

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2008.05.28	(73) Titular(es): INDENA S.P.A.	
(30) Prioridade(s):	VIALE ORTLES, 12 20132 MILANO	IT
(43) Data de publicação do pedido: 2009.12.02	(72) Inventor(es): BRUNO GABETTA	IT
(45) Data e BPI da concessão: 2010.12.22 038/2011	STEPHEN BESZANT	IT
	(74) Mandatário: MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA	
	AV LIBERDADE, Nº. 69 1250-148 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: **PROCESSO PARA A GLICOSIDAÇÃO DE COLCHICINA E TIOLCOLCHICINA**

(57) Resumo:

É REVELADO UM PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS QUE TÊM A FÓRMULA I, EM QUE: - R1 É UM GRUPO METOXI OU METILTIO; - R2 É UM RESÍDUO O-GLICOSILOXI. COMPOSTOS QUE TÊM A FÓRMULA I SÃO PREPARADOS FAZENDO REAGIR O PRECURSOR CORRESPONDENTE QUE TEM R2 = OH E A 1- ACETIL-GLICOSE PROTEGIDA ADEQUADAMENTE.

RESUMO**"PROCESSO PARA A GLICOSIDAÇÃO DE COLCHICINA E
TIOCOLCHICINA"**

É revelado um processo para a preparação de compostos que têm a fórmula I, em que:

- R₁ é um grupo metoxi ou metiltio;
- R₂ é um resíduo O-glicosiloxi.

Compostos que têm a fórmula I são preparados fazendo reagir o precursor correspondente que tem R₂ = OH e a 1-acetil-glicose protegida adequadamente.

DESCRIÇÃO

"PROCESSO PARA A GLICOSIDAÇÃO DE COLCHICINA E TIICOLCHICINA"

CAMPO TÉCNICO

A presente invenção revela um processo para a preparação de glicósidos de colchicina e tiicolchicina e seus derivados.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A colchicina (I, $R_1 = R_2 = \text{OMe}$) é um alcalóide amplamente utilizado há um longo tempo em terapêutica para o tratamento de gota. Além disso, a colchicina é um agente antiblástico muito potente que actua pelo bloqueio da formação do fuso mitótico na divisão celular; esta propriedade tem sido investigada detalhadamente para qualquer actividade antitumoral, e um grande número de derivados da colchicina têm sido preparados para este propósito. Colchicina e tiicolchicina (I, $R_1 = \text{SMe}$, $R_2 = \text{OMe}$) são os materiais de partida úteis para a preparação de uma série de fármacos activos.

3-O-Demetil-tiicolchicina glucósido, ou tiicolchicósido (I $R_1 = \text{SMe}$, $R_2 = \beta\text{-D-O-glucosilo}$) é um ingrediente activo de utilização notavelmente importante no campo farmacêutico, principalmente na terapêutica de doenças do sistema musculo-esquelético. 3-O-Demetilcolchicina glucósido, ou colchicósido (I $R_1 = \text{OMe}$, $R_2 = \beta\text{-D-O-glucosilo}$), é também conhecido e possui actividade farmacológica.

Portanto, seriam importantes métodos eficientes para a glicosidação de compostos do tipo colchicina, para facilitar a preparação de ambos os compostos e novos derivados para utilização na investigação farmacológica.

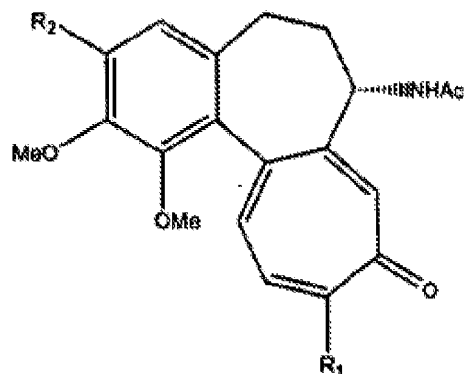
O documento FR 2112131 revela um processo para a glicosidação de tiocolchicina que compreende a reacção de brometo de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo com demetil-tiocolchicina. Este método é insatisfatório devido ao baixo rendimento e o tempo requerido para o processo é prolongado e articulado.

O documento US 5777136 descreve um processo de glicosidação que envolve a utilização de fluoretos de açúcar protegidos, em particular derivados protegidos de 1-fluoroglicose e 1-fluorofucose. O processo descrito, em particular, é restrito à preparação de derivados de 3-O-glucosilo ou 3-O-fucosilo de colchicina e tiocolchicina. Mesmo que os rendimentos descritos sejam satisfatórios, este método requer a preparação de derivados de açúcar activados adequadamente, isto é, fluoretos de açúcar, o que significa uma etapa adicional na síntese e na preparação e armazenamento de reagentes de estabilidade relativa.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

O processo da invenção baseia-se na utilização de derivados de 1-acetil-açúcar protegidos e em particular açúcares peracetilados em alternativa a 1-haloaçúcares, como agentes glicosilantes para substratos de colchicina ou tiocolchicina. Estes compostos estão entre os mais simples, baratos e definitivamente estáveis derivados de monossacáridos, e sua utilização é vantajosa para a síntese de glicosil-colchinóides.

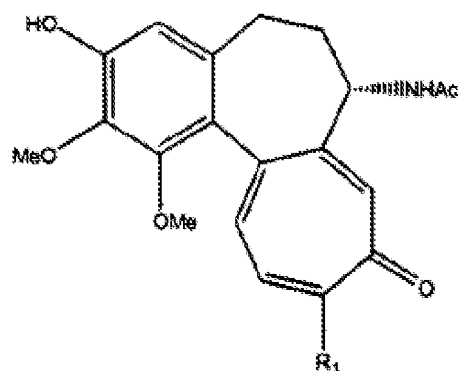
A invenção, portanto, refere-se a um processo para preparar compostos que têm a fórmula I:

**Fórmula I**

em que:

- R₁ é um grupo metoxi ou metiltio;
- R₂ é um resíduo O-glicosiloxi.

O processo para a preparação dos compostos de fórmula I compreende a reacção de um açúcar 1-acetilado protegido com um composto que tem a fórmula II:

**Fórmula II**

em que R₁ é como foi definido anteriormente, seguido pela clivagem de quaisquer grupos protectores presentes no resíduo glicosilo. 1-Acetil-glicoses são habitualmente protegidas por grupos éster, tipicamente grupos acetilo, assim a etapa final do processo da invenção é a retirada dos grupos acetilo protectores.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A invenção envolve a reacção de um 1-acetil-açúcar protegido com um composto que tem a fórmula II. O produto obtido é então submetido a clivagem dos grupos protectores presentes no resíduo de glicose para formar uma colchicina ou tiocolchicina glicósido que têm a fórmula I em que:

- R₁ é um grupo metoxi ou metiltio;
- R₂ é um resíduo O-glicosiloxi.

A reacção de glicosidação é preferentemente levada a cabo num solvente seleccionado de acetonitrilo, nitrometano, hidrocarbonetos halogenados e misturas dos mesmos. Prefere-se particularmente a utilização de acetonitrilo. A reacção é levada a cabo na presença de um ácido de Lewis, preferentemente trifluoreto de boro, durante um tempo que varia desde 15 minutos até 6 horas, preferentemente desde 30 minutos até 2 horas, a temperaturas desde 0°C até a temperatura de refluxo do solvente, preferentemente a temperatura ambiente, sob atmosfera inerte. A presença de uma base orgânica é também requerida para a reacção avançar. Prefere-se particularmente a utilização de 1,1,3,3-tetrametilguanidina. O processo da invenção tem a vantagem de ser estereosselectivo proporcionando somente um dos dois isómeros anoméricos possíveis. Em particular, no caso dos açúcares que pertencem à série glico (substituente C-2 equatorial, como em D-glicose, D-galactose e D-xilose) o isómero β -(1,2-trans) é obtido selectivamente. Com açúcares que pertencem à série mano (substituente C-2 axial, como em L-ramnose) como material de partida, o isómero α -(1,2-trans) é formado exclusivamente. A retirada dos grupos protectores pode ser realizada por meio de hidrólise básica em meio aquoso, especialmente quando o intermediário peracetil-glicósido não está isolado, ou por meio de deslocamento nucleofílico, por exemplo, com aminas secundárias tais como dimetilamina, dietilamina, pirrolidina, piperidina ou similares.

Um processo melhorado para a síntese do bem conhecido tiocolchicósido ou 3-O- β -D-glucopiranosil-3-O-demetiltiocolchicina é também um objecto específico da presente invenção.

O processo da invenção proporciona uma variedade de vantagens sobre os métodos conhecidos para a preparação de colchicina e tiocolchicina ou derivados dos mesmos. Estas vantagens incluem:

- o desvio da preparação de um reagente de glicosilo activado adequadamente, tal como o 1-halo-açúcar;
- a utilização de glicoses 1-acetil-protegidas estáveis e facilmente preparadas (por exemplo, peracetilglicoses);
- a possibilidade de cristalizar o produto final directamente da mistura de reacção bruta;
- a preparação de glicosilo colchinóides dificilmente obténíveis com os métodos da técnica anterior, tais como galactósidos, ramnósidos, etc.

EXEMPLOS

Os seguintes exemplos ilustram a invenção em mais detalhe.

1) Síntese de tiocolchicósido (3-O- β -D-glucopiranosil-3-O-demetiltiocolchicina)

3-O-demetiltiocolchicina (2,0 g) é suspensa em acetonitrilo (20 ml) sob atmosfera de azoto a temperatura ambiente, seguido por adição sequencial de 1,1,3,3-tetrametilguanidina (1,8 ml), uma solução de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glucopiranoose (5,60 g) em acetonitrilo (10 ml) e eventualmente trifluoreto de boro (7,2 ml).

A mistura de reacção é agitada a temperatura ambiente durante 2 horas, então é arrefecida até 5°C e inactivada pela adição de KOH 2 M a pH=6 (aproximadamente 20 ml). A camada aquosa é separada e extraída com acetonitrilo (10 ml). As camadas orgânicas combinadas são lavadas

sequencialmente com NaHSO_4 0,5 M (20 ml), NaHCO_3 a 6% (20 ml) e salmoura (20 ml).

O solvente é retirado sob vácuo e substituído com etanol a 95% (30 ml). NaOH 2 M (40 ml) é adicionado e a solução é agitada até a conclusão (aproximadamente 2 horas).

NaHSO_4 1 M é adicionado a pH=7, então o etanol é retirado por meio de evaporação sob vácuo.

A camada aquosa é extraída duas vezes com diclorometano (2 x 20 ml) e a fase orgânica extraída de volta com água (20 ml), então é descartada. As camadas aquosas combinadas são extraídas com uma mistura 1:1 de diclorometano-etanol até a extração completa de tiocolchicósido. A camada orgânica é lavada com solução de NaCl a 20% (30 ml), então é concentrada até 20 ml e deixada para cristalizar sob agitação durante 2 h a temperatura ambiente. O produto é recolhido por meio de filtração. 2,00 g de tiocolchicósido são obtidos (71% de rendimento) com dados físicos e espectrocópicos idênticos a aqueles reportando na bibliografia.

2) Síntese de 3-O- β -D-galactopiranosil-3-O-demetiltiocolchicina

3-O-demetiltiocolchicina (1,0 g) é suspensa em acetonitrilo (10 ml) sob atmosfera de azoto a temperatura ambiente, seguido por adição sequencial de 1,1,3,3-tetrametilguanidina (0,9 ml), uma solução de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-galactopiranosose (2,80 g) em acetonitrilo (10 ml) e eventualmente trifluoreto de boro (3,6 ml).

A mistura de reação é agitada a temperatura ambiente durante 2 horas, então é arrefecida até 5°C e inativada pela adição de NaOH 2 M a pH=6 (aproximadamente 10 ml). A camada aquosa é separada e extraída com acetonitrilo (10 ml). As camadas orgânicas combinadas são lavadas sequencialmente com NaHSO_4 1 M (10 ml), NaHCO_3 a 6% (10 ml) e salmoura (10 ml).

O solvente é retirado sob vácuo e substituído com etanol a 95% (20 ml). NaOH 2 M (20 ml) é adicionado e a solução é agitada até a conclusão (aproximadamente 2 horas).

NaHSO₄ 0,5 M é adicionado a pH=7, então o etanol é retirado por meio de evaporação sob vácuo.

A camada aquosa é extraída duas vezes com diclorometano (2 x 20 ml) e a fase orgânica extraída de volta com água (20 ml), então é descartada. As camadas aquosas combinadas são extraídas com uma mistura 1:1 de diclorometano-etanol até a extracção completa de tiocolchicósido. A camada orgânica é lavada com solução de NaCl a 20% (20 ml), então o solvente é substituído com metanol e concentrado até 15 ml e deixado para cristalizar sob agitação durante 2 h a temperatura ambiente. O produto é recolhido por meio de filtração. 855 mg de produto são obtidos (61% de rendimento), pf = 255-6°C.

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ (ppm): 1,86 (1H, m); 1,87 (3H, s); 2,06 (1H, m); 2,24 (1 H, m); 2,43 (3H, s); 2,55 (1 H, m); 3,45 (1 H, m); 3,57 3H, s); 3,60 (1 H, m); 3,62 (1 H, m); 3,67 (1 H, m); 3,74 (1 H, m); 3,87 (3H, s); 4,36 (1 H, m); 4,52 (1 H, d, J= 4,4 Hz); 4,68 (1 H, t, J= 5,7 Hz); 4,85 (1 H, d, J= 5,7 Hz); 4,91 (1 H, d, J= 7,8 Hz); 5,14 (1H, d, J= 5,6 Hz); 6,88 (1H, s); 7,04 (1H, s); 7,17 (1H, d, J= 10,7 Hz); 7,29 (1H, d, J= 10,7 Hz); 8,60 (1H, d, J= 7,3 Hz).

EM⁺ (m/z): 1149,0 [2 M+Na]⁺, 1126,7 [2 M+H]⁺, 586,3 [M+Na]⁺, 564,2 [M+H]⁺, 402,2 [M-gal+H]⁺.

3) Síntese de 3-O- α -L-ramnopiranosil-3-O-demetiltiocolchicina

3-O-demetiltiocolchicina (2,0 g) é suspensa em acetonitrilo (20 ml) sob atmosfera de azoto a temperatura ambiente, seguido por adição sequencial de 1,1,3,3-tetrametilguanidina (1,8 ml), uma solução de 1,2,3,4-tetra-O-acetil-P-L-ramnopiranoose (4,77 g) em acetonitrilo (10 ml) e eventualmente trifluoreto de boro (8,4 ml).

A mistura de reacção é agitada a temperatura ambiente durante 3 horas, então é arrefecida até 5°C e inactivada pela adição de NaOH 2 M a pH=6. A camada aquosa é separada e extraída com acetonitrilo. As camadas orgânicas combinadas são lavadas sequencialmente com NaHSO₄ 1 M, NaHCO₃ a 6% e salmoura.

O solvente é retirado sob vácuo e substituído com etanol a 95% (20 ml). NaOH 2 M (15 ml) é adicionado e a solução é agitada até a conclusão (aproximadamente 2 horas).

NaHSO₄ 1 M é adicionado a pH=7, então o etanol é evaporado sob vácuo.

A camada aquosa é extraída duas vezes com diclorometano (2 x 20 ml) e a fase orgânica extraída de volta com água (20 ml), então é descartada. As camadas aquosas combinadas são extraídas com uma mistura 1:1 de diclorometano-etanol até a extracção completa de tiocolchicósido. A camada orgânica é lavada com solução de NaCl a 20% (30 ml) então o solvente é substituído com metanol e concentrado até 15 ml e deixado para cristalizar sob agitação durante 2 h a temperatura ambiente. O produto é recolhido por meio de filtração. 2,03 g de 3-O- α -L-ramnopiranosil-3-O-demetiltiocolchicina são obtidos (78% de rendimento), pf= 254-5°C.

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ (ppm): 1,19 (3H, d, J= 6,6 Hz); 1,87 (1H, m); 1,88 (3H, s); 2,04 (1 H, m); 2,22 (1 H, m); 2,44 (3H, s); 2,61 (1 H, m); 3,35 (1 H, m); 3,59 (3H, s); 3,70 (1 H, m); 3,71 (1 H, m); 3,85 (3H, s); 4,35 (1 H, m); 4,82 (1 H, d, J= 5,7 Hz); 4,94 (1H, d, J= 5,7 Hz); 5,12 (1H, d, J= 4,3 Hz); 5,39 (1H, d, J= 1,8 Hz); 6,88 (1H, s); 7,05 (1H, s); 7,16 (1H, d, J= 10,7 Hz); 7,29 (1H, d, J= 10,7 Hz); 8,68 (1H, d, J= 7,5 Hz).

EM⁺ (m/z): 1117,1 [2 M+Na]⁺, 570,3 [M+Na]⁺, 548,2 [M+H]⁺, 402,2 [M-rha+H]⁺.

4) Síntese de 3-O- β -D-xilopiranosil-3-O-demetilcolchicina

15,0 g de 3-O-demetilcolchicina são suspensos em 140 ml de acetonitrilo sob agitação numa atmosfera de azoto.

13,5 ml de 1,1,3,3-tetrametilguanidina são adicionados virando a mistura numa solução vermelho sangue. Uma solução de 34,3 g de tetraacetato de D-xilose em 60 ml de acetonitrilo é adicionada e eventualmente 45 ml de $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ são adicionados gota a gota mantendo a temperatura interna ao redor de 20°C. A solução é agitada durante 2 h até a conclusão, então é arrefecida até 5°C e ajustada a pH ~ 7 com 120 ml de NaOH 2 M.

As fases são separadas e a fase aquosa extraída de volta com 25 ml de acetonitrilo. A camada orgânica é lavada sequencialmente com 50 ml de NaHSO_4 1 M, 60 ml de NaHCO_3 a 5% e eventualmente com 50 ml de salmoura. A camada orgânica é concentrada até um volume de 150 ml, 50 ml de terc-butilmetil éter são adicionados e a mistura deixada para cristalizar a temperatura ambiente durante 1 h. O sólido é recolhido por meio de filtração, lavado com 40 ml de acetonitrilo - terc-butilmetil éter 1:1 e seco para proporcionar 19,8 g de 3-O- β -D-(2',3',4'-triacetil)xilopiranosil-3-O-demetilcolchicina.

19,4 g deste intermediário são suspensos em 300 ml de metanol, 16 ml de dietilamina são adicionados e a mistura é aquecida até 40°C durante 2 h até a conclusão.

A solução resultante é concentrada até um volume de 110 ml e é permitido que cristalize durante 1 h a temperatura ambiente. O sólido é recolhido por meio de filtração, lavado com 25 ml de metanol e seco para proporcionar 13,7 g de produto (rendimento global: 70%), $\text{pf} = 233-4^\circ\text{C}$.

IR cm^{-1} : 3295, 2940, 2867, 1636, 1601, 1558, 1507, 1480, 1424, 1348, 1317, 1074, 1029, 870, 594.

RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 1,86 (1H, m); 1,87 (3H, s); 2,04 (1H, m); 2,24 (1H, m); 2,43 (3H, s); 2,61 (1H, m); 3,28 (1H, m); 3,31 (1H, m); 3,33 (1H, m); 3,43 (1H, m); 3,57 (3H, s); 3,82 (1H, dd, $J=11,2$ Hz, $5,1$ Hz); 3,86 (3H, s); 4,36 (1 H, m); 4,98 (1 H, d, $J=7,2$ Hz); 5,08 (1 H, d, $J=4,8$ Hz); 5,11 (1 H, d, $J=4,8$ Hz); 5,34 (1H, d, $J=5,7$ Hz); 6,86 (1H, s); 7,05 (1H, s); 7,16 (1H, d, $J=10,7$ Hz); 7,28 (1H, d, $J=10,7$ Hz); 8,60 (1H, d, $J=7,3$ Hz).

EM $^+$ (m/z): 1067,7 [2 M+Na] $^+$, 1066,5 [2 M+H] $^+$, 556,2 [M+Na] $^+$, 534,2 [M+H] $^+$, 402,2 [M-xil+H] $^+$.

5) Síntese de 3-O- β -D-xilopiranosil-3-O-demetilcolchicina

2,0 g de 3-O-demetilcolchicina são suspensos em 18 ml de acetonitrilo sob agitação numa atmosfera de azoto.

1,9 ml de 1,1,3,3-tetrametilguanidina são adicionados virando a mistura numa solução vermelho sangue. Uma solução de 4,9 g de tetraacetato de D-xilose em 10 ml de acetonitrilo é adicionada e eventualmente 5,2 ml de $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ são adicionados gota a gota mantendo a temperatura interna ao redor de 20°C . A solução é agitada durante 2 h até a conclusão, então é arrefecida até 5°C e ajustada a pH - 7 com NaOH 2 M.

As fases são separadas e a fase aquosa extraída de volta com 10 ml de acetonitrilo. A camada orgânica é lavada sequencialmente com NaHSO_4 1 M, NaHCO_3 a 5% e eventualmente com salmoura. O solvente é substituído com metanol (30 ml), 6,4 ml de dietilamina são adicionados e a mistura é aquecida até 40°C durante 2 h até a conclusão.

O solvente é evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em coluna com DCM:MeOH 85:15. As fracções contendo o produto são recolhidas e o solvente retirado para proporcionar 2,29 g de um produto amorfo (rendimento global: 86%).

RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 1,86 (1H, m); 1,87 (3H, s); 2,03 (1H, m); 2,23 (1H, m); 2,59 (1H, m); 3,28 (1H, m); 3,31 (1H, m); 3,33 (1H, m); 3,42 (1 H, m); 3,55 (3H, s);

3,81 (1 H, dd, J= 10,8 Hz, 5,0 Hz); 3,86 (3H, s); 3,90 (3H, s); 4,35 (1H, m); 4,97 (1H, d, J= 7,2 Hz); 5,06 (1H, d, J= 4,6 Hz); 5,10 (1H, d, J= 4,8 Hz); 5,33 (1H, d, J= 5,3 Hz); 6,84 (1H, s); 7,04 (1H, d, J= 10,7 Hz); 7,12 (1H, d, J= 10,7 Hz); 7,15 (1H, s); 8,60 (1H, d, J= 7,3 Hz). EM^+ (m/z): 1056,8 $[2\ M+Na]^+$, 540,3 $[M+Na]^+$, 518,2 $[M+H]^+$, 386,2 $[M-xil+H]^+$.

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

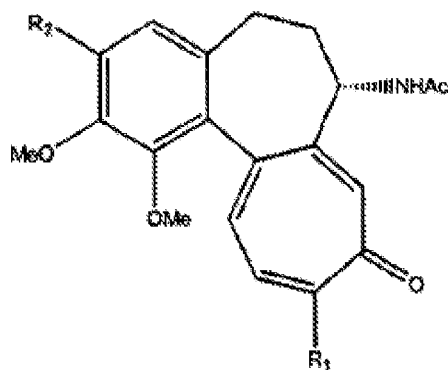
Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- FR 2112131 [0005]
- US 5777136 A [0006]

REIVINDICAÇÕES

1. Um processo para a preparação de compostos que têm a fórmula I:

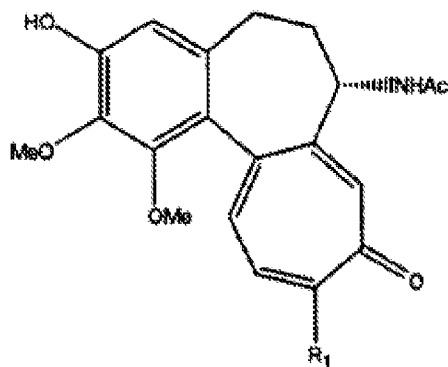


Fórmula I

em que:

- R₁ é um grupo metoxi ou um grupo metiltio;
- R₂ é um resíduo O-glicosiloxi;

cujo processo compreende a reacção de uma 1-acetil-glicose protegida com um composto que têm a fórmula II:



Fórmula II

em que R₁ é como foi definido anteriormente, seguido pela remoção dos grupos protectores da fracção glicosilo.

2. O processo de acordo com a reivindicação 1, onde os ditos 1-acetil-açúcares, quer sejam da série D ou da série L, são protegidos por grupos éster.

3. Um processo de acordo com a reivindicação 2, em que os grupos éster são grupos acetilo.
4. O processo de acordo com as reivindicações 1-3, em que os ditos grupos protectores são clivados por meio de hidrólise básica.
5. O processo de acordo com as reivindicações 1-3, em que os ditos grupos protectores são clivados através de deslocamento nucleofílico por reacção com uma amina.
6. O processo de acordo com a reivindicação 1, em que a reacção é levada a cabo num solvente seleccionado do grupo que consiste em acetonitrilo, nitrometano, hidrocarbonetos halogenados e misturas dos mesmos.
7. O processo de acordo com a reivindicação 1, em que a reacção é levada a cabo na presença de um ácido de Lewis.
8. O processo de acordo com a reivindicação 7, em que o ácido de Lewis é trifluoreto de boro.
9. O processo de acordo com a reivindicação 1, em que a reacção é levada a cabo na presença de uma base orgânica.
10. O processo de acordo com a reivindicação 9, em que a dita base é 1,1,3,3-tetrametilguanidina.