

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 245284 B1

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **441126**

(22) Data zgłoszenia: **2022.05.09**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.11.13 BUP 46/2023**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.06.17 WUP 25/2024**

(51) MKP:

C07D 239/553 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA WARSZAWSKA, Warszawa, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

EWA MIRONIUK-PUCHALSKA,

Dębe Wielkie, PL

MARIOLA KOSZYTKOWSKA-STAWIŃSKA,

Dziechciniec, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Oliwia Czarnocka, Warszawa, PL

(54) Tytuł:

Koniugaty 5-fluorouracylu i kwasu dichlorooctowego oraz sposób ich otrzymywania

PL 245284 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są koniugaty 5-fluorouracylu i kwasu dichlorooctowego, związki o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym oraz sposób ich otrzymywania.

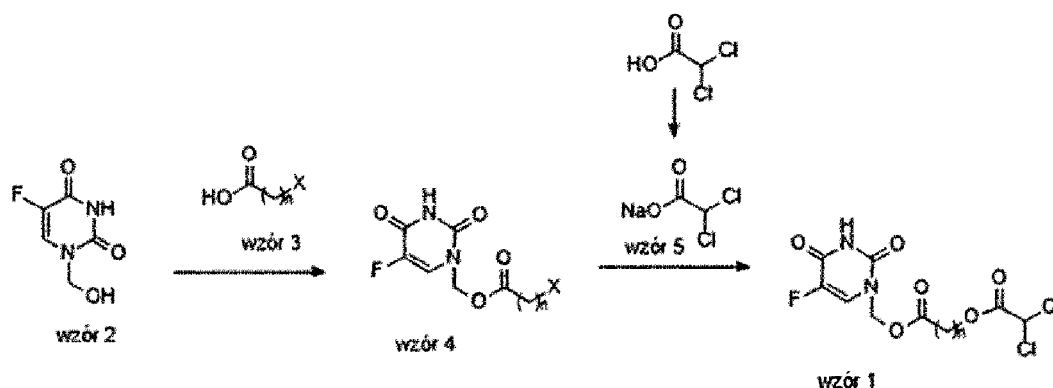
W stanie techniki znane są sposoby otrzymywania koniugatów 5-fluoro-1-(hydroksymetylo)uracyle w reakcji z różnymi związkami biologicznie czynnymi jak np.: floretyna (Chang C.-K., Chiu P.-F., Yang H.-Y., Juang Y.-P., Lai Y.-H., Lin T.-S., Hsu L.-C., Yu L.C.-H., Liang P.-H. *J. Med. Chem.* **2021**, 64, 4450), biotyna (Das S., Thakur H. K., Kunnumakkara A. B., Kundu L. M. *ChemistrySelect* **2021**, 6, 3256), w tym również ze związkami o działaniu przeciwnowotworowym jak np. cytarabina (Menger F. M., Rourk M. J. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 9083) czy osoplatyna (Zhang R., Song X.-Q., Liu R.-P., Ma Z.-Y., Xu J.-Y. *J. Med. Chem.* **2019**, 62, 4543).

W literaturze znane jest również zastosowanie pochodnych kwasu dichlorooctowego jako związków o działaniu przeciwnowotworowym (Kankotia S., Stacpoole P. W. *Biochimica et Biophysica Acta* **2014**, 617; Bazanova D.R, Maximova N. A., Seliverstova M. Yu., Zefirova N. A., Sosonyuka S. E., Lozinskaya N. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2021**, 57,1834).

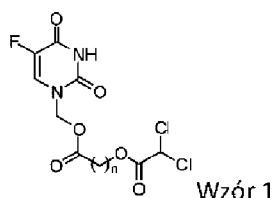
Do tej pory zsyntezowano kilka pochodnych kwasu dichlorooctowego o potwierdzonym działaniu przeciwnowotworowym (James M. O., Jahn S. C, Smeltz M. G., Hu Z., Stacpoole P. W. *Pharmacology & Therapeutics* **2017**, 170,166). Jednakże do chwili obecnej, w literaturze chemicznej nie ma danych na temat syntezy koniugatów 5-fluorouracylu i pochodnych kwasu dichlorooctowego.

Istnieje zatem potrzeba opracowania właściwej metody syntezy koniugatów 5-fluorouracylu i kwasu dichlorooctowego, zwłaszcza umożliwiającej syntezę selektywną tych związków, która będzie powtarzalna i przeprowadzana za pomocą standardowych odczynników chemicznych.

Nieoczekiwanie okazało się, że nowe koniugaty 5-fluorouracylu i kwasu dichlorooctowego o wzorze ogólnym 1, w którym n oznacza 1–5 grup metylenowych, można selektywnie, łatwo i wydajnie otrzymać w reakcji związku o wzorze 2 (Liu Z., Fullwood N., S. Rimer S., *Journal of Materials Chemistry*, **2010**, 10, 1777), ze związkiem o wzorze 3 prowadzonej wobec aminy alifatycznej w rozpuszczalniku aprotowym, w wyniku której otrzymuje się związek o wzorze 4, który po rozpuszczeniu w rozpuszczalniku aprotowym w reakcji ze związkiem o wzorze 5, prowadzonej w obecności jodku sodu daje związek o wzorze ogólnym 1.

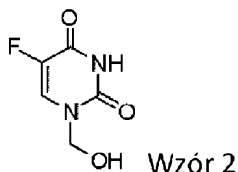


Przedmiotem wynalazku są więc koniugaty 5-fluorouracylu i kwasu dichlorooctowego o wzorze 1, w którym n oznacza 1–5 grup metylenowych

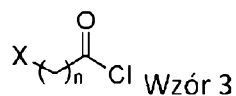


oraz sposób ich otrzymywania charakteryzujący się tym, że obejmuje kolejne etapy syntezy, gdzie:

- w etapie pierwszym związek o wzorze 2



poddaje się reakcji w temperaturze pokojowej ze związkiem o wzorze 3,

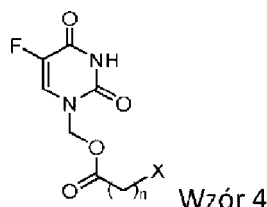


w którym n oznacza 1–5 grup metylenowych;

X oznacza atom chloru lub bromu,

przy czym reakcję prowadzi się w obecności aminy alifatycznej w rozpuszczalniku polarnym aprotowym, w atmosferze gazu obojętnego, w temperaturze 0°C, po czym rozpuszczalnik oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość rozpuszcza się w octanie etylu, obmywając frakcję organiczną kolejno wodą, 1% HCl, solanką, następnie warstwę organiczną suszy się, po czym rozpuszczalnik oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość oczyszcza się chromatograficznie, otrzymując związek o wzorze 4,

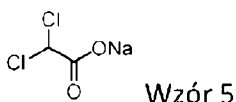
– w etapie drugim związek o wzorze 4



gdzie:

n oznacza 1–5 grup metylenowych; X oznacza atom chloru lub bromu,

rozpuszcza się w rozpuszczalniku polarnym aprotowym, i poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze 5 w obecności jodku sodu,



po czym mieszaninę reakcyjną przesącza się przez warstwę celitu z dodatkiem węgla aktywnego, a przesącz oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując oleistą pozostałość, którą po rozpuszczeniu w octanie etylu i odmyciu frakcji organicznej kolejno wodą, 1% HCl, solanką, suszy się, po czym rozpuszczalnik oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość oczyszcza się chromatograficznie, otrzymując związek o wzorze 1, przy czym wydajność sposobu wynosi powyżej 60%.

W sposobie według wynalazku jako aminę alifatyczną korzystnie stosuje się trietyloaminę. Natomiast jako rozpuszczalnik do reakcji w pierwszym etapie syntezy, korzystnie stosuje się acetonitryl. Z kolei jako rozpuszczalnik do reakcji w drugim etapie syntezy, korzystnie stosuje się aceton z dodatkiem DMF.

Korzystnie, sposób według wynalazku prowadzi się w obecności równomolowych ilości związków 2 do 5 lub w obecności nadmiaru molowego związku 2 do związku 3 albo związku 4 do związku 5, przy czym nadmiar związków 2 lub 4 nie przekracza 30% mol.

Wynalazek ilustruje następujący przykład wykonania.

Przykład 1

Sposób otrzymywania dichlorooctanu 2-((5-fluoro-2,4-diokso-3,4-dihydropirymidyn-1(2H)-yl)metoksy)-2-oksoetylu

Dichlorooctan sodu otrzymano w reakcji kwasu dichlorooctowego (1,92 g, 14,9 mmol) rozpuszczonego w mieszaninie THF-H₂O (4 ml-4 ml) z wodorowęglanem sodu (1,25 g, 14,9 mmol). Reakcję

prowadzono w temperaturze pokojowej przez 30 min. Następnie oddestylowano rozpuszczalnik na wyparce obrotowej, do otrzymanej pozostałości dodano toluen (10 ml), mieszano 2 min i ponownie oddestylowano rozpuszczalnik na wyparce obrotowej. Czynność powtórzono trzykrotnie. Otrzymany biały osad pozostawiono w eksykatorze do wysuszenia w obecności P_2O_5 (2,24 g wyd. ilościowa).

2-chlorooctan (5-fluoro-2,4-diokso-3,4-dihydropyrimidyn-1(2*H*)-ylo)metylu otrzymano w reakcji 5-fluoro-1-(hydroksymetylo)pyrimidyn-2,4(1*H*,3*H*)dionu (1,05 g) rozpuszczonego w suchym acetonitrylu (24 ml) schłodzonego do temperatury 0°C z chlorkiem chloroacetalu (1,09 g, 9,7 mmol) w obecności trietyloaminy (1,35 g, 9,7 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze 0°C przez 1 godz., a następnie w temperaturze pokojowej przez noc. Rozpuszczalnik oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość rozpuszczono w octanie etylu (80 ml) i przemyto kolejno: wodą (40 ml), 1% HCl (40 ml) i solanką (40 ml). Po wysuszeniu frakcji organicznej siarczanem magnezu i oddestylowaniu rozpuszczalnika pod zmniejszonym ciśnieniem, suchą pozostałość oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (chloroform-octan etylu; 95 : 5, v/v), otrzymując bezbarwny olej (1,32 g, 69%).

1H NMR (500 MHz, DMSO) δ_H (ppm): 12.01 (1H, bs), 8.3 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 5.56 (2H, s), 4.45 (2H, s); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ (ppm): 167.07, 157.41 (d, $J = 26$ Hz), 149.22, 139.49 (d, $J = 230$ Hz), 129.38 (d, $J = 34$ Hz), 71.54, 40.96; ESI-MS (m/z): obliczono dla $C_7H_7ClFN_2O_4$ $[M+H]^+$ 237.0073, wyznaczono 237.0073.

Do roztworu 2-chlorooctanu (5-fluoro-2,4-diokso-3,4-dihydropyrimidyn-1(2*H*)-ylo)metylu (143 mg, 0,60 mmol) w bezwodnym acetonie (4 ml) i dimetyloformamidzie (0,2 ml) dodano dichlorooctan sodu (91 mg, 0,60 mmol) i jodek sodu (18 mg, 0,12 mmol). Reakcję prowadzono w atmosferze argonu, w temperaturze pokojowej przez trzy dni. Rozpuszczalnik oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość rozpuszczono w octanie etylu (10 ml) i dodano węgiel aktywny (50 mg). Całość mieszano przez 15 min., a następnie przesączono przez Celit, oddestylowano rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (heksan-aceton, 4 : 1, v/v), otrzymując bezbarwne ciało amorficzne (153 mg, 74%).

1H NMR (500 MHz, DMSO) δ_H (ppm): 12.02 (1H, bs), 8.12 (1H, d, $J = 6.5$ Hz), 7.04 (1H, s), 5.70 (2H, s), 4.98 (2H, s); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 166.32, 164.18, 157.40 (d, $J = 26$ Hz), 149.18, 139.52 (d, $J = 230$ Hz), 129.52 (d, $J = 34$ Hz), 71.17, 64.35, 62.55; ESI-MS (m/z): obliczone dla $C_9H_8Cl_2FN_2O_6$ $[M+H]^+$ 328.9737, wyznaczone 328.9738.

Przykład 2

Sposób otrzymywania 6-(2,2-dichloroacetoksy)heksanianu (5-fluoro-2,4-diokso-3,4-dihydropyrimidyn-1(2*H*)-ylo)metylu

6-bromoheksanian (5-fluoro-2,4-diokso-3,4-dihydropyrimidyn-1(2*H*)-ylo)metylu otrzymano w reakcji 5-fluoro-1-(hydroksymetylo)pyrimidyn-2,4(1*H*,3*H*)dionu (2,32 g) rozpuszczonego w suchym acetonitrylu (25 ml) schłodzonego do temperatury 0°C z chlorkiem 6-bromoheksanoilu (2,22 g, 14,5 mmol) w obecności trietyloaminy (2,43 g, 14,5 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze 0°C przez 30 min., a następnie w temperaturze pokojowej przez noc. Rozpuszczalnik oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość rozpuszczono w octanie etylu (150 ml) i przemyto kolejno: wodą (50 ml), 1% HCl (50 ml) i solanką (50 ml). Po wysuszeniu frakcji organicznej siarczanem magnezu i oddestylowaniu rozpuszczalnika pod zmniejszonym ciśnieniem, suchą pozostałość oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (heksan-octan etylu; 10 : 1, 3 : 1, v/v), otrzymując biały osad (2,78 g, 50%).

1H NMR (500 MHz, DMSO) δ_H (ppm): 9.70 (1H, bs), 7.62 (1H, d, $J = 5.5$ Hz), 5.64 (2H, s), 3.39 (2H, t, $J = 7.0$ Hz); 2.41 (2H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.88–1.83 (2H, m), 1.69–1.63 (2H, m), 1.50–1.43 (2H, m); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ (ppm): 173.68, 157.18 (d, $J = 27$ Hz), 149.56, 140.31 (d, $J = 239$ Hz), 128.67 (d, $J = 34$ Hz), 69.81, 33.48, 32.30, 27.54, 23.74; ESI-MS (m/z): obliczono dla $C_{11}H_{15}BrFN_2O_4$ $[M+H]^+$ 337.0194, wyznaczono 337.0195.

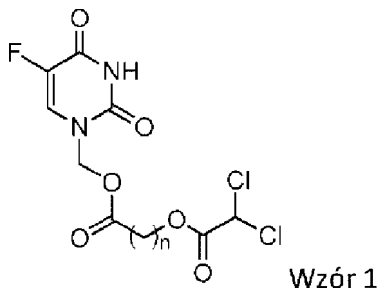
Do roztworu 6-bromoheksanianu (5-fluoro-2,4-diokso-3,4-dihydropyrimidyn-1(2*H*)-ylo)metylu (121 mg, 0,36 mmol) w bezwodnym acetonie (2 ml) i dimetyloformamidzie (0,2 ml) dodano dichlorooctan sodu (66 mg, 0,43 mmol) i jodek sodu (18 mg, 0,12 mmol). Reakcję prowadzono w atmosferze argonu, w temperaturze 50°C przez pięć dni. Rozpuszczalnik oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (dichlorometan-octan etylu, 100 : 1, v/v), otrzymując bezbarwny olej (93 mg, 67%).

1H NMR (500 MHz, DMSO) δ_H (ppm): 9.04 (1H, bs), 7.62 (1H, d, $J = 5.0$ Hz), 5.95 (1H, s), 5.64 (2H, s), 4.27 (2H, t, $J = 7.0$ Hz), 2.40 (2H, t, $J = 7.0$ Hz), 3.38–2.40 (4H, m), 1.38–1.50 (2H, m); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 173.59, 164.67, 157.21 (d, $J = 26$ Hz), 149.57, 140.30 (d, $J = 239$ Hz),

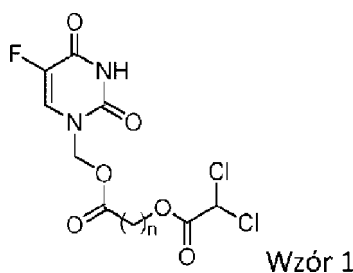
128.65 (d, $J = 34$ Hz), 69.87, 67.28, 64.41, 33.62, 27.97, 25.17, 24.04; ESI-MS (m/z): obliczone dla $C_{13}H_{16}Cl_2FN_2O_6$ $[M+H]^+$ 385.0363, wyznaczone 385.0364.

Zastrzeżenia patentowe

1. Koniugaty 5-fluorouracylu i kwasu dichlorooctowego o wzorze ogólnym 1, w którym n oznacza 1–5 grup metylenowych

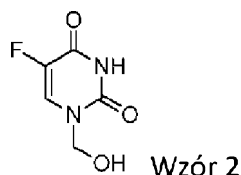


2. Sposób otrzymywania koniugatów 5-fluorouracylu i kwasu dichlorooctowego o wzorze ogólnym 1, w którym n oznacza 1-5 grup metylenowych

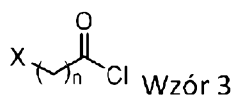


znamienny tym, że obejmuje kolejne etapy syntezy, gdzie:

- w etapie pierwszym związek o wzorze 2

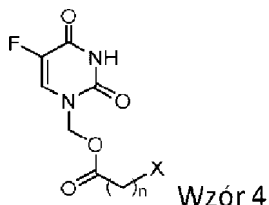


poddaje się reakcji w temperaturze pokojowej ze związkiem o wzorze 3,

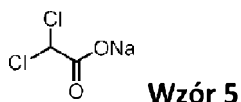


w którym n oznacza 1-5 grup metylenowych; X oznacza atom chloru lub bromu, przy czym reakcję prowadzi się w obecności aminy alifatycznej w rozpuszczalniku polarnym aprotowym, w atmosferze gazu obojętnego, w temperaturze 0°C , po czym rozpuszczalnik oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość rozpuszcza się w octanie etylu, obmywając frakcję organiczną kolejno wodą, 1% HCl, solanką, następnie warstwę organiczną suszy się, po czym rozpuszczalnik oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość oczyszcza się chromatograficznie, otrzymując związek o wzorze 4,

- w etapie drugim związek o wzorze 4,



w którym n oznacza 1–5 grup metylenowych; X oznacza atom chloru lub bromu, rozpuszcza się w rozpuszczalniku polarnym aprotowym, i poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze 5 w obecności jodku sodu,



po czym mieszaninę reakcyjną przesącza się przez warstwę celitu z dodatkiem węgla aktywnego, a przesącz oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując oleistą pozostałość, którą po rozpuszczeniu w octanie etylu i odmyciu frakcji organicznej kolejno wodą, 1% HCl, solanką, suszy się, po czym rozpuszczalnik oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymaną pozostałość oczyszcza się chromatograficznie, otrzymując związek o wzorze 1, przy czym wydajność sposobu wynosi powyżej 60%.

3. Sposób według zastrzeżenia 2, **znamienny tym**, że aminą alifatyczną jest trietyloamina.
4. Sposób według zastrzeżenia 2, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem polarnym aprotowym w pierwszym etapie syntezy jest acetonitryl.
5. Sposób według zastrzeżenia 2, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem polarnym aprotowym w drugim etapie syntezy jest aceton z dodatkiem DMF.
6. Sposób według któregokolwiek z zastrzeżeń 2–5, **znamienny tym**, że syntezę prowadzi się w obecności równomolowych ilości związków 2 do 5 lub syntezę prowadzi się w obecności nadmiaru molowego związku 2 do związku 3 albo związku 4 do związku 5, przy czym nadmiar związków 2 lub 4 nie przekracza 30% mol.