

POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 45700

Kl. 12 p, 11/01

National Research Development Corporation

Londyn, Wielka Brytania

Sposób wytwarzania toksyferyny — I i jej analogów

Patent trwa od dnia 15 października 1959 r.

Pierwszeństwo: 17 października 1958 r. dla zastrzeż. 1, 2, 7, 9, 10 i 11;

• 12 listopada 1958 r. dla zastrz. 3 i 4 (Wielka Brytania).

Alkaloid toksyferyna-I posiada podobne do kurary działanie przeciwskurczowe, przy czym, działaniu temu nie towarzyszy wywoływanie wymiotów ani inne niepożądane skutki powodowane przez kurarę, wskutek czego jest bardzo atrakcyjna w chirurgii.

Jedynym dotychczas znanym źródłem toksyferyny-I była kurara. Ponieważ jednak można ją było otrzymywać z kurary z nieznaczną wydajnością, osiągalne były zbyt nieznaczne ilości, żeby móc ją wykorzystać do ogólnego użytku.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nie tylko samej toksyferyny-I, lecz także jej analogów z otrzymywanych w dogodny sposób produktów pośrednich.

Stosowanymi związkami pośrednimi są według wynalazku sole, o wzorze ogólnym 1, w którym R oznacza węglowodór lub podstawioną grupę węglowodorową, np. n-propylową, etylową, hydroksyetylową, benzyłową lub cjanometylową, A^{-} oznacza anion, o wartościowości

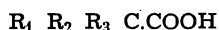
n , a R' oznacza atom wodoru lub grupę metoksyłową. Sole, w których R' oznacza atom wodoru otrzymuje się przez przeprowadzenie w czwartorzędowe związki aldehydu Wieland'a — Gumlich'a, podczas gdy sole, w których R' oznacza grupę metoksyłową otrzymuje się przez przeprowadzenie w związki czwartorzędowe odmiany metoloksylewej aldehydu Wieland'a — Gumlich'a.

Aldehyd Wieland'a — Gumlich'a otrzymuje się w znany już sposób z alkaloidu strychniny, a jego odmianę metoksyłową można otrzymać z podobnego do strychniny alkaloidu z brucyny w podobny sposób. Jednakże nawet wytwarzanie aldehydu Wieland'a — Gumlich'a ze strychniny obejmuje proces w około siedmiu stadiach, po których następuje przeprowadzenie go w związek czwartorzędowy i następne z kolei stadium, które będzie niżej opisane. Toksyferynę-I można jednakże otrzymywać ze strychniny poprzez odpowiedni związek po-

średni, znacznie ekonomiczniej niż dotychczas z kurary.

Sposób wytwarzania alkaloidu toksyferyny-I oraz jej analogu polega na reakcji produktu pośredniego z mocnym kwasem organicznym. Dobre wyniki otrzymuje się, działając kwasem octowym. Innymi mocnymi kwasami organicznymi, które można stosować, są inne alifatyczne kwasy karboksylowe, fenole, szczególnie kwas pikrynowy i inne nitrofenole, kwasy sulfonowe, związki enolowe i żywice wymienające aniony. Reakcja jest odwracalna i jeśli stosuje się kwasy mineralne sprzyjają one niekorzystnej odwracalności reakcji.

Stwierdzono, że właściwości stosowanego kwasu wpływają na dwa jednocześnie efekty reakcji, to znaczy oddziałują zarówno na wydajność alkaloidu (toksyferyny-I lub analogu) i na łatwość z jaką można otrzymać z mieszaniny reakcyjnej alkaloid w postaci oczyszczonej. Wykryto, że połączenie tych zjawisk można uczynić bardziej korzystnym, od wyników dawanych przez kwas octowy, przez stosowanie jednego z kwasów dwu- i trójalkilooctowych, to znaczy kwasów, odpowiadających wzorowi:



w którym R_1 i R_2 oznaczają grupy alkilowe, R_3 oznacza atom wodoru lub grupę alkilową, a szczególnie z tych kwasów, o powyższym wzorze, w których grupy alkilowe zawierają np. 1 — 4 atomów węgla. Możliwe, że zjawisko przeszkody przestrzennej grup podstawnikowych jest odpowiedzialne za ten wynik.

Stwierdzono np., że jeśli stosuje się kwas trójmetylooctowy (kwas piwalinowy) do wytwarzania toksyferyny-I, otrzymuje się alkaloid z wydajnością co najmniej 70%-wagowo w przeliczeniu na produkt pośredni, a zasadniczą frakcję można wyosobnić po prostu przez krystalizację. Jeśli stosuje się kwas octowy, wydajność jest znacznie niższa (23%-podano poniżej w przykładzie I) i wymagana jest chromatografia przed otrzymaniem alkaloidu w postaci krystalicznej.

W temperaturze otoczenia reakcja zachodzi nadzwyczaj wolno, pożądane jest więc prowadzić proces w temperaturze podwyższonej np. do 120° C. Stwierdzono, że temperatury około 90° C są bardzo odpowiednie i korzystne. Szybkość reakcji wzrasta przez dodanie rozpuszczalnika do produktu pośredniego i do tego celu odpowiednia jest woda. Jednakże, ponie-

waż woda ma dążność do wywoływania niepożądanych reakcji, należy stosować małą ilość, około 10% w stosunku do całkowitego ciężaru kwasu i wody.

Przeprowadzenie aldehydu Wieland'a — Gumlich'a lub jego odmiany metoksyłowej w związek czwartorzędowy osiąga się łatwo, stosując jako czynnik czwartorzędujący haloidek lub ester o wzorze R_nA , w którym A oznacza resztę, dostarczającą anion A^{n-} . Wśród czynników czwartorzędujących odpowiednimi są haloideki metylu, etylu i innych alkilów, szczególnie takie, które zawierają 3—5 atomów węgla w cząsteczce, siarczany dwualkilu, szczególnie siarczany dwumetylu, estry alkilowe aromatycznych kwasów sulfonowych, zwłaszcza p-toluenosulfonian metylu i ich analogi aryłowe i aralkilowe.

Jeśli to jest pożądane anion A^{n-} w związku pośrednim lub w utworzonym po czwartorzędowaniu alkaloidzie można wymienić z innym anionem wytwarzając odpowiedni, odmienny produkt pośredni lub alkaloid. Jest dogodne np. wytworzyć związek pośredni, w którym R oznacza grupę metylową, a A^{n-} oznacza jon chlorkowy przez czwartorzędowanie aldehydu jodkiem metylu i następną wymianę jonów jodkowych na jony chlorkowe, stosując żywicę jako wymieniacz jonowy.

Ponieważ toksyferyna-I jest związkiem otrzymywanym przez stosowanie związku pośredniego, w którym R oznacza grupę metylową, A^{n-} oznacza jon chlorkowy, R' oznacza atom wodoru, metoda syntezy opisana tutaj wskazuje, że toksyferyna-I, której budowa była dotychczas nieustalona, odpowiada wzorowi ogólnemu 2, w którym R' oznacza atomy wodoru, R oznacza grupy metylowe i A' oznacza dwa jony chlorkowe (dla których wartościowość $n = 1$). Dla analogów otrzymywanych sposobem według wynalazku jeden lub obydwa symbole R' i R posiadają różną wartość w obrębie zakresu poprzedniej definicji, a A' oznacza dwa jony chlorkowe lub inny składnik anionowy, posiadający poza tym równoważny ładunek ujemny.

Analogi toksyferyny-I otrzymywane sposobem według wynalazku są interesujące wskutek swych zmodyfikowanych czynności farmakologicznych w porównaniu z toksyferyną-I albo jako produkty odpowiednie do przemiany w toksyferynę-I lub w inne jej analogi.

Następujące przykłady, w których wszystkie ilości odnoszą się do ilości wagowych, podane są w celu wyjaśnienia wynalazku:

Przykład I. Aldehyd Wieland'a — Gumlich'a (Wieland i Kaziro, Annalen 1933, 506, 60) rozpuszczono w małej ilości metanolu i traktowano nadmiarem jodku metylu. Mieszaninę pozostawiono w ciągu nocy, w temperaturze pokojowej i odparowano do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostały metylojodek rozpuszczono w wodzie i przepuszczono przez kolumnę z żywicą jako wymienniczym jonowym znaną jako Amberlit IRA — 400, w postaci chlorku. Całość eluatu odparowano do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymany jako pozostałość metylochlorek przekrystalizowano w etanolu.

Metylochlorek (14,0 mg) ogrzewano w temperaturze 90°C w ciągu 16 godzin z kwasem octowym (1 cm³) w opróżnionej z powietrza zatopionej rurce. Kwas octowy usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość (13,7 mg) chromatografowano w kolumnie sproszkowanej celulozy z rozpuszczalnikiem układu „C”, opisanej przez Schmid'a, Kebrle'go i Karrer'a w Helv. Chim. Acta, 1952, 35, 1864 (zawierającym 3% metanolu). Eluowane frakcje badano chromatografią bibulową i na tej podstawie otrzymano 3 główne frakcje A, B i C.

Frakcję C (4,3 mg) chromatografowano ponownie w tych samych warunkach jak wyżej, otrzymując krystaliczną toksyferynę-I (3,2 mg, 23%), którą zidentyfikowano za pomocą barwnych reakcji, jej widma w nadfiolecie, temperatury topnienia i mieszanej temperatury topnienia z pikrynianem.

Frakcja A składa się z niezmiennego produktu wyjściowego razem z niektórymi szybko-przechodzącymi produktami rozkładu. Frakcja B składa się głównie z krystalicznego związku, którego widmo w nadfiolecie i reakcje barwne były identyczne jak u toksyferyny-I, lecz którego wartość R_f była większa niż toksyferyny-I.

Przykład II. Metylochlorek przeprowadzono w toksyferynę-I sposobem z przykładu I, stosując kwas masłowy zamiast kwasu octowego. W tym przypadku produkt odpowiadający frakcji B posiadał nawet większą wartość R_f .

Przykład III. Toksyferynę-I wytworzono z metylochorku przez działanie gorącym wodnym roztworem kwasu pikrynowego.

Przykład IV. Metylochlorek aldehydu Wieland'a — Gumlich'a (160 mg), wytworzony jak w przykładzie I, ogrzewano z kwasem piwalinowym (8 ml) w opróżnionej z powietrza

zatopionej rurce w temperaturze 120°C w ciągu 16 godzin. Po odparowaniu kwasu piwalinowego w próżni, pozostałość krystalizowano w etanolu i otrzymano czystą toksyferynę-I (54 mg), która okazała się jednorodną w badaniu chromatografią bibulową. Roztwory macierzyste przeprowadzono w pikrynian (137 mg), który po przekrystalizowaniu w wodnym acetonie dał pikrynian toksyferyny-I (110 mg), temperatura topnienia 184—186°C, który łatwo można przeprowadzić w toksyferynę-I, stosując kolumnę wymiennicza jonowego.

Na większą skalę można otrzymywać znacznie większą frakcję toksyferyny-I wprost przez krystalizację. W przyjętej skali objętość roztworu etanolowego byłaby niedogodna do operowania, próbowano więc wprost krystalizacji większej frakcji.

Przykład V. Metylochlorek aldehydu Wieland'a — Gumlich'a (100 mg) i kwas izomasłowy (5 ml) ogrzewano w opróżnionej z powietrza zatopionej rurce, w temperaturze 115°C, w ciągu 17 godzin. Kwas izomasłowy usunięto przez przemycie eterem. Stała pozostałość wykazała pojedynczą purpurową plamę na bibule chromatogramu, a przy krystalizacji w etanolu dała pierwszy rzut, w ilości 48 mg toksyferyny-I, identycznej z toksyferyną otrzymaną w poprzednich przykładach.

Przykład VI. Metylochlorek aldehydu Wieland'a — Gumlich'a (50 mg) i kwas 2-etyloheksanowy (2,5 ml) ogrzewano w opróżnionej z powietrza, zatopionej rurce w temperaturze 90°C w ciągu 17 godzin. Kwas usunięto przez przemycanie eterem. Pozostałość wykazała pojedynczą purpurową plamę, charakterystyczną dla toksyferyny-I, na bibule chromatogramu, po krystalizacji w etanolu otrzymano toksyferynę-I.

Przykład VII. Rozpuszczono aldehyd Wieland'a — Gumlich'a (2 g) w etanolu (20 ml) i dodano jodku etylu (2 ml). Po 4 godzinach w temperaturze pokojowej zebrano stały produkt i przemyto alkoholem i eterem, po czym rozpuszczono w mieszaninie wody (200 ml) i etanolu (100 ml) i przepuszczono przez kolumnę z Amberlitu IRA 400 w postaci chlorku. Pozostałość po odparowaniu roztworu do sucha przekrystalizowano w etanolu i otrzymano

drobne igły etylochorku $[\alpha]_D^{25} = 50,25^\circ$ ($c = 0,764$ w metanolu), dającego brunatną plamę, $R_f 0,11$ na bibule chromatogramu.

Powyższy etylochlorek (1 g) i kwas piwalino-

wy (30 ml) ogrzewano w atmosferze azotu w łaźni w temperaturze 95° w ciągu 17 godzin. Kwas piwalinowy oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, pozostałość przemyto eterem, po czym ogrzewano do wrzenia z izopropanolem. Nierozpuszczalny stały produkt (720 mg) dał na bibule chromatogramu pojedynczą purpurową plamę, o przebiegu 1,45 razy szybszym od toksyferyny-I. Przekrystalizowanie w etanolu dało bezbarwne igły dwuchloru dwuetylonortoksyferyny-I który na powietrzu

tworzy pięciowodzian, wykazuje on $[\alpha]_D^{22} = -444,7^\circ$ ($c = 0,340$ w wodzie), a widmo absorpcyjne w podczerwieni bardzo podobne do widma toksyferyny-I.

Przykład VIII. Aldehyd Wieland'a — Gumlich'a (3,65 g) rozpuszczono w n-propanolu (36,5 ml), dodano jodku n-propylu (3,6 g) i mieszaninę pozostawiono w temperaturze pokojowej w ciągu 20 godzin. Stały produkt zebrano i przemyto n-propanolem i acetonem, po czym zawieszono w mieszaninie wody (50 ml) i metanolu (50 ml) i mieszano z Amberlitem IRA 400 w postaci chlorku (20 g) aż biały produkt stały rozpuścił się. Roztwór przepuszczono przez kolumnę z żywicy i odparowano do sucha. Pozostałość przekrystalizowano w wodzie i otrzymano pryzmatyczne igły n-propylochorku aldehydu Wieland'a — Gumlich'a, R_f 0,14.

Propylochlorek (300 mg), kwas piwalinowy (9 ml) i wodę (1 ml) ogrzewano razem w temperaturze 100–105°C w atmosferze azotu w ciągu 17 godzin. Kwas piwalinowy oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość ogrzewano do wrzenia z etanolem (10 ml). Nierozpuszczalny stały produkt (nieprzereagowany produkt wyjściowy) odsączono, a przesącz odparowano do sucha. Pozostałość ogrzewano do wrzenia z izopropanolem, nierozpuszczalną część zebrano: przekrystalizowano w etanolu, nieco więcej nieprzereagowanego produktu wyjściowego usunęto przez przesączenie gorącego roztworu etanolowego. Wykryształizowany stały produkt przekrystalizowano w etanolu i otrzymano małą ilość lekko różowych igieł dwuchloru dwu-n-propylonortoksyferyny-I, który posiada charakterystyczne podobne do toksyferyny, widmo absorpcyjne w podczerwieni i wykazał, że jest produktem jednorodnym, za pomocą chromatografii bibułowej (R_f 0,04).

Przykład IX. Aldehyd Wieland'a — Gumlich'a (4,45 g) w etanolu (44,5 ml) dodano do bromohydryny etylenowej (4,5 ml) i mieszaninę

pozostawiono w temperaturze pokojowej w ciągu 40 godzin. Stały produkt, który się wydzielił, zebrano i przemyto etanolem i acetonem. Rozpuszczono w wodzie i przepuszczono przez kolumnę z Amberlitem IRA w postaci chlorku. Roztwór odparowano do sucha w próżni, a pozostałość przekrystalizowano w etanolu. Otrzymano β -hydroksyetylochlorek aldehydu Wieland'a — Gumlich'a w postaci drobnych igieł (R_f 0,07).

Część hydroksyetylochorku (500 mg) i kwas piwalinowy (15 ml) ogrzewano w atmosferze azotu w temperaturze 110°C w ciągu 18 godzin. Kwas piwalinowy usunięto przez destylację pod zmniejszonym ciśnieniem (chromatografia bibułowa surowej mieszaniny cztery niebieskie i purpurowe plamy i także nieprzereagowany produkt wyjściowy). Pozostałość ogrzewano do wrzenia z izopropanolem, przesączono i przesącz pozostawiono w temperaturze 0°C. Wytrąciły się drobne igły (24 mg) dwuchloru dwu- (β -hydroksyetylo)-nortoksyferyny-I, który dawał pojedynczą purpurową plamę na bibule chromatogramu i posiadał podobne do toksyferyny-I widmo adsorpcyjne w podczerwieni.

Drugą część hydroksyetylochorku (100 mg) i kwasu izomasłowego (5 ml) ogrzewano w opróżnionej z powietrza i zatopionej rurce, w temperaturze 105°C w ciągu 17 godzin. Kwas izomasłowy usunięto przemywając eterem, a pozostałość (dająca 2 purpurowe plamy na bibule chromatograficznej) przekrystalizowano w etanolu. Otrzymano drobne igły (10 mg) identyczne z toksyferyną, otrzymaną przy pomocy kwasu piwalinowego.

Przykład X. Cyjanometylochlorek aldehydu Wieland'a — Gumlich'a wytworzono przez reakcję aldehydu Wieland'a — Gumlich'a w etanolu z chloroacetonitrylem w temperaturze pokojowej, w ciągu 20 godzin. Wykryształizował w metanolu w postaci piórkowatych igieł (R_f około 0,35).

Cyjanometylochlorek (50 mg) i kwas izomasłowy (12,5 ml) ogrzewano w opróżnionej z powietrza, zatopionej rurce w temperaturze 115°C w ciągu 17 godzin. Kwas izomasłowy oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość (dająca na bibule chromatogramu główną purpurową plamę R_f 0,04 i słabiej i mocniej występujące plamy) przekrystalizowano. Bezbarwne igły wykazały purpurową plamę R_f 0,04 ze śladem purpurowej plamy na początku na bibule chromatogramu i miały podobne do toksyferyny widmo absorpcyjne w podczer-

wieni. Był to prawie czysty dwuchlorek dwu-
(cyjanometylo)-nortoksyferyny-I.

Przykład XI. Aldehyd Wieland'a — Gumlich'a (2,4 g) reagował w etanolu (24 ml) z chlorkiem benzylu (2,4 ml) w temperaturze pokojowej w ciągu 19 godzin, otrzymano benzylochlorek aldehydu Wieland'a — Gumlich'a, który krystalizował z wody w małych przy-
mach, o temperaturze topnienia 251°C (z roz-
kładem).

Benzylochlorek (500 mg) ogrzewano z kwa-
sem piwalinowym (13,5 ml) i wodą (1,5 ml) w atmosferze azotu w temperaturze 95°C w ciągu 18 godzin. Po destylacji w próżni kwa-
su piwalinowego, pozostałość rozpuszczono w etanolu (10 ml), dokładnie oziębiono i prze-
sączono. Przesącz odparowano do sucha, pozos-
tałość ogrzewano z izopropanolem, roztwór
przesączono i pozostawiono do krystalizacji. Otrzymano dwuchlorek dwubenzylonortoksy-
feryny-I, dający pojedynczą purpurową plamę
(R_F 0,08) na bibule chromatogramu i o właści-
wościach absorpcyjnych toksyferyny w podczer-
wieni.

Chromatogramy bibułowe z powyższych przy-
kładów były przeprowadzane na bibule What-
man'a Nr 1 z nasycenym wodą metyloetyloke-
tonem + 1,5% metanolu, jako rozpuszczalnik.
Plamy wywoływano 1% roztworem siar-
czanu cerowego w 2n — kwasie siarkowym.

Produkty z przykładów VII i XI wykazują
działanie podobne do działania toksyferyny-I,
jeśli bada się na myszach. Poziom aktywności
zmienia się znacznie w zależności od analogu.
W niektórych przypadkach trudno porównać
aktywność analogu z aktywnością toksyfery-
ny-I, lecz mając wzgląd na ogromną aktywność
toksyferyny-I uznano aktywność analogów za
dostateczną.

Produkty zawierające chlorowec i inne anio-
ny, różne od anionów z przykładów, otrzymuje
się takimi samymi sposobami lub przez wy-
mianę anionu w produkcie końcowym.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania toksyferyny-I i jej
analogów, znamieny tym, że sól, o wzorze

ogólnym 1, w którym R oznacza grupę wę-
głowodorową, lub podstawioną grupę węgło-
wodorową, A^{n-} oznacza anion, o wartości-
wości n , a R' oznacza atom wodoru lub
grupę metoksyłową poddaje się reakcji
z mocnym kwasem organicznym.

2. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym,
że stosuje się kwas octowy.
3. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym,
że stosuje się kwas dwu- albo trójalkilo-
octowy.
4. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym,
że stosuje się kwas piwalinowy.
5. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym,
że stosuje się kwas izomaskowy.
6. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym,
że stosuje się kwas 2-etyloheksanowy.
7. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym,
że stosuje się sól w której wzorze ogólnym
(1) R oznacza grupę n-propylową, etylową
lub benzylową.
8. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym,
że stosuje się sól w której wzorze ogólnym
(1) R oznacza grupę hydroksyetylową lub
cyjanometylową.
9. Sposób według zastrz. 1-8, znamieny tym,
że stosuje się sól, w której wzorze ogólnym 1
 A^{n-} oznacza jon chlorkowy.
10. Sposób według zastrz. 1-9, znamieny tym,
że reakcję prowadzi się w temperaturze
do 120°C .
11. Sposób według zastrz. 10, znamieny tym,
że reakcję prowadzi się korzystnie w tem-
peraturze $90-120^{\circ}\text{C}$.
12. Sposób według zastrz. 1-11, znamieny
tym, że stosuje się kwas w obecności 10%
wody w stosunku do całkowitego ciężaru
kwasu i wody.

National Research
Development Corporation

Zastępca: mgr Tadeusz Szczepanik
rzecznik patentowy

