minutach odparowuje do sucha, a pozostałość ogrzewa we wrzącej łaźni wodnej w ciągu 10 minut pod ciśnieniem zmniejszonym (za pomocą strumieniowej pompy wodnej i za pomocą pompy olejowej). Pozostałość rozpuszcza się w 12 ml pirydyny, zadaje 4 ml bezwodnika octowego i pozostawia w ciągu 4 godzin w temperaturze 23°C. Reakcję przerywa się przez dodanie 10 ml metanolu i po usunięciu reszt kwasu fenyloborowego, znanym sposobem przez reakcję z glikolem-1,3-propylenowym, otrzymuje się surową 12-acetylodigoksynę. W czystej postaci otrzymuje się ją metodą chromatografii na żelu krzemionkowym. $R_{f \text{ digoksyny}} = 4,5$ w układzie stanowiącym mieszaninę eteru dwu-n-propylowego z czterowodorofuranem w stosunku objętościowym 2:1, nasyconą formamidem. Po wywołaniu chromatogramu papierowego odczynnikiem kwas trójchlorooctowy — chloroamina T występuje ciemnożółta fluorescencja.

Przykład XI. 1 g 16-epi-gitoksyny, 1,55 g kwasu fenyloborowego (stosunek molowy 1:10) i 30 ml pirydyny poddaje się reakcji w sposób opisany w przykładzie I, otrzymując 3''',4'''-ester 16-epigitoksyny z kwasem fenyloborowym. Produkt rozpuszcza się w 30 ml pirydyny, zadaje 1,0 ml bezwodnika octowego i pozostawia na okres 4 godzin w temperaturze 26°C. Z acetylowanego produktu usuwa się kwas fenyloborowy przez reakcję z glikolem 1,3-propylenowym i przez chromatografię na żelu krzemionkowym uzyskuje się czystą 16-acetylo-16-epi-gitoksynę. Temperatura topnienia produktu przekrystalizowanego z mieszaniną acetonu z eterem etylowym wynosi 240—243°C.

$C_{43}H_{66}O_{15}$ (822,96)

obliczono:

C 62,70% H 8,08%

znaleziono:

C 62,62% H 8,05%

Analiza spektralna w podczerwieni (KBr)

OH 3570, 3430 cm⁻¹

C=O 1760, 1730, 1700 cm⁻¹

C=C 1620 cm⁻¹

C—O 1245 cm⁻¹

$R_{f(16\text{-epi-gitoksyny})} = 7$ (układ według przykładu X). Częściowa hydroliza kwaśna daje 16-acetylo-16-epi-gitoksygeninę, -jedno- i -bis-digitoksozyd.

Przykład XII. 1 g gitoksyny, 1,56 g kwasu fenyloborowego i 30 ml pirydyny poddaje się reakcji według przykładu I. Pozostałość miesza się z 30 ml pirydyny i poddaje reakcji z 10 ml bezwodnika octowego w ciągu 17 godzin w temperaturze pokojowej. Po usunięciu reszt kwasu fenyloborowego przez reakcję z glikolem 1,3-propylenowym rozdziela się mieszaninę γ - i δ -acetylogitoksyny metodą chromatografii kolumnowej w nasyconym formamidem układzie zawierającym sproszkowaną celulozę i 30% mieszaniny składającej się z mieszaniny eteru izopropylowego z

czterowodorofuranem w stosunku objętościowym 3 : 2, nasyconej formamidem.

Wskaźniki	γ -acetylo- -gitoksyna	δ -acetylo- -gitoksyna
R_f (gitoksyny = 1) (w układzie według przy- kładu X) próba na cis- -glikol migracja grup acetylowych częściowa hydro- liza kwaśna	2,1 pozytywna negatywna γ -acetylo-gi- toksygenino- bis-, -jedno- digitoksozyd, gitoksygenina	1,6 pozytywna negatywna δ -acetylogi- toksygenino- bis-, -jedno- digitoksozyd, gitoksygenina

Przykład XIII. 1 g digoksyny rozpuszcza się w 100 ml pirydyny, traktuje 1% wodnym roztworem trójtlenku arsenu w ilości 25,4 ml (stosunek molowy digoksyna : trójtlenek arsenu = 1 : 1) i odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem do sucha. Pozostałość ogrzewa się w ciągu 10 minut we wrzącej łaźni wodnej pod ciśnieniem obniżonym (za pomocą strumieniowej pompy wodnej) i 10 minut pod ciśnieniem obniżonym za pomocą pompy olejowej, po czym dodaje się 30 ml pirydyny i 10 ml bezwodnika octowego i pozostawia w temperaturze 22°C. Po 6 godzinach reakcję przerywa się przez dodanie metanolu i po odparowaniu rozpuszcza pozostałość w chloroformie i przemywa wodą. Metodą chromatografii uzyskuje się czystą 12-acetylodigoksyne. R_f digoksyny = 4,5 w układzie stanowiącym mieszaninę eteru dwu-n-propylowego w czterowodorofuranu w stosunku objętościowym 2 : 1, nasyconej formamidem.

Barwa fluorescencyjna plam w ultrafiolecie, po wywołaniu chromatogramu za pomocą odczynnika kwas tróchlorooctowy — chloropamina T, jest ciemnożółta.

Przykład XIV. 1 g gitoksyny poddaje się reakcji według przykładu XIII z 127 1% ml wodnego roztworu trójtlenku arsenu (stosunek molowy 1 : 5). Otrzymuje się 16-acetylogitoksyne.

R_f gitoksyny = 2,7 (w układzie według przykładu I). Barwa fluorescencyjna (porównaj przykład XIII) ciemnoniebieska. Chromatograficzna próba porównawcza z autentyczną 16-acetylogitoksyne wykazuje identyczność.

Przykład XV. 1 g digitoksyny poddaje się reakcji według przykładu XVI z 26,5 ml roztworu trójtlenku arsenu (stosunek molowy 1 : 1). Otrzymuje się γ -acetylodigitoksyne i δ -acetylodigitoksyne.

R_f digitoksyny = 1,7 względnie 1,4 (w układzie według przykładu XIII).

Barwa fluorescencyjna (porównaj przykład XIII) w obu przypadkach żółta.

Przykład XVI. 2,5 g 16-epi-gitoksyny rozpuszcza się w 25 ml pirydyny, zadaje 1% roztworem As_2O_3 w ilości 190 ml (stosunek molowy 1 : 3)

i odparowuje do sucha, ogrzewając zawartość w ciągu 15 minut w temperaturze 110—120°C pod ciśnieniem około 1 mm Hg. Pozostałość zadaje się 20 ml bezwodnika octowego i ogrzewa do wrzenia pod chłodnicą zwrotną w ciągu 1 godziny. Bezwodnik octowy oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a z pozostałości usuwa się powstałe produkty uboczne i As_2O_3 metodą dwukierunkowej chromatografii podziałowej w układzie metanol/woda/chloroform/eter naftowy 9 : 6 : 5 : 5. Otrzymuje się 16-acetylo-epi-gitoksyne. Określenie grup acetylowych w cząsteczce obliczone : 5,2% znalezione : 4,5%.

15 Chromatografia cienkowarstwowa w układzie chlorek metylenu/metanol 9 : 1 na żelu krzemionkowym Merck'a R_f = 0,25.

Przykład XVII. 1 g helwetykozolu rozpuszcza się w 1 ml pirydyny, zadaje 1% roztworem As_2O_3 w ilości 26 ml i jak w przykładzie XVI odparowuje się do sucha i ogrzewa w temperaturze 110°C. Pozostałość zadaje się 10 ml bezwodnika octowego, ogrzewa do wrzenia pod chłodnicą zwrotną w ciągu 1 godziny i oddestylowuje bezwodnik octowy pod zmniejszonym ciśnieniem. Powstały 19-acetylohelwetykozyl oddziela się od nieznacznej ilości produktów ubocznych metodą chromatografii na żelu krzemionkowym (1 : 30), za pomocą chloroformu i 2% do 6% metanolu.

30 Określenie grup acetylowych

obliczono : 7,46% acetylu

znaleziono : 7,87% acetylu.

Chromatografia cienkowarstwowa w układzie według przykładu XVI daje wynik

35 R_f 19-acetylohelwetykozolu = 0,3

R_f helwetykozolu = 0,13

Hydrolyza kwaśna: digitoksoza i 19-acetylostrofantydol.

Chromatografia cienkowarstwowa w układzie według przykładu XVI daje wynik

40 R_f strofantydolu = 0,45

R_f 19-acetylostrofantydolu = 0,5

Przykład XVIII. 0,1 g konwalatoksyny rozpuszcza się w 1 ml pirydyny, zadaje 1% roztworem As_2O_3 w ilości 3,6 ml i przerabia dalej w sposób opisany w przykładzie XVI. Suchą pozostałość zadaje się 6 ml pirydyny i 1 ml bezwodnika octowego i pozostawia się w ciągu 20 godzin. Powstałą 4'-acetylokonwalatoksyne oddziela się od 2 substancji ubocznych metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej. Chromatografia cienkowarstwowa w układzie według przykładu XIX daje wynik:

R_f 4'-acetylokonwalatoksyny = 0,17

55 R_f konwalatoksyny = 0,04

Określenie grup acetylowych

obliczono : 7,2%

znaleziono : 7,2%.

Przykład XIX. 1 g gitoksyny poddaje się reakcji w sposób opisany w przykładzie XVI, ale zamiast roztworu trójtlenku arsenu stosuje się 29 ml 1% roztworu pięciotlenku arsenu (stosunek molowy gitoksyna: pięciotlenek arsenu 1 : 1). Po oczyszczeniu metodą chromatograficzną otrzymuje się 16-acetylo-gitoksyne.

Przykład XX. Roztwór 250 mg trójtlenku arsenu w 50 ml wody i 100 ml pirydyny dodaje się do roztworu 1 g gitoksyny w 25 ml pirydyny i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuszcza się w 30 ml pirydyny, dodaje 2,7 ml izocyjanianu fenylu i pozostawia na okres 1 godziny. Po obróbce chemicznej według przykładu XIII i po obróbce chromatograficznej na żelu krzemionkowym otrzymuje się czysty fenylouretan-16-gitoksyny. $Rf_{\text{gitoksyny}} = 5,0$ (w układzie według przykładu XIII). Barwa fluorescencyjna (porównaj przykład I): ciemnoniebieska. Próba na ugrupowania cis-glikolowe: pozytywna. Próba na migrację grup acylowych: negatywna. Częściowa hydroliza kwaśna daje fenylouretan 16-gitoksygeniny oraz jego bis- i mono-digitoksozyd.

Przykład XXI. 780 mg gitoksyny rozpuszcza się w 5 ml pirydyny i zadaje 1% roztworem wodnym As_2O_3 w ilości 10 ml. Mieszaninę odparowuje się do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem i ogrzewa w temperaturze $110^\circ C$ w ciągu 15 minut pod ciśnieniem 1 tora. Utworzony ester gitoksyny z kwasem arsenawym łatwo rozpuszcza się w chloroformie. Temperatura topnienia produktu $239^\circ C$ (niekorygowana). W analizie spektralnej w podczerwieni gitoksyno-ester kwasu arsenawego wykazuje charakterystyczne dla dwuhydroksyarseninów oscylacje (pasmo) przy 615 cm^{-1} .

Przykład XXII. Postępując w sposób analogiczny do opisanego w przykładzie XXI z 780 mg digoksyny i 10 ml 1% roztworu As_2O_3 wytwarza się ester digoksyny z kwasem arsenawym. W przeciwieństwie do digoksyny związek ten łatwo rozpuszcza się w chloroformie. Temperatura topnienia produktu $230^\circ C$ (niekorygowana). W analizie spektralnej w podczerwieni digoksyno-ester, kwasu arsenawego wykazuje charakterystyczne dla dwuhydroksyarseninów oscylacje (pasmo) przy 615 cm^{-1} .

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania acylowych pochodnych steroidów nasercowych, takich jak digitoksyna, gitoksygenina, lanatozyd B, purpureaglikozyd B, digoksyna, lanatozyd C, dezacetylolanatozyd C, strofantydyna, strofantydol, oubaina, lanatozyd A, dezacetylolanatozyd A, 7- β -OH-digito-

ksygenina, 16-epigitoksyna, strofantyna, helwetykozyd, konwalatoksyna, strofantol, cymarol, helwetykozol, konwalatoksol i proscylarydyna, przez selektywne acylowanie steroidów, **znamienny tym**, że steroidy nasercowe poddaje się reakcji z reaktywnymi kwasami tlenowymi boru lub arsenu albo z ich pochodnymi i otrzymane estry w znany sposób acyluje się częściowo lub całkowicie, po czym przyłączone reszty zawierające bor lub arsen odszczepia się.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że steroidy nasercowe poddaje się reakcji z reaktywnymi kwasami tlenowymi boru lub z ich pochodnymi, korzystnie z kwasem ortoborowym, kwasem metaborowym, kwasami poliborowymi lub z solami, estrami, bezwodnikami lub aryloalkilo-, dwuarylo- i chlorowcopochodnymi tych kwasów, w stosunku molowym 5:1—1:10 w temperaturze $0^\circ C$ — $300^\circ C$, ewentualnie w obecności rozpuszczalników, takich jak aminy, chlorowcowęgłowodory, ketony lub alkohole, po czym wolne grupy wodorotlenowe otrzymanych estrów borowych acyluje się częściowo lub całkowicie w znany sposób reaktywnymi pochodnymi kwasowymi, korzystnie ewentualnie podstawionymi alifatycznymi, aryloalifatycznymi lub aromatycznymi kwasami karboksylowymi lub pochodnymi kwasu węglowego, a następnie odszczepia się przyłączone odpowiednie grupy estrów borowych.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że steroidy nasercowe poddaje się reakcji z reaktywnymi kwasami tlenowymi arsenu lub z ich pochodnymi, korzystnie z tlenkami arsenu, takimi jak trójtlenek arsenu lub pięciotlenek arsenu, w stosunku molowym 5:1—1:10 w temperaturze $0^\circ C$ — $300^\circ C$, korzystnie w temperaturze $20^\circ C$ — $120^\circ C$, ewentualnie w obecności rozpuszczalników lub mieszanin rozpuszczalników, korzystnie pirydyna/woda, po czym wolne grupy wodorotlenowe otrzymanych estrów acyluje się częściowo lub całkowicie w znany sposób reaktywnymi pochodnymi kwasowymi, korzystnie ewentualnie podstawionymi alifatycznymi, aryloalifatycznymi lub aromatycznymi kwasami karboksylowymi lub pochodnymi kwasu węglowego, a następnie przez działanie wodą lub siarkowodorem względnie chromatograficznie albo stosując obie te metody odszczepia się przyłączone grupy zawierające arsen.