



HU000228520B1

(19) **HU****MAGYARORSZÁG**
Szellemi Tulajdon Nemzeti Hivatala(11) Lajstromszám: **228 520**(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 00 02670**(22) A bejelentés napja: **1998. 04. 17.**(51) Int. Cl.: **C07H 15/24** (2006.01)**C07H 1/00** (2006.01)(40) A közzététel napja: **2000. 12. 28.**(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértesítőben: **2013. 03. 28.**

(86) A nemzetközi (PCT) bejelentési szám:

PCT/US 98/07717

(87) A nemzetközi közzétételi szám:

WO 9855491

(30) Elsőbbségi adatok:

60/048,292**1997. 06. 02.****US**

(73) Jogosult(ak):

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY,
Princeton, New Jersey (US)

(72) Feltaláló(k):

Vemishetti, Purushotham, East Syracuse, New York
(US)**Silverberg, Lee Jonathan, Cherry Hill, New Jersey (US)**

(74) Képviselő:

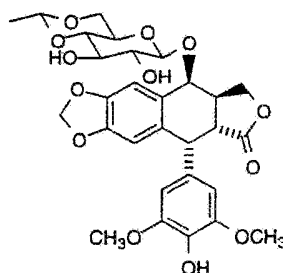
Karácsonyi Béla, ADVOPATENT Szabadalmi
és Védjegy Iroda, Budapest

(54)

Eljárás etopozid előállítására

(57) Kivonat

A találmány a



képletű rákellenes etopozid vegyület C-1"- β anomer formában való előállítására alkalmas új eljárásra, valamint új közbenső vegyületre vonatkozik. Az új eljárással a kívánt termék nagy hozammal és lényegében anometiszta formában kapható.

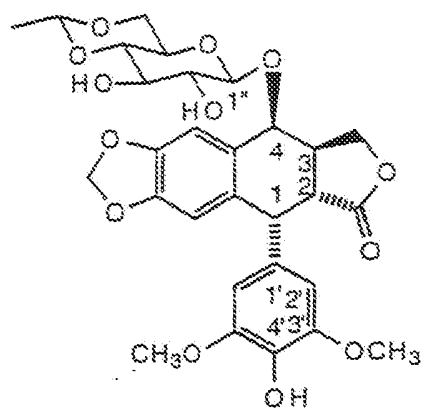
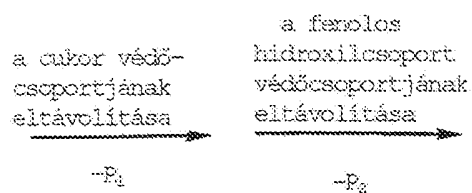
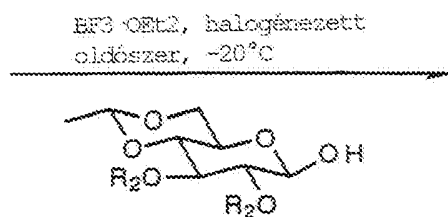
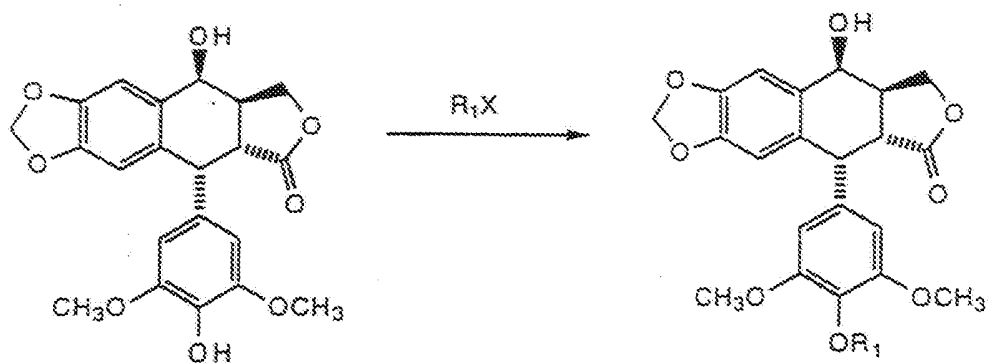
Eljárás etopozid előállítására

A találmány a rákellenes etopozid vegyület C-1"- β anomer formában való előállítására alkalmas új eljárásra, valamint új közbelső vegyületre vonatkozik.

Az etopozid, a VP-16, egy 4'-demetil-4-epipodofillogoxin, amelyet a Bristol-Myers Squibb VepesidTM néven forgalmaz, és a vegyületet a rák klinikai terápiájában széles körben alkalmaz-
zák. Az etopozidról először Kuhn és munkatársai¹ számoltak be a Sandoz Corporation részéről, 1968-ban. Az etopozid egy jellemző szintézisében (1. reakcióvázlat) 4'-demetil-4-epipodofillo-
toxint az arilgyűrű-helyettesítő fenolos hidroxilcsoportján megvédték, majd egy védett glükózszármazék anomer hidroxilcso-
portjával kapcsolták. A cukor hidroxilcsoportjairól és a fenol-
os hidroxilcsoportról azután a védőcsoportokat eltávolították,
így etopozidot kaptak.

A fenolos hidroxilcsoportot rendszerint benziloxikarbonil-
csoporttal (CBZ) vagy más acil-védőcsoporttal védik.² Az utóbbi
években azonban Wang^{3a} és Allevi^{3b} egymástól függetlenül számolt
be olyan kapcsolásokról, ahol a fenolos hidroxilcsoportot nem
védik. Ezekben az esetekben az elkülönítés nehéz volt, és a ki-
vánt kapcsolt termék hozama a közlemény szerint nem volt olyan
magas, mint amikor a fenolos hidroxilcsoport védve volt. Mind
Wang, mind Allevi eljárásához a védett cukornak a kiinduláskor
C-1"- β anomer orientációjának kellett lennie a kapcsolási lé-
péshez.

1. reakcióvázlat

Egy jellemző eljárás etopozid előállítására

Etopozid (VP-16)

Ennek az eljárásnak a kulcslépése a kapcsolási reakció. Ezt általában a cukor anomer oxigénjén való támadással oldják meg egy $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ által generált C-4 lignán karbokációval, amely reakcióban a C-1"- α és - β anomerek keveréke keletkezik. A szelektivitás eléréséhez, a technika állása szerint, olyan cukrot kell előállítani, amely főként β konfigurációjú, így a reakció döntően a β -anomer konfiguráció megtartásával megy végbe^{1, 2, 3}. Ez azt jelenti, hogy 2,3-acil-védett cukrokat kell használni, amelyek azután döntően β -vá alakíthatók, azonban ezeknek a vegyületek az a hátránya, hogy a védőcsoportokat nehéz tisztán eltávolítani és az eltávolítás általában nehézfémek sztöchiometrikus mennyiségének alkalmazását teszi szükségessé. Az étervédőcsoportokat ritkán használják, mivel a β -cukrok nem képződnek könnyen (például a 2,3,4,6-tetra-O-benzil- β -D-glükopiranozról még sohasem számoltak be). Egy benzil-éter védőcsoport azt az előnyt kínálja, hogy ennye, semleges körülmények között eltávolítható.

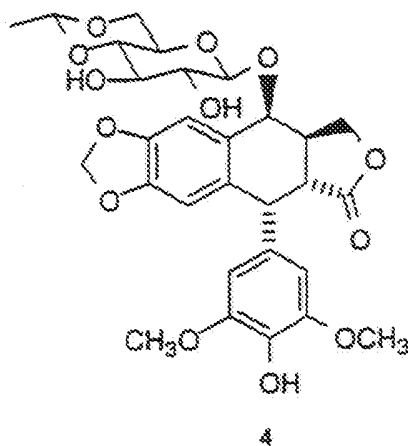
Ohnuma és Hoshi⁴ 2,3-di-O-benzil-4,6-O-etilidén- α, β -D-allopiranoz és 4'-O-CBZ-4'-demetil-4-epipodofillotoxin kapcsolását írták le. Allevi azt közölte, hogy az 1-O- β -trimetilszilil-cukrok, többek között az 1-O-TMS-2,3,4,6-tetra-O-benzil- β -D-glükopiranoz, trimetilszilil-triflát jelenlétében a kapcsolat nagy szelektivitást biztosít^{3a, d}.

Silverberg és munkatársai nemrégiben számoltak be a 4,6-etilidén-2,3-di-O-benzil- α, β -D-glükopiranozok szelektív kapcsolásáról⁵. A jellemzően használt halogénezett oldószerekben a cukornak a reakciókörülmények közötti anomerizációja nagyon

gyors volt, és ennek eredményeként a kapcsolások anomer elegyet eredményeztek (amelyek szelektivitása a benzilcsoporton levő helyettesítőkkel befolyásolható). Az acetonitrilnek oldószerként való alkalmazása lelassította a cukor anomerizációját a kapcsolási reakció sebességéhez képest, és lehetővé tette a C-1" sztereokémiájának ellenőrzését. A β -2,3-di-O-benzil-4,6-O- α -etilidén-D-glükopiranoznak a 85%-ot meghaladó hozammal történő előállítását és annak etopozid-foszfát szintézisére való felhasználását szintén leírták.

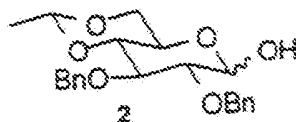
A technika állása szerinti problémákkal szemben mi most az etopozid egy új szintézisét írjuk le, amely nagy hozammal és mindössze két lépésben megvalósítható a 2,3-di-O-benzil-4,6-O- α -etilidén- α,β -D-glükopiranoz (azaz az α és β anomerek keveréke) és a 4'-demetil-4-epipodofillotoxin (azaz nem védett fenolos hidroxilcsoport jelenlétében történő) kapcsolásával, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ alkalmazásával, szerves oldószerben, előnyösen acetonitrilben. Az új közbenső termékek nemvárt módon jó szelektivitással képződnek, és azután, a $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ jelenléte következtében meglepő és nemvárt módon epimerizálódnak az α -ból a β -ba, feltehetően egy reverzibilis reakcióban, amelyet a β termék kicsapódása irányít, amely nagyon nagy szelektivitást eredményez (>44:1). A felhasznált cukor β -anomer-tartalmának nem kell nagyon magasnak lennie ahhoz, hogy a kapcsolat nagy szelektivitással legyen megvalósítható. A termék könnyen elkülöníthető és átkristályosítással tisztítható. A hidroxilcsoportokról a védőcsoportok előnyösen hidrogénezéssel, enyhe körülmények között eltávolíthatók, így az etopozidot nagy hozammal és tisztaságban kapjuk.

A fentieknek megfelelően a jelen találmány a (4) képletű etopozid vegyület

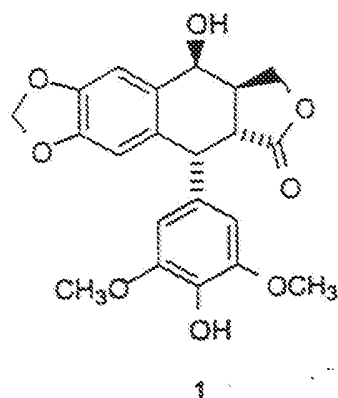


előállítására alkalmas eljárásra vonatkozik, amelyre jellemző, hogy

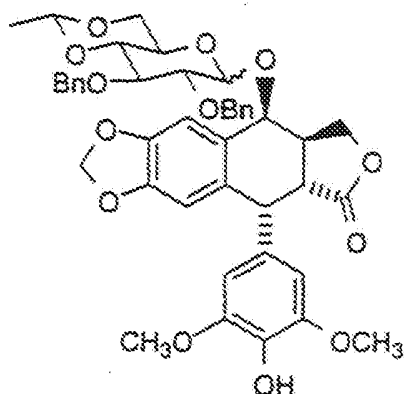
(a) egy (2) képletű vegyület



anomer keverékét egy (1) képletű vegyülettel



szerves oldószerben, mint reakcióközegben és Lewis sav jelenlétében szobahőmérsékleten vagy az alatti hőfokon reagáltatjuk a (3) képletű vegyület



3

anomer keverékének előállítására;

(b) a (3) képletű vegyület Cl"- β formáját a reakcióközegből lényegében az α formától mentesen kinyerjük; és

(c) a (b) lépésben kapott termékről a hidroxil-védőcsoportokat eltávolítjuk.

A fenti eljárás egyik előnyös megvalósítási módja, amikor az oldószer halogénezett vagy nem-halogénezett, előnyösebben acetonitril.

A fenti eljárás egy másik előnyös megvalósítási módja, amikor a hidroxil-védőcsoportokat hidrogénezéssel, környezeti hőmérsékleten, nemesfém-katalizátor jelenlétében távolítjuk el.

Egy további előnyös megvalósítási mód szerint a nemesfém-katalizátor palládium.

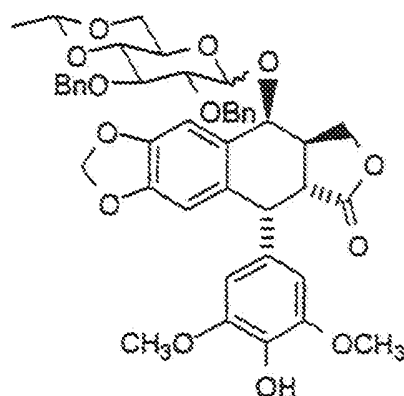
Egy másik előnyös megvalósítási módnak megfelelően a Lewis sav bór-trifluorid-éterát.

Egy még további előnyös megvalósítási módban a reakciót kb. szobahőmérséklet és -40°C közötti, előnyösen 0°C és -40°C közötti hőmérsékleten, még előnyösebben -10°C -on végezzük.

A jelen találmány tárgyát képezi a (3) képletű vegyület C1"- β anomerjének az előállítására alkalmas eljárás is, amelyre jellemző, hogy a (3) képletű vegyület anomer keverékét szerves oldószerben oldjuk, kinyerjük a kivált terméket, abból egy alkohollal egy második oldatot készítünk, a második oldatból ki-kristályosítjuk a C-1"- β anomert és az α anomertól lényegében mentes C-1" β anomer kristályait kinyerjük.

Egy előnyös megvalósítási módban az alkohol metanol.

A jelen találmány a (3 α , β) képletű



3

új közbelső vegyületekre is vonatkozik

Előnyösen a (3) képletű vegyület a C-1"- β anomer.

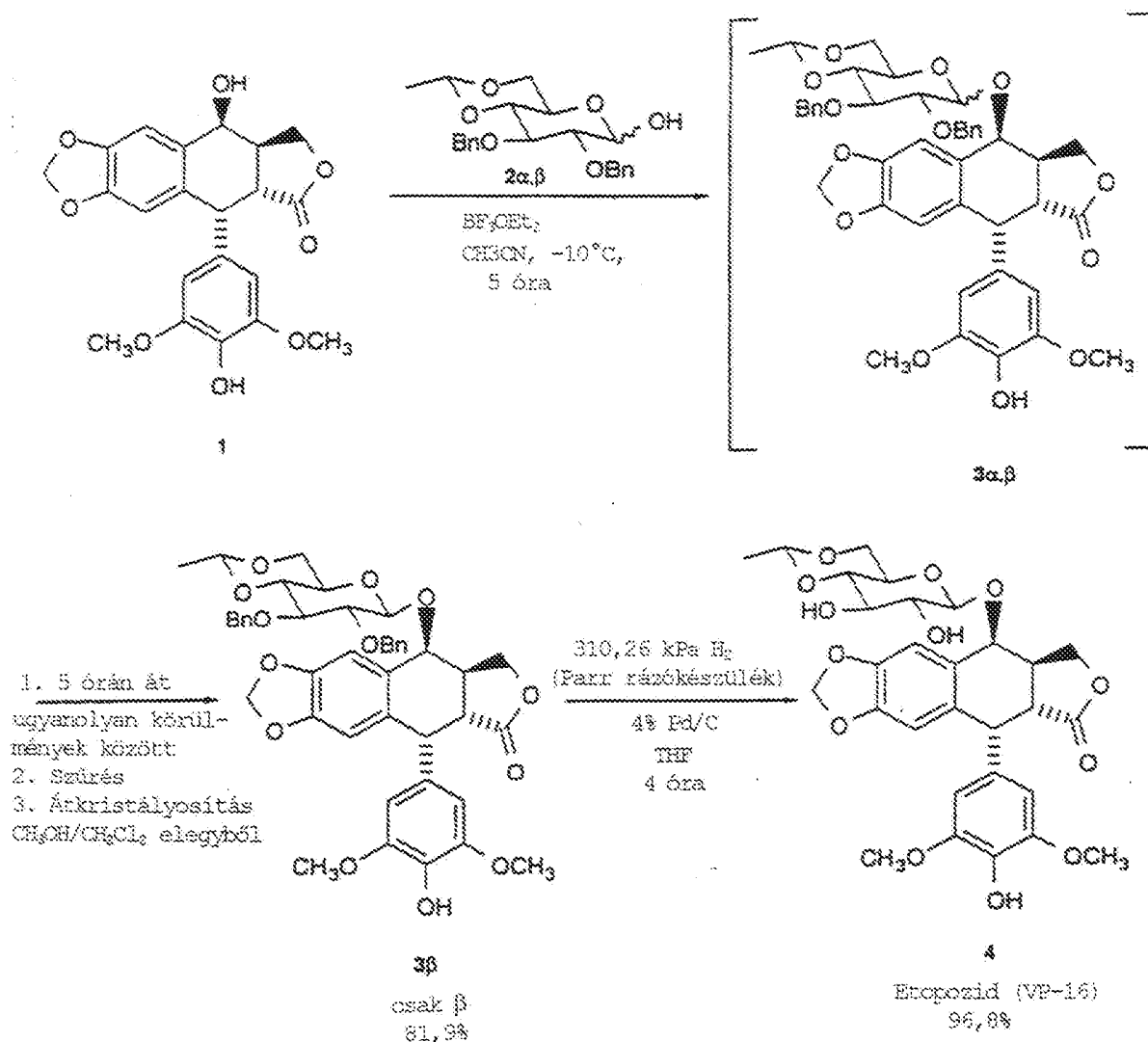
A jelen találmány tehát a (4) képletű etopozid (1) képletű 4'-demetil-4-epipodofillotoxinból való szintézisének egy új módjára vonatkozik.

A 2. reakcióvázlaton egy előnyös megvalósítási mód látható, az (1) képletű vegyület és a 2,3-di-O-benzil-4,6-O-etilidén- α , β -D-glükoporanóz (2 α ,2 β) kapcsolása az új közbelső termékek, a (3 β) és (3 α) képletű vegyületek keverékét eredményezi. A reakciót hagyjuk folytatódni, és a vegyületek C-1"-nél

lejátszódó epimerizációja nagyon magas $\beta:\alpha$ szelektivitást ad. A szilárd anyagot közvetlenül a reakcióelegyből szűréssel elkülönítjük (más feldolgozási módok is használhatók), és átkristályosítással a (3 β) képletű vegyületet tovább tisztítjuk. Ezután a (3 β) képletű vegyületről a védőcsoportokat hidrogénezéssel eltávolítjuk, így a (4) képletű etopozidot kapjuk.

2. reakcióvázlat

Etopozid előállítása

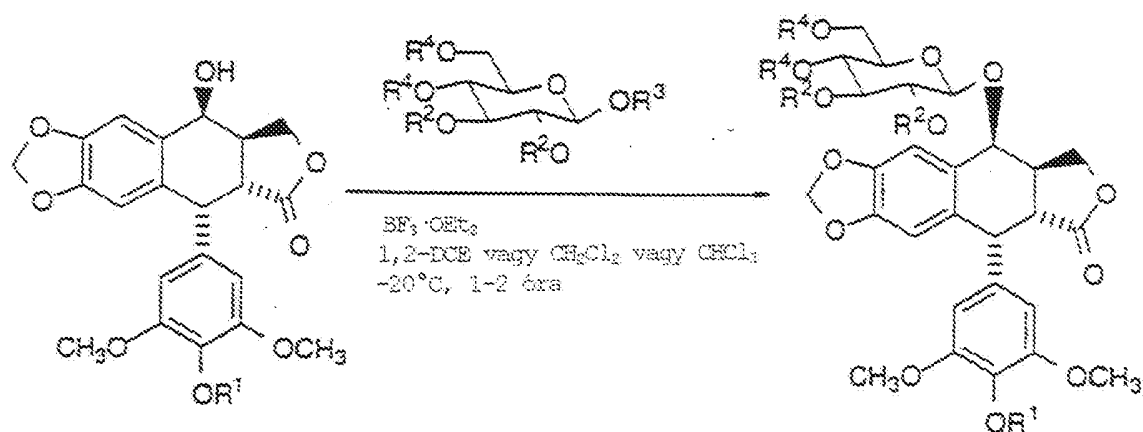


1. Kapcsolás

A legtöbb cukor-lignán kapcsolását [azaz az (1) képletű és (2) képletű vegyület reakcióját] korábban nagyon hasonlóan, a Sandoz által ismerttetett eljárástól lényegesen nem különböző módon végezték. Jellemzően egy 4'-védett-4'-demetil-4-epipodofillotoxint egy 2,3-di-O-acil (észter vagy karbonát)-védett β -D-glükopiranozzal bór-trifluorid-éterát jelenlétében halogénezett oldószerben (1,2-diklóretánban vagy DCE-ben, metiléndikloridban vagy kloroformban) -20°C -on (3. reakcióvázlat, a képletekben R^1 jelentése hidrogénatom, $-\text{C}(\text{O})\text{R}$ vagy $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$ általános képletű csoport; R^2 jelentése $-\text{C}(\text{O})\text{R}$ vagy $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$ általános képletű csoport; R^3 jelentése hidrogénatom, $-\text{SnBu}_3$, $-\text{SiMe}_3$ vagy $\text{P}(\text{NTs})\text{Ph}^2$; R^4 jelentése Et^1 vagy etilidén-acetálcsoport)^{1,2,3} kapcsoltak. Ameddig a (2) képletű cukor valóban β konfigurációjú a C-1 helyzetben, és a reakció körülményei között az anomerizáció lassú, a reakciónak szinte kizárólag a C-1"- β terméket kellene szolgáltatnia.

3. reakcióvázlat

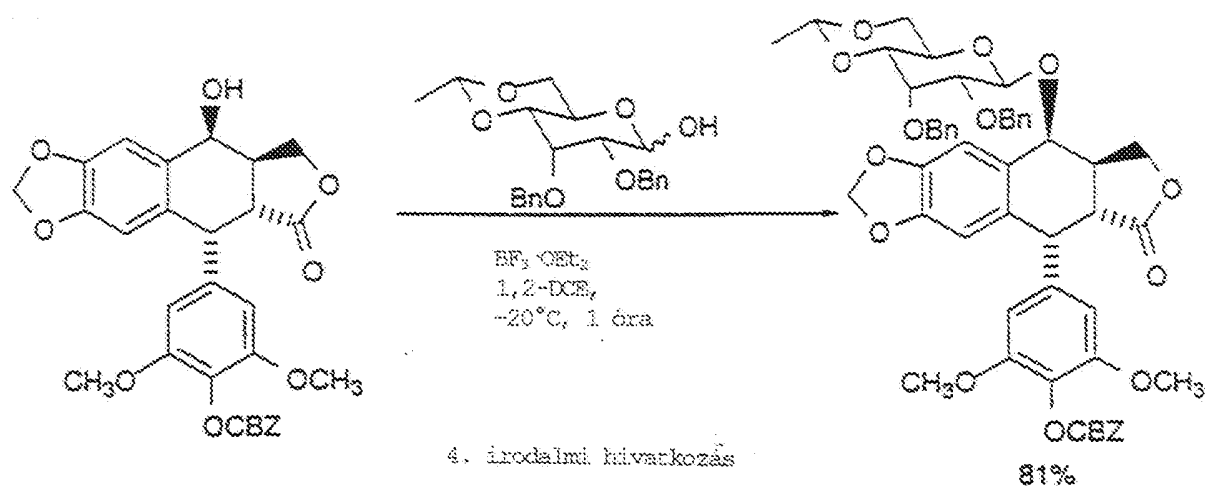
Irodalomban leírt eljárás acil-védőcsoportok alkalmazásával

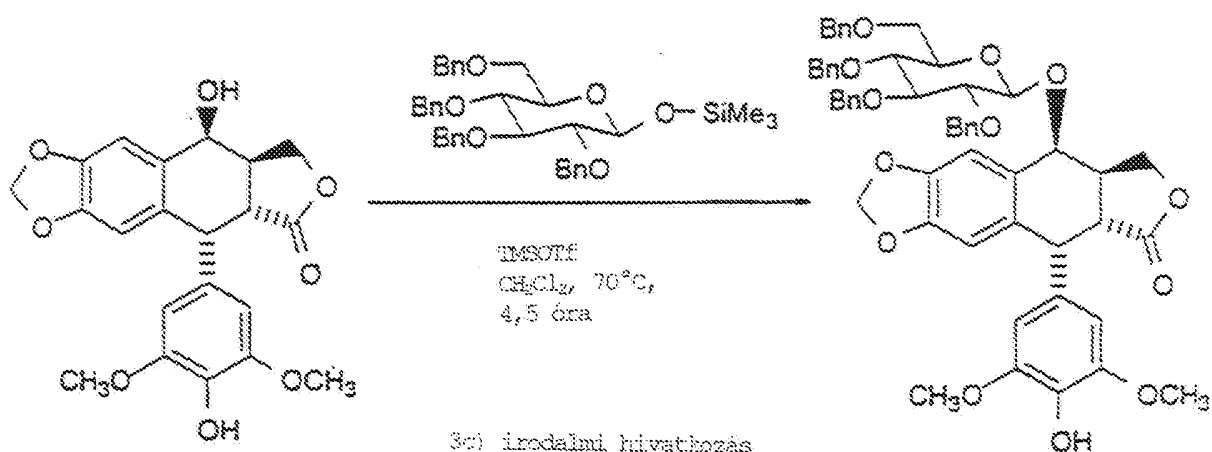


Nemrégiben két esetet ismertettek, ahol az acil-védőcsoportok használatától eltértek (4. reakcióvázlat). Ohnuka és Hoshi⁴ a 2,3-O-dibenzil-4,6-O-etilidén- α,β -D-allopiranóz és a 4'-O-CBZ-4'-demetil-4-epipodofillotoxin kapcsolásáról számolt be. Allevi és munkatársai^{3a,4} azt közölték, hogy az 1-O-trimetilszilil-2,3,4,6-tetra-O-benzil- β -D-glükopiranozid kiválasztott lignánokkal, ezen belül az (1) képletű vegyülettel kapcsolható, ha trimetilszilil-triflátot használnak metilén-dikloridban, -70°C-on, így szinte kizárólag a C-1"- β termék képződik. A TMS (azaz trimetilszilil) csoport szükséges ahhoz, hogy a β konfigurációjú kapcsolt terméket nagy hozamban kapják és még egy további lépés is szükséges ennek a csoportnak cukorba való beviteléhez.

4. reakcióvázlat

Éter védőcsoportok a cukron





97:3 β : α , összehozam 77%

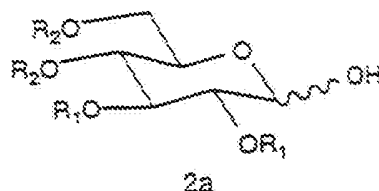
A technika állásával ellentétben az itt leírt (azaz a 2. reakcióvázlat szerinti) eljárás a (2) képletű vegyületet használja cukorként vagy szénhidrát komponensként. A szükséges (2) képletű cukrot analóg vegyületek előállítására alkalmas ismert irodalmi eljárások adaptálásával állítottuk elő.⁴ Kívánt esetben a (2) képletű anomerelegyet olyan keverékké alakíthatjuk, amelynek több mint 85%-a β . Ehhez vagy a) hexánból vagy heptánból átkristályosítást kell végezni; b) hagyni kell az anomerek olajos keverékét szobahőmérsékleten 2 hónapig állni; vagy c) metanol és víz elegyből át kell kristályosítani, majd a szilárd anyagot az olvadáspontja alatt kell melegíteni 1-7 napon át. Azonban meglepő és váratlan módon azt találtuk, hogy az anomertiszta (2 β) képletű cukorra nincs szükség az itt alkalmazott kapcsolási lépésben. Az (1) képletű vegyület és a (2 α,β) képletű vegyület kapcsolása Lewis sav, előnyösen bór-trifluorid-éterát jelenlétében, szerves oldószerben, amely lehet halogénezett vagy nem-halogénezett, előnyösen acetonitril, szobahőmérséklet és -40°C közötti, előnyösen 0°C és -40°C

közötti hőmérsékleten, és még előnyösebben -10°C -on nagyon nagyon gyors, kb. 5 órán belül teljes.

A termékek kezdeti anomeraránya a (2) képletű vegyület kezdeti anomerösszetételétől függ. Amennyiben a (2) képletű kiindulási vegyület több mint 90%-a β , a (3) képletű kapcsolt termékben, -40°C -on végezve a reakciót, kb. 8:2 a $\beta:\alpha$ arány. Ha a (2) képletű kiindulási cukorban az anomerek aránya 63:37, akkor a kapcsolt (3) képletű termékben 61:39. Azonban, ha a reakciót hagyjuk folytatódni, a termékek $\beta:\alpha$ aránya nem várt módon nő. Ha a termékek oldatban maradnak, a termodinamikai egyensúly beáll a (3 α) és a (3 β) képletű vegyület között. Ezt feltehetően a cukor reverzibilis szétkapcsolódása majd gyors újrapcsolódása okozza. Ebben a speciális esetben azonban a (3 β) képletű vegyület kicsapódik elsősorban az acetonitrilben való kisebb oldékonysága miatt. Az oldatban maradó termék (feltehetően főként α) ezután ismét helyreállítja az egyensúlyt, így a reakciót a β termék képződése irányába eltolja. Ezt az elméletet támasztottuk alá egy reakcióval, amelyben a termék nem csapódott ki gyorsan, és a termékek aránya az α irányába mozdult el. Amikor végül a termék kicsapódott, az arány visszament a β irányába. A kapcsoláshoz olyan (2) képletű vegyület is használható, amelynek nem nagy a β tartalma, noha a reakció a nagyobb arányok eléréséhez hosszabb időt vesz igénybe. Már elértünk 97,8:2,2 $\beta:\alpha$ arányt. Az oldat tiszta (3 β) képletű vegyülettel való beoltása szintén elősegíti a termék kiválását, ezáltal az össz reakcióidőt csökkenti.

Noha előnyös, hogy a (2) képletű glükopiranoz vegyületen a 2,3-hidroxi-védőcsoportok benzilcsoportok legyenek (azaz R^1 jelentése benzilcsoport legyen), úgy véljük, hogy más aril-metil-csoportok is használhatók. Szóba jöhetnek például az egy vagy több 1-4 szénatomos alkilcsoporttal, hidroxil-, fenil-, benzilcsoporttal, halogénatommal, így fluor-, klór-, bróm- és jódatommal, alkoxicsoporttal, nitrocsoporttal és karboxilcsoporttal és azok észtereivel helyettesített benzilcsoportok is. Alkalmas helyettesített benzilcsoportok többek között a 2-metil-benzil-, 3-metil-benzil-, 4-metil-benzil-, 1- vagy 2-naftil-, 2-, 3- vagy 4-fenil-benzil-, 4-metoxikarbonil-benzil-, 2,6-diklór-benzil-, 2-fluorbenzil- és a pentafluorbenzil-csoport.

A glükopiranoz a (2a) képletnek megfelelő szerkezetű



is lehet, ahol R_1 jelentése a fenti, és R_2 jelentése R_1 -ével azonos, vagy a két R_2 csoport együtt egy 1-5 szénatomos alkilidén-csoportot alkot. Előnyösen a két R_2 csoport együtt etilidén-csoportot képez. Más megvalósítási módban a két R^2 csoport együtt propilidén- vagy izopropilidén-csoportot alkothat.

A (2) és (2a) képletű vegyületeket ismert eljárásokkal, például a 4 997 931 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett módon állítjuk elő.

A (3) képletű terméket közvetlenül a reakcióelegyből szűréssel elkülöníthetjük. Így egy nyers szilárd anyagot kapunk 95%-os hozamban, és kb. 90%-os tisztaságban. Kis mennyiségű (3 α) képletű vegyület van jelen a termékben. Ez az elkülönítés sokkal jobb eredményt ad mint Wang vagy Allevi módszere. A szilárd (3) képletű vegyületet azután metilén-dikloridban oldva, majd metanol hozzáadásával átkristályosítjuk, úgy, hogy a metilén-diklorid nagy részét ledesztilláljuk, és a maradékot hűtjük. A (3 β) képletű terméket 78,6%-os hozammal és 99%-nál nagyobb tisztaságban kapjuk. Ez a hozam magasabb mint Wang (60%)^{3a} vagy Allevi kapcsolási hozama és jobb minőségű terméket eredményez (77% az összes α és β -ra vonatkoztatva, 97:3 β : α)^{3a}, és kromatografálás nélkül megvalósítható. Más elkülönítési módszerek is használhatók, amelyekkel akár 81,9%-os hozam is elérhető, amint azt a kísérleti részben részletezzük.

A C-1"- β : α kezdeti arányát a kapcsolt termékben számos tényező, ezen belül a hőmérséklet és az oldószer befolyásolja.

A kapcsolási lépésben használt Lewis sav például $AlCl_3$, $ZnCl_2$, Et_2AlCl , CF_3SO_3H , CF_3SO_3Ag , $Zn(CF_3SO_3)_2$, $TMSCF_3SO_3$ és bórtrifluorid-éterát. Előnyös a bórtrifluorid-éterát.

A reakcióközegként használt szerves oldószer lehet halogénezett vagy nem-halogénezett. Példaként a propionitrilt, acetont, metilén-dikloridot, kloroformot, 1,2-diklór-etánt, acetonitrilt és ezek elegyeit említjük. A kapcsolási reakcióhoz az előnyös oldószer az acetonitril, mivel lehetővé teszi a (3 β) képletű termék közvetlen kikristályosodását és így tisztítását,

miközben a reakciót a kívánt termék képződése irányába tolja el.

A kapcsolási reakciót általában szobahőmérsékleten vagy az alatti hőfokon, előnyösen kb. 0°C és kb. -40°C közötti hőmérsékleten végezzük. Az előnyös hőmérséklet -10°C .

2. A védőcsoportok eltávolítása

Az etopozid legtöbb korábbi szintézisében a cukrot acil-csoportokkal védik. Mivel az etopozid mind savra, mind bázisra érzékeny, ezeknek a csoportoknak az eltávolítása nem egyszerű. Rendszerint nehézfém vegyületeket, például cink-acetátot használnak sztöchiometriai mennyiségben a csoportok eltávolítására. Ez egy ipari eljárásban nem kívánatos. Emellett komoly lebomlást lehet gyakran megfigyelni az eltávolítandó védőcsoporttól függően. Például Allevi arról számol be, hogy ebben a lépésben a jelenlegi etopozid szintézisekben a (3b) képletű vegyület hozama csak 70%. Az etopozid szintézisekben a fenolos hidroxil-csoportokat általában szintén védik, leggyakrabban benziloxi-karbonil-csoporttal, és ezt a csoportot is el kell távolítani; az újabb közleményekben³ azonban megmutatták, hogy a fenolos hidroxilcsoport megvédése végülis nem szükséges.

Az itt leírt találmányban a (3) képletű vegyület C-1"- β anomerjének kinyerése után a védőcsoportokat ismert eljárásokkal és előnyösen hidrogénezéssel távolítjuk el. A hidrogénezéssel történő védőcsoport-eltávolítási lépés hatékonyan megy végbe, és az etopozidot nagy hozamban, minimális bomlással eredményezi. A (3) képletű vegyület nagyon labilis, és mind savra, mind bázisra érzékeny. A jelenleg használt eljárások, amelyek

savakat vagy bázisokat használnak a hidroxil-védőcsoportok eltávolítására, általában a kívánt termék egy részének elbomlását okozzák. Emellett, a védőcsoport-eltávolítási lépésekben a glükopiranozról az etilidencsoport is lehasadhat.

A hidrogénezést számos különböző eljárással megvalósíthatjuk. Jellemzően a hidrogénezést nemesfém-katalizátor jelenlétében, alkalmas oldószerben vagy oldószerelegyen végezzük.

Az előnyös megvalósítási módok szerint a hidrogénezéshez 4%-os szénhordozós palládiumkatalizátort használunk a (3) képletű vegyület C-1"- β anomerjének tetrahidrofuránnal (THF) vagy acetonnal készült oldatában. Az elegyet néhány, jellemzően 3-6 órán át és 275,8-344,9 kPa nyomáson hidrogénezzük. A katalizátort azután szűréssel eltávolíthatjuk, és az etopozidot tetrahidrofurános-vízes vagy metanolos-vízes oldatból átkristályosítjuk.

Az itt leírt találmányban a védőcsoportokat előnyösen szénhordozós palládiumkatalizátor jelenlétében hidrogénezéssel távolítjuk el. Ily módon 96,8%-os hozamot érünk el. Az eljárásnak több előnye van a korábbi etopozid szintézisekkel szemben: a) csak egy és nem két védőcsoport-eltávolítási lépést tartalmaz; b) elkerüli a cukor védőcsoportjának eltávolításánál nehézfémek, például cink-acetát használatát; c) a hidrogénezési körülmények enyhék, semlegesek és nagy hozamot eredményezők; d) nem szükséges kromatográfia ahhoz, hogy az etopozidot nagy tisztaságban kapjuk.

Összefoglalva, az eljárás a következő előnyökkel jár: az etopozid szintézise rövid és hatékony, kromatográfias tisztí-

tást nem alkalmaz; b) az (1) képletű vegyület fenolos hidroxilcsoportja a kapcsolási reakció alatt nincs védve, és a cukron levő védőcsoportok a képződött (3 β) képletű vegyületről könnyen és nagy hozammal eltávolíthatók (a két lépés összhozama 79,3%; Allevi 35,7%-ról^{3b} és 70%-os összhozamról^{3c} számol be, Wang pedig 54%-ról^{3a}); c) nagyon magas β : α arányú (3) képletű kapcsolt termék kapható még akkor is, ha a kiindulási (2) képletű cukorban mérsékelt a β : α arány a (3 α) képletű termék (3 β) képletű terméké történő új epimerizációja következtében; és d) nem szükséges a (2) képletű cukorvegyületet a C-1-en származékká alakítani a kapcsolás előtt, amint azt Allevi^{3c,d} ajánlja (például nem szükséges 1-O- β -trimetilszilil-cukrokat használni).

A következő konkrét példák a jelen találmányt szemléltetik és nem korlátozzák annak kiterjedését, amelynek változatai a szakember számára nyilvánvalóak.

1. példa

2',3'-Di-O-benziletópozid (3 β) (közvetlen szűrés):

Egy 250 ml-es háromnyakú gömblombikot, amelyet szárítószekrényben szárítottunk, átmenettel és nitrogénbevezetővel, mechanikus keverővel és hőmérővel látunk el, és nitrogén alatt hűtünk. A lombikba 5,00 g (12,49 mmol) (1) képletű vegyületet és 5,792 g (14,99 mmol, 1,2 ekvivalens) (2 α , β) képletű vegyületet, majd 111 ml acetonitrilt mérünk. A zagyot szobahőmérsékleten néhány percre keverjük, majd -40°C-ra hűtjük, és fecskendő segítségével 4,15 ml (33,72 mmol, 2,7 ekvivalens) bór-trifluo-

rid-éterátot adunk hozzá. A zagy sárgává válik, és a szilárd anyag oldódni kezd, de nyolc percen belül sűrűsödni látszik, mivel a termék kiválása megkezdődik. A HPLC vizsgálat szerint az összetétel 14% (1) képletű vegyület, 14,6% (3 α) és 66,2% (3 β) képletű vegyület. 25 perc eltelte után 55,5 ml vízmentes acetonitrilt adunk lassan az elegyhez annak hígítása céljából, miközben a hőmérsékletet -35°C alatt tartjuk. Az elegyet 18 órán át -40°C -on tartjuk, ekkor a HPLC vizsgálat szerint a 3 β :3 α arány 97,5:2,5. Az összesen 19 órás reakcióidő után a szilárd anyagot a -40°C -os reakcióelegy vákuumban való szűrésével összegyűjtük. A szilárd anyagot két alkalommal nagyon hideg (-40°C – -20°C hőmérsékletű) acetonitrillel mossuk és vákuumszáritószekrényben szárítjuk. A nyers szilárd anyag területe 96%-nak felel meg. A szilárd anyagot 54 ml metilén-dikloridban oldjuk egy kétnyakú 500 ml-es gömblombikban, amelyre mechanikus keverőt szerelünk. 270 ml metanolt adunk lassan az oldathoz, és képződött oldatban néhány perces keverés után kristályok jelennek meg. Az elegyet forrásig melegítjük, és atmoszférikus nyomáson addig desztilláljuk, amíg 55 ml párlat gyűlik össze. Az elegyet szobahőmérsékleten 2 órán át keverjük, majd jégben 2,5 órán át hűtjük. A fehér kristályos vegyületet vákuumszűréssel elkülönítjük és két alkalommal hideg metanollal mossuk. A szilárd anyagot vákuumban, 40°C -on egy éjszakán át szárítjuk. Ily módon 7,54 g (78,6%) (3 β) képletű vegyületet kapunk, amelynek a HPLC görbe alatti területe 99,3%-nak felel meg. $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 7,36–7,19 (m, 8H); 6,99 (dd, $J = 1,9\text{Hz}$; 7,5Hz, 2H); 6,82 (s, 1H, 6,55 (s, 1H; 6,24 (s, 2H); 5,97 (d, $J = 1,2\text{Hz}$, 1H); 5,89

(d, $J = 1,2\text{Hz}$, 1H); 4,90-4,85 (m, 2H); 4,78-4,71 (m, 3H); 4,59-4,50 (m, 3H); 4,38 (dd, $J = 9,0\text{Hz}$, $10,5\text{Hz}$, 1H); 4,23-4,14 (m, 1H); 3,75 (s, 6H); 3,65 (t, $J = 9,0\text{Hz}$, 1H); 3,54 (t, $J = 10,2\text{Hz}$, 1H); 3,45-3,35 (m, 2H); 3,32-3,27 (m, 1H); 3,23 (dd, $J = 5,2\text{Hz}$, $14,2\text{Hz}$, 1H); 2,92-2,82 (m, 1H); 1,38 (d, $J = 5,0\text{Hz}$, 3H); ^{13}C -NMR (CDCl_3): δ 174,9; 148,7; 147,0; 146,4; 138,5; 137,8; 134,0; 132,5; 130,6; 128,6; 128,3; 128,2; 128,1; 127,9; 127,73; 127,66; 110,6; 109,1; 107,8; 102,3; 101,5; 99,5; 81,7; 80,9; 75,4; 75,0; 73,5; 68,2; 67,9; 66,0; 59,2; 56,4; 43,7; 41,3; 37,5; 20,4.

2. példa

3',3'-Di-O-benziletocoxid (3 β) (pufferrel való megbontás):

Egy 250 ml-es, szárítószekrényben szárított háromnyakú gömblombikot átmenettel, mechanikus keverővel, hőmérővel és nitrogénbevezetővel látunk el, majd nitrogén alatt hűtünk. A lombikba 5,00 g (1) képletű vegyületet és 111 ml vízmentes acetonnitrilt mérünk. A zagyot keverjük, majd -40°C -ra hűtjük. 5,792 g (1,2 ekvivalens (2 α,β) képletű vegyületet, majd fecskendő segítségével 4,15 ml (2,7 ekvivalens) bór-trifluorid-éterátot adunk hozzá. A zagy színe sárgára változik, és a szilárd anyag oldódni kezd, azonban 10 percen belül a zagy sűrűbbnek látszik, mivel a termék kiválása megkezdődik. a HPLC vizsgálat 17 perc eltelte után azt mutatja, hogy az elegy összetétele: 15% (1) képletű vegyület, 19% (3 α) képletű vegyület és 54% (3 β) képletű vegyület. A zagyot -40°C -on 18 órán át keverjük, majd 222 ml 7-es pH-jú puffert (Fisher, 0,05 m

KH_2PO_4) adunk hozzá. Az elegyet hagyjuk 0°C és szobahőmérséklet közötti hőfokra melegedni. A szilárd anyagot vákuumszűrővel összegyűjtjük, két alkalommal vízzel mossuk és azután vákuumban 40°C -on szárítjuk. Így 9,42 g (98,1%) nyers fehér szilárd anyagot kapunk, amelynek a HPLC görbe alatti területe 85,1%-nak felel meg. A szilárd anyagot 56,4 ml metilén-dikloridban oldjuk, és 282 ml 1%-os metanolt adunk hozzá lassan, miközben az oldatot melegítjük és keverjük. Ezután forrásig melegítjük, és atmoszférikus nyomáson addig desztilláljuk, amíg 56 ml párlat gyűlik össze. Ezt követően szobahőmérsékletre hűtjük, majd 2 órán át jégben tartjuk. A fehér kristályokat vákuumszűrővel összegyűjtjük, és két alkalommal hideg metanollal mossuk. A szilárd anyagot vákuumszáritószekrényben (40°C -on, házi vákuumban) egy éjszakán át szárítjuk. Ily módon 7,06 g (73,6%) (3 β) képletű vegyületet kapunk, amelynek a HPLC görbe alatti területe 99,1%-nak felel meg.

3. példa

(3 β) képletű 2',3-di-O-benziletópozid (N-metilmorfolinnal történő megbontás és toluolos extrakció)

Egy száritószekrényben szárított 25 ml-es kétnyakú gömlembikot keverőbottal, átmenővel és nitrogénbevezetővel szerelünk fel, és nitrogén alatt hűtünk. A lombikba 0,180 g (1) képletű vegyületet és 0,21 g (1,2 ekvivalens) (2 α,β) képletű vegyületet, majd 4 ml vízmentes acetonitrilt mérünk. A zagyot keverjük, majd -40°C -ra hűtjük. Ezután fecskendő segítségével 0,15 ml (2,7 ekvivalens) bór-trifluorid-éterátot adunk hozzá. A zagy

színe sárgára változik, és a szilárd anyag oldódni kezd, azonban 12 percen belül a zagy sűrűbbnek látszik, mivel a termék kiválása megkezdődik. 12 perc eltelte után a keverés elősegítésére 2 ml vízmentes acetonitrilt adunk az elegyhez. A zagyot egy éjszakán át -40°C -on keverjük. Ezután 0,45 ml (9 ekvivalens) N-metil-morfolin hozzáadásával a reakciót leállítjuk. Az elegyet toluollal hígítjuk, ekkor a szilárd anyag feloldódik, és az oldatot két alkalommal vízzel mossuk. Az oldószert vákuumban eltávolítjuk. A visszamaradó sárga szilárd anyagot 2 ml forró toluolban oldjuk. Az oldathoz lassan 10 ml metanolt adunk, miközben az oldatot melegen tartjuk, és a képződött oldatot keverjük. Az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni, és amikor a hőmérséklet eléri a környezeti hőfokot, a termék kristályosodni kezd. A zagyot jégfürdőben 2,5 órán át hűtjük. A fehér kristályokat vákuumszűréssel összegyűjtük és két alkalommal hideg metanollal mossuk. A szilárd anyagot vákuumban 40°C -on egy éjszakán át szárítjuk. 0,18 g (51,3%) (3 β) képletű vegyületet kapunk 99,1%-nak megfelelő görbe alatti területtel.

4. példa

(3 β) képletű 2',2'-di-O-benziletppopzid előállítása (pufferrel történő megbontás és toluolos extrakció):

Egy 15 ml-es keverővel ellátott göblombikot szárítószekrényben szárítunk, átmenettel látunk el és nitrogén alatt hűtünk. A lombikba 0,18 g (1) képletű vegyületet és 0,21 g (2 α , β) képletű vegyületet, majd 4 ml vízmentes acetonitrilt mérünk. A zagyot -40°C -ra hűtjük és 0,15 ml bór-trifluorid-éterátot adunk

hozzá. 25 perc eltelte után 2 ml acetonitrillel hígítjuk az elegyet, majd egy éjszakán át -40°C -on keverjük. Ezután 8 ml 7-es pH-jú puffert ($0,05\text{ M KH}_2\text{PO}_4$) adunk hozzá, és a kapott elegyet keverés közben szobahőmérsékletre melegítjük, majd toluollal extraháljuk. A szerves fázist egy alkalommal vízzel mossuk, majd vákuumban bepároljuk. A visszamaradó olajhoz 1,5 ml toluolt adunk, és az oldatot 55°C -ra melegítjük. Ekkor 7,5 ml metanolt adunk hozzá, és az oldatot keverés közben szobahőmérsékletre, majd 0°C -ra hűtjük. A szilárd anyagot Büchner-tölcséren összegyűjtjük, két alkalommal hideg metanollal mossuk és vákuumszáritószekrényben (40°C -on, házi-vákuumban) egy éjszakán át szárítjuk. Ily módon $0,1830\text{ g}$ ($53,0\%$) (3β) képletű terméket kapunk, a HPLC-vel meghatározott $\% 99,3$.

5. példa

(3β) képletű 2',3'-di-O-benzil-etopozid:

Egy 500 ml-es háromnyakú gömb lombikot száritószekrényben szárítunk, majd mechanikus keverővel, hőmérővel és nitrogén-bevezetővel látunk el, és nitrogén alatt hűtünk. A lombikba $9,0\text{ g}$ ($22,5\text{ mmol}$) (1) képletű vegyületet, $10,53\text{ g}$ ($27,2\text{ mmol}$) ($2\alpha,\beta$) képletű vegyületet és 200 ml vízmentes acetonitrilt mérünk. A zagyot keverjük és -13°C -ra hűtjük, majd egy részletben $4,45\text{ ml}$ ($33,7\text{ mmol}$) bór-trifluorid-éterátot adunk hozzá. Az oldatot -10°C -on 5 órán át keverjük, ekkor a HPLC analízis $95:5$ -nél nagyobb $\beta:\alpha$ arányt mutat. 10-15 perc eltelte után kristályok kezdenek kiválni. Az elegyhez $8,22\text{ ml}$ (102 mmol) piridint adunk, és a keverést 10 percig folytatjuk. Ezután az elegyet

vákuumban 70 ml térfogatra bepároljuk. A maradékhoz 100 ml metilén-dikloridot adunk, és az oldatot három alkalommal 100-100 ml vízzel mossuk. A szerves réteget 70 ml térfogatra bepároljuk, és a maradékhoz 100 ml acetitrilt adunk. Az oldatot 80 ml-re bepároljuk, és az acetitril hozzáadást és a bepárlást megismétljük. Ezután az oldatot 65-70°C-ra melegítjük, majd lassan 20°C-ra hűtjük, és egy órán át keverjük. A zagyot 0°C-ra hűtjük és két órán át keverjük. A terméket vákuumszűrővel összegyűjtjük és 50 ml hideg acetitrillal mossuk. A kiszűrt nedves anyagot 150 ml metilén-dikloridban oldjuk és az oldatot 100 ml-re bepároljuk. A maradékhoz 300 ml metanolt adunk, és a metilén-dikloridot atmoszférikus nyomáson desztillációval eltávolítjuk. A térfogatot metanol adagolásával 325 ml-en tartjuk. A zagyot 20°C-ra hűtjük, egy órán át keverjük, majd 0°C-ra hűtjük és két órán át keverjük. A terméket összegyűjtjük és hideg metanollal mossuk. A szilárd anyagot vákuumszáritószekrényben 40°C-on szárítjuk, így 14,08 g (81,9%) (3β) képletű vegyületet kapunk.

6. példa

(4) képletű etopozid:

2 g (3β) képletű vegyület és 4%-os nedves szénhordozós palládiumkatalizátor elegyéhez egy Parr rázólabikba 30 ml tetrahydrofuran:metanol = 1:1 elegyet mérünk. A labik tartalmán három alkalommal hidrogént fúvatunk át, majd az elegyet 344,9 kPa nyomáson 3,5 órán át szobahőmérsékleten hidrogénezük. A zagyot ezután celiten át szűrjük és 3 x 15 ml meleg, 56°C-os

metanollal mossuk. Az egyesített szűrleteket szárazra pároljuk, a maradékhoz 25 ml vizet adunk, és az elgyből kb. 5 ml-t lepárolunk. A képződött kb. 25 ml térfogatú vizes zagyot szobahőmérsékleten 15 percig és 20°C-on 15 percig keverjük, majd szűrjük. A szilárd etopozidot 2 x 5 ml vízzel mossuk, majd 40°C-on súlyállandóságig szárítjuk. Ily módon 1,42 g (92,5%) terméket kapunk. A HPLC szerint a termék 99,7% (4) képletű vegyületet tartalmaz.

7. példa

(4) képletű etopozid:

20 g (26,01 mmol) (3 β) képletű vegyület 150 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát 2,5 g (50% vizet tartalmazó) nedves 5%-os szénhordozós palládiumkatalizátor és 50 ml tetrahidrofurán elegyéhez adjuk egy Büchi készülékbe, nitrogénatmoszférában. A lombik tartalmán három alkalommal nitrogént és hidrogént fúvatunk át, majd az elegyet 344,9 kPa nyomáson szobahőmérsékleten hidrogénezzük. 4 óra eltelte után a nyomást lassan felengedjük, az elegyet a készülékből eltávolítjuk, és a készüléket 2 x 200 ml 55°C-os tetrahidrofuránnal utánamossuk. A tömény reakcióelegyet Büchner tölcséren át szűrjük, amely 0,45 μ m-es nejlon membránszűrőt és celit-521-t tartalmaz. A celit-pogácsát a reaktor tisztítására használt tetrahidrofuránnal mossuk. A szűrletet kb. 50 ml térfogatra bepároljuk, ekkor egy világossárga oldatot kapunk. Ehhez 300 ml vizet és 3 ml 10%-os nátrium-hidrogén-szulfid-oldatot adunk, és az elegyet szobahőmérsékleten 30 percig, majd 3°C-on szintén 30 percig keverjük. A képződött szintelen zagyot szűrjük, 2 x 25 ml hideg vízzel

moszuk és szárítjuk, így 14,83 g (96,8%) (4) képletű etopozidot kapunk 100,0%-os tisztaságban.

8. példa

(4) képletű etopozid:

25 g (32,5 mmol) (3β) képletű vegyületből, 250 ml acetontól és 50% viztartalmú nedves 5%-os szénhordozós palládium-katalizátorból álló zagyot egy 1 literes hidrogénezőlombikba töltünk. A (3β) képletű vegyület és a katalizátor bemosására további 250 ml acetont használunk. A képződött zagyon hat alkalommal nitrogént majd hidrogént fúvatunk át, és azután az elegyet 300 kPa nyomáson, szobahőmérsékleten, 1 órán át hidrogénezük. A reakció befejeződése után 250 ml metanolt adunk az elegyhez a termék oldására, és a katalizátort szűrőssel eltávolítjuk. A reaktort 250 ml metanollal kiöblítjük, ezt az oldószert a kiszűrt katalizátor mosására használjuk. Az egyesített szűrleteket 7,5 ml 1 n nátrium-hidrogén-szulfit-oldattal kezeljük a szín eltávolítására, majd az oldószert desztilláció közben metanolra cseréljük. A képződött 325 ml térfogatú metanolos zagyot 65°C-ra melegítjük, ekkor 500 ml vizet adunk hozzá. A kristályos zagyot 85°C-ra melegítjük, ekkor tiszta oldat képződik, ezt etopoziddal beoltjuk, és lassan szobahőmérsékletre, majd 0°C-ra hűtjük, végül egy órán át ezen a hőmérsékleten tartjuk. A terméket szűrőssel elkülönítjük és vákuumban szárítjuk, így 17,6-17,99 g (4) képletű vegyületet kapunk, ami három kísérlet alapján átlagosan 93,3%-os hozamot jelent, és a HPLC terület 99%-nál nagyobb.

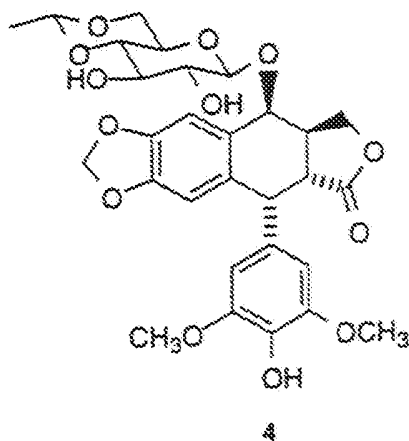
Irodalomjegyzék

1. a) von Kuhn M., von Wartburg A., *Helv. Chim. Acta* 1968, 51, 1631.
b) Kuhn M., Keller-Juslen C., Renz J., von Wartburg A., *Canadian Patent No.* 956939, Oct. 24, 1974.
2. c) Keller-Juslen C., Kuhn M., von Wartburg A., *J. Med. Chem.* 1971, 14, 936.
d) Keller-Juslen C., Kuhn M., Renz J., von Wartburg A., *U.S. Pat.* 3,524,844, 1970.
e) Kuhn M., von Wartburg A., *Helv. Chim. Acta* 1969, 52, 948.
f) Robin J-P., Houlbert N., Lenain V. *Eur. Pat.* 435709-A1, 1991.
g) Robin J-P., Lenain V. *Eur. Pat.* 445021-A2, 1991.
h) Saito H., Nishimura Y., Kondo S., Umezawa H., *Chem. Lett.* 1987, 799.
i) Kolar C. *Eur. Pat.* 394907-A1, 1990.
j) Kolar C., Moldenhauer H., Kneissl G., *K. Carbohyd. Chem.* 1990, 9, 571.
k) Sterling J., Nudelman A., Herzig J., Keinan E., Weiner B.Z. *U.S. Pat* 4,900,814, 1990.
l) Nudelman A., Herzig J., Keinan E., Weiner B.Z., Sterling J. *Eur. Pat.* 226202, 1987.
m) Hashimoto S., Honda T., Ikegami S., *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 1653.
n) Kurabayash K., Kinoshita H., Saito H., Takahashi T., *Eur. Pat.* 111058-A1, 1984.
o) Fujii T., Chikui Y. *U.S. Pat.* 4,757,138, 1988.

- p) Japanese Kokai J58-224-096.
3. a) Wang Z., Ma M., Zhang C. *U.S. Patent* 5,206,350, Apr. 27, 1993.
- b) Allevi P., Anastasia M., Ciuffreda P., Sanvito A. M., Macdonald P. *Tet. Lett.* 1992, 33, 4831.
- c) Allevi P., Anastasia M., Ciuffreda P., Bigatti E., Macdonald P. *J. Org. Chem.* 1993, 58, 4175.
- d) Allevi P., Anastasia M., Bigatti E., Macdonald P. *PCT Patent Application No. WO 93/02094*, Feb. 4, 1993.
4. Ohnuma T., Hoshi H. *U.S. Patent No.* 4,997,931, Mar. 5, 1991.
5. Silverberg L.J., Venishetti P., Dillon J.L., Usher J. J., *U.S. Patent* 5,459,248, Oct. 17, 1995.

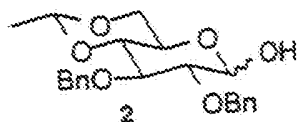
Szabadalmi igénypontok:

1. Eljárás (4) képletű

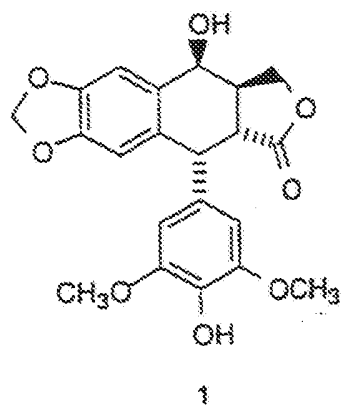


etopozid előállítására, azzal jellemezve, hogy

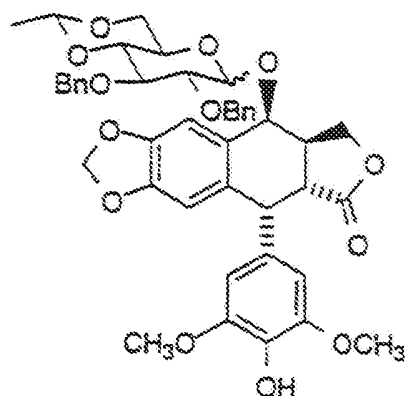
(a) a (2) képletű vegyület



anomerelegyét az (1) képletű vegyülettel



szerves oldószerben mint reakcióközegben és Lewis sav jelenlétében szobahőmérsékleten vagy az alatti hőfokon reagáltatjuk a (3) képletű vegyület



3

anomerelegyenek előállítására;

(b) a (3) képletű vegyület C-1"- β formáját az α formától lényegében mentesen a reakcióelegyből elkülönítjük; és

(c) a (b) lépésben kapott termékről a hidroxil-védőcsoportokat eltávolítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, ahol oldószerként halogénezett vagy nem-halogénezett oldószert használunk.

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, ahol oldószerként acetonnitrilt használunk.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, ahol a hidroxil-védőcsoportokat környezeti hőmérsékleten nemesfém-katalizátor jelenlétében hidrogénezéssel távolítjuk el.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, ahol nemesfém-katalizátorként palládiumot használunk.

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás, ahol Lewis savként bór-trifluorid-éterátot használunk.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás, ahol a reakciót kb. szobahőmérséklet és -40°C közötti hőfokon végezzük.

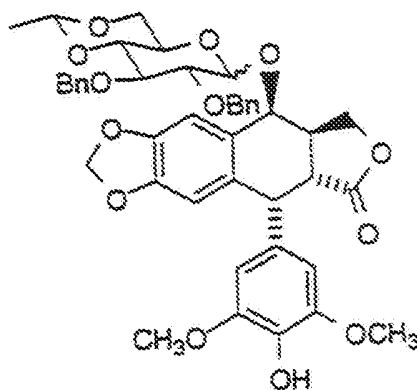
8. A 7. igénypont szerinti eljárás, ahol a reakciót kb. 0°C és -40°C közötti hőmérsékleten végezzük.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás, ahol a reakciót -10°C -on végezzük.

10. Eljárás a (3) képletű vegyület C-1"- β anomerjének előállítására, azzal jellemezve, hogy a (3) képletű vegyület anomerelegyét szerves oldószerben oldjuk, a kivált terméket kinyerjük, a kinyert terméket alkoholban oldjuk, így egy második oldatot kapunk, ebből a második oldatból a C-1"- β anomer kikristályosodik, és a C-1"- β anomer kristályait az α -anomertól lényegében mentesen kinyerjük.

11. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol alkoholként metanolt használunk.

12. A



3

(3) képletű vegyület.

13. A 12. igénypont szerinti vegyület, ahol a (3) képletű vegyület a C-1"- β -anomer.

A meghatalmazott.

Leírás: 30 oldal

Képek: 8

Z: 30

6. képek

ADVOPATENT
SZABADALMI ÉS VÉDELŐI IRODA
KARÁCSONYI BÉLA
szabadalmi ügyvéd