

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

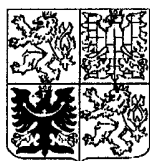
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

320-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **22. 04. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **05.06.96, 05.06.96, 19.12.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/655259, 96/655258, 96/771391**

(33) Země priority: **US, US, US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 07. 98**
(Věstník č. 7/98)

(86) PCT číslo: **PCT/US97/06962**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/46563**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 D 491/22
A 61 K 31/47

// (C 07 D 491/22,
C 07 D 311:00, C 07 D 221:00,
C 07 D 221:00, C 07 D 209:00)

(71) Přihlášovatel:

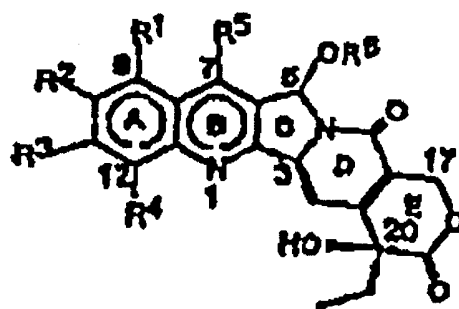
DR. REDDY'S RESEARCH FOUNDATION,
Miyapur, IN;
REDDY-CHEMINOR, INC., Ridgewood, HI,
US;

(72) Původce:

Duvvuri Subrahmanyam, Miyapur, IN;
Akella Venkateswarlu, Miyapur, IN;
Vedula Sharma Manohara, Miyapur, IN;
Madabhushi Shobha, Miyapur, IN;
Chintakunta Vamsee Krishna, Miyapur, IN;
Thungathurthi Sastry V. R. S., Miyapur, IN;

(74) Zástupce:

Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
12000;



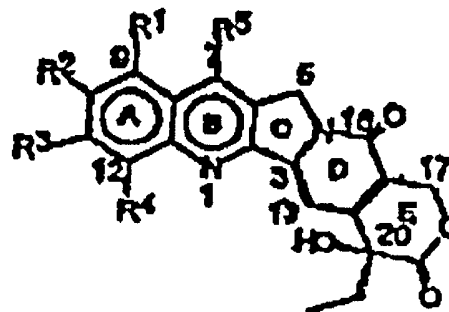
(1)

(54) Název přihlášky vynálezu:

Nové, ve vodě rozpustné C-kruhové analogy 20(S)-kamptothecinu

(57) Anotace:

Nové, ve vodě rozpustné C-kruhové analogy 20/S/-kamptothecinu mají obecný vzorec 1. Všechny sloučeniny vzorce 1 jsou připraveny ze sloučeniny obecného vzorce 2 obsahující 20/S/-chirální uhlík, kde R¹ až R⁵ mají význam uvedený výše. Sloučeniny vzorce 1 vykazují silné protirakovinné a protivirotické účinky. Tento vynález též poskytuje alternativní způsob přípravy známých C-5 substituovaných sloučenin vzorce 1.



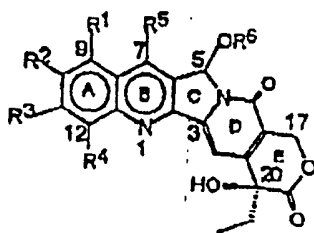
CZ 320-98 A3

320-9P
20.04.98

Nové, ve vodě rozpustné C-kruhové analogy 20(S)-kamptothecinu

Oblast techniky

Tento vynález se týká nových, ve vodě rozpustných C-kruhových analogů 20(S)-kamptothecinu majících obecný vzorec 1



(1)

Ve výše uvedeném vzorci 1

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 jsou nezávisle na sobě identické nebo rozdílné a představují atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aryloxyskupinu, nižší alkoxyskupinu, nižší alkanoylovou skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, atom halogenu, karboxylovou skupinu, karbonyloxyskupinu, aminoskupinu, substituovanou aminoskupinu, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu nebo

R^2 , R^3 společně znamenají $-O-(CH_2)_n-O-$, kde $n=1$ nebo 2,

R^5 znamená atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu, nižší aralkylovou skupinu, hydroxymethylovou skupinu, karboxymethylovou skupinu, aminomethylovou skupinu, substituovanou aminomethylovou skupinu, kde aminoskupina může být mono- či disubstituovaná, přičemž

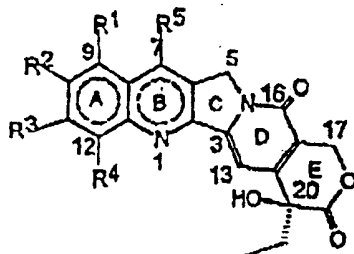
20.04.99

oba substituenty jsou nezávislé nebo navzájem spojené s vytvořením cyklického kruhového systému o celkovém počtu 5 nebo 6 atomů zahrnujících uhlík a případně též jeden či dva heteroatomy zvolené z atomu kyslíku, dusíku nebo síry a

R^6 znamená atom vodíku, fenylovou skupinu nebo benzylovou skupinu, kde fenylová skupina může být nesubstituovaná nebo substituovaná mono-, di- nebo trisubstituenty, které mohou být vybrány z atomu halogenu, hydroxylové skupiny, nižší alkoxy skupiny, kyanoskupiny, karboxylové skupiny, nitroskupiny, aminoskupiny nebo substituované aminoskupiny, nižší alkylové skupiny, substituované nižší alkylové skupiny, cykloalkylové skupiny nebo cykloalkyl-(nižší alkylové) skupiny, ve které je cyklický kruh v rozmezí 3 až 7 členného kruhového systému obsahujícího vždy atomy uhlíku, nižší alkylové skupiny substituované heterocyklickými kruhy, kde heterocyklický kruhový systém má celkem 3 až 7 atomů, přičemž heterocyklické kruhy obsahují atomy uhlíku a nejméně jeden heteroatom, jako je kyslík, dusík nebo síra, nižší alkanoylové skupiny, benzoylové skupiny, kde fenylová skupina může být nesubstituovaná či substituovaná, nižší alkenylové skupiny, nižší alkylové skupiny, substituované nižší alkylové skupiny, substituované nižší alkenylové skupiny nebo substituované nižší alkanoylové skupiny, kde substituenty mohou být atom halogenu, hydroxylová skupina, nižší alkoxy skupina, aryloxyskupina, thioskupina, thioalkylová skupina, thioarylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, karboxylová skupina, kyanoskupina, nitroskupina, amidoskupina nebo aminoskupina, kde tato aminoskupina může být nesubstituovaná nebo mono- či disubstituovaná, přičemž oba substituenty jsou navzájem nezávislé nebo navzájem spojené s vytvořením 5 nebo 6 členného cyklického kruhového systému obsahujícího uhlík a případně též jeden

nebo dva heteroatomy vybrané z kyslíku, dusíku nebo síry, přičemž celkový počet atomů v cyklickém kruhovém systému je 5 nebo 6 s tím, že (i) když R^1 je methoxyskupina, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (ii) když R^2 je hydroxylová skupina, nižší alkoxykupina, thioalkylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, acylaminoskupina nebo atom halogenu, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (iii) když R^5 je nižší alkylová skupina, nižší aralkylová skupina, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-COOMe$ nebo $-CH_2OR''$, kde R'' znamená nižší alkylovou či acylovou skupinu, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (iv) když R^1 je methoxyskupina, R^2 je hydroxylová skupina, nižší alkoxykupina, thioalkylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, acylaminoskupina nebo atom halogenu, R^5 je nižší alkylová skupina, nižší aralkylová skupina, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-COOMe$ nebo $-CH_2OR''$, kde R'' představuje nižší alkylovou či acylovou skupinu, R^6 není ani vodík ani nižší alkylová skupina, (v) když R^1 až R^5 znamenají atom vodíku, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina.

Všechny tyto sloučeniny vzorce 1 se připravují ze sloučenin obecného vzorce 2 majících střed chiralit 20(S)



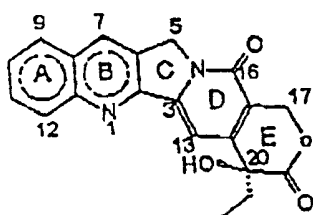
(2)

kde

R¹ až R⁵ mají význam, jak je popsán výše.

Dosavadní stav techniky

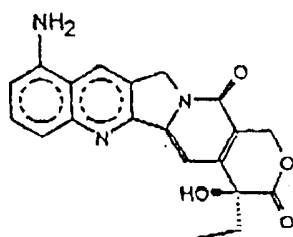
Kamptothecin mající vzorec 3 je alkaloid se silnou protinádorovou aktivitou



(3)

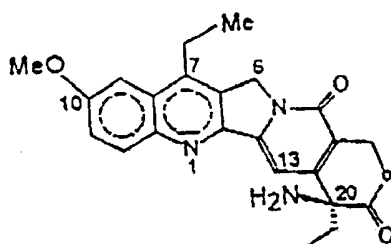
a byl izolován z Camptotheca acuminata Wallem a kol. v roce 1996. Avšak jeho vývoj jako potenciálního léku pro léčbu rakoviny byl opuštěn následkem nepříjemných vedlejších účinků u lidí a následkem problémů s jeho nízkou rozpustností ve vodě i vysokou toxicitou. Od objevu jeho mechanismu působení jako inhibitoru topoizomerasy I autory Liu a kol. v roce 1985 [L.F. Liu a kol., J. Biol. Chem., 260, 14873 (1985)] byl zájem o výzkum kamptothecinu opět obnoven.

Pro překonání problému nízké rozpustnosti ve vodě a vysoké toxicity kamptothecinu několik výzkumných skupin po celém světě připravovalo a zkoumalo během posledních 30 let řadu kamptothecinových analogů včetně modifikace kruhů A-E nebo zavedení různých substituentů na všech pět kruhů kamptothecinu vzorce 3 [M.E. Wall a kol., J. Med. Chem., 36, 2689 (1993), R.P. Hertzberg a kol., J. Med. Chem., 715

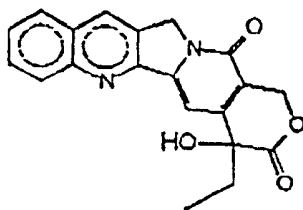


(6)

je v současné době předmětem rozsáhlých klinických zkoušek. Široce studovaný "vztah mezi strukturou a aktivitou" (SAR) pro kamptothecin vzorce 3 [M.E. Wall a kol., *J. Med. Chem.*, 36, 2689 (1993)] ukázal, že pro aktivitu kamptothecinu je zásadní 20(S)- α -hydroxy- δ -laktonový (E-kruhový) zbytek. Avšak podle nedávných zpráv Ejimy a kol. náhrada hydroxylové skupiny aminoskupinou v poloze C-20 vedoucí ke sloučenině, jako je 7-ethyl-10-methoxykamptothecinový derivát vzorce 7 [A. Ejima a kol., *Chem. Pharm. Bull.*, 40(3), 683 (1992)]

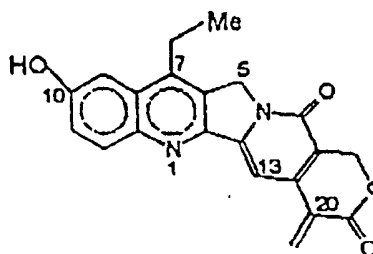


(7)



(8)

vykazoval zvýšenou protinádorovou aktivitu *in vivo* oproti 20(RS)-kamptothecinu vzorce 8. Také v další zprávě [Lawrence Snyder a kol., J. Org. Chem., 59, 7033 (1994)] vykazoval 18-noranhydrokamptothecinový analog vzorce 9

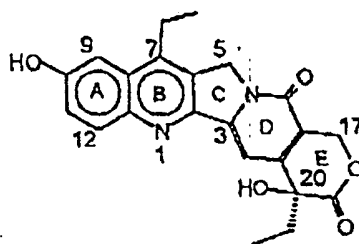


(9)

mohutnou inhibici aktivity topoizomerasy I podobnou účinkům kamptothecinu. Obě tyto zprávy jsou v rozporu s předpokladem, že základem biologické aktivity kamptothecinu je jeho funkční 20(S)- α -hydroxylová skupina.

Na základě vztahů mezi strukturou a aktivitou obdržných pro kamptothecinové analogy připravené v literatuře bylo zjištěno, že modifikace substituentů v poloze C-9 a C-7 kamptothecinu vzorce 3 hraje důležitou úlohu při zvyšování protirakovinové aktivity propůjčením stability E kruhovému laktonu [T. G. Burke a kol., J. Med. Chem., 37, 40

(1994)]. Bylo též zjištěno, že otevřená forma laktonového zbytku, jmenovitě "karboxylátová forma", je terapeuticky méně účinná než uzavřená "laktonová forma" [Hertzberg a kol., J. Med. Chem., 32, 715 (1989), J.M. Covey, C. Jaxel a kol., Cancer Research, 49, 5016 (1989)], Giovanella a kol., Cancer Research, 51, 3052 (1991)]. Nedávné studie T.G. Burkeho a kol. o stabilitě "uzavřené laktonové formy" různých kamptothecinových analogů v přítomnosti proteinu zvané "lidský sérumalbumin" (HSA) ukazují, že sloučeniny, jako je CPT-11 vzorce 4 a 7-ethyl-10-hydroxykamptothecin (SN-38) vzorce 7a

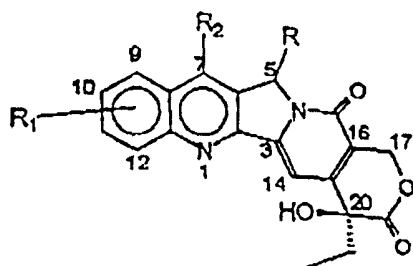


(7a)

a topotekan vzorce 5, vykazují v přítomnosti HSA při 37 °C vyšší procento (%) laktonové formy v rovnovážném stavu než 20(S)-kamptothecin vzorce 3 a 9-aminokamptothecin vzorce 6 [T.G.Burke a Mi. Zihou, J. Med. Chem. 37, 40 (1994), tamtéž, Biochemistry, 33, 12540 (1994)]. Na základě těchto studií se zjistilo, že pochopení faktorů ovlivňujících rovnováhu lakton-karboxylát analogů kamptothecinu se stalo důležitým určujícím faktorem při navrhování nových a terapeuticky účinných kandidátů na léky kamptothecinové řady.

I když modifikace substituentů na kruzích A a B kamptothecinu byla nastoupena s rychlým tempem k vytváření nových CPT analogů, byly C-kruhové analogy

kamptothecinů omezeny pravděpodobně vzhledem k výzkumné práci provedené Sawadou a kol., kteří uvádějí, že substituenty v poloze kamptothecinu C-5 vedou ke snížení protinádorové aktivity kamptothecinů a poskytují neaktivní analogy [Sawada S. a kol., Chem. Pharm. Bull., 39(10), 2574 (1991)]. C-5 substituované kamptotheciny nárokováné Sawadou a kol. (JP 58 154 584, US 4 513 138, US 4 473 692, US 4 545 880, US 4 339 282) mají strukturní vzorec 10



(10)

ve kterém

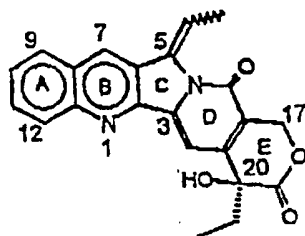
R je hydroxylová skupina, nižší alkylová skupina, nižší alkoxykupina nebo acyloxykupina,

R¹ je atom vodíku, methoxykupina v poloze 9, atom vodíku, hydroxylová skupina, nižší alkoxykupina, acyloxykupina, merkaptoskupina, thioalkylová skupina, thioacylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, acylaminoskupina a atom halogenu v poloze 10 a

R² je atom vodíku, nižší alkylová skupina, nižší aralkylová skupina, -CH₂OH, -COOH, -COOMe, -CH₂OR", kde R" je nižší alkylová skupina nebo acylová skupina.

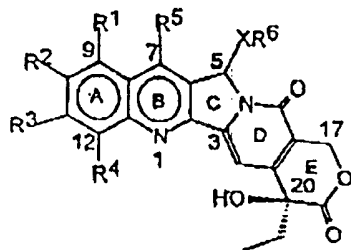
Nedávné nálezy, které zveřejnil K.H. Lee a kol. [Bio. Org. Med. Chem. Lett., 5(1), 77 (1995)], zahrnující přípravu 5-hydroxymethylkamptothecinu reakcí formaldehydu v N,N-dimethylformamidu a 4-piperidinopiperidinu na 20(S)-kamptothecinu ukázaly sníženou protinádorovou aktivitu těchto látek. Danishefsky a kol. rovněž připravili některé z C-5 substituovaných 20(RS)-kamptothecinových derivátů plně syntetickým způsobem [US 5 391 745 a US 5 446 047].

Avšak synteticky připravený 5-substituovaný kamptothecinový derivát vzorce 11 [Terasawa a kol., Heterocycles, 38, 81 (1994)] nárokoval protinádorovou aktivitu srovnatelnou s aktivitou 20(S)-kamptothecinu.



(11)

Při úvaze všech těchto faktorů původci tohoto patentu zaměřili své studium na 20(S)-kamptothecin s důrazem na návrh nových kamptothecinových analogů, které mohou vykazovat zlepšenou rozpustnost ve vodě a zlepšenou stabilitu laktónové formy v roztoku. Identifikovali pro tento účel oxidativní reakci v alkoholických rozpouštědlech. Výsledné nálezy vyvrcholily objevem nové syntetické transformace, která může zavést řadu alkoxykupin v poloze C-5 20(S)-kamptothecinů. Transformace funkčních skupin těchto 5-alkoxykamptothecinů poskytla řadu nových C-5 substituovaných analogů 20(S)-kamptothecinu vzorce 14



(14)

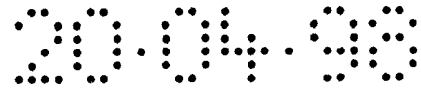
ve kterém

X je -NH- nebo -NR- a -CH₂- nebo -CHR- a

R⁶ má výše popsany význam,

což je předmětem současně projednávané patentové přihlášky
původců tohoto patentu s číslem US patentové přihlášky
_____ (Atty Docket č. U 011025-3) a US číslem pa-
tentové přihlášky _____ (Atty Docket č. U 011026-1).

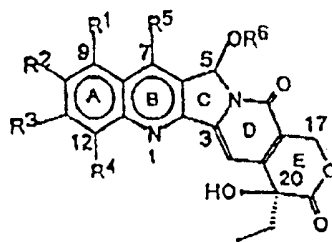
Odtud tento objev vedl ke snadnému a přizpůsobivému semisyntetickému způsobu, při kterém lze v podstatě každý kamptothecinový derivát známý z literatury transformovat na řadu C-5 substituovaných kamptothecinových analogů. Proto tento vynález zajišťuje nový postup pro přípravu různých C-5 substituovaných derivátů 20(S)-kamptothecinu se vzorcem, ve kterém R⁶ má výše popsany význam. Jako výsledek tohoto vynálezu byl také do kamptothecinů obecného vzorce 2 zaveden druhý střed chiraloty v poloze C-5 bez narušení přítomné 20-hydroxylové skupiny, středu chiraloty C-20(S). Dále vedlo velké množství substituentů představovaných OR⁶ na uhlíku C-5 20(S)-kamptothecinů vzorce 1 ke sloučenině se zlepšenou rozpustností ve vodě od 1 do 10 mg na ml. Všechny tyto slou-



činy připravené podle tohoto vynálezu vykazovaly význačnou protinádorovou aktivitu in vitro proti širokému rozmezí buněčných linií lidských nádorů.

Podstata vynálezu

Tento vynález zejména poskytuje C-5-O-substituované analogy 20(S)-kamptothecinu rozpustné ve vodě mající vzorec 1



(1)

kde

R^1 , R^2 , R^3 , R^5 a R^6 mají výše popsáný význam. V celém tomto vynálezu mají termíny představující R^1 až R^3 v těchto sloučeninách následující definice.

Termín "nižší alkyl" označuje univalentní rozvětvený nebo přímý uhlovodíkový řetězec obsahující 1 až 8 atomů uhlíku. Zástupci alkylových skupin jsou methylová, ethylová, propylová, isopropylová, butylová, sekundární butylová, terciární butylová, pentylová, isopentylová, terciární pentylová, hexylová, isohexylová a oktylová skupina.

Termín "nižší alkenyl" představuje rozvětvený či přímý uhlovodíkový řetězec mající uhlíkové středy sp nebo



sp^2 obsahující 1 až 8 atomů uhlíku. Zástupci alkenylových skupin jsou vinylová, propenylová, butenylová, pentenylová, isopropenylová, isobutenylová, proparginylová, hexenylová a oktenylová skupina.

Termín "halogen" představuje atom chloru, bromu nebo fluoru. Termín "halogenalkylová" označuje alkylové skupiny substituované halogeny, přednostně fluor, brom nebo chlor. Zástupci halogenalkylových skupin jsou chlorethylová, brompropylová, fluorethylová, trifluorethylová, trichlorethylová a trifluorbutylová skupina.

Termín "nižší alkoxykupina" označuje nižší alkylové skupiny, jak byly definovány výše, připojené přes atom kyslíku ke zbytku molekuly. Zástupci těchto skupin jsou methoxykupina, ethoxykupina, isopropoxykupina, terc.butoxykupina, hexyloxykupina, heptyloxykupina a oktyloxykupina.

Termín "nižší alkanoylová skupina" označuje nižší alkylové nebo alkenylové skupiny, jak byly definovány výše, připojené přes karbonylovou skupinu ke zbytku molekuly. Zástupci těchto skupin jsou acetylová, propionylová, prope-noylová, krotanoylová, butanoylová, pentanoylová a isopenta-noylová skupina.

Termín "aminoalkyl" představuje nižší alkylové skupiny, jak byly definovány výše, substituované aminoskupinami. Zástupci aminoalkylových skupin jsou 2-aminopropylová, 4-aminobutylová, 5-aminopentylová skupina. Aminoskupiny mohou být též mono- či disubstituované a zástupci těchto substituovaných aminoskupin jsou dimethylaminoskupina, diethylaminoskupina, dibenzylaminoskupina, ethylisopropyl-

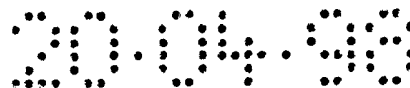


aminoskupina, pyrrolidinoskupina, piperidonoskupina, morfolinoskupina nebo piperazinoskupina.

Termín "heteroatom" se vztahuje ke kyslíku, dusíku nebo síře. Termín "arylová nebo heteroarylová skupina" představuje skupiny aromatické povahy mající 5- nebo 6-členné kruhy, které mohou být zvoleny z odpovídající fenylu, bifenylu, naftylu, pyridylu, chinolinu, isochinolinu, indolu, pyrolu, furanu, benzofuranu, thiofenu, pyramidinu, piperazinu, thiosolidinu nebo imidazolu.

Termín "substituovaná fenylová skupina" užívaný v tomto vynálezu se vztahuje k těm substituentům, které lze zvolit ze skupin, jako je hydroxylová skupina, nižší alkylová skupina, halogenalkylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, atom halogenu, nižší alkoxykupina, thioalkoxykupina, benzyloxykupina, karbonylová skupina, kyano skupina, nitroskupina, amidoskupina, aminoskupina a alkylaminoskupina. Příklady takových skupin jsou 4-hydroxyfenylová, 3-methoxyfenylová, 4-fluorfenylová, 4-trifluor-methylfenylová, N,N-dimethylaminofenylová a 4-methoxykarbonylfenylová skupina.

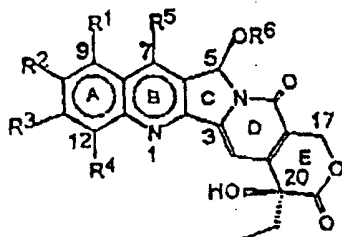
Termín "substituovaná alkylová skupina" užívaný v tomto vynálezu se vztahuje k těm substituentům, které lze zvolit ze skupin jako je hydroxylová skupina, alkylová skupina, halogenalkylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, atom halogenu, alkoxykupina, thioalkoxykupina, benzyloxykupina, karboxylová skupina, karbonyloxykupina, kyanoskupina, nitroskupina, amidoskupina, aminoskupina a alkylaminoskupina. Příklady takových skupin jsou fluor-ethylová, chlorpropylová, hydroxyethylová, methoxypropylová, N,N-diethylaminoethylová, N-benzoylaminoethylová, trifluor-



ethoxyethylová, fenoxylethylová, methoxykarbonylethylová, (p-fluorbenzoyloxy)ethyllová, aminopropyllová a 2-thioethyllová skupina.

Termín "substituovaná aminoskupina" užívaný v tomto vynálezu se vztahuje k těm substituentům, které lze zvolit ze skupin, jako jsou hydroxylová skupina, alkylová skupina, halogenalkylová skupina, benzylová skupina, benzoylová skupina, alkoxykupina, karboxylová skupina, amidoskupina, aminoskupina a alkylaminoskupina. Příklady takových skupin jsou N,N-diethylaminoskupina, N-benzoylaminoskupina, N-methoxyaminoskupina, N-ethoxykarbonylaminoskupina a N-chlorethylaminoskupina. Oba substituenty na aminoskupině mohou být též navzájem spojeny s vytvořením 5- nebo 6-členného pyrolidinového, piperidinového, piperazinového, morfolinového, imidazolinového nebo thiazolidinového systému.

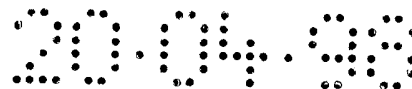
Podle tohoto vynálezu se navrhuje postup pro způsob přípravy sloučenin obecného vzorce 1



(1)

ve kterém

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 jsou nezávisle na sobě identické nebo rozdílné a znamenají atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aryloxyskupinu, nižší alkoxykupinu, nižší alkanoylo-



vou skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, atom halogenu, karboxylovou skupinu, karbonyloxyskupinu, aminoskupinu, substituovanou aminoskupinu, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu nebo R^2 , R^3 společně představují $-O-(CH_2)_n-O-$, kde $n=1$ nebo 2 ;

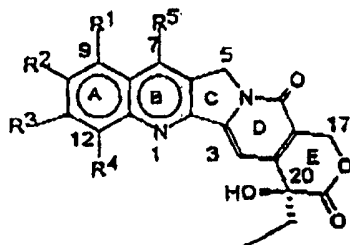
R^5 znamená atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu, nižší aralkylovou skupinu, hydroxymethylovou skupinu, methyloxykarbonylovou skupinu, aminomethylovou skupinu, substituovanou aminomethylovou skupinu, kde aminoskupina může být mono- nebo disubstituovaná, přičemž oba substituenty jsou navzájem nezávislé nebo se spolu spojují s vytvořením cyklického kruhového systému o celkovém počtu 5 nebo 6 atomů obsahujícího atomy uhlíku a popřípadě jeden nebo dva heteroatomy vybrané z kyslíku, dusíku nebo síry a

R^6 znamená atom vodíku, fenylovou skupinu nebo benzylovou skupinu, kde fenylová skupina může být nesubstituovaná nebo substituovaná mono-, di- nebo trisubstituenty, které lze zvolit z atomu halogenu, hydroxylové skupiny, nižší alkoxykupiny, kyanoskupiny, karboxylové skupiny, nitroskupiny, aminoskupiny nebo substituované aminoskupiny, nižší alkylové skupiny, substituované nižší alkylové skupiny, cykloalkylové nebo cykloalkyl-(nižší alkylové) skupiny, kde je cyklický kruh v rozmezí 3 až 7 členného kruhového systému obsahujícího vždy atomy uhlíku, nižší alkylové skupiny substituované heterocyklickými kruhy, kde heterocyklický kruhový systém má celkem 3 až 7 atomů, kruhového systému obsahujícího atomy uhlíku s nejméně jedním heteroatomem, jako je kyslík, dusík nebo síra, nižší alkanoylovou

skupinu, benzoylovou skupinu, kde fenylová skupina může být nesubstituovaná nebo substituovaná, nižší alkenylovou skupinu, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkenylovou skupinu nebo substituovanou nižší alkanoylovou skupinu, kde substituentem může být atom halogenu, hydroxylová skupina, nižší alkoxy skupina, aryloxyskupina, thioskupina, thioalkylová skupina, thioarylová skupina, arylová či heteroarylová skupina, karboxylová skupina, kyanoskupina, nitroskupina, amidoskupina nebo aminoskupina, přičemž aminoskupina může být nesubstituovaná nebo mono- či disubstituovaná, a oba substituenty jsou buď navzájem nezávislé nebo jsou spolu spojeny s vytvořením 5- či 6-členného cyklického kruhového systému obsahujícího atomy uhlíku a případně jeden nebo dva heteroatomy zvolené z atomu kyslíku, dusíku a síry, přičemž celkový počet atomů v cyklickém kruhovém systému je 5 nebo 6 s tím, že (i) když R^1 je methoxyskupina, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (ii) když R^2 je hydroxylová skupina, nižší alkoxy skupina, thioalkylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, acylaminoskupina nebo atom halogenu, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (iii) když R^5 je nižší alkylová skupina, nižší aralkylová skupina, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-COOMe$ nebo $-CH_2OR''$, kde R'' znamená nižší alkylovou nebo acylovou skupinu, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (iv) když R^1 je methoxyskupina, R^2 je hydroxylová skupina, nižší alkoxy skupina, thioalkylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, acylaminoskupina nebo atom halogenu, R^5 je nižší alkylová skupina, nižší aralkylová skupina, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-COOMe$ nebo $-CH_2OR''$, kde R'' znamená nižší alkylovou nebo acylovou skupinu, R^6 není atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (v) když R^1 až R^5 znamenají atom vodíku, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, což zahrnuje

20.04.98

(i) zreagování sloučenin vzorce 2

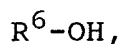


(2)

ve kterém

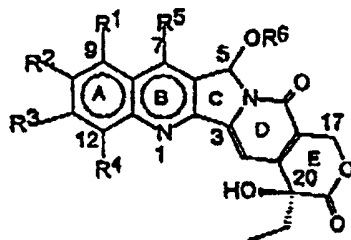
R^1 až R^5 mají význam popsany výše,

v přítomnosti kyseliny a oxidačního činidla, kterým je železitá sůl, se sloučeninou mající vzorec



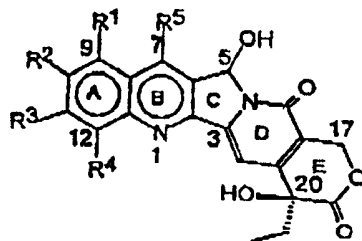
kde

R^6 znamená nižší alkylovou skupinu, nižší alkenylovou skupinu, (C_3-C_7) cykloalkylovou skupinu, halogenalkylovou skupinu nebo hydroxyalkylovou skupinu, s obdržáním sloučeniny vzorce 12 a sloučeniny vzorce 13



(12)

20.04.93



(13)

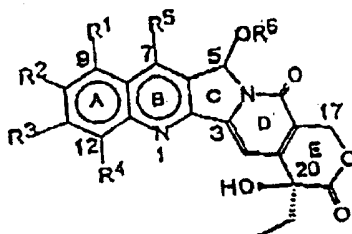
ve kterých

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají význam uvedený výše,

(ii) oddělení sloučenin vzorců 12 a 13 připravených v kroku (i) konvenčními metodami,

(iii) hydrolýzu sloučeniny vzorce 12 konvenčními metodami s obdržením přídatných množství sloučeniny vzorce 13,

(iv) zreagování sloučeniny vzorce 13 v přítomnosti kyseliny se sloučeninou mající vzorec R^6-OH s obdržením sloučeniny vzorce 1



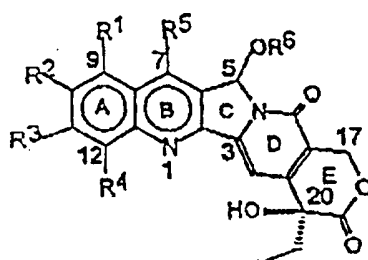
(1)

ve kterém

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají význam uvedený výše a

R^6 má význam definovaný výše.

Dalším charakteristickým rysem tohoto vynálezu je zajištění alternativního postupu pro způsob přípravy známých C-5 substituovaných sloučenin vzorce 1



(1)

ve kterém

R^6 znamená atom vodíku nebo nižší alkyl,

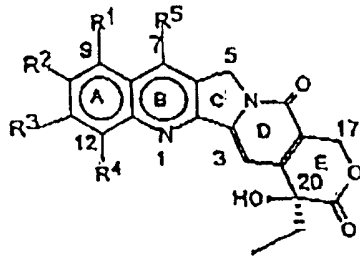
R^1 znamená atom vodíku nebo methoxyskupinu,

R^2 znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu, nižší alkoxykupinu, acyloxykupinu, thioalkylovou skupinu, merkaptoskupinu, thioacylovou skupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, alkylaminoskupinu, acylaminoskupinu nebo atom halogenu,

R^3 a R^4 znamenají atom vodíku a

R⁵ znamená atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, nižší aralkylovou skupinu, -CH₂OH, -COOH, -COOMe nebo -CH₂OR, kde R znamená nižší alkylovou či acylovou skupinu, který zahrnuje

(i) zreagování sloučenin vzorce 2

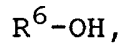


(2)

ve kterém

R¹ až R⁵ mají význam popsany výše,

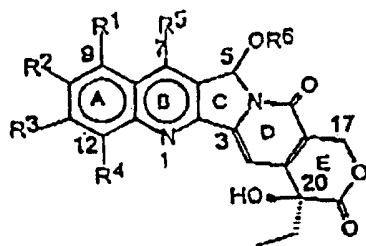
v přítomnosti kyseliny a oxidačního činidla, jako je železitá sůl, se sloučeninou mající vzorec



kde

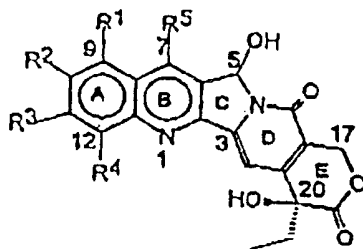
R⁶ znamená nižší alkylové skupiny,

s obdržením sloučeniny vzorce 12 a sloučeniny vzorce 13



(12)

20.04.98



(13)

ve kterých

R¹, R², R³, R⁴ a R⁵ mají význam uvedený výše,

(ii) oddělení sloučenin vzorců 12 a 13 připravených v kroku (i) konvenčními metodami,

(iii) hydrolyzu sloučeniny vzorce 12 konvenčními metodami s obdržením přídatných množství sloučeniny vzorce 13,

(iv) zreagování sloučeniny vzorce 13 v přítomnosti kyseliny se sloučeninou mající vzorec R⁶-OH s obdržením sloučeniny vzorce 1, ve kterém

R⁶ znamená nižší alkylové skupiny,

R¹ znamená atom vodíku nebo methoxyskupinu,

R² znamená atom vodíku nebo hydroxylovou skupinu, nižší alkoxykupinu, acyloxykupinu, merkaptoskupinu, thioalkylovou skupinu, thioacylovou skupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, alkylaminoskupinu, acylaminoskupinu nebo atom halogenu,



R^3 a R^4 znamenají atom vodíku a

R^5 znamená atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, nižší aralkylovou skupinu, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-COOMe$ nebo $-CH_2OR$, kde R představuje nižší alkylovou či acylovou skupinu.

Způsoby vyvinuté a popsané v tomto vynálezu tvoří nový střed chiralit v poloze C-5 ve sloučeninách vzorce 2 bez narušení integrity 20(S)- α -hydroxylového E kruhového laktonového zbytku. Vyvinutý postup se skládá z nového snadného a přizpůsobivého semisyntetického způsobu přípravy C-5 substituovaných známých a nových derivátů kamptothecinu vzorce 1 ze sloučeniny vzorce 2. Sloučenina vzorce 1 připravená postupem podle tohoto vynálezu tak představuje diastereomery obsahující nově vytvořené centrum chiralit C-5. Sloučenina obecného vzorce 1 se skutečně izoluje jako směs diastereomerů 20(S),5(R) a 20(S),5(S). Avšak použitím konvenčních analytických technik byly tyto dva diastereomery rovněž separovány na své jednotlivé opticky čisté složky.

Obecně se mohou veškeré sloučeniny vzorce 1, kde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 a R^6 mají význam vysvětlený výše, syntetizovat ze sloučeniny vzorce 2 postupem popsáným výše a mohou být ilustrovány příklady popsány v oddílu "Příklady". Příprava sloučeniny vzorce 12, kde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 a R^6 mají význam uvedený výše, ze sloučeniny vzorce 2, jak bylo uvedeno v kroku (i), je novým způsobem transformace, při kterém se dosahuje přímého zavedení různých typů alkoxy substituentů do polohy C-5.

20(S)-Kamptothecinové deriváty se substituovaným kru-

hem A nebo A/B obecného vzorce 2, kde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají význam uvedený výše, užívané v tomto vynálezu jako výchozí materiály, jsou v široké míře známy a připraví se podle dřívějších znalostí stavu techniky dokumentovaných v literatuře. Například 7-ethylkamptothecin, 10-hydroxykamptothecin, 9-nitrokamptothecin, 12-nitrokamptothecin, 10-hydroxy-7-ethylkamptothecin (SN-38), 9-aminokamptothecin, 9-methoxykamptothecin, 9-hydroxykamptothecin, 9-methoxy-7-ethylkamptothecin, 9-hydroxy-7-ethylkamptothecin, 10,11-methylendioxykamptothecin, 10,11-ethylendioxykamptothecin, 10-hydroxy-9-(N,N-dimethylaminomethyl)kamptothecin byly připraveny podle známých způsobů uvedených v literatuře [T.R. Govindachari a kol., Ind. J. Chem., 10 (B), 453 (1972), S. Sawada a kol., Chem. Pharm. Bull., 39 (10) 2574 (1991), tamtéž, 39 (12), 3183 (1991), US patent č. 4 604 463 a US patent č. 4 545 880, Jaffery L. Wood a kol., J. Org. Chem., 60, 5739 (1995)] a byly využity jako výchozí materiály pro přípravu nových C-kruhových substituovaných analogů 20(S)-kamptothecinu obecného vzorce 1 popsanych v tomto vynálezu.

Například sloučenina vzorce 12, kde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 a R^6 jsou nezávisle na sobě identické nebo rozdílné a mají význam uvedený výše, se může připravit, jak je uvedeno v kroku (i), reakcí sloučeniny vzorce 2 se sloučeninou mající vzorec R^6 -OH, kde R^6 představuje atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, nižší alkenylovou skupinu, halogenalkylovou skupinu, hydroxyalkylovou skupinu nebo C_3 - C_7) cykloalkylovou skupinu, v přítomnosti silné kyseliny a železité soli. Kyselina používaná v této reakci se může vybrat z peroxokyselin, kyseliny chloristé, kyseliny chlorovodíkové, kyseliny dusičné, kyseliny sírové nebo z Lewisových kyselin, jako je fluorid boritý, chlorid zinečnatý, chlorid cíničitý a chlorid



titaničitý. Železitou sůl použitou ve výše uvedené reakci je možno zvolit ze skupiny zahrnující dusičnan železitý, síran železito amonný a chlorid železitý. Obecně je možno výše uvedenou reakci provést při teplotě v rozmezí od 40 do 150 °C, výhodně mezi 60 až 120 °C.

V kroku (ii) způsobu podle tohoto vynálezu se pro rozdělení směsi sloučenin vzorců 12 a 13, připravených v kroku (i), tato směs podrobí výhodně buď krystalizaci nebo separaci pomocí sloupcové chromatografie s použitím silikagelu. Směsi rozpouštědel použité ve výše uvedených způsobech mohou obsahovat kombinaci organických rozpouštědel, jako je chloroform, ethylacetát, methanol, ethanol, ether, aceton a hexan.

Sloučenina vzorce 13 se může též obdržet v kroku (iii) postupu podle tohoto vynálezu zpracováním sloučeniny vzorce 12 kyselinami v kombinaci s vodou při teplotě v rozmezí od 40 do 120 °C. Kyseliny použité pro tento účel lze vybrat ze skupiny zahrnující kyselinu chlorovodíkovou, kyselinu bromovodíkovou, kyselinu sírovou, kyselinu p-toluensulfonovou, kyselinu octovou a kyselinu chloristou. Rozpouštědly použitými v této reakci mohou být methanol, ethanol, butanol, isopropanol nebo 1,4-dioxan.

V kroku (iv) způsobu podle tohoto vynálezu sloučenina vzorce 13 reagovala se sloučeninou vzorce R^6-OH , kde R^6 má význam uvedený výše, v přítomnosti kyselého prostředí při teplotě v rozmezí od 20 do 140 °C pro získání sloučeniny vzorce 1. Kyseliny použité v této reakci lze vybrat ze skupiny, kterou tvoří kyselina sírová, kyselina chlorovodíková, kyselina octová, kyselina p-toluensulfonová, kyselina pyridin-p-toluensulfonová, kyselina kamforsulfonová,

20.04.98

kyselina methansulfonová, kyselina chloristá nebo Lewisovy kyseliny, jako je chlorid titaničitý, BF_3 -etherát a chlorid zinečnatý. Rozpouštědlem použitým v této reakci může být hexan, benzen, toluen, xylen, chloroform, tetrachlormethan, dichlorethan, dichlormethan a 1,4-dioxan.

Tento vynález má tak zvláštní význam při vývoji C-5-substituovaných 20(S)-kamptothecinových derivátů jako nové třídy C-kruhových modifikovaných kamptothecinových analogů, které jsou použitelné jako protinádorové a/nebo protivirové prostředky. Tento vynález má také zvláštní význam vzhledem k tomu, že zde vyvinutý a popsáný postup je značně přizpůsobivý a přístupný pro přípravu kamptothecinových derivátů obecného vzorce 1 ve velkém měřítku.

Způsoby vyvinuté a popsané v tomto vynálezu zajistí přístup k širokému sortimentu C-5 substituovaných C-kruhových analogů majících různé substituenty na kruhu A a B 20(S)-kamptothecinu. Některé z výhodných sloučenin jsou takové, kde R^1 je nitroskupina, aminoskupina, aminoalkylová skupina, hydroxyskupina nebo methoxyskupina, R^2 je hydroxylová skupina, karbonyloxyskupina nebo atom halogenu, R^2 a R^3 jsou navzájem spojeny s vytvořením methylendioxy-skupiny nebo ethylendioxyskupiny, R^4 je atom vodíku nebo nitroskupina, R^5 je ethylová skupina, aminomethylová skupina nebo substituovaná aminomethylová skupina, R^6 je 2-hydroxyethylová skupina, alkoxyethylová skupina, chlorethylová skupina, fluorethylová skupina, trifluorethylová skupina nebo aminoethylová skupina či aminopropylová skupina, kde aminoskupina může být dimethylaminoskupinou, diethylaminoskupinou, pyrrolidinovou skupinou, piperidinovou skupinou, morfilinovou skupinou, piperazinovou skupinou nebo imidazolinovou skupinou.

Zástupcem sloučeniny vzorce 1 je:

- 1) 5-methoxy-CPT*
- 2) 5-ethoxy-CPT*
- 3) 5-butoxy-CPT*
- 4) 5-chlorethoxy-CPT*
- 5) 9-methoxy-5-ethoxy-CPT
- 6) 9-hydroxy-5-ethoxy-CPT
- 7) 10-hydroxy-5-ethoxy-CPT*
- 8) 7-ethyl-5-ethoxy-CPT*
- 9) 7-ethyl-5-hydroxy-CPT*
- 10) 9-nitro-5-ethoxy-CPT
- 11) 9-nitro-5-hydroxy-CPT
- 12) 7-ethyl-5-chlorethoxy-CPT
- 13) 10-hydroxy-7-ethyl-5-ethoxy-CPT*
- 14) 5-(2 -hydroxyethoxy)-CPT
- 15) 7-ethyl-9-hydroxy-5-ethoxy-CPT
- 16) 10-hydroxy-5-(2 -hydroxyethoxy)-CPT
- 17) 7-ethyl-10-hydroxy-5-(2 -hydroxyethoxy)-CPT
- 18) 9-nitro-5-fluorethoxy-CPT
- 19) 9-nitro-5-trifluorethoxy-CPT
- 20) 10-hydroxy-5-trifluorethoxy-CPT
- 21) 7-ethyl-10-hydroxy-5-trifluorethoxy-CPT
- 22) 7-ethyl-5-pyrrolidinoethoxy-CPT
- 23) 7-ethyl-5-dimethylaminopropoxy-CPT
- 24) 7-ethyl-10-hydroxy-5-fluorethoxy-CPT
- 25) 5-(2 -hydroxyethoxy)-7-ethyl-CPT
- 26) 5-(2 -methoxyethoxy)-CPT

kde CPT znamená 20(S)-kamptothecin a * označuje sloučeniny známé z literatury.

Většina ze sloučenin připravených podle tohoto vynálezu má rozpustnost ve vodě od 1 mg až do 10 mg na ml při 37

20.04.98

°C. Tabulka 1A ukazuje hodnoty MTD (maximální tolerovaná dávka) u švýcarských bílých myší, stabilitu laktonu v plné krvi (po 3 hodinách), rozpustnost, farmakokinetiku při MTD a aktivitu in vitro po 1-hodinové expozici pro sloučeniny z příkladů 11, 26 a 27.

Postupy použité pro provedení experimentů jsou uvedeny níže.

1. MTD u švýcarských bílých myší

Každé švýcarské bílé myši se podává jednorázová injekce zkoušené látky v den určený jako den 1. Testují se dávky 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 8,3, 6,25 a 3,13 mg/kg tělesné hmotnosti. Zvířata se pozorují denně ohledně mortality a morbidity a zaznamenávají se tělesné hmotnosti přežívajících zvířat ve dnech 1, 5, 10 a 14. Maximální tolerovaná dávka se definuje jako dávka, při které zkoušená látka nevykazuje žádnou morbiditu a úbytek hmotnosti nepřevyšuje 30 % ve srovnání se dnem 1. (V souladu s postupem U.S. National Cancer Institute).

2. Stabilita laktonu v plné krvi

2 ml krve od zdravého dobrovolníka se odeberou do zkumavky obsahující 40 μ l heparinu (572 m.j.) pro zabránění koagulace. Připraví se 4 mM a 40 μ M pracovní roztoky léku v DMSO a přidají se k alikvótům plné krve pro získání konečné koncentrace 100 μ M a 1 μ M. Lék se inkubuje v plné krvi při 37 °C a 20 μ l vzorku se odebere do 180 μ l vychlazeného methanolu (-30 °C) v různých časových intervalech (0, 1, 2 a 3 hodiny). Směs se promíchá vířivým pohybem a poté centrifuguje při frekvenci otáček 11 000 za minutu po dobu

3 minut v mikrocentrifuze při teplotě místnosti. 100 μ l supernatantu se zředí vodou na 300 až 500 μ l v závislosti na odpovědi signálu (ultrafialový pro koncentraci 100 μ M a fluorescenční pro koncentraci 1 μ M) látky. 200 μ l zředěného vzorku se vstříkuje na kolonu HPLC, na které se předtím ustavila rovnováha s mobilní fází. Měří se plocha pod vrcholem křivky odpovídající formám laktonu. Plocha vrcholu v čase nula se uvažuje jako 100 % a podíl plochy pod vrcholem laktonu v různých časech se vypočítá pro stanovení rovnovážné stability laktonu obdržené konzistentním podílem laktonu během dvou následných časových bodů [Biochemistry, 33, 10325-10336 (1964) a J. Pharm. Sci., 84, 518-519 (1994)].

3. Farmakokinetika při MTD

Všechny studie se provádějí na švýcarských bílých myších v rozmezí tělesné hmotnosti 35 až 40 g. Zvířata se nechají bez potravy během noci před podáním dávky léku a krmí se 3 hodiny po podání dávky. Zvířatům se podává dávka intraperitoneálně ve formě roztoku ve směsi DMSO a vody (50:50 objemových dílů). Vzorky krve se odebírají z orbitální dutiny v hodinách 1, 2, 4, 6 a 8 po podání dávky do heparinizovaných zkumavek a centrifugují se při frekvenci otáček 13 000 za minutu po dobu 10 minut. Vzorky krevní plazmy se oddělí a analyzují pomocí HPLC. K 50 μ l vzorku se přidá 100 μ l ochlazeného okyseleného methanolu a směs se promíchá, aby se vysrážely proteiny. Vzorek se centrifuguje při frekvenci otáček 13 000 za minutu po dobu 10 minut. 100 μ l supernatantu se zředí na objem 200 μ l směsí methanolu a vody (50:50 objemových dílů) a 100 μ l se vstříkne k HPLC. Plocha pod vrcholem léku se použije pro kvantitativní vyhodnocení. Vzorky pro kalibraci, kontrolu a stanovení výtěžku se připraví přidáním známého množství léku do 50 μ l

prázdné plazmy a zpracují se stejným způsobem jako ostatní vzorky [J. Natl. Cancer Inst., 88, 817-824 (1996)].

4. Stanovení rozpustnosti pomocí HPLC

Přebytek sloučeniny se ponechá nasáknout v 0,5 ml pufrovaného octanu sodného, 0,1 mol/dm³, při pH 5,0 během 24 hodin při teplotě místnosti. Roztok se filtruje filtrem injekční stříkačky PVDF 0,45 µm (Gelman Sciences). Filtrát se vstříkuje na HPLC při různých objemech (10 a 20 µl). Zaznamenají se chromatogramy. Zaznamenané odpovědi se extrapolují z kalibrační křivky a vypočítá se rozpustnost sloučeniny [J. Med. Chem., 38, 400 (1995)].

5. Stanovení rozpustnosti rutinním postupem

Sloučenina se suspenduje v 5 ml deionizované vody a zahřívá po dobu 10 min na 37 °C. Potom se roztok filtruje, filtrát se odpaří dosucha s použitím methanolu a stanoví se jeho hmotnost.

6. Aktivita in vitro po jednogodinové expozici

Buňky se ponechají růst v 15 ml úplného živného prostředí (RPM1-1640 s 10 % fetálního hovězího séra a 0,2 % hydrogenuhličitanu sodného) po dobu 3 až 5 dnů pro obdržení počtu buněk 10⁶ buněk/baňka. Živné prostředí se odstraní a připojené buňky se promyjí fyziologickým roztokem pufrovaným fosfátem (PBS). Přidá se 1 ml 0,1% Trypsin-EDTA a vzorek se inkubuje po dobu 5 min při 37 °C. Buňky se jemně poklepou a přidá se 5 ml úplného živného prostředí. Suspenze buněk se odebere a centrifuguje při frekvenci otáček 2 000 za minutu po dobu 5 minut. Odstraní se supernatant a pelety se

suspendují v 5 ml úplného živného roztoku. Počet buněk se počítá pomocí hemocytometru. Suspenze buněk se zředí na 10 000 buněk ve 100 μ l úplného živném roztoku. Po 100 μ l buněčné suspenze se nanese do 96 jamek mikrotitrační plotny a inkubuje se po dobu 24 hodin při 37 $^{\circ}$ C v přítomnosti 5 % CO₂. Růst v referenčním blanku (nanesen na plotnu odděleně) se ukončí přidávkem 25 μ l 50% vychlazené kyseliny trichloroctové (TCA). Inkubuje se po dobu 1 hodiny při 4 $^{\circ}$ C. Deska se promyje (5x) deionizovanou vodou, vysuší se na vzduchu a uchovává se při 4 $^{\circ}$ C pro stanovení hodnoty T₀. Připraví se vhodně zředěný roztok zkušební látky v úplném živném prostředí a přidá se 100 μ l do každé jamky pro udržení konečné koncentrace mezi 10⁻⁴ a 10⁻⁸ mol/dm³. Inkubuje se po dobu 1 hodiny při 37 $^{\circ}$ C v přítomnosti 5 % CO₂. Mikrotitrační plotna se centrifuguje při frekvenci otáček 1000 ot/min po dobu 5 minut. Odstraní se supernatant. Buňky se dvakrát promyjí 100 μ l PBS, aby se odstranily stopy zkoušené látky. Přidá se 200 μ l úplného živného prostředí do každé jamky a inkubuje se po dobu 48 hodin při 37 $^{\circ}$ C v přítomnosti 5 % CO₂. Růst buněk se ukončí přidávkem 50 μ l 50% vychlazené kyseliny trichloroctové. Plotna se inkubuje po dobu 1 hodiny při 4 $^{\circ}$ C, promyje deionizovanou vodou (5x) a vysuší na vzduchu. Přidá se 100 μ l roztoku sulforhodaminu B (0,4 % v 1% kyselině octové) do každé jamky, při udržování teploty místnosti po dobu 15 minut. Promyje se (5x) 1% kyselinou octovou a vysuší na vzduchu. Přidá se 100 μ l báze Trizma (Sigma) 10 mmol/dm³, jemně se protřepe na třepačce plotny po dobu 15 min a odečítá se optická hustota při 490 nm na spektrofotometrickém zařízení pro odečítání ploten (podle postupu U.S. National Cancer Institute).

Tabulka 1A

MTD u švýcarských bílých myší

Způsob podání	Příklad 11	Příklad 26	Příklad 27
---------------	------------	------------	------------

 intraperito-

neálně	400 mg	200 mg	400 mg
--------	--------	--------	--------

intravenózně	100 mg	25-50 mg	200 mg
--------------	--------	----------	--------

Stabilita laktonu v plné krvi (po 3 hodinách)

Koncentrace	Příklad 11		Příklad 26	Příklad 27	
	Diaste- reomer A	Diaste- reomer B		Diaste- reomer A	Diaste- reomer B
100 μ M	3,73 \pm 1,50	6,15 \pm 2,53	-	4,58 \pm 1,72	11.9 \pm 2,91
1 μ M	-	-	5,3	-	-

Rozpustnost

Metoda	Příklad 11	Příklad 26	Příklad 27
Metoda HPLC	0,17 mg/ml	0,8 mg/ml	0,5 mg/ml
Rutinní metoda	<1 mg/ml	6 mg/ml	2-3 mg/ml

Farmakokinetika při MTD

Parametr	Příklad 11	Příklad 26	Příklad 27
AUC_{0-1} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	18,47±2,1	561,69±41,8	23,10±2,7
C_{max} (μM)	6,95±1,2	264,15±21,9	7,4±0,8
T_{max} (h)	1,00±0,0	1,0±0,0	1,33±0,6
K_{elim}	0,37±0,07	0,38±0,06	0,29±0,02
Poločas (h)	1,92±0,4	1,84±0,3	2,38±0,2

Aktivita in vitro po 1 hodině expozice (hodnoty GI_{50})

Buněčná linie	Příklad 11	Příklad 26	Příklad 27
SF-268	$6 \times 10^{-6} \text{M}$	$>10^{-4} \text{M}$	$>10^{-4} \text{M}$
OVCAR-8	$4,5 \times 10^{-6} \text{M}$	$>10^{-4} \text{M}$	$7,5 \times 10^{-5} \text{M}$
MCF-7/ADR	$1,5 \times 10^{-6} \text{M}$	$>10^{-4} \text{M}$	$6 \times 10^{-5} \text{M}$
DU-145	$3,5 \times 10^{-7} \text{M}$	$5 \times 10^{-5} \text{M}$	$3,5 \times 10^{-7} \text{M}$
ACHN	$5,5 \times 10^{-7} \text{M}$	$>10^{-4} \text{M}$	$8 \times 10^{-6} \text{M}$
HOP-62	$6 \times 10^{-6} \text{M}$	$>10^{-4} \text{M}$	$2 \times 10^{-6} \text{M}$
UACC-62	$4 \times 10^{-5} \text{M}$	$7,5 \times 10^{-8} \text{M}$	$9 \times 10^{-6} \text{M}$



Dále několik sloučenin připravených v tomto vynálezu vykazovalo dobrou protirakovinnou aktivitu in vitro proti různým liniím lidských nádorových buněk podle výsledků obdržných z 60 rozborů s lidskými nádorovými buněčnými liniemi provedených v National Cancer Institute (NCI), Bethesda, Maryland, U.S.A.

Tabulka 1 uvádí aktivitu buněčné linie in vitro vyjádřenou jako hodnoty IC_{50} pro různé C-kruhové analogy 20(S)-kamptothecinu připravené v rámci tohoto vynálezu. Diagramy 1 až 3 ukazují data kompilovaná na základě průměrných grafů NCI pro úplnou inhibici růstu (TGI) různých typů lidských raovinných buněčných linií pro sloučeniny připravené v příkladech 27, 28 a 43. Pro srovnání se uvádějí podobná komplikovaná data pro topotekan založená na průměrném grafu NCI. Data shrnutá tabulkách 2 a 3 ukazují, že C-kruhové analogy 20(S)-kamptothecinu připravené v rámci tohoto vynálezu vykazují protinádorovou aktivitu stejnou nebo lepší než topotekan vůči určitým buněčným liniím různých souborů rakovinných buněk. Tabulka 4 udává údaje obdržné pro sloučeninu připravenou v příkladu 32 proti buněčným liniím lymfomu vztahujícího se k AIDS (ARL). Veškeré sloučeniny použité ve screeningovém protirakovinném programu NCI in vitro jsou směsi obsahující v podstatě oba diastereomery mající konfigurace 20(S),5(S) a 20(S),5(R) v různých poměrech.

Výsledky ukázané v diagramech 1 až 3 a tabulkách 1 až 4 pocházejí z provádění pokusů podle postupů U.S. National Cancer Institute (NCI), jak se udává níže.

Každá zkoušená látka se podrobila screeningu proti souboru 60 lidských buněčných linií obdržných z osmi orgánů.

V obvyklém postupu se buněčné suspenze zředěné podle příslušného typu buněk a očekávané cílové hustoty buněk (5000 až 40 000 buněk na jamku na základě charakteristik růstu buněk) nanesou na mikrotitrační plotny s 96 jamkami. Inokuláty se ponechají stabilizovat po preinkubační dobu 24 hodin při 37 °C. Do jamky mikrotitrační plotny se v čase nula přidají zředění odpovídající dvojnásobku zamýšlených zkušebních koncentrací ve 100 µl alikvótech. Obvykle se zkoušené látky vyhodnocují při 5 desetinásobných zředěních. Nejvyšší koncentrace v jamce používaná ve zkoušce je 10⁻⁴ mol/dm³. Buňky se poté inkubují v přítomnosti léku (zkoušená sloučenina) po dalších 48 hodin v atmosféře s 5 % CO₂ při 100% relativní vlhkosti. Na konci této doby se adherující buňky fixují k plotně pomocí kyseliny trichloroctové a po několikanásobném promytí se vrstva buněk zpracovává barvivem proteinu sulforhodaminem B. Optická hustota, která je úměrná hmotnosti proteinu, se potom odečítá automatizovaným spektrofotometrickým zařízením pro vyhodnocování ploten při vlnové délce 515 nm. Čtení se převádějí na mikropočítač a konečné zprávy se vytvářejí s použitím speciálně vyvinutého programového vybavení.

Sloučeniny vzorce 1 podle tohoto vynálezu a jejich farmaceuticky přijatelné soli, jak bylo popsáno výše a prostředky, která ji obsahují, lze použít jako protirakovinné a protivirové prostředky. Podání nových aktivní sloučenin vzorce 1 v čisté formě nebo v příslušném farmaceutickém prostředku se může provádět jakýmikoliv přijatými způsoby podávání, soužícími pro podobná podání. Proto lze sloučeninu podávat například ústy, nosem, parenterálně nebo místně ve formě pevné látky, polopevné látky, lyofilizovaného prášku nebo kapalných dávkových forem, jako například s použitím tablet, čípků, pilulek, tobolek,

prášků, roztoků, suspenzí, emulzí, krémů, tekutých forem k zevnímu použití, aerosolů, mastí, injekcí a podobně, výhodně ve vhodné dávkové formě pro jednoduché podání přesných dávek. Protředky zahrnují konvenční farmaceutický nosič, zředovací činidla či vehikulum a aktivní novou látku sloučeninu 1 a navíc mohou zahrnovat léčivé přípravky, farmaceutické přípravky, nosiče, látky zvyšující účinek léku atd.

Vynález se popisuje podrobně se specifickými příklady udanými níže, které slouží pouze pro ilustraci a neměly by se považovat za omezující pro rozsah tohoto vynálezu.

Tabulka 1

Č.	SLOUČENINA	IC ₅₀ (μ m) ^a
1	5-methoxykamptothecin*	8,5
2	5-ethoxykamptothecin*	9,54
3	5-n-butoxykamptothecin*	6,16
4	5-(2 -hydroxyethoxy)kamptothecin	1,51
5	5-(2 -chlorethoxy)kamptothecin	4,57
6	7-ethyl-5-ethoxykamptothecin*	1,41
7	9-methoxy-7-ethyl-5-ethoxykamptothecin	2,13
8	7-ethyl-5-chlorethoxykamptothecin	2,75
9	7-ethyl-5-aminoethoxykamptothecin	18,6
10	7-ethyl-5-pyrrolidinethoxykamptothecin	18,6
11	7-ethyl-5-piperidinethoxykamptothecin	>30
12	7-ethyl-5-N,N-dimethylaminoethoxykamptothecin	13,8
13	7-ethyl-5-N,N-dimethylaminopropoxykamptothecin	>30
14	9-methoxy-5-ethoxykamptothecin	2,45

15	5-trifluorethoxykamptothecin	1,82
16	5-aminoethoxykamptothecin	30,0
17	7-ethyl-5-trifluorethoxykamptothecin	7,41
18	7-ethyl-5-(2 -hydroxyethoxy)kamptothecin	4,78
19	5-fluorethoxykamptothecin	1,58
20	10-hydroxy-5-trifluorethoxykamptothecin	0,38
21	9-nitro-5-trifluorethoxykamptothecin	0,46
22	10-hydroxy-5-(2 -hydroxyethoxy)kamptothecin	8,12
23	9-nitro-5-(2 -hydroxyethoxy)kamptothecin	7,94
24	7-ethyl-5-fluorethoxykamptothecin	4,36
25	5-methoxyethoxykamptothecin	2,23
26	9-nitro-5-methoxyethoxykamptothecin	2,04
27	12-nitro-5-ethoxykamptothecin	>30
28	12-nitro-5-hydroxykamptothecin	>30
29	9-amino-5-methoxykamptothecin	6,76
30	9-hydroxy-5-ethoxykamptothecin	6,68

^a IC₅₀ = střední hodnota minimální koncentrace ($\mu\text{mol}/\text{dm}^3$) sloučeniny požadované k vyvolání 50% inhibice růstu buněk (GI₅₀) proti 60 buněčným liniím lidských nádorů NCI

* značí C-5 substituované deriváty kamptothecinu známé v literatuře

Tabulka 2

SOUBOR BUNĚK	LEUKÉMIE	CNS		PRS	TLUSTÉ STŘEVO
BUNĚČNÁ LINIE	MOLT 4	SF 295	U 251	MCF 7	HT 29
TOPOTEKAN	1,2	2,18	2,81	100	>100
PŘÍKLAD 25	3,0	2,15	3,57	9,2	7,90

Tabulka 3

SOUBOR BUNĚK	NSLC	RAKOVINA TLUSTÉHO STŘEVA				VAJEČNÍKŮ	LEDVIN	CNS			
BUNĚČNÁ LINIE	EKVX	H	H	HCC	HT 29	HCT 15	SK OV3	OVCAR 8	UO 31	SF 268	U
		460	322M	2998							251
TOPO- TECAN	100	1,2	16,9	15,8	>100	44,6	5,12	18,19	2,51	56	2,81
PŘÍKLAD 26	63	1,0	31,6	10,47	46	36,3	3,80	13,4	3,89	30,9	7,57

Všechny výše uvedené hodnoty se vztahují ke koncentraci úplné inhibice růstu *(TGI) v $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$

* TGI se vztahuje k minimálním koncentracím přípravku (zkoušené sloučeniny) požadované pro úplnou inhibici růstu buněk ve studii provedené podle NCI in vitro s 60 liniemi buněk lidských nádorů

2004 99

Tabulka 4#

Aktivita in vitro sloučeniny z příkladu 32 proti buněčným liniím lymfomu vztahujícího se k AIDS (ARL)

NÁZEV BUNĚK	GI ₅₀ *	TGI**
CCRF - CEM	0,318	1,83
RL	0,463	3,94
KD 488	0,246	2,28
AS 283	0,268	0,678
PA 682	0,456	7,23
SU-DHL-7	0,609	3,51

* GI₅₀ se vztahuje k minimální koncentraci ($\mu\text{mol}/\text{dm}^3$) zkoušené sloučeniny požadované pro 50% inhibici růstu buněk

** TGI se vztahuje k minimální koncentraci ($\mu\text{mol}/\text{dm}^3$) zkoušené sloučeniny požadované pro úplnou inhibici růstu

Diagram 1

Údaje o protirakovinné aktivitě sloučeniny z příkladu 27 in vitro [Ukázané údaje se vztahují k hodnotám koncentrací pro úplnou inhibici růstu (TGI) v $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$]

NSLC

BUNĚČNÉ LINIE	HOP 62	HOP 92	H 226	H 23	H 460	H 522
PŘÍKLAD 27	4,95	4,88	4,75	0,91	5,09	7,66
TOPOTEKAN	0,04	7,90	10,96	0,87	1,20	4,16

RAKOVINA TLUSTÉHO STŘEVA

BUNĚČNÉ LINIE	COLO 205	HCC 2998	HCT 116	HCT 15	HT 29	KM 12
PŘÍKLAD 27	19,5	7,67	4,06	20,0	2,41	10,6
TOPOTEKAN	7,94	15,8	2,51	44,6	100	6,45

RAKOVINA PRSU

BUNĚČNÉ LINIE	MCF 7/ ADR	MDA-MB-435	MDA-N	BT 549	T 47D
PŘÍKLAD 27	1,25	9,62	11,0	11,4	0,81
TOPOTEKAN	1,50	2,5	nedete- kováno	>100	1,8

200499

Diagram 2

Údaje o protirakovinné aktivitě sloučeniny z příkladu 28 in vitro [Ukázané údaje se vztahují k hodnotám koncentrací pro úplnou inhibici růstu (TGI) v $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$]

NSLC

BUNĚČNÉ LINIE	HOP 92	H 226	H 23	H 322M	H 460	H 522
PŘÍKLAD 28	8,44	4,3	0,76	30,2	1,22	13,0
TOPOTEKAN	7,90	10,96	0,87	16,9	1,20	4,16

RAKOVINA TLUSTÉHO STŘEVA

BUNĚČNÉ LINIE	COLO 205	HCC 2998	HCT 116	HCT 15	HT 29	KM 12
PŘÍKLAD 28	9,48	7,65	8,01	>30	7,94	27,4
TOPOTEKAN	7,94	15,80	2,51	44,6	100	6,45

RAKOVINA PRSU

BUNĚČNÉ LINIE	MCF 7/ ADR	MDA-MB-435	BT-549	MDA-N	T 47D
PŘÍKLAD 28	1,21	11,4	32	13,4	1,09
TOPOTEKAN	1,5	2,5	>100	nedetekováno	1,8

20.04.98

Pokračování diagramu 2

RAKOVINA LEDVIN

BUNĚČNÉ LINIE	786-0	A 498	ACHN	CAKI	RXF 393	SN12C	UO 31
PŘÍKLAD 28	0,85	1,76	0,37	0,75	15,9	2,31	1,23
TOPOTEKAN	0,12	1,69	0,28	0,51	1,41	1,58	2,51

20.04.99

Diagram 3

Údaje o protirakovinné aktivitě sloučeniny z příkladu 43 in vitro [Ukázané údaje se vztahují k hodnotám koncentrací pro úplnou inhibici růstu (TGI) v $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$]

NSLC

BUNĚČNÉ LINIE	HOP 62	H 226	H 23	H 460
PŘÍKLAD 43	3,92	6,89	2,52	14,2
TOPOTEKAN	0,04	10,96	0,87	1,20

RAKOVINA TLUSTÉHO STŘEVA

BUNĚČNÉ LINIE	COLO 205	HCC 2998	HCT 166	HT 29	KM 12
PŘÍKLAD 43	37,3	23,2	23,6	18,9	41,9
TOPOTEKAN	7,94	15,8	2,51	100	6,45

RAKOVINA PRSU

BUNĚČNÉ LINIE	MCF7 / ADR / RES	MCF 7
PŘÍKLAD 43	9,30	17,8
TOPOTEKAN	1,5	100

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava 5-methoxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Ke směsi 20(S)-kamptothecinu vzorce 3 (2 g) a chloridu železitého (2 g) rozpuštěného v 80 ml methanolu se přidá po kapkách 10 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 70 °C po dobu 24 hodin. Přebytková kyselina a methanol se odpaří ve vakuu a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a vysuší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 1,8 g žlutavého prášku obsahujícího 5-methoxykamptothecin a 5-hydroxykamptothecin v poměru 5:1.

Krok 2: Separace směsi sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím rozpouštědlové směsi methanol-chloroform jako elučního činidla poskytuje 1,5 g 5-methoxykamptothecinu a 300 mg 5-hydroxykamptothecinu. Následují analytické údaje pro 5-methoxykamptothecin. Teplota tání: 156 °C. $[\alpha]_D$ při 28 °C = +41,74 (c 0,103, CHCl₃). IČ: 3426, 1747, 1664, 1616, 1228, 1155, 1046, 762 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ 8,42 (s, 1 H), 8,26 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,96 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,88 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,68 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,58 (s, 0,5 H), 7,54 (s, 0,5 H), 6,95 (s, 0,5 H), 6,80 (s, 0,5 H), 5,74 (d, J = 16,5 Hz, 0,5 H), 5,72 (d, J = 16,5 Hz, 0,5 H), 5,25 (d, J = 16,5 Hz, 1 H), 3,75 (s, 1 H), 3,70 (s, 1,5 H), 3,50 (s, 1,5 H), 2,01-1,82 (m, 2 H), 1,06 (t, J = 7 Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 379 (M+H), 348, 319.



Příklad 2

Příprava 5-hydroxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Příprava 5-methoxykamptothecinu:

5-methoxykamptothecin vzorce 1, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $R^6 = Me$, se připraví z 20(S)-kamptothecinu vzorce 3, jak se popisuje výše v příkladu 1.

Krok 2: 1,5 g 5-methoxykamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $R^6 = Me$, se rozpustí v 50 ml methanolu a zpracuje 50 ml 50% HCl. Roztok se zahřívá pod zpětným chladičem po dobu 30 hodin. Ke konci se odpaří přebytečná voda a methanol jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 1,2 g 5-hydroxykamptothecinu po vyčištění pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu s použitím rozpouštědlové směsi ethylacetátu a chloroformu. Teplota tání: 220 °C. $[\alpha]_D$ při 26 °C = +28,00 (c 0,1, $CHCl_3$). IČ: 3367, 1749, 1658, 1591, 1159, 1046 cm^{-1} . 1H NMR ($CDCl_3 + DMSO - d_6$, 200 MHz): δ 8,50 (s, 1 H), 8,20 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,94 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,85 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,64 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,58 (s, 0,5 H), 7,56 (s, 0,5 H), 7,06 (s, 0,5 H), 7,01 (s, 0,5 H), 6,95 (široký d, 1 H, D_2O vyměnitelné), 5,67 (d, J = 16,5 Hz, 1 H), 5,25 (d, J = 16,5 Hz, 1 H), 5,05 (široký d, 1 H, D_2O vyměnitelné), 2,05-1,86 (m, 2 H), 1,06 (t, J = 7 Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 364 (M+1), 348, 320, 277, 236, 91, 57.

Příklad 3

Příprava 5-ethoxy-7-ethylkamptothecinu (známá sloučenina)

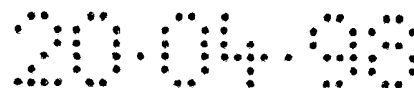
Krok 1: Ke směsi 7-ethylkamptothecinu vzorce 2, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$, $R^5 = Et$ (1,5 g) a chloridu železitého (1,35 g) rozpuštěného ve 150 ml ethanolu, se přidá po kapkách 9 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 85 °C po dobu 30 hodin. Přebytná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 1,6 g hnědavého prášku obsahujícího 5-ethoxy-7-ethylkamptothecin a 5-hydroxy-7-ethylkamptothecin v poměru 10:1.

Krok 2: Separace směsi sloupcovou chromatografií poskytuje 1 g 5-ethoxy-7-ethylkamptothecinu a 100 mg 5-hydroxy-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 150 °C. $[\alpha]_D$ při 27 °C = + 10,526 (c 0,085, $CHCl_3$). IČ: 3419, 1751, 1662, 1613, 1157, 1075, 1050, 764 cm^{-1} . 1H NMR ($CDCl_3$, 200 MHz): δ 8,20 (d, J = 8 Hz, 1 H), 8,15 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,81 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,66 (t, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,54 (s, 0,5 H), 7,51 (s, 0,5 H), 7,01 (s, 0,5 H), 6,89 (s, 0,5 H), 5,72 (d, J = 16,5 Hz, 0,5 H), 5,71 (d, J = 16,5 Hz, 0,5 H), 5,28 (d, J = 16,5 Hz, 0,5 H), 5,26 (d, J = 16,5 Hz, 0,5 H), 4,3-3,6 (m, 3 H), 3,5-3,1 (m, 2H), 2,05-1,71 (m, 2H), 1,45 (t, J = 7,5 Hz, 3 H), 1,06 (t, J = 7 Hz, 3 H).

Příklad 4

Příprava 5-hydroxy-7-ethylkamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Příprava 5-ethoxy-7-ethylkamptothecinu: 5-ethoxy-7-ethylkamptothecin vzorce 1, kde, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$, $R^5 = R^6 = Et$, se připraví z 20(S)-kamptothecinu



vzorci 2, jak se popisuje v příkladu 3.

Krok 2: 50 ml 25% H_2SO_4 se přidá k 1,0 g 5-ethoxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{H}$ a $\text{R}^5 = \text{R}^6 = \text{Et}$, rozpuštěného ve 30 ml ethanolu a vaří se pod zpětným chladičem po dobu 30 hodin. Na konci se přebytečná voda a ethanol odpaří jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 700 mg 5-hydroxy-7-ethylkamptothecinu, po vyčištění sloupcovou chromatografií na silikagelu. Teplota tání: 252 °C. IČ: 3349, 1752, 1656, 1605, 1159, 1054, 766 cm^{-1} . Částečné údaje ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO} - d_6$), δ 7,19 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 7,15 (s, 0,5 H), 7,05 (s, 0,5 H), 5,75 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 5,65 (d, $J = 16,5$ Hz, 1 H), 5,25 (d, $J = 16,6$ Hz, 1 H), 3,52-3,19 (m, 2 H), 1,45 (t, $J = 7,5$ Hz, 3 H), 1,02 (m, 3 H).

Příklad 5

Příprava 5-ethoxy-9-methoxykamptothecinu vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{OMe}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ a $\text{R}^6 = \text{Et}$

Krok 1: Ke směsi 9-methoxykamptothecinu vzorce 2, kde $\text{R}^1 = \text{OMe}$ a $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ (1 g) a chloridu železitého (500 mg) rozpuštěného v 50 ml ethanolu se přikape 10 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 85 °C po dobu 22 hodin. Přebytečná kyselina a ethanol se odpaří vakuovou destilací a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje tmavě hnědavý prášek.



Krok 2: Čištění výše uvedeného zbytku pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu poskytuje 500 mg 5-ethoxy-9-methoxykamptothecinu vzorce 1 a 300 mg 5-hydroxy-9-methoxykamptothecinu. Teplota tání: 235 °C. $[\alpha]_D$ při 30 °C = + 34,18 (c 0,093, MeOH). IČ: 3436, 1748, 1665, 1619, 1461, 1366, 1093, 814 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ 8,81 (s, 1 H), 7,78 (m, 2 H), 7,53 (d, J = 5,5 Hz, 1 H), 6,96 (d, J = 7 Hz, 1 H), 6,88 (s, 1 H), 6,77 (s, 1 H), 5,72 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 5,75 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 5,27 (d, J = 16 Hz, 1 H), 4,24-3,90 (m, 2 H), 4,06 (s, 3 H), 3,80 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 1,90 (m, 2 H), 1,31 (m, 3 H), 1,01 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 422 (M+1), 394, 378, 350, 305, 98, 57.

Příklad 6

Příprava 5-hydroxy-9-methoxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Nejprve se připraví 5-ethoxy-9-methoxykamptothecin vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{OMe}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ a $\text{R}^6 = \text{Et}$, jak se popisuje v příkladu 5.

Krok 2: 25 ml 80% HCl se přidá k 560 mg 5-ethoxy-9-methoxykamptothecinu vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{OMe}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ a $\text{R}^6 = \text{Et}$, rozpuštěného v 25 ml ethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. Na konci se odpaří přebytečná voda a ethanol jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 520 mg 5-hydroxy-9-methoxykamptothecinu, po vyčištění sloupcovou chromatografií



na silikagelu. Teplota tání: 162 °C. $[\alpha]_D$ při 30 °C = +39,68 (c 0,012, MeOH). IČ: 3398, 1749, 1656, 1616, 1577, 1465, 1383, 1154 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3 + DMSO-d_6): δ 8,81 (s, 1 H), 7,81-7,61 (m, 2 H), 7,50 (d, $J = 5,5$ Hz, 1 H), 7,12-6,71 (m, 2 H), 5,70 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,30 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,06 (s, 3 H), 1,98-1,75 (m, 2 H), 1,10-0,98 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 394 (M+1), 377, 348, 266, 149, 88, 57.

Příklad 7

Příprava 5-ethoxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{OMe}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{H}$ a $\text{R}^5 = \text{R}^6 = \text{Et}$

Krok 1: Ke směsi 9-methoxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 2, kde $\text{R}^1 = \text{OMe}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{H}$ a $\text{R}^5 = \text{Et}$ (100 mg) a chloridu železitého (100 mg) rozpuštěného v 32 ml ethanolu se přikapou 2 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 85 °C po dobu 4 hodin. Přebytečná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 120 mg odparku obsahujícího 5-ethoxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecin a 5-hydroxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecin v poměru 1:4.

Krok 2: Separace směsi sloupcovou chromatografií s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-chloroform poskytuje 15 mg 5-ethoxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 1 a 55 mg 5-hydroxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 240 °C. IČ: 3443, 1747, 1663, 1609, 1458, 1254, 1160, 1074 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,80-7,68 (m, 2 H), 7,50 (s, 0,5 H), 7,47 (s, 0,5 H), 7,01 (s, 0,5 H), 6,98 (d, $J = 8$ Hz, 1 H), 6,89 (s, 0,5 H), 5,76 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,28

(d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 5,26 (d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 4,25-3,81 (m, 2 H), 4,02 (s, 3 H), 3,72-3,28 (m, 2 H), 3,15 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 2,02-1,82 (m, 2 H), 1,37-1,33 (m, 3 H), 1,05 - 0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 451 (M+1), 406, 377, 362, 347, 331, 261, 181, 149, 97.

Příklad 8

Příprava 5-hydroxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 13, kde $R^1 = OMe$, $R^2 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = R^6 = Et$

Krok 1: Nejprve se připraví 5-ethoxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecin vzorce 1, kde $R^1 = OMe$, $R^2 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = R^6 = Et$, jak je popsáno v příkladu 7.

Krok 2: 5 ml 50% kyseliny chlorovodíkové se přidá ke 100 mg 5-ethoxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = OMe$, $R^2 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = R^6 = Et$, rozpustí v 5 ml ethanolu a vaří pod zpětným chladičem po dobu 26 hodin. Ke konci se přebytečná voda a ethanol odpaří jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 80 mg 5-hydroxy-9-methoxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 13, po vyčištění sloupcovou chromatografií na silikagelu. Teplota tání: 242 °C. IČ: 3440, 1742, 1660, 1610, 1456, 1250, 1160 cm^{-1} .

Příklad 9

Příprava 5-ethoxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Ke směsi 20(S)-kamptothecinu vzorce 3 (1 g)



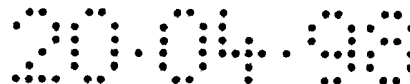
a chloridu železitého (1 g) rozpuštěného v 50 ml ethanolu se přikape 12 ml BF₃-etherátu a směs se udržuje při teplotě 85 °C po dobu 40 hodin. Přebytečná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 1 g žlutavého prášku obsahujícího 17-ethoxykamptothecin a 5-hydroxykamptothecin v poměru 6:1.

Krok 2: Separace této směsi sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-hexan jako elučního činidla poskytuje 700 mg 5-ethoxykamptothecinu a 120 mg dříve připraveného 5-hydroxykamptothecinu. Teplota tání: 140 °C. $[\alpha]_D$ při 28 °C = +29,703 (c 0,101, CHCl₃). IČ: 3423, 1746, 1663, 1616, 1155, 1070, 1040 cm⁻¹. Částečné údaje ¹H NMR v CDCl₃: δ 6,9 (s, 0,5 H), 6,78 (s, 0,5 H), 4,25-3,85 (m, 2 H), 3,70 (s, 1 H), 2,00-1,80 (m, 2 H), 1,40-1,22 (m, 3 H), 1,12-0,98 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 393 (M+1), 378, 362, 348, 319, 247, 219, 57.

Příklad 10

Příprava 5-butoxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Ke směsi 20(S)-kamptothecinu vzorce 3 (500 mg) a chloridu železitého (500 mg) rozpuštěného v 15 ml n-butanolu se přikape kyselina sírová a směs se udržuje při teplotě 100 °C po dobu 20 hodin. Přebytečná kyselina a n-butanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje práškovitý materiál.



Krok 2: Čištění výše uvedeného materiálu sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-hexan jako elučního činidla poskytuje 300 mg 5-butoxykamptothecinu a 50 mg dříve připraveného 5-hydroxykamptothecinu. Teplota tání: 82 °C. $[\alpha]_D$ při 28 °C = +28,00 (c 0,01, CHCl₃). Částečné údaje ¹H NMR v CDCl₃: δ 6,92 (s, 0,5 H), 6,79 (s, 0,5 H), 4,12-3,75 (m, 2 H), 3,80 (široký s, 1 H, D₂O vyměnitelné), 2,00-1,82 (m, 2 H), 1,75-1,52 (m, 2 H), 1,50-1,29 (m, 2 H), 1,15-0,82 (m, 6 H). Hmot. spektr. (m/z): 422 (M+1), 363, 348, 319, 84, 51.

Příklad 11

Příprava 5-ethoxy-9-hydroxykamptothecinu vzorce 1, kde R¹ = OH, R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H a R⁶ = Et

Krok 1: Ke směsi 9-hydroxykamptothecinu vzorce 2, kde R¹ = OH, R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H (200 mg) a chloridu železitého (250 mg) rozpuštěného ve 40 ml ethanolu se přikape 1,5 ml kyseliny sírové a pokračuje se v zahřívání směsi na teplotu 85 °C po dobu 26 hodin. Přebytková kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje 5% směsí methanol-chloroform. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 170 mg odparku obsahujícího 5-ethoxy-9-hydroxykamptothecin a 5,9-dihydroxykamptothecin v poměru 3:1.

Krok 2: Separace směsi sloupcovou chromatografií s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-chloroform poskytuje 75 mg 5-ethoxy-9-hydroxykamptothecinu vzorce 1 spolu s 25 mg 9,5-dihydroxykamptothecinu. Teplota tání: 230 °C. IČ: 3400,

200499

2920, 1745, 1663, 1597, 1360, 1280, 1228, 1157, 1083, 902, 816 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3): δ 8,83 (s, 1 H), 7,78 (d, $J = 6,8$ Hz, 1 H), 7,67-7,56 (m, 2 H), 7,01 (s, 0,5 H), 6,98 (s, 0,5 H), 6,91 (s, 0,5 H), 6,81 (s, 0,5 H), 5,70 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,33 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,15-3,91 (m, 2 H), 1,90 (m, 2 H), 1,05 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 409 (M+1), 364, 335, 320, 291, 267, 263, 221, 206, 171, 159, 129, 111, 98, 85.

Příklad 12

Příprava 9,5-dihydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $\text{R}^1 = \text{OH}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$

Krok 1: Nejprve se připraví 5-ethoxy-9-hydroxykamptothecin vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{OH}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ a $\text{R}^6 = \text{Et}$, jak je popsáno v příkladu 11.

Krok 2: 25 ml 80% HCl se přidá k 560 mg 5-ethoxy-9-hydroxykamptothecinu vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{OH}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ a $\text{R}^6 = \text{Et}$, rozpuštěného ve 25 ml ethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. Ke konci se přebytečná voda a ethanol odpaří jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 320 mg 9,5-dihydroxykamptothecinu vzorce 13 po vyčištění sloupcovou chromatografií na silikagelu. Teplota tání: 102 °C. IČ: 3400, 1744, 1659, 1594, 1462, 1361, 1280, 1229, 1049, 820 cm^{-1} . ^1H NMR (DMSO-d_6): δ 10,82 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 7,63-7,69 (m, 2 H), 7,22 (s, 0,5 H), 7,19 (s, 0,5 H), 7,11 (d, $J = 7$ Hz, 1 H), 6,98 (s, 0,5 H), 6,95 (s, 0,5 H), 6,50 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 5,42 (s, 2 H), 1,89 (m, 2 H),



0,90 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 380 (M+1), 320, 305, 293, 264.

Příklad 13

Příprava 5-ethoxy-9-hydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$ a $R^5 = R^6 = \text{Et}$

Krok 1: Ke směsi 9-hydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 2, kde $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$ a $R^5 = \text{Et}$ (150 mg) a chloridu železitého (150 mg) rozpuštěného ve 30 ml ethanolu se přikape 2 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 85 °C po dobu 40 hodin. Přebytná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 120 mg odparku obsahujícího 5-ethoxy-9-hydroxy-7-ethylkamptothecin a 9,5-dihydroxy-7-ethylkamptothecin v poměru 5:1.

Krok 2: Separace směsi sloupcovou chromatografií s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform poskytuje 85 mg 5-ethoxy-9-hydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 1 a 15 mg 5,9-dihydroxy-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 240 °C. IČ: 3500, 2976, 1749, 1662, 1588, 1555, 1461, 1390, 1147, 1079, 921 cm^{-1} . ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 10,77 (s, 1 H D_2O vyměnitelné), 7,62-7,67 (m, 2 H), 7,57 (d, $J = 8$ Hz, 1 H), 7,08-7,18 (m, 2 H), 6,50 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 5,39 (s, 2 H), 4,08 (m, 2 H), 3,42 (m, 2 H), 1,87 (m, 2 H), 1,35 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 0,87 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 437 (M+1), 392, 363, 348, 333, 291, 261, 246, 219, 191, 149, 119, 89.



Příklad 14

Příprava 9,5-dihydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 13, kde $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$ a $R^5 = \text{Et}$

Krok 1: Nejprve se připraví 5-ethoxy-9-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 1, kde $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$ a $R^5 = R^6 = \text{Et}$, jak se popisuje v příkladu 13.

Krok 2: 35 ml 80% HCl se přidá k 560 mg 5-ethoxy-9-hydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$ a $R^5 = R^6 = \text{Et}$, rozpuštěného ve 25 ml ethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. Ke konci se odpaří přebytečná voda a ethanol jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší se nad bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 380 mg 5,9-dihydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 13, po vyčištění sloupcovou chromatografií na silikagelu. Teplota tání: 165 °C. IČ: 3351, 2929, 1744, 1657, 1606, 1460, 1218, 1162, 1035, 872 cm^{-1} . ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 10,62 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 7,60-7,57 (m, 2 H), 7,16-7,00 (m, 3 H), 5,40 (s, 2 H), 3,42 (q, $J = 7,6$ Hz, 2 H), 2,08 (m, 2 H), 1,33 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 0,89 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 408 (M+1), 380, 336, 319, 291, 267, 235, 219, 185, 127, 99, 83.

Příklad 15

Příprava 9-nitro-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$ a $R^6 = \text{Et}$

Krok 1: Ke směsi 9-nitrokamptothecinu vzorce 2, kde



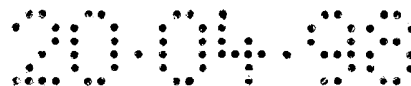
$R^1 = \text{NO}_2$ a $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$ (1 g) a chloridu železitého (1 g) rozpuštěného ve 100 ml ethanolu se přidá po kapkách 10 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 85 °C po dobu 24 hodin. Přebytná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší se bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 900 mg žlutavého prášku.

Krok 2: Vyčištění výše uvedené pevné látky sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla poskytuje 700 mg 9-nitro-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1 a 80 mg 9-nitro-5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$. Teplota tání: 202 °C. IČ (KBr): 3474, 1743, 1668, 1622, 1526, 1344, 1154, 1073, 831 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ 9,23 (s, 1 H), 8,52 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 8,47 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,92 (t, $J = 8,2$ Hz, 1 H), 7,55 (s, 1 H), 6,91 (s, 1 H), 5,71 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,28 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,39-3,98 (m, 2 H), 3,75 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 1,99-1,79 (m, 2 H), 1,32 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1,04 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 438 (M+1), 407, 393, 364, 349, 319, 262, 118.

Příklad 16

Příprava 12-nitro-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}$, $R^4 = \text{NO}_2$ a $R^6 = \text{Et}$

Krok 1: Ke směsi 12-nitrokamptothecinu vzorce 2, kde $R^4 = \text{NO}_2$ a $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}$ (2 g) a chloridu železitého (2 g) rozpuštěného ve 150 ml ethanolu se přidá po kapkách 15 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 85 °C po



dobu 24 hodin. Přebytečná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje pevnou látku charakteru gumy.

Krok 2: Vyčištění výše uvedeného odparku sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla poskytuje 1,4 g žlutavého prášku obsahujícího 12-nitro-5-ethoxykamptothecin vzorce 1 a 100 mg 12-nitro-5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $R^4 = \text{NO}_2$ a $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}$. Teplota tání: 250°C . IČ (KBr): 3450, 1750, 1666, 1618, 1525, 1357, 1154, 1042, 766 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz): δ 8,49 (s, 1 H), 8,17 (d, $J = 9\text{ Hz}$, 1 H), 8,14 (d, $J = 9\text{ Hz}$, 1 H), 7,75 (t, $J = 8,2\text{ Hz}$, 1 H), 7,54 (s, 1 H), 6,95 (s, 0,5 H), 6,82 (s, 0,5 H), 5,71 (d, $J = 16\text{ Hz}$, 1 H), 5,26 (d, $J = 16\text{ Hz}$, 1 H), 4,31-3,91 (m, 2 H), 3,75 (m, široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 2,05-1,81 (m, 2 H), 1,35 (l, $J = 7\text{ Hz}$, 3 H), 1,05 (l, $J = 7\text{ Hz}$, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 438 (M+1), 420, 393, 376, 364, 349, 319, 84.

Příklad 17

Příprava 10-hydroxy-5-ethoxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Ke směsi 10-hydroxykamptothecinu vzorce 2, kde $R^2 = \text{OH}$, $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$ (200 mg) a chloridu železitého (200 mg) rozpuštěného v 10 ml ethanolu se přikape 1,5 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 85°C po dobu 24 hodin. Přebytečná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje 5% směsí methanol-ethylacetát. Organická vrstva se promyje vodou, solankou a suší se nad



bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje žlutou pevnou látku.

Krok 2: Vyčištění výše uvedené pevné látky sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla poskytuje 100 mg 10-hydroxy-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1 a 20 mg 10,5-dihydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $R^2 = OH$ a $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H$. Teplota tání: $165\text{ }^{\circ}\text{C}$. IČ (KBr): 3384, 1747, 1662, 1608, 1229, 1044, 831 cm^{-1} . ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$, 200 MHz): δ 9,8 (1 H, široký s, D_2O vyměnitelné), 8,25 (s, 1 H), 8,05 (d, $J = 6$, Hz, 1 H), 7,56-7,39 (m, 2 H), 7,25 (s, 1 H), 6,85 (s, 0,5 H), 6,70 (s, 0,5 H), 5,58 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,35 (d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 5,21 (d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 4,35-3,75 (m, 4 H), 3,50 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 2,10-3,78 (m, 2 H), 1,22 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1,05 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 409 (M+1), 392, 364, 349, 335, 320, 291, 235, 117, 84.

Příklad 18

Příprava 10-hydroxy-7-ethyl-5'-ethoxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Ke směsi 10-hydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 2, kde $R^2 = OH$, $R^1 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = Et$ (200 mg) a chloridu železitého (200 mg) rozpuštěného v 10 ml ethanolu se přikape 1,7 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 20 hodin. Přebytečná kyselina a ethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje pevnou látku.

200498

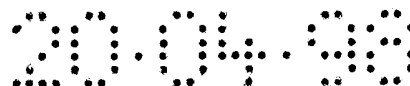
Krok 2: Vyčištění výše uvedeného pevného zbytku sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla poskytuje 85 mg 10-hydroxy-7-ethyl-5-ethoxykamptothecinu jako žlutavý prášek a 20 mg 10,5-dihydroxy-7-ethylkamptothecinu vzorce 13, kde $R^2 = OH$, $R^1 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = Et$. Teplota tání: 190 °C. IČ (KBr): 3277, 1746, 1660, 1599, 1231, 1078, 800 cm^{-1} . 1H (NMR ($CDCl_3$ + DMSO)): δ 9,6 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 8,1 (d, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 7,51-7,35 (m, 3 H), 6,92 (s, 0,5 H), 6,80 (s, 0,5 H), 5,66 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,22 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 3,85-3,65 (m, 2 H), 3,35-2,95 (m, 2 H), 1,95-1,75 (m, 2 H), 1,37 (t, $J = 7,4$ Hz, 3 H), 1,17 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H), 0,99 (t, $J = 7,4$ Hz, 3 H), Hmot. spektr. (m/z): 437 (M=1), 392, 363, 348, 333, 291, 147, 84.

Příklad 19

Příprava 9-amino-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = NH_2$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ a $R^6 = Et$

Krok 1: Ke směsi 9-aminokamptothecinu vzorce 2, kde $R^1 = NH_2$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ (120 mg) a chloridu železitého (112 mg) rozpuštěného v 10 ml ethanolu se přikape 1,5 ml bortrifluorid-etherátu ($BF_3 \cdot Et_2O$) a směs se udržuje při teplotě 80 °C po dobu 16 hodin. Ethanol se odpaří ve vakuu a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným a při odpaření rozpouštědla poskytuje pevnou sloučeninu charakteru viskózní gumy.

Krok 2: Vyčištění výše uvedeného odparku sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel



aceton-chloroform jako elučního činidla poskytuje 65 mg 9-amino-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1. Teplota tání: 170 °C. IČ: 3221, 1744, 1661, 1231, 1157, 1074, 815 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃ + DMSO-d₆): δ 8,69 (s, 1 H), 7,64 (s, 1 H), 7,63-7,51 (m, 2 H), 7,06 (d, J = 5,41 Hz, 1 H), 6,90 (s, 0,5 H), 6,80 (s, 0,5 H), 5,65 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,26 (d, J = 16 Hz, 1 H), 4,19-3,98 (m, 1 H), 3,97-3,78 (m, 1 H), 2,98 (široký s, 3 H, D₂O vyměnitelné), 1,95-1,80 (m, 2 H), 1,39-1,19 (m, 3 H), 1,11-0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 407 (M+2), 389, 363, 334, 319, 290, 262, 233, 101.

Příklad 20

Příprava 9-amino-5-methoxykamptothecinu vzorce 1, kde R¹ = NH₂, R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H a R⁶ = Me

Krok 1: Ke směsi 9-aminokamptothecinu vzorce 2, kde R¹ = R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H (180 mg) a chloridu železitého (162 mg) rozpuštěného v 15 methanolu se přidají po kapkách 2 ml bortrifluorid.etherátu (BF₃.Et₂O) a směs se udržuje při teplotě 80 °C po dobu 16 hodin. Methanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Při odpaření rozpouštědla se získá sloučeninu charakteru viskózní gumy.

Krok 2: Vyčištění výše uvedeného zbytku sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla poskytuje 125 mg 9-amino-5-methoxykamptothecinu vzorce 1. Teplota tání: 200 °C. IČ: 3364, 2925, 1744, 1660, 1610, 1156, 1081, 811 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃ + DMSO - d₆): δ 8,82 (s, 1 H), 7,60 (s, 1 H), 7,63-7,46 (m, 2 H), 6,97 (d, J = 7 Hz, 1 H), 6,89 (s, 0,5

200400

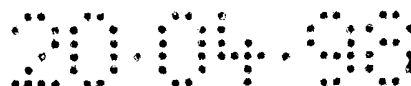
H), 6,80 (s, 0,5 H), 5,6 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,25 (d, J = 16 Hz, 1 H), 3,57 (s, 1,5 H), 3,46 (s, 1,5 H), 3,41 (široký s, 1 H, D₂O vyměnitelné), 3,15 (široký s, 2 H, D₂O vyměnitelné), 2,05-1,89 (m, 2 H), 1,01 (t, J = 7 Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 393 (M+1), 376, 363, 349, 334, 319, 290, 262, 233, 205, 116.

Příklad 21

Příprava 9-nitro-5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, kde R¹ = NO₂ a R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H

Krok 1: Nejprve se připraví 9-nitro-5-ethoxykamptothecin vzorce 1, kde R¹ = NO₂, R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H a R⁶ = Et, jak je popsáno v příkladu 15.

Krok 2: 80 ml 50% HCl se přidá k 1,0 g 9-nitro-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1, kde R¹ = NO₂, R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H, R⁶ = Et rozpuštěného ve 20 ml ethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 30 hodin. Ke konci se přebytečná voda a ethanol odpaří jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 700 mg 9-nitro-5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, po vyčištění sloupcovou chromatografií na silikagelu. Teplota tání: 278 °C. IČ (KBr): 3402, 1744, 1657, 1602, 1533, 1155, 1051, 833 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃ + DMSO, 200 MHz): δ 9,28 (s, 1 H), 8,50 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 8,45 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,96 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,59 (s, 0,5 H), 7,58 (s, 0,5 H), 7,12 (s, 0,5 H), 7,08 (s, 0,5 H), 5,67 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,27 (d, J = 16 Hz, 1 H), 1,92 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,07 (t, J = 7 Hz, 3 H).



Příklad 22

Příprava 10,5-dihydroxykamptothecinu (známá sloučenina)

Krok 1: Nejprve se připraví 10-hydroxy-5-ethoxykamptothecin vzorce 1, kde $R^2 = \text{OH}$, $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$ a $R^6 = \text{Et}$, jak je popsáno v příkladu 17.

Krok 2: 10 ml 50% HCl se přidá k 250 mg 10-hydroxy-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1, kde $R^2 = \text{OH}$, $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$ a $R^6 = \text{Et}$, rozpuštěného v 10 ml ethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 20 hodin. Ke konci se odpaří přebytečná voda a ethanol jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 210 mg 10,5-dihydroxykamptothecinu vzorce 13, po vyčištění sloupcovou chromatografií na silikagelu. Teplota tání: 240 °C. IČ (KBr): 3226, 1743, 1659, 1596, 1382, 1231, 1048, 832 cm^{-1} . ^1H NMR ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$): δ 10,0 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 8,31 (s, 0,5 H), 8,29 (s, 0,5 H), 8,05 (d, $J = 6$ Hz, 0,5 H), 7,95 (d, $J = 6$ Hz, 0,5 H), 7,95 (d, $J = 6$ Hz, 0,5 H), 7,50-7,31 (m, 2 H), 7,21 (s, 1 H), 6,95 (s, 0,5 H), 6,85 (s, 0,5 H), 5,55 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,25 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 3,99 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 2,05-1,81 (m, 2 H), 1,0 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 381 (M+1), 352, 336, 320, 264, 149, 83.

Příklad 23

Příprava 12-nitro-5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}$ a $R^4 = \text{NO}_2$

20.04.99

Krok 1: Nejprve se připraví 12-nitro-5-ethoxykamptothecin vzorce 1, kde $R^4 = \text{NO}_2$, $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}$ a $R^6 = \text{Et}$, jak je popsáno v příkladu 16.

Krok 2: 125 ml 50% HCl se přidá ke 2 g 12-nitro-5-ethoxykamptothecinu vzorce 1, kde $R^4 = \text{NO}_2$, $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}$ a $R^6 = \text{Et}$, rozpuštěného v 30 ml ethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 24 hodin. Ke konci se odpaří přebytečná voda a ethanol jako azeotropická směs a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 1,5 g 12-nitro-5-hydroxykamptothecinu vzorce 13 po vyčištění sloupcovou chromatografií na silikagelu. Teplota tání: 247 °C. IČ (KBr): 3371, 1746, 1664, 1602, 1532, 1380, 1048, 829 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ 8,58 (s, 1 H), 8,17 (d, J = 9 Hz, 1 H), 8,12 (d, J = 9 Hz, 1 H), 7,74 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,12 (s, 0,5 H), 7,08 (s, 0,5 H), 5,71 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,26 (d, J = 16 Hz, 1 H), 3,90 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 1,99-1,85 (m, 2 H), 1,05 (t, J = 7 Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 409 (M+1), 393, 380, 363, 348, 333, 318, 149, 85.

Příklad 24

Příprava 5-(2'-chloroethoxy)kamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = \text{H}$ a $R^6 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$

Krok 1: Ke směsi 20(S)-kamptothecinu vzorce 3 (1 g) a chloridu železitého (1 g) rozpuštěného ve 25 ml 2-chlorethanolu se přikape 5 ml kyseliny sírové a směs se udržuje při teplotě 90 °C po dobu 24 hodin. Přebytečná

kyselina a 2-chlorethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 1,2 g hnědavé pevné látky.

Krok 2: Výše uvedená pevná látka se čistí sloupcovou chromatografií a poskytuje 650 mg 5-(2'-chlorethoxy)kamptothecinu vzorce 1 a 150 mg dříve připraveného 5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$. Teplota tání: 202 °C. $[\alpha]_D$ při 28 °C = +5,37 (c 0,093, $CHCl_3$). IČ: 3354, 1744, 1662, 1622, 1223, 1160, 1090, 1044, 752, 663 cm^{-1} . Částečné údaje 1H NMR v $CDCl_3$: δ 6,92 (s, 0,5 H), 6,82 (s, 0,5 H), 4,51 (t, J = 5 Hz, 1,5 H), 4,38 (t, J = 5 Hz, 1,5 H), 3,75 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 3,85-3,58 (m, 2 H), 2,00-1,78 (m, 2 H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 426 (M+1), 391, 377, 363, 348, 319, 105, 84, 51.

Příklad 25

Příprava 5-trifluorethoxykamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ a $R^6 = CH_2CF_3$

Krok 1: Ke směsi 20(S)-kamptothecinu vzorce 3 (0,5 g) a chloridu železitého (0,5 g) rozpuštěného v 18 ml 2,2,2-trifluorethanolu se přikape kyselina sírová a pokračuje se v zahřívání směsi při teplotě 80 °C po dobu 24 hodin. Přebytečná kyselina a trifluorethanol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 600 mg pevné látky.

Krok 2: Výše uvedená pevná látka se čistí sloupcovou chromatografií a poskytuje 250 mg 5-trifluorethoxykamptothecinu vzorce 1 spolu se 150 mg dříve připraveného 5-hydroxykamptothecinu vzorce 13. Teplota tání: 188 °C. IČ: 3438, 1748, 1667, 1620, 1160, 1106, 1003 cm⁻¹. Částečné údaje ¹H NMR v CDCl₃: δ 6,84 (s, 0,5 H), 6,75 (s, 0,5 H), 5,21-4,90 (m, 1 H), 4,60-4,38 (m, 2 H), 3,70 (s, 1 H, D₂O vyměnitelné), 2,0-1,79 (m, 2 H), 1,15-0,99 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 447 (M+1), 378, 348, 304, 111, 69.

Příklad 26

Příprava 5-(2'-hydroxyethoxy)kamptothecinu vzorce 1, kde R¹ = R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H a R⁶ = CH₂CH₂OH

Krok 1: Ke směsi 20(S)-kamptothecinu vzorce 3 (1 g) a chloridu železitého (1 g) rozpuštěného v 10 ml ethylenglykolu se přikape 5 ml kyseliny sírové a pokračuje se v zahřívání směsi při teplotě 70 °C po dobu 36 hodin. Přebytná kyselina a ethylenglykol se odpaří s použitím vakua a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje 1,1 g žlutavého prášku.

Krok 2: Pevná látka obdržená jak je uvedeno výše, se podrobí čištění na sloupci s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-hexan k získání 700 mg 5-(2'-hydroxyethoxy)kamptothecinu vzorce 1 a 200 mg dříve připraveného 5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, kde R¹ = R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H. Teplota tání: 190 °C. [α]_D při 26 °C = +28,30 (c 0,106, CHCl₃). IČ: 3300, 3285, 1745, 1665, 1620, 1605, 1227, 1160,

1112, 1047 cm^{-1} . Částečné údaje ^1H NMR v CDCl_3 : δ 7,01 (s, 0,5 H), 6,92 (s, 0,5 H), 4,30-3,71 (m, 4 H), 3,75 (široký s, 2 H, D_2O vyměnitelné), 2,0-1,79 (m, 2 H), 1,15-0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 408 (M+1), 390, 378, 364, 348, 319, 101, 76.

Příklad 27

Příprava 10-hydroxy-5-trifluorethoxy-kamptothecinu vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{OH}$ a $\text{R}^6 = \text{CH}_2\text{CF}_3$

Krok 1: Nejprve se připraví 10,5-dihydroxy-kamptothecin vzorce 13, kde $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ a $\text{R}^2 = \text{OH}$, jak je popsáno v příkladu 22.

Krok 2: Směs 10,5-dihydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $\text{R}^2 = \text{OH}$, $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ (200 mg) a trifluorethanolu (1 ml) se suspenduje v 50 ml dichlorethanu a vaří pod zpětným chladičem v přítomnosti kyseliny sírové (0,5 ml) po dobu 18 hodin. Reakční směs se odpaří dosucha a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje olejovitý odparek, který se čistí na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla pro obdržení 140 mg 10-hydroxy-5-trifluorethoxykamptothecinu vzorce 1 ve formě pevné látky. Teplota tání: 237 $^{\circ}\text{C}$. IČ: 3420, 1748, 1664, 1605, 1159 cm^{-1} . ^1H NMR (DMSO-d_6): δ 10,48 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 8,45 (s, 1 H), 8,04 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,47 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,40 (s, 1 H), 7,18 (s, 1 H), 7,11 (s, 0,5 H), 7,06 (s, 0,5 H), 6,58 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 5,41 (s, 2H), 5,05-4,55 (m, 2 H), 2,05-1,75 (m, 2 H), 1,00-0,8 (m, 3 H). ^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ 172,4, 161,0, 157,7,

157,1, 151,2, 147,5, 144,3, 143,7, 131,0, 130,8, 129,8,
129,1, 124,0, 121,4, 120,7, 109,6, 96,6, 89,7, 72,3, 65,1,
30,4, 7,8. Hmot. spektr. (m/z): 462 (M+1), 418, 364, 320,
291, 263.

Příklad 28

Příprava 9-nitro-5-trifluorethoxykamptothecinu vzorce 1, kde
 $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $R^1 = NO_2$ a $R^6 = CH_2CF_3$

Krok 1: Nejprve se připraví 9-nitro-5-hydroxy-
kamptothecin vzorce 13, kde $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $R^1 =$
 NO_2 , jak je popsáno v příkladu 21.

Krok 2: Směs 9-nitro-5-dihydroxykamptothecinu vzorce
13, kde $R^1 = NO_2$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ (100 mg) a trifluor-
ethanolu (0,5 ml) se suspenduje ve 25 ml dichlorethanu a vaří
pod zpětným chladičem v přítomnosti kyseliny sírové (0,3 ml)
po dobu 18 hodin. Reakční směs se odpaří dosucha a odparek se
extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou
a roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným.
Odpaření rozpouštědla poskytuje olejovitý odparek, který se
čistí na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel
aceton-chloroform jako elučního činidla pro obdržení 60 mg
9-nitro-5-trifluorethoxykamptothecinu vzorce 1 jako pevné
látky. Teplota tání: 210 °C. IČ: 3457, 1745, 1665, 1623,
1527, 1154, 1000 cm^{-1} . 1H NMR ($CDCl_3$): δ 9,30 (s, 1 H), 8,53
(d, J = 8,6 Hz, 1 H), 8,49 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,94 (t,
J = 8 Hz, 1 H), 7,62 (s, 0,5 H), 7,60 (s, 0,5 H), 6,87 (s,
0,5 H), 6,81 (s, 0,5 H), 5,69 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,29
(d, J = 16 Hz, 1 H), 4,97 (m, 1 H), 4,52 (m, 1 H), 3,90
(široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 1,90 (m, 2 H), 1,05 (t,
J = 7 Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 491 (M+1), 461, 446,

418, 393, 364, 349, 319, 290, 216.

Příklad 29

Příprava 5-(2'-fluorethoxy)kamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ a $R^6 = CH_2CH_2F$

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxykamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, jak je popsáno v příkladu 2.

Krok 2: Směs 5-hydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ (200 mg) a 2-fluorethanolu (2 ml) se suspenduje ve 30 ml dichlorethanu a vaří pod zpětným chladičem v přítomnosti kyseliny sírové (0,3 ml) po dobu 18 hodin. Reakční směs se odpaří dosucha a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou a solankou a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje olejovitý odparek, který se čistí na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla k obdržení 130 mg 5-(2'-fluorethoxy)-kamptothecinu vzorce 1 jako pevné látky. Teplota tání: 174 °C. IČ: 1745, 1664, 1615, 1160, 1040, 752 cm^{-1} . 1H NMR ($CDCl_3 + DMSO-d_6$): δ 8,46 (s, 1 H), 8,20 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,95 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,83 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,65-7,55 (m, 2 H), 6,86 (s, 0,5 H), 6,78 (s, 0,5 H), 5,68 (d, J = 16,5 Hz, 1 H), 5,26 (d, J = 16,5 Hz, 1 H), 4,90-4,20 (m, 4 H), 4,44 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 2,05-1,85 (m, 2 H), 1,12-0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 410 (M+1), 365, 348, 319, 304.

Příklad 30

Příprava 10-hydroxy-5-(2 -fluorethoxy)kamptothecinu vzorce 1, kde $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $R^2 = OH$ a $R^6 = CH_2CH_2F$

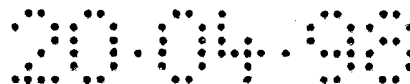
Krok 1: Nejprve se připraví 10,5-dihydroxykamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ a $R^2 = OH$, jak je popsáno v příkladu 22.

Krok 2: Směs 10,5-dihydroxykamptothecinu vzorce 13, kde $R^2 = OH$, $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ (100 mg) a 2-fluorethanolu (2 ml) se suspenduje ve 25 ml dichloroethanu a vaří pod zpětným chladičem v přítomnosti kyseliny sírové (0,2 ml) po dobu 16 hodin. Reakční směs se odpaří dosucha a odparek se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného a suší bezvodým síranem sodným. Odpaření rozpouštědla poskytuje olejovitý odparek, který se čistí na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla a obdrží se 60 mg 10-hydroxy-5-fluorethoxykamptothecinu vzorce 1 jako pevné látky. Teplota tání: 258-260 °C. IČ: 3225, 1748, 1660, 1593, 1159 cm^{-1} . 1H NMR ($CDCl_3$ + $DMSO-d_6$): δ 10,0 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 8,31 (s, 1 H), 8,00 (d, $J = 6$, Hz, 1 H), 7,80 (s, 1 H), 7,45 (d, $J = 6$ Hz, 1 H), 7,40 (s, 1 H), 6,85 (s, 0,5 H), 6,80 (s, 0,5 H), 6,15 (s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 5,55 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,23 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,85-4,20 (m, 4 H), 2,05-1,81 (m, 2 H), 1,0 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 426 (M+1), 382, 364, 320.

Příklad 31

Příprava 5-(2'-fluorethoxy)-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethyl-



kamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = Et$, jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 80 mg 5-hydroxy-7-ethylkamptothecinu a 0,1 ml kyseliny p-toluensulfonové suspendované ve 12 ml benzenu se přidá 20 mg 2-fluorethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 14 hodin. Reakce se přeruší přidáním kapky pyridinu a provede se extrakce ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhličitanem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-chloroform jako elučního činidla a poskytuje 60 mg 5-(2'-fluorethoxy)-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 112 °C. IČ: 3070, 1748, 1665, 1605, 1456, 1155, 1038, 767 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3): δ 8,21 (d, $J = 9,2$ Hz, 1 H), 8,17 (d, $J = 9,2$ Hz, 1 H), 7,82 (t, $J = 7,4$ Hz, 1 H), 7,67 (t, $J = 7,4$ Hz, 1 H), 7,57 (s, 0,5 H), 7,54 (s, 0,5 H), 7,00 (s, 0,5 H), 6,89 (s, 0,5 H), 5,69 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,27 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,81-4,12 (m, 4 H), 3,51-3,15 (m, 2 H), 1,93 (m, 2 H), 1,45 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1,05 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 438 (M+1), 420, 406, 376, 347, 332, 317, 245, 91.

Příklad 32

Příprava 5-(2'-hydroxyethoxy)-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = Et$, jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 250 mg 5-hydroxy-7-ethylkamptothecinu



cinu a 10 μ l koncentrované kyseliny sírové suspendované v 25 ml dichlorethanu se přidá 0,5 ml ethylenglykolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 14 hodin. Reakce se přeruší přidávkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného a odpaří dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-chloroform jako elučního činidla a poskytne 180 mg 5-(2'-hydroxyethoxy)-7-ethylkamptothecinu a 25 mg výchozího materiálu. ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz): δ 8,20 (d, $J = 8$ Hz, 1 H), 8,15 (d, $J = 8$ Hz, 1 H), 7,85 (t, $J = 6,8$ Hz, 1 H), 7,69 (t, $J = 7,3$ Hz, 1 H), 7,56 (s, 0,5 H), 7,54 (s, 0,5 H), 7,11 (s, 0,5 H), 6,99 (s, 0,5 H), 5,72 (d, $J = 16,5$ Hz, 1 H), 5,28 (d, $J = 16,5$ Hz, 0,5 H), 5,26 (d, $J = 16,5$ Hz, 0,5 H), 3,95-3,65 (m, 4 H), 3,78 (široký s, 2 H, D_2O vyměnitelné), 3,5-3,18 (m, 2 H), 1,95-1,81 (m, 2 H), 1,45 (t, $J = 7,5$ Hz, 3 H), 1,06 (m, 3 H).

Příklad 33

Příprava 5-(2'-hydroxyethoxy)-10-hydroxykamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 10,5-dihydroxykamptothecin vzorce 13, kde $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{H}$ a $\text{R}^2 = \text{OH}$, jak je popsáno v příkladu 22.

Krok 2: Ke směsi 60 mg 10,5-dihydroxykamptothecinu a 5 mg kyseliny p-toluensulfonové suspendované v 10 ml dichlorethanu se přidá 25 mg ethylenglykolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. Reakce se přeruší přidávkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného a odpaří dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci

silikagelu s použitím směsi rozpouštědel methanol-chloroform jako elučního činidla a poskytne 40 mg 5-(2'-hydroxyethoxy)-10-hydroxykamptothecinu a 10 mg výchozího materiálu. IČ: 3070, 1760, 1660, 1600, 1558, 1509, 1384, 1160, 1047, 832 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3 + DMSO): δ 10,05 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 8,35 (s, 1 H), 8,05 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 7,45 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,28 (s, 1 H), 6,95 (s, 0,5 H), 6,85 (s, 0,5 H), 5,65 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,25 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,11 (m, 2 H), 3,78 (m, 2 H), 4,05 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 1,98 (m, 2 H), 1,05 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 425, 408, 380, 364, 336, 320, 305, 264, 235, 147, 105.

Příklad 34

Příprava 5,10-dihydroxy-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-ethoxy-10-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 1, kde $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{H}$, $\text{R}^5 = \text{R}^6 = \text{Et}$ a $\text{R}^2 = \text{OH}$, jak je popsáno v příkladu 18.

Krok 2: 12 ml 25% HCl se přidá ke 200 mg 5-ethoxy-10-hydroxy-7-ethylkamptothecinu rozpuštěného v 10 ml ethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 24 hodin. Přebytečná kyselina a ethanol se oddestilují a zbývající odparek se zředí ethylacetátem. Organická vrstva se promyje 5% roztokem hydrogenuhličitanu sodného a roztokem chloridu sodného. Odpaření rozpouštědla a vyčištění pevné látky na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel aceton-chloroform jako elučního činidla poskytuje 105 mg 5,10-dihydroxy-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 197°C . IČ: 3268, 2975, 1748, 1656, 1597, 1514, 1230, 1161, 1052, 841 cm^{-1} . ^1H NMR (CDCl_3 + DMSO): δ 10,0 (široký s, 1 H, D_2O

vyměnitelné), 8,05 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,76 (s, 2 H), 7,42 (m, 1 H), 7,04 (s, 0,5 H), 6,98 (s, 0,5 H), 5,65 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,23 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 3,51 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 3,45-3,12 (m, 2 H), 1,94 (m, 2 H), 1,42 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1,01 (t, $J = 7$ Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 408 (M+1), 379, 364, 347, 335, 285, 169, 119, 101, 83.

Příklad 35

Příprava 5-(2'-hydroxyethoxy)-10-hydroxy-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 7-ethyl-5,10-dihydroxykamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^3 = R^4 = H$, $R^2 = OH$ a $R^5 = Et$, jak je popsáno v příkladu 34.

Krok 2: Ke směsi 100 mg 10,5-dihydroxy-7-ethylkamptothecinu a 5 mg kyseliny p-toluensulfonové suspendované v 10 ml dichlorethanu se přidá 50 mg ethylenglykolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin. Reakce se přeruší přidávkem kapky pyridinu a provede se extrakce ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel methanol-chloroform jako elučního činidla a poskytuje 60 mg 5-(2'-hydroxyethoxy)-10-hydroxy-7-ethylkamptothecinu a 12 mg výchozího materiálu. Teplota tání: 124 °C. 1H NMR ($CDCl_3 + DMSO$): δ 10,0 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 8,02 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,55-7,39 (m, 3 H), 7,02 (s, 0,5 H), 6,93 (s, 0,5 H), 6,05 (široký s, 1 H, D_2O vyměnitelné), 5,63 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,23 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 3,94-3,54 (m, 2 H), 3,41-3,05 (m, 2 H), 1,93 (m, 2 H), 1,40 (t, $J = 7$ Hz, 3 H), 1,02 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z):

408 (M+1), 379, 364, 347, 335, 285, 169, 119, 101, 83.

Příklad 36

Příprava 5-(2'-aminoethoxy)kamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxykamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, jak je popsáno v příkladu 2.

Krok 2: Ke směsi 60 mg 5-hydroxykamptothecinu a 5 mg kyseliny p-toluensulfonové suspendované v 10 ml benzenu se přidá 15 mg 2-aminoethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 14 hodin. Reakce se přeruší přidávkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhličitanem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím směsi rozpouštědel methanol-chloroform jako elučního činidla a poskytne 36 mg 5-(2'-aminoethoxy)kamptothecinu a 10 mg výchozí látky. Teplota tání: 170 °C. IČ: 3451, 1740, 1664, 1604, 1383, 1189, 1042 cm^{-1} . Částečné údaje ^1H NMR v (CDCl_3 + DMSO-d_6): δ 7,5 (d, D_2O vyměnitelné, 1 H), 7,15 (d, D_2O vyměnitelné, 1 H), 7,02 (s, 0,5 H), 6,92 (s, 0,5 H), 5,65 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,28 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,24-3,85 (m, 2 H), 2,35 (s, D_2O vyměnitelné, 1 H), 2,34 (m, 1 H), 2,15-1,85 (m, 3 H), 1,12-0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 408 (M+1), 364, 347, 319, 305, 291, 249, 103, 62.

Příklad 37

Příprava 5-(2'-aminoethoxy)-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = Et$, jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 85 mg 7-ethyl-5-hydroxykamptothecinu a 5 mg kyseliny p-toluensulfonové suspendované ve 20 ml benzenu se přidá 11 mg 2-aminoethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 10 hodin. Reakce se ukončí přidáním kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhličitanem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu s použitím rozpouštědel methanol-chloroform jako elučního činidla a s obdržením 65 mg 5-(2'-aminoethoxy)-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 230 °C. Částečné údaje 1H NMR v ($CDCl_3 + DMSO-d_6$): δ 7,5 (d, D_2O vyměnitelné, 1 H), 7,15 (d, D_2O vyměnitelné, 1 H), 7,02 (s, 0,5 H), 6,92 (s, 0,5 H), 5,65 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,28 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,24-3,85 (m, 2 H), 2,35 (s, D_2O vyměnitelné, 1 H), 2,34 (m, 1 H), 2,15-1,85 (m, 3 H), 1,12-0,95 (m, 1 H). Hmot. spektr. (m/z): 408 (M+1), 364, 347, 319, 305, 103, 74, 62.

Příklad 38

Příprava 5-(3'-dimethylaminopropoxy)-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$ a $R^5 = Et$, jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 50 mg 7-ethyl-5-hydroxykamptothecinu a 0,05 ml kyseliny sírové suspendované ve 20 ml benzenu se přidá 30 mg 3-dimethylamino-1-propanolu a směs se vaří pod

zpětným chladičem po dobu 12 hodin. Reakce se ukončí
přídavkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem.
Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhličitanem
sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha.
Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu
s použitím směsi rozpouštědel methanol-chloroform jako
elučního činidla pro obdržení 42 mg 5-(3'-dimethylamino-
propoxy)-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 113 °C. Částečné
údaje ¹H NMR v (CDCl₃ + DMSO-d₆): δ 6,95 (s, 0,5 H), 6,85 (s,
0,5 H), 5,65 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,35 (d, J = 16 Hz, 0,5 H),
5,25 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 3,95-3,57 (m, 2 H), 3,30-3,05 (m,
2 H), 2,85 (s, 3 H), 2,83 (s, 3 H), 2,15-1,72 (m, 6 H), 1,45
(t, J = 7,5 Hz, 3 H), 1,12-0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr.
(m/z): 478 (M+1), 434, 375, 347, 331, 169, 102, 84.

Příklad 39

Příprava 5-(2'-n-pyrrolidinoethoxy)-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethyl-
kamptothecin vzorce 13, kde R¹, R² = R³ = R⁴ = H a R⁵ = Et,
jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 100 mg 7-ethyl-5-hydroxy-
kamptothecinu a 10 mg kyseliny kafrosulfonové suspendované
ve 25 ml benzenu se přidá 30 mg 1-(2-hydroxyethyl)pyrrolidi-
nu a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 16 hodin.
Reakce se přeruší přídavkem kapky pyridinu a směs se
extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou,
hydrogenuhličitanem sodným, roztokem chloridu sodného
a odpaří se dosucha. Odparek se čistí chromatografií na
sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel methanol-
-chloroform jako elučního činidla s obdržením 85 mg



5-(2'-N-pyrrolidinoethoxy)-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 225 °C. IČ: 3424, 1749, 1666, 1616, 1384, 1156, 1078, 1049 cm⁻¹. Částečné údaje ¹H NMR v CDCl₃: δ 7,02 (s, 0,5 H), 6,95 (s, 0,5 H), 5,70 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,33 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 5,26 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 4,18-3,88 (m, 2 H), 3,45-3,15 (m, 2 H), 3,06-2,58 (m, 6H), 2,05-1,72 (m, 6 H), 1,43 (t, J = 8 Hz, 3 H), 1,15-0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 446 (M+1), 375, 347, 331, 245, 169, 116, 97, 84.

Příklad 40

Příprava 5-(2'-chlorethoxy)-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 13, kde R¹ = R² = R³ = R⁴ = H a R⁵ = Et, jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 500 mg 7-ethyl-5-hydroxykamptothecinu a 0,1 ml koncentrované kyseliny sírové suspendované ve 30 ml benzenu se přidá 700 mg 2-chlorethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem s použitím Deanovy-Starkova nástavce po dobu 8 hodin. Reakce se ukončí přidávkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhličitanem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-chloroform jako elučního činidla a poskytne 400 mg 5-(2'-chlorethoxy)-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 168 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ 8,20 (d, J = 9,5 Hz, 1 H), 8,15 (d, J = 9,5 Hz, 1 H), 7,82 (t, J = 8 Hz, 1 H), 7,67 (t, J = 8 Hz, 1 H), 7,54 (d, J = 6,2 Hz, 1 H), 7,02 (s, 0,5 H), 6,90 (s, 0,5 H), 5,70 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 5,69 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 5,26 (d, J = 16 Hz, 0,5 H), 5,25

(d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 4,61-3,95 (m, 2 H), 3,78-3,58 (m, 2 H), 3,50-3,15 (m, 2 H), 1,98-1,78 (m, 2 H), 1,45 (t, $J = 7,5$ Hz, 3 H), 1,12-0,95 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 455 (M+1), 437, 409, 392, 376, 347, 331, 245, 115, 81.

Příklad 41

Příprava 5-(2'-dimethylaminoethoxy)-7-ethylkamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{Ha}$ a $R^5 = \text{Et}$, jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 100 mg 7-ethyl-5-hydroxykamptothecinu a 0,1 ml koncentrované kyseliny sírové suspendované v 10 ml benzenu se přidá 50 mg 2-N,N-dimethylaminoethanolu a směs se vaří pod zpětným chladičem s použitím Deanovy-Starkova nástavce po dobu 10 hodin. Reakce se ukončí přidávkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhlíčitanem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel methanol-chloroform jako elučního činidla s obdržením 65 mg 5-(2'-dimethylaminoethoxy)-7-ethylkamptothecinu. Částečné údaje ^1H NMR v CDCl_3 : δ 7,05 (s, 0,5 H), 6,93 (s, 0,5 H), 5,74 (d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 5,73 (d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 5,29 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 4,41-3,75 (m, 2 H), 3,53-3,18 (m, 2 H), 2,57 (q, $J = 6$ Hz, 2 H), 2,26 (s, 3 H), 2,23 (s, 3 H), 2,05-1,86 (m, 2 H), 1,47 (t, $J = 8$ Hz, 3 H), 1,18-1,01 (m, 3 H).

Příklad 42



Příprava 5-(4'-aminobutoxy)kamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxykamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, jak je popsáno v příkladu 2.

Krok 2: Ke směsi 53 mg 5-hydroxykamptothecinu a 8 mg kyseliny p-toluensulfonové suspendované v 16 ml benzenu se přidá 14 mg 4-aminobutanolu a směs se zahřívá pod zpětným chladičem po dobu 10 hodin. Reakce se přeruší přidávkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhličitanem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel ethylacetát-chloroform jako elučního činidla s obdržením 45 mg 5-(4'-aminobutoxy)kamptothecinu. Teplota tání: 150 °C. IČ: 3397, 1745, 1664, 1617, 1384, 1224, 1162, 1038, 684, 570 cm^{-1} . Částečné údaje ^1H NMR v ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$): δ 7,50 (d, D_2O vyměnitelné, 1 H), 6,95 (s, 0,5 H), 6,85 (s, 0,5 H), 6,25 (d, D_2O vyměnitelné, 1 H), 5,65 (d, $J = 16$ Hz, 1 H), 5,35 (d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 5,25 (d, $J = 16$ Hz, 0,5 H), 4,15-3,80 (m, 2 H), 2,15-1,65 (m, 8 H), 1,15-0,98 (m, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 436 (M+1), 392, 347, 333, 305, 153, 123, 105, 90, 62.

Příklad 43

Příprava 5-(2'-methoxyethoxy)kamptothecinu

Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxykamptothecin vzorce 13, kde $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, jak je popsáno v příkladu 2.

Krok 2: Ke směsi 120 mg 5-hydroxykamptothecinu a 0,13 ml kyseliny sírové suspendované v 18 ml chloroformu se přidá 20 mg ethylenglykolmonomethyletheru a směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 10 hodin. Reakce se ukončí přidáním kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhlíčanem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří se dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel ethylacetátu-chloroformu jako elučního činidla a obdrží se 80 mg 5-(2'-methoxyethoxy)kamptothecinu. Teplota tání: 123 °C. IČ: 3294, 2933, 1748, 1665, 1617, 1384, 1155, 1077, 1045, 761 cm⁻¹. ¹H NMR (CDCl₃): δ 8,51 (s, 1 H), 8,24 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,93 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7,79 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,65 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,58 (s, 0,5 H), 7,56 (s, 0,5 H), 6,91 (s, 0,5 H), 6,82 (s, 0,5 H), 5,71 (d, J = 16 Hz, 1 H), 5,28 (d, J = 16 Hz, 1 H), 4,55-4,05 (m, 2 H), 3,95 (široký s, 1 H, D₂O vyměnitelné), 3,81-3,56 (m, 2 H), 3,48 (s, 1,5 H), 3,44 (s, 1,5 H), 1,94 (m, 2 H), 1,05 (t, J = 7 Hz, 3 H). Hmot. spektr. (m/z): 423 (M+1), 364, 347, 319, 304, 275, 218, 128, 101, 82.

Příklad 44

Příprava 5-(2'-N-methylpyrrolidinoethoxy)-7-ethylkamptothecinu

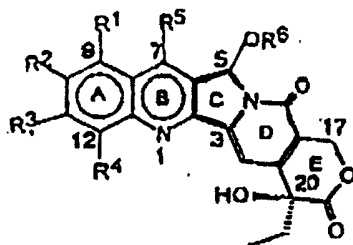
Krok 1: Nejprve se připraví 5-hydroxy-7-ethylkamptothecin vzorce 13, kde R¹ = R² = R³ = R⁴ = H a R⁵ = Et, jak je popsáno v příkladu 4.

Krok 2: Ke směsi 50 mg 5-hydroxy-7-ethylkamptothecinu a 10 mg kyseliny p-toluensulfonové suspendované v 15 ml benzenu se přidá 18 mg 1-methyl-2-pyrrolidinoethanolu a směs

se vaří pod zpětným chladičem po dobu 8 hodin. Reakce se ukončí přidavkem kapky pyridinu a směs se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, hydrogenuhličitánem sodným, roztokem chloridu sodného a odpaří dosucha. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu s použitím směsi rozpouštědel methanol-chloroform jako elučního činidla a získá se 35 mg 5-(2'-N-methylpyrrolidinoethoxy)-7-ethylkamptothecinu. Teplota tání: 102 °C. Hmot. spektr. (m/z): 504 (M+1), 460, 375, 347, 331, 275, 245, 128, 110, 84.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina vzorce 1



(1)

ve kterém

R¹, R², R³ a R⁴ jsou nezávisle na sobě stejné nebo rozdílné a představují atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aryloxyskupinu, nižší alkoxykupinu, nižší alkanylovou skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, atom halogenu, karboxylovou skupinu, karbonyloxyskupinu, aminoskupinu, substituovanou aminoskupinu, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu nebo R², R³ společně představují -O-(CH₂)_n-O-, kde n je 1 nebo 2,

R⁵ znamená atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu, nižší aralkylovou skupinu, hydroxymethylovou skupinu, methoxykarbonylovou skupinu, aminomethylovou skupinu, substituovanou aminomethylovou skupinu, kde aminoskupina je mono- nebo disubstituovaná, přičemž oba substituenty jsou navzájem nezávislé nebo jsou spolu spojeny s vytvořením 5- nebo 6-členného cyklického kruhového



systému obsahujícího atomy uhlíku a popřípadě 1 nebo 2 heteroatomy vybrané z kyslíku, dusíku a síry a

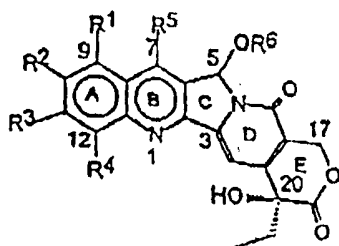
R⁶

znamená atom vodíku, fenylovou skupinu nebo benzylovou skupinu, kde fenylová skupina může být nesubstituovaná nebo substituovaná mono-, di- nebo trisubstituenty, kterými mohou být zvoleny atom halogenu, hydroxylová skupina, nižší alkoxylová skupina, kyanoskupina, karboxylová skupina, nitroskupina, aminoskupina nebo substituovaná aminoskupina, nižší alkylová skupina, substituovaná nižší alkylová skupina, cykloalkylovou nebo cykloalkyl-(nižší alkylovou) skupinu, kde cyklický kruh je v rozmezí tříčlenného a sedmičlenného kruhového systému obsahujícího vždy atomy uhlíku, nižší alkylové skupiny substituované heterocyklickými kruhy, ve kterých je heterocyklický kruhový systém tvořen 3 až 7 atomy obsahujícími atomy uhlíku s nejméně jedním heteroatomem zvoleným z atomu kyslíku, dusíku a síry, nižší alkanoylovou skupinu, benzoylovou skupinu, kde fenylová skupina může být nesubstituovaná nebo substituovaná, nižší alkenylovou skupinu, nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkylovou skupinu, substituovanou nižší alkenylovou skupinu, substituovanou nižší alkanoylovou skupinu, ve které substituenty mohou být atom halogenu, hydroxylová skupina, alkoxylová skupina, aryloxyskupina, thioskupina, thioalkylová skupina, thioarylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, karboxylová skupina, kyanoskupina, nitroskupina, amidoskupina nebo aminoskupina, ve které může být aminoskupina nesubstituovaná nebo mono- či di-substituovaná, přičemž oba substituenty jsou navzájem nezávislé nebo jsou spojeny s vytvořením pěti- nebo

šestičlenného cyklického kruhového systému obsahujícího atomy uhlíku a případně alespoň jeden heteroatom zvolený z atomu kyslíku, dusíku a síry,

s podmínkou, že (i) když R^1 je methoxyskupina, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (ii) když R^2 je hydroxylová skupina, nižší alkoxylová skupina, thioalkylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, acylaminoskupina nebo atom halogenu, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (iii) když R^5 je nižší alkylová skupina, nižší aralkylová skupina, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-COOMe$, $-CH_2OR''$, kde R'' znamená nižší alkylovou nebo acylovou skupinu, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (iv) když R^1 je methoxyskupina, R^2 je hydroxylová skupina, nižší alkoxyskupina, thioalkylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, alkylaminoskupina, acylaminoskupina nebo atom halogenu a R^5 je nižší alkylová skupina, nižší aralkylová skupina, $-CH_2OH$, $-COOH$, $-COOMe$, $-CH_2OR''$, kde R'' znamená nižší alkylovou nebo acylovou skupinu, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina, (v) když R^1 až R^6 znamenají atom vodíku, R^6 není ani atom vodíku ani nižší alkylová skupina.

2. Sloučenina vzorce 1



(1)

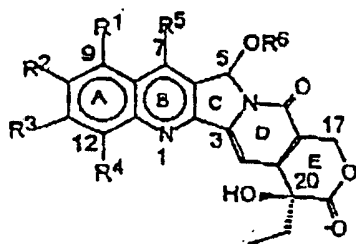
ve kterém

R^2 znamená hydroxylovou skupinu,

R^1 , R^3 , R^4 a R^5 znamenají atom vodíku a

R^6 znamená trifluorethylovou skupinu.

3. Sloučenina vzorce 1

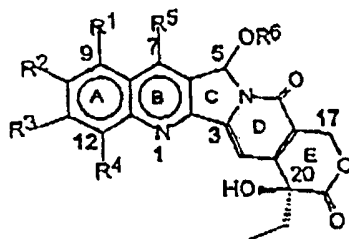


ve kterém

R^1 , R^3 , R^4 a R^5 znamenají atom vodíku a

R^6 znamená fluorethylovou skupinu.

4. Sloučenina vzorce 1



ve kterém

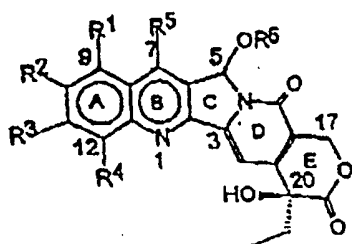
R^1 znamená N,N-dimethylaminomethylovou skupinu,

R² znamená hydroxylovou skupinu,

R³, R⁴ a R⁵ znamenají atom vodíku a

R⁶ znamená 2 -methoxyethylovou skupinu.

5. Sloučenina vzorce 1



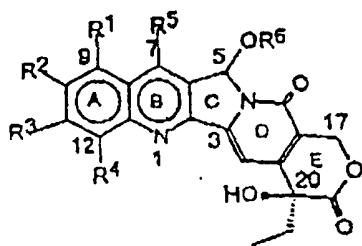
ve kterém

R¹ znamená nitroskupinu,

R², R³, R⁴ a R⁵ znamenají atom vodíku a

R⁶ znamená 2 -methoxyethylovou skupinu.

6. Sloučenina vzorce 1



ve kterém

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 představují atom vodíku a

R^6 znamená 2 -hydroxyethylovou skupinu.

7. Sloučenina vzorce 1, ve kterém R^1 až R^6 mají význam popsany v jakémkoliv z nároků 1 až 6, jako směs dvou diastereomerů, kde tyto diastereomery mají konfigurace 20(S),5(R) a 20(S),5(S).

8. Sloučenina vzorce 1, ve které každý z diastereomerů má konfigurace 20(S),5(R) a 20(S),5(S) jako jednotlivý izomer v podstatě prostý druhého izomeru, kde R^1 až R^6 mají význam popsany v nárocích 1 až 6.

9. Farmaceutické prostředek v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje sloučeniny vzorce 1, jak jsou definovány v kterémkoliv z nároků 1 až 6 nebo jejich derivát a farmaceuticky přijatelnou netoxickou pomocnou látkou, zředovací činidlo nebo rozpouštědlo.

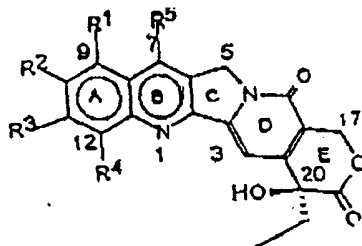
10. Použití sloučeniny vzorce 1 tak, jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 9 pro léčbu rakoviny, leukémie a stavů vztahujících se k HIV.

11. Léčivo pro léčbu rakoviny, leukémie nebo stavů vztahujících se k HIV, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje sloučeninu podle kteréhokoliv z nároků 1 až 9 nebo její derivát a farmaceuticky přijatelný nosič, zředovací činidlo nebo rozpouštědlo.

12. Použití sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 1 až 9 k výrobě léčiva pro léčbu rakoviny, leukémie nebo stavů vztahujících se k HIV.

13. Způsob přípravy sloučeniny vzorce 1, v y z n a -
č u j í c í s e t í m, že se skládá z následujících
kroků:

(i) reakce sloučeniny vzorce 2

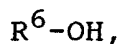


(2)

ve kterém

R¹ až R⁵ mají význam popsany v nároku 1,

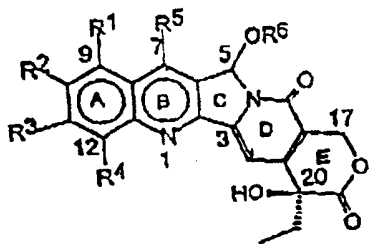
v přítomnosti kyseliny a železité soli se sloučeninou mající
vzorec



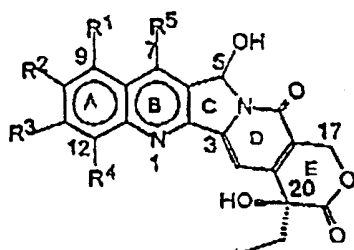
ve kterém

R⁶ znamená nižší alkylovou skupinu, nižší alkenylovou
skupinu, (C₃-C₇)cykloalkylovou skupinu, halogen-
alkylovou skupinu nebo hydroxyalkylovou skupinu,

s obdržení sloučeniny vzorce 12 a sloučeniny vzorce 13



(12)



(13)

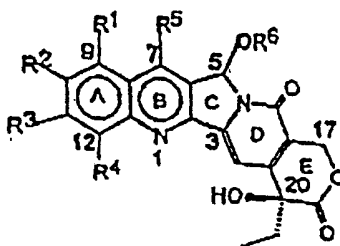
ve kterých

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají význam uvedený v nároku 1,

(ii) separace sloučenin vzorců 12 a 13 připravených v kroku (i),

(iii) hydrolýza sloučeniny vzorce 12 s obdržáním pří-
davných množství sloučeniny vzorce 13,

(iv) reakce sloučeniny vzorce 13 v přítomnosti kyse-
liny se sloučeninou vzorce R^6 -OH s obdržáním sloučeniny
vzorce 1



(1)

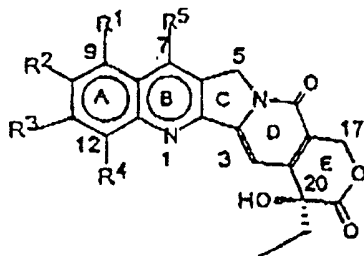
ve kterém

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají význam jako je definován v nároku 1 a

R^6 má význam, jako je definován v nároku 1.

14. Způsob přípravy sloučeniny vzorce 1, ve kterém R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 znamenají atom vodíku, R^2 znamená hydroxylovou skupinu a R^6 znamená trifluorethylovou skupinu, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje následující kroky

(i) reakce sloučeniny vzorce 2



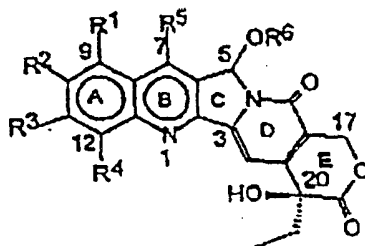
(2)

ve kterém

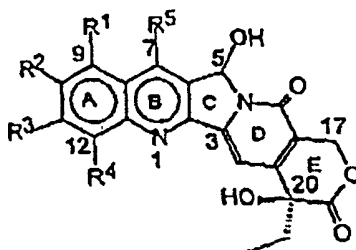
R^1 , R^3 , R^4 a R^5 znamenají atom vodíku,

R^2 znamená hydroxylovou skupinu,

v přítomnosti koncentrované kyseliny sírové a trihydrátu chloridu železitého s ethanolem a zahřívání směsi za podmínek refluxu s obdržení sloučeniny vzorce 12 a sloučeniny vzorce 13



(12)



(13)

ve kterých

R^1 , R^3 , R^4 a R^5 znamenají atom vodíku,

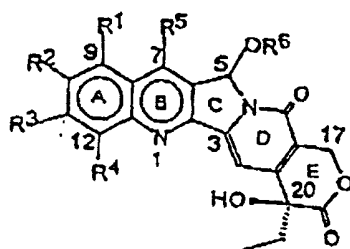
R^2 je hydroxylová skupina a

R^6 znamená ethylovou skupinu

(ii) oddělení sloučenin vzorců 12 a 13 připravených v kroku (i),

(iii) hydrolyza sloučeniny vzorce 12 rozpuštěním ve vodném ethanolu a refluxování s kyselinou chlorovodíkovou s obdržením přídatných množství sloučeniny vzorce 13,

(iv) reakce sloučeniny vzorce 13 v přítomnosti koncentrované kyseliny sírové s trifluorethanolem rozpuštěným v dichlorethanovém rozpouštědle s obdržením sloučeniny vzorce 1



(1)

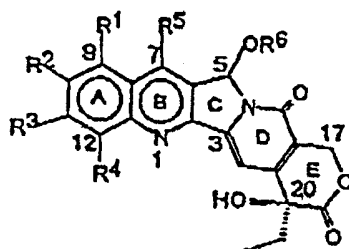
ve kterém

R¹, R³, R⁴ a R⁵ znamenají atom vodíku,

R² znamená hydroxylovou skupinu a

R⁶ znamená trifluorethylovou skupinu.

15. Způsob přípravy sloučeniny vzorce 1



(1)

ve kterém

R⁶ znamená atom vodíku nebo nižší alkylovou skupinu,

R¹ znamená atom vodíku nebo methoxyskupinu,

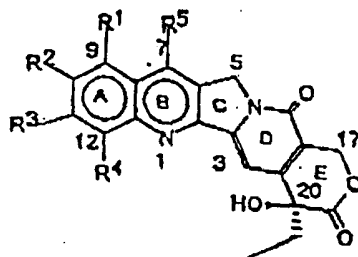
R² znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu, nižší alkoxy skupinu, acyloxy skupinu, merkaptoskupinu, thioalkylovou skupinu, thioacylovou skupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, alkylaminoskupinu, acylaminoskupinu nebo atom halogenu,

R³ a R⁴ znamenají atom vodíku a

R⁵ znamená atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, nižší aralkylovou skupinu, -CH₂OH, -COOH, -COOMe nebo -CH₂OR, kde R znamená nižší alkylovou skupinu nebo acylovou skupinu,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že se skládá z těchto kroků

(i) reakce sloučeniny vzorce 2

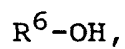


(2)

ve kterém

R¹ až R⁵ mají význam popsany výše,

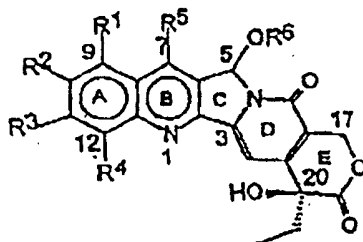
v přítomnosti kyseliny a železité soli se sloučeninou vzorce



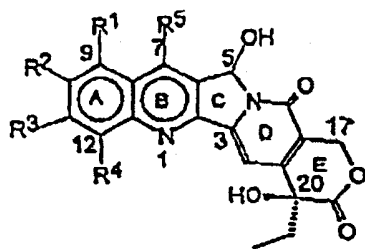
ve kterém

R⁶ znamená nižší alkylové skupiny,

s obdržením sloučeniny vzorce 12 a sloučeniny vzorce 13



(12)



(13)

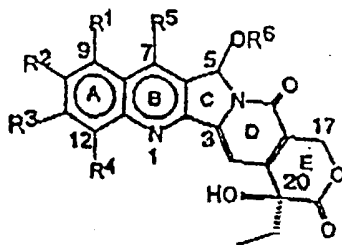
ve kterých

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají význam uvedený výše,

(ii) separace sloučenin vzorců 12 a 13 připravených v kroku (i),

(iii) hydrolýza sloučenin vzorce 12 s obdržением pří-
davných množství sloučeniny vzorce 13,

(iv) reakce sloučeniny vzorce 13 v přítomnosti kyse-
liny se sloučeninou vzorce R^6 -OH s obdržением sloučeniny
vzorce 1



(1)

ve kterém

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 a R^6 mají význam popsany výše.

16. Způsob podle nároku 13, v y z n a č u j í c í
s e t í m, že železitou solí je chlorid železitý.

17. Způsob podle nároku 15, v y z n a č u j í c í
s e t í m, že železitou solí je chlorid železitý.