

(19) HU
MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

B

A bejelentés napja: (22) 1982. 09. 17. (21) 2977/82

A bejelentés elsőbbsége: (32) 1981. 09. 18. (31) (8128252)
(33) Nagy-Britannia

Közzététel napja (41) (42) 1984. 03. 28.

Megjelent: (45) 1987. 11. 09.

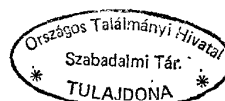
(11)

186971

Nemzetközi
osztályjelzet:

(51)
NSzO₄

C 07 H 15/24



(72) Feltalálók:

CASSINELLI Giuseppe, vegyész, Voghera (Milánó),
ARCAMONE Federico, vegyész, Nerviano (Milánó),
CASAZZA Anna Maria, vegyész, Milánó, Olaszország

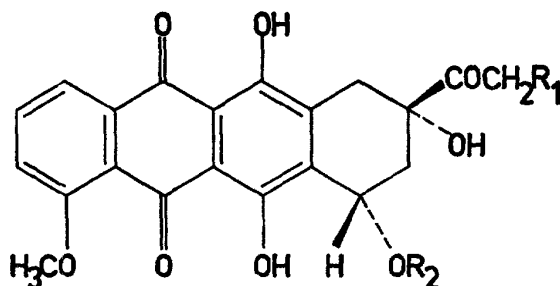
(73) Szabadalmaz:

Farmitalia Carlo Erba S.p.A.,
Milánó, Olaszország

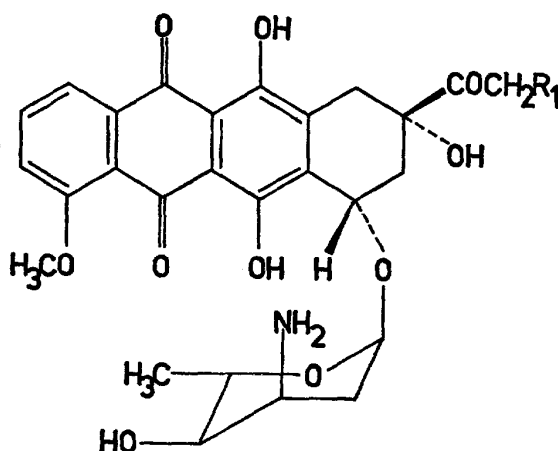
(54) ELJÁRÁS GLÜKOZID-ANTRACIKLIN-SZÁRMAZÉKOK 3'-DEZAMINO-ANALÓGJAINAK ÉS AZ AZOKAT TARTALMAZÓ ANTIBIOTIKUMOKNAK AZ ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57 kivonat)

A találmány tárgya eljárás (I) általános képletű új glükózid-antraciklin származékok — ahol R_1 jelentése hidrogénatom vagy hidroxil csoport, R_2 jelentése a (II) vagy (III) képletű — L — piranozil csoport — és az ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására, oly módon, hogy a (IV) általános képletű kiindulási vegyületek vizes oldatát 0 °C-on 3—4 órán keresztül nátrium-nitráttal és 1 N vizes ecetsav-oldattal kezeljük, és a kapott (I) általános képletű dezaminált glükózidkeveréket szilikagél oszlopon kromatográfiásan szétválasztjuk. Az (I) általános képletű új glükózid-antraciklin származékok számottevő tumorgátló hatást mutatnak.



(I)



A találmány tárgya eljárás új glükozid-antraciklin antibiotikumok és az ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására. A találmány szerinti eljárással előállított új vegyületek a daunorubicinnal és a doxorubicinnal vannak rokonságban.

A daunorubicin és a doxorubicin ismert és használt antibiotikumok, és a találmány szerinti eljárás kiindulási anyagai, a 3',4'-diepi-daunorubicin és a 3',4'-diepi-doxorubicin szintén ismert, a 4 112 076 számú USA-beli szabadalmi leírásban leírt vegyületek.

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű új antraciklin-glükozidok — ahol R_1 jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport, és R_2 jelentése a (II) vagy (III) képletű — L-piranozilcsoport — előállítására.

Ezek az antraciklin-glükozidok neutrális glükozid-csoportot, így 2,3,6-tridezoxi- α -L-glicero-hexapiranozid-4-urozil [α -L-cinerulozil, (II)], vagy 2,6-didezoxi- α -L-arabino-hexapiranozid (III) tartalmaznak, és az alább felsoroltak szerint nevezzük őket:

1. 3'-dezamino-4'-dehidro-daunorubicin (I): R_1 jelentése hidrogénatom, R_2 jelentése (II) csoport; a későbbiekben ezt I—A vegyületnek nevezzük);
2. 3'-dezamino-3'-hidroxi-4'-epi-daunorubicin [(I): R_1 jelentése hidrogénatom, R_2 jelentése (III) csoport; a későbbiekben ezt I—B vegyületnek nevezzük];
3. 3'-dezamino-4'-dehidro-doxorubicin (I): R_1 jelentése hidroxilcsoport, R_2 jelentése (II) csoport; a későbbiekben ezt I—C vegyületnek nevezzük];
4. 3'-dezamino-3'-hidroxi-4'-epi-doxorubicin [(I): R_1 jelentése hidroxilcsoport, R_2 jelentése (III) csoport, a későbbiekben ezt I—D vegyületnek nevezzük).

A találmány szerinti eljárással előállított új antraciklin — glükozidokat a (IV) általános képletű — ahol R_1 jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport — 3',4'-diepi-daunorubicinből és 3',4'-diepi-doxorubicinből állítjuk elő. Mindkét vegyület ismert antraciklin-glükozid, amelyeket a fent említett 4 112 076 számú USA-beli szabadalmi leírás ismertet.

A találmány szerinti eljárás új vegyületeit úgy állítjuk elő, hogy a (IV) általános képletű antraciklin-glükozidokat — amelyekben egy axiális aminocsoport egy ekvatoriális hidroxilcsoport szomszédságában helyezkedik el — dezamináljuk, és egy diazotizált intermedier keletkezése után a C—4' pozícióból kiinduló hidrid elvándorlás eredményeképpen megkapjuk az I—A és I—C vegyületeket és a C—3' pozícióban egy egyszerű nukleofil víztámadás eredményeképpen pedig megkapjuk az I—B és I—D vegyületeket.

A dezaminálási reakciót előnyösen nátrium-nitrittel hideg vizes-savas közegben hajtjuk végre, de nitrogéntrioxiddal vagy alkil-nitritekkel hidegvizes vagy alkoholos közegben, szintén végrehajtható a reakció.

A találmány szerinti új antraciklin-glükozidok tumorgátló hatást mutatnak. Különösen a 3'-dezamino-3'-hidroxi-4'-epidoxorubicin (I—D) mutat jelentős tumorgátló hatást egereken vizsgálva.

A találmány tárgyát képezi továbbá a találmány szerinti eljárással előállított új, (I) általános képletű vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítása, oly módon, hogy az (I) általános képletű antraciklin-glükozidokat gyógyászati alkalmazható hígító vagy hordozóanyagokkal keverjük.

Az alábbi példák a találmány szerinti eljárást illusztrálják, anélkül, hogy az általános körtekeztetéseket korlátoznánk.

1. példa

3'-dezamino-4'-dehidro-daunorubicin (I—A) és 3'-dezamino-3'-hidroxi-4'-epi-daunorubicin (I—B)

- 5 0,55 g (1 mmól) 3',4'-Diepi-daunorubicin hidroklorid (IV, $R_1=H$) 25 ml vízben készített oldatát 0 °C-ra hűtjük, majd 0,72 g (7,5 mmól) nátrium-nitritet és 7,5 ml 1 N vizes ecetsavat adunk hozzá, körülbelül 20 perc alatt, részletekben, keverés közben, olyan sebességgel, hogy a hőmérséklet ne emelkedjen 0 °C fölé. Három óra hosszat 0 °C hőmérsékleten tartjuk a vörös színű csapadékot tartalmazó reakcióelegyet, majd ezután szobahőmérsékletre melegítjük. A salétromossav felesleg eltávolítása céljából nitrogéngázt buborékolatunk keresztül az oldaton, majd kloroformmal extraháljuk. A kloroformos extraktumot vízzel mossuk, vízmentes nátriumsulfát felett szárítjuk, kis térfogatra bepároljuk, majd szilikagél oszlopon kromatografáljuk. Az oszlopot kloroformmal eluálva amorf szilárd anyagként megkapjuk a 3'-dezamino-4'-dehidro-daunorubicint (I—A).

Olvadáspont: 143—144 °C (bomlás).

($\alpha_D^{25} = +190^\circ$ ($c = 0,05$ metanolban).

- 25 UV és VIS spektrumok: $\lambda_{\max}^{OH,OH}$ 235, 253, 290, 480, 496 és 530 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 808, 557, 188, 236, 242 és 143).
Tör-deszorpciós tömegspektrum: m/z 510 (M^+); 398 és 562. 1H NMR spektrum ($CDCl_3$):

1,36 (d, $J=6,5$ Hz, 3H, CH_3-5'); 1,70—2,40 (m, 6H, $H-8$, $H-2'$, $H-3'$); 2,41 (s, 3H, $COCH_3$); 2,97 (d, $J=19,5$ Hz, 1H, $H-10_{ax}$); 3,25 (dd, $J=19,5$ Hz, 1H, $H-10_{eq}$); 4,09 (s, 3H, OCH_3); 4,40 (q, $J=6,5$ Hz, 1H, $H-5'$); 4,62 (s, 1H, $OH-9$); 5,41 (m, 1H, $H-7$); 5,67 (t, $J=6,0$ Hz, 1H, $H-1'$); 7,30—8,10 (m, 3H, aromás protonok); 13,29 14,01 δ (2s, 2H, $OH-6$, $OH-11$).

- 35 Az oszlopot 97 : 3 arányú kloroform: aceton elegygel tovább eluálva, megkapjuk a 3'-dezamino-3'-hidroxi-4'-epi-daunorubicint (I—B).

Olvadáspont: 165—170 °C (bomlás).

($\alpha_D^{25} = +350^\circ$ ($c = 0,025$, metanolban).

- 40 UV és VIS spektrumok: $\lambda_{\max}^{OH,OH}$ 235, 254, 290, 480, 496 és 530 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 714, 509, 154, 226, 231$ és 142).

Tör-deszorpciós tömegspektrum: m/z 528 (M^+); 398, 362. 1H NMR spektrum ($CDCl_3$):

- 45 1,36 (d, $J=6$, OH, 3H, CH_3-5'); 1,60—240 (m, 4H, $H-8$, $H-2'$); 2,41 (s, 3H, $COCH_3$); 2,86 és 3,30 (2d, $J=19\text{Hz}$) 2H, $H-10$); 3,5—4,0 (m, 2H, $H-3'$, $H-4'$); 4,07 (s, 3H, OCH_3); 4,65 (m, 1H, $H-5'$); 5,25 (m, 1H, $H-7$); 5,48 (m, 1H, $H-1'$); 7,30—8,10 (m, 3H, aromás protonok), 13,26, 13,98 δ (2s, 2H, $OH-6$, $OH-11$).

2. példa

3'-dezamino-4'-dehidro-doxorubicin (I—C) és 3'-dezamino-3'-hidroxi-4'-epi-doxorubicin (I—D)

- 60 A cím szerinti vegyületek (I—C) és (I—D) előállítását 3',4'-diepi-doxorubicinből [(IV): $R_1=OH$] kiindulva az 1. példában leírtak szerint végezzük.

A 3'-dezamino-4'-dehidro-doxorubicin (I—C) vörös színű porszerű vegyület.

Olvadáspont: 140 °C (bomlás).

$(\alpha)_D^{20} = +145^\circ$ ($c=0,046$, metanolban).

UV és VIS spektrumok: $\lambda_{\max}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 235, 254, 290, 480, 496 és 530 nm/ $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 690, 490, 190, 228, 230, 140).

Tér-deszorpciós tömegspektrum: m/z 526 (M^+), 414, 336. ^{13}C NMR spektrum (CDCl_3):

14,9 (C-6'); 27,6 (C-2'); 33,1 (C-3'); 33,9 (C-10); 35,9 (C-8); 56,6 (O-CH₃); 65,4 (C-14); 68,9 (C-7); 71,3 (C-5'); 76,6 (C-9); 100,3 (C-1'); 118,5 (C-3); 119,8 (C-1, C-4a); 133,7 (C-6a, C-10a, C-12a); 135,8 (C-2); 155,6 (C-11); 156,1 (C-6); 161,0 (C-4); 186,9 (C-5, C-12); 210,3 (C-4') és 213,9 δ (C-13).

Hasonló módon, a kapott 3'-dezamino-3'-hidroxi-4'-epi-doxorubicint (I—D) is vörös színű, porszerű vegyületként kapjuk meg.

Olvadáspont: 176—180 °C (bomlás).

$(\alpha)_D^{20} = +28^\circ$ ($c=0,046$, metanolban).

UV és VIS spektrumok: $\lambda_{\max}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 235, 254, 290, 480, 496, és 532 nm.

$(E_{1\text{cm}}^{1\%}) = 674, 478, 186, 223, 228$ és 148).

Tér-deszorpciós tömegspektrum: m/z 544 (M^+) 414, 378, 336.

^{13}C NMR spektrum ($\text{CD}_3\text{OD} : \text{CDCl}_3$, 1 : 1 térfogatarány):

17,8 (C-6'); 33,9 (C-10); 36,3 (C-8); 3,80 (C-2'); 57,0 (OCH₃); 65,4 (C-14); 68,8 (C-7); 69,8 (C-3', C-4'); 77,0 (C-9); 77,9 (C-5'); 101,4 (C-1); 119,3 (C-3, C-4a); 120,3 (C-1); 134,3 és 135,8 (C-6a, C-10a, C-12a); 136,5 (C-2); 155,7 (C-6, C-11); 161,6 (C-4); 187,3 (C-12); 187,6 (C-5) és 214,2 δ (C-13).

A találmány szerinti eljárással előállított új antra-ciklin-glükozidok citotoxikus aktivitását He La sejteken in vitro vizsgáltuk. A vegyületekkel való kezelés ideje 24 óra. Daunorubicinnal és doxorubicinnal összehasonlítva, az eredmények az alábbi táblázatban láthatók:

1. táblázat

Vegyület	ID ₅₀ (ng/ml)
Daunorubicin HCl	12
I—A vegyület	350
I—B vegyület	60
Doxorubicin—HCl	11
I—C vegyület	40
I—D vegyület	25

A találmány szerinti eljárással előállított új vegyületek némelyike P-388 és L 1210 patkány leukémiára gyakorolt hatását vizsgálva, sokkal jobb eredményeket mutatott, mint a daunorubicin és a doxorubicin, különösen orális adagolásban. A vegyületek különféle patkány leukémiákkal szemben mutatott antitumor aktivitását az alábbi 2., 3. és 4., táblázatban mutatjuk be.

2. táblázat

P 388 leukémiával szemben mutatott antitumor aktivitás 1 napig tartó ip. kezelés

⁵	Vegyület	dózis (mg/kg)	T/C ^d %	LTS ^b	Toxikus halál ^c	
10	Daunorubicin ^d	2,9	170, 150,	0/9, 0/10	0/9, 0/10	
		4,4	154, 150,	0/8, 0/9, 0/10	2/8, 3/9, 0/10	
		6,6	155, 145,	0/8, 0/9, 0/10	7/8, 5/9, 0/10	
		15	160			
20	I—A vegyület ^d	30,8	109	0/8	0/8	
		30	127	0/8	0/8	
		60	160,	0/3, 0/10	0/3, 2/10	
		165				
25	Doxorubicin ^e	4,4	170	0/10	0/10	
		6,6	160	0/10	6/10	
		I—B vegyület ^e	15	180	0/5	0/5
		20	290	0/5	0/5	
30	Doxarubicin ^e	26	160	0/5	3/5	
		4,4	225	0/8	0/8	
		6,6	290	1/8	0/8	
		10	300	2/8	0/8	
35	I—C vegyület ^e	10	170	2/10	0/10	
		15	180	0/8	0/8	
		22,5	210	0/8	0/8	
		33,7	230	1/8	0/8	
40	Doxorubicin ^f	4,4	245, 223	0/10, 0/10	0/10, 0/10	
		6,6	255, 258	1/10, 0/10	0/10, 0/10	
		10	345, 282	2/10, 1/10	0/10, 0/10	
		45				
50	I—D vegyület ^f	6,6	250	1/10	0/10	
		10	290	3/10	0/10	
		15	290	3/10	0/10	
		15	> 630, > 658	6/10, 6/10	0/10, 1/10	
		22,5	> 630, > 658	9/10, 5/10	0/10, 2/10	
		33,7	194	3/10	5/10	
55		50,5	76	1/10	7/10	

a = Közepes túlélési idő; a kezeletlen kontrollokat meghaladó %

b = Hosszú ideig túlélők (> 60 nap)

c = Az elhullott egerek boncolása alapján kiértékelve

d = Három kísérlet adatai

e = 10 % Tween 80-ban oldva

f = Vízen oldva vagy szuszpendálva; két kísérlet adatai

3. táblázat

Az I—D vegyületek hatása egér leukémiára

Tumor	A tumor-kiváltó szer beadási módja	Kezelés				T/C ^d %	LTS ^b	Toxikus halál ^c
		módja	ideje (nap)	vivő- anyag	vegyület	dózis (mg/kg)		
Gross	iv.	iv.	1	H ₂ O	Doxorubicin	10	200	0/8
						13	241, 275	0/18
						16,9	233, 175	1/18
					I—D vegyület	13,3	183	0/7
						26,6	225	0/8
	iv.	orális	1	Tween ^w	I—D vegyület	39,9	250	0/8
						26	133	0/7
						33,9	158	0/10
						44	158	0/10
						44	158	0/10
L1210	ip.	ip.	1	Tween ^e	Doxorubicin	4,4	166	0/10
						6,6	166	0/10
						10	177	3/10
					I—D vegyület	8,8	600	3/6
						13,3	505	3/8
						20	238	0/8
	iv.	iv.	1	Tween ^e	Doxorubicin	10	157	0/10
						13	178	0/10
						16,9	185	0/10
					I—D vegyület	13,3	185	0/9
						10	264	0/9
						30	600	3/8

a, b, c: lásd a 2. táblázatot; d: két kísérlet adatai; e: 10% Tween 80 vízben

4. táblázat

Az I—C vegyület hatása Gross-leukémiára

	Vivőanyag	Kezelési mód	Dózis (mg/kg)	T/C ^d %	LTS ^b	Toxikus halál ^c
Doxorubicin	Tween 80 ^d	iv	13 ^e	214, 275, 242	0/20	0/20
			16,9 ^e	228, 175, 250	1/28	8/28
I—C vegyület	Tween 80 ^d	iv	40 ^f	185, 250	0/17	2/17
			48	116	0/10	7/10
			57,6	116	0/10	10/10
I—C vegyület	Tween 80 ^d	orális	40	192	0/8	0/8
			48	200	0/8	0/8
			57,6	200	0/8	2/8

a, b, c: lásd a 2. táblázatban; d: lásd a 3. táblázatban; e: három kísérlet adatai; f: két kísérlet adatai

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás az I általános képletű — ahol R₁ jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport, R₂ jelentése pedig II vagy III képletű csoport — antraciklin-glükozidok előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a IV általános képletű 3',4'-diepi-daunorubicin-hidroklorid vagy 3',4'-diepi-doxorubicin-hidroklorid — ahol R₁ jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport — vizes oldatát 0 °C-on 3—4 órán keresztül nátrium-nitrítel

55 és 1N vizes ecetsav oldattal kezeljük, és a kapott I általános képletű dezaminált glükozid keveréket — ahol R₁ jelentése hidrogénatom, R₂ jelentése pedig II és III képletű csoport, vagy R₁ jelentése hidroxilcsoport, R₂ jelentése pedig II és III képletű csoport — szilikagél oszlopon kromatográfiásan szétválasztjuk.
60 2. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatosítási módja, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a szétválasztást először kloroformmal, majd kloroform-aceton 97 : 3 térfogatarányú elegyével való eluálással végezzük.

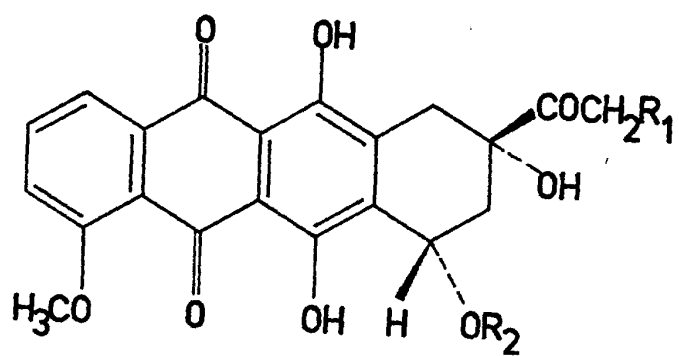
3. Eljárás tumorgátló hatású gyógyszerkészítmények előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy valamely, az 1. igénypont szerint előállított I általános képletű vegyületet — ahol R_1 és R_2 jelentése az 1.

igénypontban megadott — a gyógyászatban általánosan használt hordozó és/vagy segédanyagokkal összekeverve gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

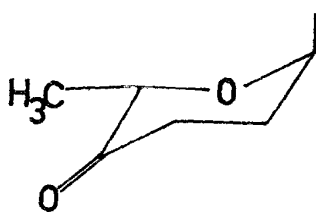
I oldal ábra

Kiadásért felel: a Közgazdasági és Jogi Könyvkiadó igazgatója

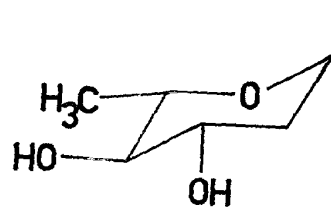
87.2596 — Kossuth Nyomda, Budapest. Felelős vezető: Bede István vezérigazgató



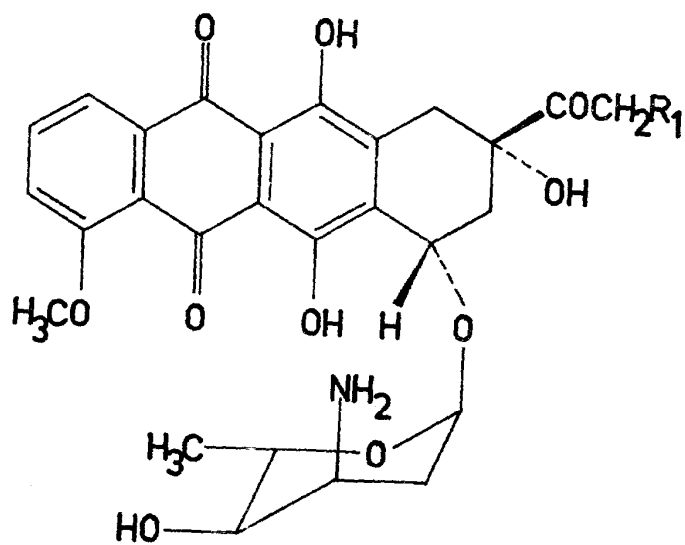
(I)



(II)



(III)



(IV)