

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

235540

(11) (B2)

(51) Int. Cl.³

C 07 H 15/24

(22) Přihlášeno 26 05 82
(21) (PV-3884-82)

(40) Zveřejněno 31 08 84

(45) Vydáno 15 11 86

(72) Autor vynálezu

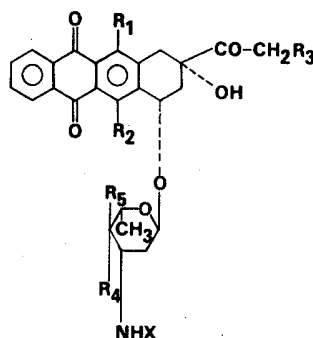
ANGELUCCI FRANCESCO, PENCO SERGIO, MILÁN, ARCAMONE FEDERICO,
NERVIANO (Itálie)

(73) Majitel patentu

FERMITALIA CARLO ERBA S.p.A., MILÁN (Itálie)

(54) Způsob výroby nových derivátů glykosidů anthracyklinu

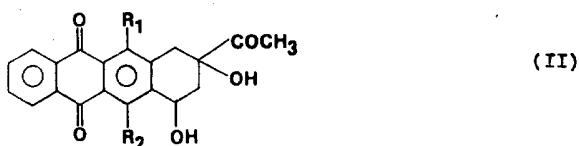
Předložený vynález se týká způsobu výroby nových derivátů glykosidů anthracyklinů obecného vzorce I



v němž

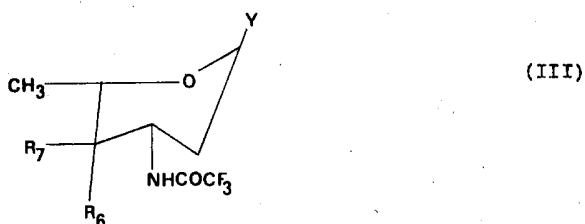
jeden ze zbytků R_1 a R_2 znamená vodík a druhý znamená hydroxylovou skupinu, R_3 , R_4 a R_5 znamenají nezávisle na sobě vodík nebo hydroxylovou skupinu a X znamená vodík nebo trifluoracetylovou skupinu, s tím, že R_4 a R_5 neznámají současně hydroxyskupiny, a dále s tím, že když R_3 znamená hydroxyskupinu, pak X znamená vodík, a jejich farmaceuticky použitelných adičních solí s kyselinami.

Podle vynálezu se sloučeniny obecného vzorce I a jejich farmaceuticky použitelné adiční soli s kyselinami vyrábějí tím, že se na racemický aglykon obecného vzorce II



v němž

R_1 a R_2 mají shora uvedený význam, působí chráněným halogencukrem obecného vzorce III



v němž

Y znamená halogen, výhodně chlor, a
 R_6 a R_7 znamenají nezávisle na sobě vodík nebo trifluoroacetoxykupinu s tím, že
 neznamenají současně oba trifluoroacetoxykupinu,

v bezvodém dichlormethanu v přítomnosti stříbrné soli trifluormethansulfonové kyseliny a dehydratačního činidla, přičemž se získají N,O- nebo N-trifluoroacetyl chráněné glykosidy, které se podrobí působení methanolu při teplotě místnosti, přičemž se získají dva diastereomerní N-trifluoroacetyl chráněné glykosidy, načež se chromatografií na sloupci silikagelu a za použití rozpouštědlového systému tvořeného směsí chloroformu a acetonu (6:1) vztaženo na objem, oddělí žádané N-trifluoroacetyl glykosidy vzorce I od svých 7,9-diepiderivátů, které vznikají současně během kondenzace, poté se N-trifluoroacetyl-deriváty vzorce I podrobí mírné alkalické hydrolýze působením 0,1 N vodného roztoku hydroxidu sodného, přičemž se získají glykosidy vzorce I, v němž $R_3 = H$, ve formě volných bází, které se působením methanolickeho chlorovodíku izolují ve formě svých odpovídajících hydrochloridů a popřípadě se reakcí s bromem v chloroformu převedou na odpovídající 14-bromderiváty, které se konečně podrobí hydrolýze vodným mravenčenem sodným při teplotě místnosti, přičemž se získají glykosidy vzorce I, v němž $R_3 = OH$, ve formě volných bází, které se izolují ve formě odpovídajících hydrochloridů a získané sloučeniny se popřípadě převedou na své adiční soli s kyselinami.

Racemické anthracyklinony vzorce II se mohou kondenzovat s chráněnými halogencukry 1-chlor-N,O-ditrifluoroacetyldeunosaminu (III; $Y = Cl$, $R_6 = CF_3COO$, $R_7 = H$), 1-chlor-N,O-ditrifluoroacetyl-4-epideunosaminu (III; $Y = Cl$, $R_6 = H$, $R_7 = CF_3COO$) a 1-chlor-N-trifluoroacetyl-4-deoxydeunosaminu (III; $Y = Cl$, $R_6 = R_7 = H$) v přítomnosti stříbrné soli trifluormethansulfonové kyseliny, přičemž se podle postupu, který je popsán v americkém patentním spisu č. 4 107 423, získá snadno dělitelná směs chráněných anthracyklin- α -glykosidů 7S:9S a 7R:9R.

Odstreňení 0-trifluoracetylové skupiny, pokud je přítomna, se provádí působením methanolu za vzniku anthracyklinglykosidů (I) ($X = \text{COCF}_3$, $R_3 = \text{H}$). Mírnou alkalickou hydrolyzou se N-trifluoracetylová skupina odstraní a získají se deriváty daunorubicinu vzorce I ($X = R_3 = \text{H}$), které se bromací v poloze 14 a působením natriumformiátu podle postupu, který je popsán v americkém patentním spisu č. 3 803 124, mohou převést na odpovídající deriváty doxorubicinu vzorce I ($X = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$).

Sloučeniny získané podle vynálezu se používají k výrobě farmaceutických přípravků, které obsahují glykosid anthracyklinu vzorce I společně s farmaceuticky použitelným ředidlem nebo nosičem.

Následující příklady vynález blíže objasňují, avšak jeho rozsah v žádném případě neomezuje.

Příklad 1

Výroba 4-demethoxy-6-deoxydaunorubicinu (X00-0170) a 7,9-diepi-4-demethoxy-6-deoxydaunorubicinu.

K roztoku 0,065 g racemického 4-demethoxy-6-deoxydaunomycinonu (II, $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$) ve 45 ml bezvodého dichlormethanu se přidá 1 g molekulového síta ($4 \cdot 10^{-10}$ m), 0,079 g 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido-4-O-trifluoracetyl- α -L-lyxopyranosylchloridu (III, $Y = \text{Cl}$, $R_6 = \text{CF}_3\text{COO}$, $R_7 = \text{H}$), 0,029 ml sym-kolidinu a 0,057 g stříbrné soli tri-fluormethansulfonové kyseliny, rozpuštěné ve 2 ml bezvodého diethyletheru. Po 2 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs zfiltruje a promyje se vodným 0,1N roztokem chlorovodíkové kyseliny, vodou, vodným nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a vodou. Potom se rozpouštědlo odpaří a zbytek se vyjme methanolem a po 30 minutách při teplotě místnosti je hydrolyza C-4' -0-trifluoracetylové skupiny ukončena, přičemž se získá směs diastereoisomerů N-trifluoracetyl-4-demethoxy-6-deoxydaunorubicinu a 7,9-diepi-N-trifluoracetyl-4-demethoxy-6-deoxydaunorubicinu.

Chromatografie na tenké vrstvě (silikagelové destičky Merck F_{254} ; rozpouštědlový systém: směs chloroformu a acetonu 4:1, vztaženo na objem): R_f 0,16 a 0,13.

Čisté diastereomery se získají také chromatografickým dělením na sloupci silikagelu za použití rozpouštědlového systému tvořeného směsí chloroformu a acetonu 6:1, vztaženo na objem jako elučního činidla.

Hydrolyza chránicí skupiny na atomu dusíku se provádí rozpuštěním N-trifluoracetyl-derivátu ve vodném 0,1N roztoku hydroxidu sodného. Po 30 minutách při teplotě 0 °C se roztok upraví na pH 8 a provede se extrakce chloroformem. Odpařením rozpouštědla až do nepetrného objemu a následujícím přidáním methanolickeho 0,1N roztoku chlorovodíku k úpravě hodnoty pH na 4,5 až 5 se získá 5-demethoxy-6-deoxydaunorubicin a 7,9-diepi-4-demethoxy-6-deoxydaunorubicin ve formě příslušných hydrochloridů.

Chromatografie na tenké vrstvě (silikagelové destičky Merck F_{254} ; rozpouštědlový systém: směs chloroformu, methanolu, kyseliny octové a vody 80:20:7:3, vztaženo na objem): $R_f = 0,26$ a 0,30. Hmotnostní spektrum (desorpce polem): m/z 482 (MH^+), 481 (M^+).

Příklad 2

Výroba 4-demethoxy-4'-epi-6-deoxydaunorubicinu a 4-demethoxy-4'-epi-7,9-diepi-6-deoxydaunorubicinu

Kopulační reakce mezi racemickým 4-demethoxy-6-deoxydaunomycinonem (II, $R_1 = OH$, $R_2 = H$) a 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido-4-O-trifluoracetyl- α -L-arabinopyranosylchloridem (III, $Y = Cl$, $R_6 = H$, $R_7 = CF_3COO$) odpovídající způsobu, který je popsán v příkladu 1, skýtá 4-demethoxy-4'-epi-6-deoxy-N-trifluoracetyldeunorubicin a odpovídající 7,9-diepi-derivát. Mírným alkalickým působením proběhne hydrolýza N-trifluoracetylové skupiny, přičemž se získá 4-demethoxy-4'-epi-6-deoxydaunorubicin a 4-demethoxy-4'-epi-7,9-diepi-6-deoxydaunorubicin, které se izolují ve formě svých hydrochloridů.

Příklad 3

Výroba 4-demethoxy-4',6-dideoxydaunorubicinu a 4-demethoxy-4',6-dideoxy-7,9-diepi-daunorubicinu

Kopulační reakce mezi racemickým 4-demethoxy-6-deoxydaunomycinonem (II, $R_1 = OH$, $R_2 = H$) a 2,3,4,6-tetradideoxy-3-trifluoracetamido-L-threopyranosylchloridem (III, $Y = Cl$, $R_6 = R_7 = H$) podle postupu, který je popsán v příkladu 1 skýtá 4-demethoxy-4',6'-dideoxy-N-trifluoracetyldeunorubicin a odpovídající 7,9-diepi-derivát. Mírným alkalickým působením proběhne hydrolýza N-trifluoracetylové skupiny, přičemž se získá 4-demethoxy-4',6'-dideoxydaunorubicin a 4-demethoxy-4',6-dideoxy-7,9-diepi-daunorubicin, které se izolují ve formě svých hydrochloridů.

Příklad 4

Výroba 4-demethoxy-6-deoxydoxorubicinu

Podle postupu, který je popsán v americkém patentním spisu č. 3 803 124, a za použití 4-demethoxy-6-deoxydaunorubicinu jako výchozí látky, která byla vyrobena podle příkladu 1, se izoluje sloučenina uvedená v názvu ve formě hydrochloridu.

Příklad 5

Výroba 4-demethoxy-4'-epi-6-deoxydoxorubicinu

Podle postupu, který je popsán v americkém patentním spisu č. 3 803 124, a za použití 4-demethoxy-4'-epi-6-deoxydaunorubicinu jako výchozí látky, která byla vyrobena podle příkladu 2, se získá sloučenina uvedená v názvu, která se izoluje ve formě hydrochloridu.

Příklad 6

Výroba 4-demethoxy-4',6-dideoxydoxorubicinu

Podle postupu, který je popsán v americkém patentním spisu č. 3 803 124 a za použití 4-demethoxy-4',6-dideoxydaunorubicinu jako výchozí látky, která byla vyrobena podle příkladu 3, se izoluje sloučenina uvedená v názvu ve formě hydrochloridu.

Příklad 7

Výroba 4-demethoxy-4'-epi-11-deoxydaunorubicinu (X00-0161) a 4-demethoxy-4',7,9-triepi-11-deoxydaunorubicinu

K roztoku 0,7 g racemického 4-demethoxy-11-deoxydaunomycinonu (II, $R_1 = H$, $R_2 = OH$) ve 100 ml bezvodého dichlormethanu se přidá 6 g molekulárního síta (4×10^{-10} m, Merck), 0,785 g 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido-4-O-trifluoracetyl- α -L-arabinopyranosylchloridu (III, $Y = Cl$, $R_6 = H$, $R_7 = CF_3COO$), 0,26 ml sym-kolidinu a 0,515 g stříbrné soli trifluormethansulfonové kyseliny rozpuštěné ve 25 ml bezvodého diethyletheru.

Po 20 minutách při teplotě místnosti se reakční směs zfiltruje a filtrát se promyje vodným 0,1N roztokem chlorovodíkové kyseliny, vodou, nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a vodou. Zbytek získaný po odpaření rozpouštědla se přes noc vyjme methanolem. Při odpaření methanolu se získá směs diastereoisomerních N-trifluoracetyl-4-demethoxy-4'-epi-11-deoxydaunorubicinu a N-trifluoracetyl-4-demethoxy-4',7,9-triepi-11-deoxydaunorubicinu. Chromatografie na tenké vrstvě (silikagelu destičky Merck F₂₅₄, rozpouštědlový systém: směs chloroformu a methanolu 4:1, vztaženo na objem): $R_F = 0,13$ a $0,16$.

Čisté diastereoisomery se získají chromatografickým dělením na sloupci silikagelu za použití rozpouštědlového systému, který sestává z chloroformu a acetonu 97:3, vztaženo na objem.

N-trifluoracetyl-4-demethoxy-4'-epi-11-deoxydaunorubicin (0,34 g), teplota tání 208 až 210 °C, a N-trifluoracetyl-4-demethoxy-4',7,9-triepi-11-deoxydaunorubicin, teplota tání 198 až 200 °C.

3 g N-trifluoracetyl-4-demethoxy-4'-epi-11-deoxydaunorubicinu se rozpustí ve 25 ml acetonu a 25 ml 0,2N vodného roztoku hydroxidu sodného. Po 30 minutách při teplotě místnosti se reakční směs upraví chlorovodíkovou kyselinou na pH 3,5 a k odstranění nečistot se provede extrakce chloroformem. Potom se vodný roztok upraví na pH a provede se extrakce chloroformem. Při odpaření rozpouštědla až na malý objem a po následujícím přidání methanolickeho chlorovodíku jakož i vysrážení diethyletherem se získá 4-demethoxy-4'-epi-11-deoxydaunorubicin ve formě hydrochloridu. Výtěžek 0,23 g. Teplota tání 175 až 176 °C.

Chromatografie na tenké vrstvě (silikagelové destičky Merck F₂₅₄ za použití rozpouštědlového systému tvořeného směsí chloroformu, methanolu a octové kyseliny 40:10:1, vztaženo na objem): $R_F = 0,22$. Hmotnostní spektrum (spektrum pole): m/z 482 (MH^+), 481 (M^+). NMR spektrum, 60 MHz (deuteroaná voda): δ 1,35 (d, CH_3-5'), 2,42 (s, CH_3CO-9), 2,90 (s, CH_2-10), 3,2-3,6 (m, H-3', H-4'), 4,05 (m, H-5'), 5,25 (široký s, H-1' $W_H = 6$ Hz), 6,96 (s, H-11), 7,76 (s, široký, 4 aromatické protony).

Hydrolyza N-trifluoracetylové skupiny druhého diastereomeru analogickým způsobem skýtá 4-demethoxy-4',7,9-triepi-11-deoxydaunorubicin. Chromatografie na tenké vrstvě (silikagelové destičky Merck F₂₅₄ za použití stejného systému rozpouštědel): $R_F = 0,24$.

Příklad 8

Výroba 4-demethoxy-11-deoxydaunorubicinu (XOO-0169) a 4-demethoxy-7,9-diepi-11-deoxydaunorubicinu

Kopulační reakce mezi 0,100 g racemického 4-demethoxy-11-deoxydaunomycinonu (II, $R_1 = H$, $R_2 = OH$) a 0,11 g 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido-4-O-trifluoracetyl- α -L-lyxopyranosylchloridu (III, $Y = Cl$, $R_6 = CF_3COO$, $R_7 = H$) za použití postupu, který je popsán v příkladu 7, skýtá 4-demethoxy-11-deoxy-N-trifluoracetyl-daunorubicin- $R_F = 0,24$ a odpovídající 7,9-diepi-derivát. Mírným alkalickým působením proběhne hydrolyza N-trifluoracetylové skupiny, přičemž se získá 4-demethoxy-11-deoxydaunorubicin ve formě hydrochloridu. Teplota tání 194 až 195 °C.

Chromatografie na tenké vrstvě: $R_F = 0,17$ (rozpouštědlový systém: směs chloroformu, methanolu a octové kyseliny 40:10:1, vztaženo na objem). Hmotnostní spektrum (desorpce pole): m/z 482 (MH^+), 481 (M^+) a 4-demethoxy-7,9-diepi-11-deoxydaunorubicin ve formě hydrochloridu.

P ř í k l a d 9

Výroba 4-demethoxy-4',11-dideoxydaunorubicinu a 4-demethoxy-4',11-dideoxy-7,9-diepi-daunorubicinu

Kopulační reakce mezi 0,35 g racemického 4-demethoxy-11-deoxydaunomycinonu (II, $R_1 = H$, $R_2 = OH$) v 50 ml bezvodého dichlormethanu a 0,245 g 2,3,4,6-tetradeoxy-3-trifluoracetamido-L-threopyranosylchloridu (III; $Y = Cl$, $R_6 = R_7 = H$) prováděná způsobem popsaným v příkladu 7 skýtá po chromatografickém dělení na sloupci silikagelu za použití směsi toluenu a acetonu (96:4, objem/objem) jako elučního činidla 4-demethoxy-4',11-dideoxy-N-trifluoracetyl-daunorubicin [0,170 g].

Chromatografie na tenké vrstvě (silikagelové destičky Merck F₂₅₄; rozpouštědlový systém: směs toluenu a acetonu 4:1, objem/objem): R_f 0,53; a dále skýtá 4-demethoxy-4',11-dideoxy-7,9-diepi-N-trifluoracetyl-daunorubicin [0,2 g].

Chromatografie na tenké vrstvě (silikagelové destičky Merck F₂₅₄; rozpouštědlový systém: směs toluenu a acetonu 4:1, objem/objem): R_f 0,53.

Hydrolyzou N-trifluoracetyl-ové skupiny za mírných alkalických podmínek se získá 4-demethoxy-4',11-dideoxydaunorubicin, který se izoluje ve formě hydrochloridu. Teplota tání 155 až 156 °C.

Chromatografie na tenké vrstvě (rozpouštědlový systém: směs chloroformu, methanolu, octové kyseliny a vody 80:20:7:3, vztaženo na objem): $R_f = 0,40$. Hmotnostní spektrum (desorpce polem): m/z 466 (MH^+); 465 (M^+).

P ř í k l a d 10

Výroba 4-demethoxy-11-deoxy-4'-epidoxorubicinu (XOO-0168)

Postupem popsaným v americkém patentním spisu 3 803 124 a za použití 4-demethoxy-11-deoxy-4'-epidaunorubicinu, vyrobeného podle příkladu 7, jako výchozí látky se získá sloučenina uvedená v názvu, která se izoluje ve formě hydrochloridu.

P ř í k l a d 11

Výroba 4-demethoxy-11-deoxydoxorubicinu

Postupem popsaným v americkém patentním spisu č. 3 803 124 a za použití 4-demethoxy-11-deoxydaunorubicinu, vyrobeného podle příkladu 8, jako výchozí látky se izoluje ve formě hydrochloridu sloučenina uvedená v názvu.

P ř í k l a d 12

Výroba 4-demethoxy-4',11-dideoxydoxorubicinu

Postupem popsaným v americkém patentním spisu č. 3 803 124 a za použití 4-demethoxy-4',11-dideoxydaunorubicinu, který byl vyroben podle příkladu 9, jako výchozí látky se izoluje ve formě hydrochloridu sloučenina uvedená v názvu.

Biologická účinnost sloučenin XOO-0161, XOO-0164, XOO-0168 a XOO-0170.

Sloučeniny se testují in vitro proti HeLa-buňkám. Data uvedená v tabulce I ukazují, že všechny nové deriváty mají pozoruhodnou cytotoxickou účinnost in vitro.

Sloučeniny X00-0161 a X00-0164 byly testovány také proti ascitické leukemii P388 na myších.

Výsledky uvedené v tabulce II ukazují, že obě testované sloučeniny mají protinádorový účinek.

T a b u l k e I

Účinnost na klonovací aktivitu HeLa-buněk (a)

Sloučenina	Dávka (ng/ml)	Účinek v %	ID ₅₀ (ng/ml)
Daunorubicin	25	21, 42, 50, 8, 16	15
	12,5	65, 83, 80, 77, 79	
	6,2	86, 150, 104, 93, 101	
	3,1	104, 115	
X00-0161			
4-demethoxy-4'-epi-11-deoxydaunorubicin	100	13, 10	40
	25	56, 82	
	6,2	60, 105	
	1,5	78, 109	
X00-0169			
4-demethoxy-11-deoxydaunorubicin	100	0	25
	25	50	
	6,2	112	
X00-0168			
4-demethoxy-11-deoxy-4'-epidoxorubicin	400	0	20
	100	1	
	25	33	
	6,2	100	
X00-0170			
4-demethoxy-6-deoxydaunorubicin	250	0	17
	50	4	
	10	73	
	5	119	

(a) Působení po dobu 24 hodin

T a b u l k a II

Účinek proti leukemii P388 (a)

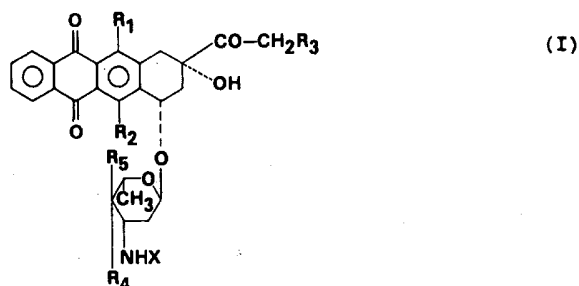
Sloučenina	Dávka (b) (ng/kg)	(c) T/C	(d) LTS	toxické pří- pady úhynu (e)
Daunorubicin	2,9	180	0/10	0/10
	4,4	185	0/10	0/10
	6,6	190	0/10	3/10
XOO-0161	6,6	160	0/10	0/10
	10	160	0/10	0/10
	15	160	0/10	0/10
XOO-0164	4,4	155	0/10	0/10
	6,6	120	0/10	7/10
	10	90	0/10	8/10

Vysvětlivky:

- (a) myši kmene BDF₁, kterým bylo intraperitoneálně naočkováno 10⁶ buněk leukémie
 (b) intraperitoneální ošetření 1. den po očkování nádoru
 (c) střední doba přežití ošetřených myši/střední doba přežití kontrolních zvířat x 100
 (d) dlouhá doba přežití
 (e) případy úhynu v důsledku toxicity, vypočtené na základě zooptických výsledků

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob výroby nových derivátů glykosidů anthracyklinu obecného vzorce I

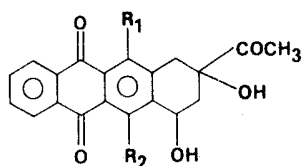


v němž

jeden ze zbytků R₁ a R₂ znamená vodík a druhý znamená hydroxylovou skupinu,

R₃, R₄ a R₅ znamenají nezávisle na sobě vodík nebo hydroxylovou skupinu,
 X znamená vodík nebo trifluoracetylovou skupinu,

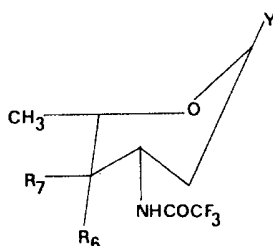
s tím, že R₄ a R₅ neznamenaají současně hydroxylové skupiny a dále s tím, že když R₃ znamená hydroxylovou skupinu, X znamená vodík, a jejich farmaceuticky použitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se na racemický aglykol obecného vzorce II



(II)

v němž

R_1 a R_2 mají shora uvedený význam, působí chráněným halogencukrem obecného vzorce III



(III)

v němž

Y znamená halogen, výhodně chlor, a

R_6 a R_7 znamenají nezávisle na sobě vodík nebo trifluoracetoxykupinu s tím, že neznamenají současně oba trifluoracetoxykupinu,

v bezvodém dichlormethanu v přítomnosti stříbrné soli trifluormethansulfonové kyseliny a dehydratačního činidla, přičemž se získají N,O- nebo N-trifluoracetylchráněné glykosidy, které se podrobí působení methanolu při teplotě místnosti, přičemž se získají dva diastereomerní N-trifluoracetylchráněné glykosidy, načež se chromatografií na sloupci silikagelu a za použití rozpouštědlového systému tvořeného směsí chloroformu a acetonu (6:1) vztaženo na objem oddělí žádané N-trifluoracetyl glykosidy vzorce I od svých 7,9-diepiderivátů, které vznikají současně během kondenzace, poté se N-trifluoracetyl deriváty vzorce I podrobí mírné alkalické hydrolýze působením 0,1N vodného roztoku hydroxidu sodného, přičemž se získají glykosidy vzorce I, v němž $R_3 = H$, ve formě volných bází, které se působením methanolickeho chlorovodíku izolují ve formě svých odpovídajících hydrochloridů a popřípadě se reakcí s bromem v chloroformu převedou na odpovídající 14-bromderiváty, které se konečně podrobí hydrolýze vodným mravenčanem sodným při teplotě místnosti, přičemž se získají glykosidy vzorce I, v němž $R_3 = OH$, ve formě volných bází, které se izolují ve formě odpovídajících hydrochloridů a získané sloučeniny se popřípadě převedou na své adiční soli s kyselinami.