

Patent dodatkowy
do patentu _____

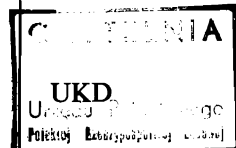
Kl. 12 q, 25

Zgłoszono: 01.XII.1966. (P 117 753)

Pierwszeństwo: 14.XII.1965 Szwajcaria

MKP C 07 d, 21/00

Opublikowano: 20.VIII.1971



Współtwórcy wynalazku: Albert von Wartburg, Max Kuhn, Camilla Keller, Jany Renz

Właściciel patentu: Sandoz AG., Bazylea (Szwajcaria)

Sposób wytwarzania nowych glikozydów

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych glikozydów o ogólnym wzorze 1, w którym R oznacza grupę fenylową, 2-furylową lub 2-tienylową.

Według wynalazku β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny o wzorze 2 poddaje się reakcji z aldehydem o wzorze 3, w którym R ma znaczenie wyżej podane, w obecności kwaśnego katalizatora. Jako katalizatory stosuje się na przykład kwasy Lewisa, takie jak bezwodny chlorek cynkowy lub wysuszony kationit zawierający grupy kwasu sulfonowego w postaci H^+ .

Korzystnie β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny rozpuszcza się bezpośrednio w aldehydzie i dodaje katalizator. Reakcję prowadzi się zasadniczo w temperaturze pokojowej lub nieco wyższej. Po upływie 1—10 godzin, w temperaturze 20° najczęściej 3—6 godzin, reakcja jest zasadniczo zakończona. W celu wyosobnienia produktu kondensacji, mieszaninę reakcyjną wprowadza się do niemieszającego się z wodą rozpuszczalnika, na przykład chloroformu, wytrząsa kilkakrotnie z wodą w celu usunięcia rozpuszczalnych w wodzie soli i produktów ubocznych, suszy fazę organiczną i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem, przy czym usuwa się większość aldehydu znajdującego się w nadmiarze.

Otrzymuje się oleistą pozostałość, w której przez macerowanie względnie ekstrahowanie na ciepło produktu kondensacji za pomocą odpowiedniego rozpuszczalnika, na przykład eteru naftowego, pentanu, heksanu lub chromatografii na obojętnie reagującym środku adsorpcyjnym, na przykład żelu krzemionkowym, łatwo usuwa

2

się resztki aldehydu. Produkt kondensacji wyosabia się następnie i oczyszcza w znany sposób, na przykład przez chromatografię, powtórne strącanie lub krystalizację.

5 Stosowany jako substancja wyjściowa do wytwarzania nowych związków o wzorze 1 β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny o wzorze 2 wytwarza się jednym z niżej podanych sposobów:

Od β -D-glikozydu cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksylu-4'-demetylo-epipodofilotoksyny o wzorze 4 odszczepia się najpierw hydrogenolitycznie grupę karbobenzoksylową, a otrzymany β -D-glikozyd cztero-0-acetylo-4'-demetylo-epipodofilotoksyny o wzorze 5 poddaje się alkoholizacji w obecności bezwodnego octanu cynkowego, lub 15 odszczepia najpierw alkoholitycznie grupy acetylowe β -D-glikozydu cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksylu-4'-demetylo-epipodofilotoksyny w obecności bezwodnego octanu cynkowego lub mieszaniny bezwodnego octanu cynkowego i octanu sodowego, przy czym równocześnie 20 częściowo odszczepia się również grupę karbobenzoksylową.

Z otrzymanej w ten sposób mieszaniny składników reakcyjnych można wyosobnić nieznaną dotychczas β -D-glikozyd 4'-karbobenzoksylu-4'-demetylo-epipodofilotoksyny o wzorze 6, który przez hydrogenolizę grupy karbobenzoksylowej przeprowadza się następnie w β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

30 Stosowany jako substancja wyjściowa do wytwarzania β -D-glikozydu 4'-demetylo-epipodofilotoksyny β -D-glikozyd cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksylu-4'-demetylo-

-epipodofilotoksyny o wzorze 4 wytwarza się następująco:

Stwierdzono, że w wyniku reakcji 2,3,4,6-cztero-0-acetylo-D-glikozy w postaci jej czystych β -anomerów z 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-podofilotoksyną o wzorze 8, jak również z 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epidofilotoksyną o wzorze 7, to znaczy niezależnie od stereochemii grupy OH przy C-1 aglikonu, w obecności związku kompleksowego eteru etylowego i trójfluorku borowego w temperaturze poniżej 0° w obojętnym w warunkach reakcji rozpuszczalniku, otrzymuje się β -D-glikozyd cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

Stosowane jako substancje wyjściowe do wytwarzania β -D-glikozydu cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epidofilotoksyny 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-podofilotoksynę o wzorze 8, względnie 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epidofilotoksynę o wzorze 7, wytwarza się następująco:

4'-demetylo-podofilotoksynę o wzorze 9, względnie 4'-demetylo-epipodofilotoksynę o wzorze 10 poddaje się w bezwodnym, obojętnym w warunkach reakcji rozpuszczalniku organicznym, w temperaturze -20° do -5°, w obecności trzeciorzędowej zasady organicznej, reakcji z chloromrówczanem benzylu, w wyniku której otrzymuje się 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-podofilotoksynę, względnie 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epidofilotoksynę.

Stosowaną jako substancję wyjściową 4'-demetylo-epipodofilotoksynę otrzymuje się na drodze epimeryzacji 4'-demetylo-podofilotoksyny (patrz przykład I). 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-podofilotoksynę wytwarza się w analogiczny sposób, wychodząc z 4'-demetylo-podofilotoksyny, przy czym na 1 mol 4'-demetylo-podofilotoksyny stosuje się 1—1,6 mola chlorku karbobenzoksylowego.

Nowe związki o wzorze 1 wykazują *in vitro* silne działanie cytostatyczne na komórki *mastocytomowe* i kultury fibroblastowe. Poza tym działają silnie na doświadczalne nowotwory, szczególnie na białaczkę L-1210 myszy.

Nowe związki o wzorze 1 można również stosować w lecznictwie do zwalczania procesów patologicznych, związanych z rozmnażaniem komórek, na przykład maligny neoplazmowej. Dawka dzienna związków o ogólnym wzorze wynosi około 1—50 mg. Nowe związki można stosować jako leki same lub w odpowiednich postaciach leku do podawania doustnego, dojelitowego lub pozajelitowego.

W niżej podanych przykładach, objaśniających bliżej sposób według wynalazku, lecz nie ograniczających go w żadnej mierze, wszystkie dane dotyczące temperatury podano w stopniach Celsjusza. Temperatury topnienia względnie rozkładu oznaczono w bloku Koflera.

Przykład I. 4'-demetylo-epipodofilotoksyna. 2 g 4'-demetylo-podofilotoksyny rozpuszcza się w 25 ml acetonu i 15 ml wody i po dodaniu 5 ml stężonego kwasu solnego ogrzewa w ciągu 2 godzin pod chłodnicą zwrotną. Następnie kwas zobojętnia się stałym węglanem barowym, sączy i z przesączu oddziela aceton pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 40°. Wytrącony produkt rozтворя się w chloroformie zawierającym 5% acetonu, roztwór suszy nad siarczanem sodowym i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem. Pozostałość chromatografuje się na żelu krzemionkowym za

5 pomocą chloroformu i 1% metanolu, przy czym najpierw otrzymuje się niewielkie ilości zanieczyszczeń, następnie czystą 4'-demetylo-epipodofilotoksynę, a na końcu nieprzereagowaną substancję wyjściową. Czyste frakcje 4'-demetylo-epipodofilotoksyny krystalizują z chloroformu i metanolu. Temperatura topnienia 228—230°, (α)_D = -69,8° (c = 0,630 w chloroformie).

Przykład II. 4'-karbobenzoksy-4'-demetyloepipodofilotoksyna. 60 g subtelnie sproszkowanej 4'-demetylo-epipodofilotoksyny zawiesza się w 1000 ml bezwodnego chlorku etylenu i po zadaniu 19 ml absolutnej pirydyny chłodzi do temperatury -10°.

W czasie mieszania, z wyłączeniem wilgotności, w ciągu 2,5 godzin w temperaturze -10° wkrapla się roztwór 34 g chloromrówczanu benzylu w 100 ml chlorku etylenowego i pozostawia w ciągu ½ godziny do prze-reagowania. Następnie mieszaninę reakcyjną przemycwa się wodą, fazę organiczną suszy nad siarczanem sodowym, odparowuje w próżni i suszy pozostałość w wysokiej próżni w temperaturze 70—80°. W wyniku krystalizacji surowego produktu z mieszaniny acetonu z eterem i dwa razy z metanolu otrzymuje się 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksynę o podwójnej temperaturze topnienia 117—119°/202—205°.

Po wysuszeniu w wysokiej próżni najpierw w temperaturze 95—110°, a następnie 130° lub krystalizacji w mieszaninie acetonu i eteru otrzymuje się wolną od rozpuszczalnika postać o temperaturze topnienia 201—204°, (α)_D²¹ = -43,9° c = 0,535) w CHCl₃.

Przykład III. 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-podofilotoksyna.

15,0 g 4'-demetylo-podofilotoksyny rozpuszcza się w 450 ml ciepłej mieszaniny absolutnego chlorku etylenu i czterowodorofuranu w stosunku 1:1, zadaje 6,0 ml absolutnej pirydyny i chłodzi do temperatury -10°. Miesząc chłodząc wkrapla się w ciągu 1,5 godziny 8 ml chloromrówczanu benzylu rozpuszczonego w 55 ml chlorku etylenu i miesza w ciągu 1 godziny w temperaturze -5 do -10°. Następnie odparowuje się pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze łaźni 40° do objętości 200 ml, rozcieńcza 250 ml chlorku etylenu i przemycwa roztwór 100 ml 1 n kwasu solnego, a następnie wodą do odczynu obojętnego. Po wysuszeniu nad siarczanem sodowym odparowuje się pod obniżonym ciśnieniem i chromatografuje pozostałość na 20-krotnej ilości żelu krzemionkowego. Chloroform zawierający 1% metanolu eluuje najpierw niewielkie ilości produktów ubocznych, a następnie czystą 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-podofilotoksynę. Po krystalizacji z metanolu związek topnieje w temperaturze 113—114°, (α)_D²¹ = -88,3° (chloroform).

Przykład IV. β -D-Glikozyd cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

10,7 g 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-podofilotoksyny rozpuszcza się, ogrzewając, w 30 ml chlorku etylenu, chłodzi roztwór do temperatury +15° i dodaje 14,0 g 2,3,4,6-cztero-0-acetylo- β -D-glikozy. Po 5 minutach mieszania chłodzi się z wyłączeniem wilgoci do temperatury -15° i wkrapla w ciągu 5 minut 7 ml schłodzonego uprzednio do temperatury -10° związku kompleksowego eteru etylowego i trójfluorku borowego (48% BF₃). Następnie miesza się w ciągu 1 godziny w temperaturze -15°, po czym wkrapla roztwór 7 ml ab-

solutnej pirydyny w 20 ml chlorku etylenu. Po rozcieńczeniu za pomocą 100 ml chloroformu przemycza się pięciokrotnie każdorazowo za pomocą 50 ml wody.

Fazę organiczną suszy się nad siarczanem sodowym, odparowuje pod obniżonym ciśnieniem i suszy pozostałość pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 60°C. Otrzymaną pianę rozpuszcza się w 50 ml gorącego etanolu, chłodzi do temperatury około 50°, zadaje 150 ml zimnej wody i miesza tak długo, aż bryłowy i kleisty początkowo osad przybierze postać proszku i konsystencji piasku.

Produkt odsysa się, przemycza ponownie za pomocą 40 ml 25-procentowego etanolu i suszy w próżni w temperaturze 60°. Następnie preparat rozpuszcza się w 200 ml gorącego metanolu, filtruje do klarowności, odparowuje przesącz w próżni i suszy pozostałość w wysokiej próżni w temperaturze 80° aż do osiągnięcia stałego ciężaru. Otrzymany β -D-glikozyd cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny jest identyczny z preparatem wytworzonym według przykładu III.

Przykład V. β -D-Glikozyd cztero-0-acetylo-4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

W celu odszczepienia grupy karbobenzoksylowej od β -D-glikozydu- cztero-0-acetylo- 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny 13,4 g tego związku rozpuszcza się w 100 ml mieszaniny aceton — etanol (1:2), zadaje 0,5 ml lodowatego kwasu octowego i 2 g palladu osadzonego na węglu (10% Pd) i uwodornia w temperaturze 20°. Następnie odsącza się katalizator, przemycza go ciepłą mieszaniną acetonu i metanolu i odparowuje przesącz w próżni. Pozostałość zalewa się 100 ml wrzącego etanolu, pozostawia do wykrystalizowania, a kryształy po odessaniu i przemyciu metanolem suszy w próżni. Najczystszy β -D-glikozyd cztero-0-acetylo-4'-demetylo-epipodofilotoksyny krystalizuje w postaci delikatnych igiełek o temperaturze topnienia 225—227°;

(α)_D²¹ = -64,4° (c = 1,024) w chloroformie.

Przykład VI. β -D-Glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

25 g czystego β -D-glikozydu cztero-0-acetylo-4'-karbobenzoksy- 4'-demetylo-epipodofilotoksyny, 3,6 g bezwodnego octanu cynkowego i 1,45 g bezwodnego octanu sodowego ogrzewa się w 150 ml metanolu mieszając, pod chłodnicą zwrotną.

Po upływie 2 i 4 godzin oddestylowuje się każdorazowo po 12,5 ml metanolu. Następnie po upływie każdych 2 godzin dodaje się po 12,5 ml metanolu i ponownie oddestylowuje. Po upływie ogółem 18 godzin odszczepienie grup acetylowych jest zakończone i otrzymuje się mieszaninę złożoną z około 60% β -D-glikozydu 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny i około 40% β -D-glikozydu 4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

Reakcję kontroluje się w chromatografii cienkowarstwowej na płytkach z żużlu krzemionkowego, stosując jako eluent mieszaninę octanu izopropylowego i metanolu w stosunku 4:1, nasyconą wodą. Rozwijanie przez zraszanie 0,2 procentowym roztworem siarczanu ceru (IV) w 50 procentowym kwasie siarkowym i ogrzewanie do temperatury 110—130°.

W celu dalszej obróbki zadaje się 5ml lodowatego kwasu octowego, odparowuje w próżni w temperaturze 50° i suszy w ciągu 15 minut w wysokiej próżni w temperaturze 50°. Pozostałość wprowadza się do 250

ml mieszaniny chloroformu i izopropanolu w stosunku 4:1 i 25 ml wody, oddziela fazę wodną i ponownie przemycza fazę organiczną 25 ml wody. Obie partie wody użytej do przemycia ekstrahuje się za pomocą 50 ml mieszaniny chloroformu i izopropanolu, a połączone fazy organiczne po wysuszeniu nad siarczanem sodowym odparowuje się w próżni. Pozostałość odciąga się trzykrotnie w próżni, stosując każdorazowo 30 ml acetonu, a następnie suszy w ciągu 2 godzin w wysokiej próżni w temperaturze 75°.

Z mieszaniny β -D-glikozydu 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny i β -D-glikozydu 4'-demetylo-epipodofilotoksyny otrzymuje się przez krystalizację z metanolu β -D-glikozydu 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny w niezupełnie czystej postaci. W wyniku chromatografii na 100-krotnej ilości żelu krzemionkowego otrzymuje się po eluowaniu mieszaninę octanu izopropylowego i metanolu (9:1), nasyconą wodą, czysty β -D-glikozyd 4'-karbobenzoksy-4'-demetylo-epipodofilotoksyny, który wykrystalizowany z acetonu topnieje w temperaturze 155—156°. (α)_D²¹ = -92,0° (c = 1,00) w chloroformie.

W celu odszczepienia grupy karbobenzoksylowej mieszaninę β -D-glikozydu 4'-karbobenzoksylo-4'-demetylo-epipodofilotoksyny i β -D-glikozydu-4'-demetylo-epipodofilotoksyny rozpuszcza się w 200 ml acetonu, wprowadza roztwór do zawiesiny 3 g 10% palladu osadzonego na węglu w 50 ml wody i uwodornia do odszczepienia grupy ochronnej (1,5 godziny). Przebieg reakcji kontroluje się w chromatografii cienkowarstwowej jak podano wyżej. Następnie odsącza się katalizator, przemycza 100 ml mieszaniny octonu i wody w stosunku 4:1 i odparowuje przesącz w próżni do objętości około 40—45 ml, przy czym wykrystalizowuje β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

W celu uzupełnienia krystalizacji pozostawia się jeszcze w ciągu 20 minut w kąpeli lodowej, odsysa kryształy, wymywa 25 ml wody i suszy w wysokiej próżni w temperaturze 70°. W wyniku krystalizacji z metanolu otrzymuje się czysty β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny o temperaturze topnienia 225—227°, (α)_D²¹ = 88,6° (c = 1,05) w metanolu. Temperatura topnienia innej odmiany wynosi 262—264°.

Przykład VII. β -D-Glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

2,0 g otrzymanego według przykładu V β -D-glikozydu cztero-0-acetylo-4'-demetylo-epipodofilotoksyny i 1 g bezwodnego octanu cynkowego ogrzewa się w ciągu 25 godzin w 30 ml absolutnego metanolu pod chłodnicą zwrotną. Otrzymany biały osad rozpuszcza się przez dodanie kilku ml lodowatego kwasu octowego i lekkie podgrzanie, rozpuszczalnik usuwa się w próżni w temperaturze 40°, a pozostałość roztwarza w 50 ml mieszaniny chloroformu i butanolu (4:1). Fazę organiczną przemycza się dwukrotnie, stosując każdorazowo 10 ml wody, po wysuszeniu nad siarczanem sodowym odparowuje w próżni i chromatografuje pozostałość na żelu krzemionkowym.

Nasyconą wodą mieszanina octanu izopropylowego i metanolu w stosunku 9:1 wymywa najpierw składniki niepolarne, a następnie czysty β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny. Poszczególne frakcje bada się za pomocą chromatogramu cienkowarstwowego na płytkach

z żelu krzemionkowego, stosując jako eluent nasyconą wodą, mieszaninę octanu izopropylu i metanolu (8 : 1), frakcje glikozydowe łączy się i krystalizuje dwukrotnie z metanolu.

β -D-Glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny topnieje w temperaturze 222—230°, a inna jego odmiana w temperaturze 262—264° (α) $^{41}_D = -88^\circ$ ($c = 0,507$) w metanolu.

Przykład VIII. β -D-benzylideno-glikozyd 4'-demetyloepipodofilotoksyny.

1 g wysuszonego β -D-glikozydu 4'-demetylo-epipodofilotoksyny rozpuszcza się w 20 ml czystego benzaldehydu i po dodaniu 0,5 g bezwodnego chlorku cynkowego z wyłączeniem wilgoci wytrząsa na wstrząsarce w ciągu 5—6 godzin. Postęp reakcji śledzi się na bieżąco za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. W tym celu stosuje się płytki z żelu krzemionkowego i chloroform zawierający 6% metanolu jako eluent. W celu uwidocznienia substancji płytki zrasza się 1 procentowym roztworem azotanu cerowo (IV) — amonowego w 50 procentowym kwasie siarkowym i ogrzewa następnie do temperatury 100—120°. Następnie klarowny roztwór reakcyjny o zabarwieniu czerwono-brunatnym zadaje się chloroformem i wytrząsa z wodą.

Fazę wodną ekstrahuje się dwukrotnie chloroformem. Wszystkie fazy chloroformowe łączy się, przemywa dwukrotnie wodą, suszy nad siarczanem sodowym i odparowuje rozpuszczalnik w próżni. Oleistą pozostałość rozciera się z pentanem w celu usunięcia pozostałości benzaldehydu, aż do otrzymania produktu w postaci proszku. W celu dalszego oczyszczania pochodną benzylidenową rozтворя się w 10 ml acetonu i mieszając wkrapla roztwór acetonowy do 100 ml pentanu, otrzymując osad o zabarwieniu jasnożółtym do białego.

Surowy produkt można oczyścić w kolumnie chromatograficznej na żelu krzemionkowym. W tym celu roztwór 1 g surowej pochodnej benzylidenowej o możliwie największym stężeniu w mieszaninie chloroformu i 2% metanolu sączy się na kolumnę z 200 g żelu krzemionkowego i eluuje taką samą ilością mieszaniny rozpuszczalników. Jednolite pod względem chromatografii cienkowarstwowej frakcje łączy się i wytrąca z mieszaniny acetonu i pentanu. β -D-benzylideno-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny otrzymuje się w postaci białego proszku o temperaturze topnienia 182—185°. W wyniku przekrystalizowania z absolutnego etanolu otrzymuje się kryształy o temperaturze topnienia 245—246°. Wartości skręcalności optycznej wynoszą: (α) $^{20}_D = -99^\circ$ w metanolu i -104° w chloroformie.

Przykład IX. β -D-Tenylideno-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny.

0,5 g wysuszonego β -D-glikozydu 4'-demetylo-epipodofilotoksyny zadaje się 10 ml czystego aldehydu 2-tiofenowego oraz 0,25 g bezwodnego chlorku cynkowego, po czym mieszaninę wytrząsa się z wyłączeniem wilgoci na wstrząsarce w temperaturze 20°, przy czym stopniowo powstaje klarowny roztwór. Przebieg kondensacji kontroluje się za pomocą chromatografii cienkowarstwowej, jak opisano wyżej. Po upływie 3—4 godzin czasu trwania reakcji roztwór rozcieńcza się chloroformem i wytrząsa z wodą. Fazę chloroformową przemywa się jeszcze dwukrotnie niewielką ilością wody, po czym suszy nad siarczanem sodowym i odparowuje.

W celu usunięcia nadmiernej ilości aldehydu 2-tiofenowego, pozostałość rozpuszcza się w niewielkiej ilości acetonu i wytrąca przez dodanie pentanu. Wytrącanie z mieszaniny acetonu i pentanu powtarza się aż do wytrącenia się produktu kondensacji w postaci płatków. W celu dalszego oczyszczenia surowy produkt poddaje się chromatografii na żelu krzemionkowym. Jednolite w chromatografii cienkowarstwowej frakcje łączy się i z absolutnego alkoholu otrzymuje kryształy. Czysty β -D-tenylideno-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny ma temperaturę topnienia 242—246° (ostatnie resztki do 255°); (α) $^{20}_D = -107^\circ$ w mieszaninie chloroformu i metanolu w stosunku 9 : 1.

Przykład X. β -D-Furfurylideno-glikozyd 4'-demetyloepipodofilotoksyny.

0,5 g wysuszonego β -D-glikozydu 4'-demetylo-epipodofilotoksyny zadaje się 10 ml czystego furfurułu i po dodaniu 0,25 g bezwodnego chlorku cynkowego z wyłączeniem wilgoci wytrząsa w temperaturze 20° w ciągu 3—4 godzin na wstrząsarce. Przebieg reakcji kondensacji kontroluje się za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Chromatografię cienkowarstwową można przeprowadzać na płytkach z żelu krzemionkowego z chloroformem zawierającym 6% metanolu jako eluentem.

W celu uwidocznienia substancji zrasza się 1 procentowym roztworem azotanu cerowo — (IV)-amonowego w 50 procentowym kwasie siarkowym i ogrzewa następnie do temperatury 100—120°. Po zakończeniu kondensacji zabarwiony na zielono roztwór reakcyjny zadaje się chloroformem i wytrząsa z wodą. Fazę wodną ekstrahuje się dwukrotnie chloroformem. Wszystkie fazy chloroformowe łączy się, przemywa jeszcze dwukrotnie niewielką ilością wody, suszy nad siarczanem sodowym i odparowuje rozpuszczalnik w próżni w temperaturze 60°.

W celu usunięcia furfurułu, do oleistej pozostałości w ilości około 10 ml wkrapla się, mieszając, 150 ml pentanu, otrzymując mazisty osad. Po dekantacji pentanu osad rozтворя się w niewielkiej ilości acetonu i wkrapla roztwór do 150 ml pentanu. Oddzielony produkt kondensacji w postaci płatków można oczyścić za pomocą chromatografii na żelu krzemionkowym. W tym celu na kolumnę z 100 g żelu krzemionkowego wprowadza się stężony roztwór surowego produktu w chloroformie z dodatkiem 2% metanolu i wymywa za pomocą takiej samej mieszaniny rozpuszczalników.

Jednolite w chromatografii cienkowarstwowej pierwsze frakcje łączy się i wytrąca z mieszaniny acetonu i pentanu. β -D-Furfurylideno-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny otrzymuje się w postaci białego proszku o temperaturze topnienia 188—191°. Z absolutnego etanolu otrzymuje się kryształy o temperaturze topnienia 267—269°. Skręcalność optyczna w chloroformie wynosi (α) $^{20}_D = -102^\circ$.

Przykład XI. β -D-Benzylideno-glikozyd 4'-demetyloepipodofilotoksyny.

1,0 g subtelnie sproszkowanego β -D-glikozydu 4'-demetylo-epipodofilotoksyny rozpuszcza się w 20 mg czystego benzaldehydu i dodaje 2 g wysuszonego proszku „Dowex” 50WX2. Powietrze z kolby wypiera się za pomocą azotu i mieszaninę reakcyjną z wyłączeniem wilgoci miesza za pomocą mieszadła magnetycznego. Przebieg reakcji kontroluje się na bieżąco za pomocą chro-

matografii cienkowarstwowej sposobem a) chloroform i 6% metanolu lub sposobem b) chloroform, metanol, woda (70 : 25 : 5). Po upływie 1 godziny reakcja jest zakończona. W celu dalszego przerobu zabarwiony na pomarańczowo roztwór odsąca się od katalizatora i dobrze wymywa chloroformem.

Rozpuszczalnik oddziela się w próżni w temperaturze 50°. Otrzymany olej oczyszcza się na 60 g żelu krzemionkowego „Merck” o wielkości cząstek 0,05—0,2 mm. Po oddzieleniu benzaldehydu przez ekstrakcję za pomocą chloroformu, substancję przemywa się chloroformem z dodatkiem 2% metanolu. W wyniku chromatograficznego oczyszczania otrzymuje się bezpostaciowy β -D-benzylidenoglikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny, całkowicie jednolity w chromatografii cienkowarstwowym.

W celu charakteryzacji preparat rozpuszcza się w 5 ml acetonu i wkrapla mieszając do 60 ml pentanu. β -Benzylideno-D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny otrzymuje się jako bezpostaciowy bezbarwny proszek

o temperaturze topnienia 182—184°. Z absolutnego etanolu otrzymuje się kryształy o temperaturze topnienia 246—246°; (α)_D = -104° (c = 0,766 w chloroformie).

Zastrzeżenia patentowe

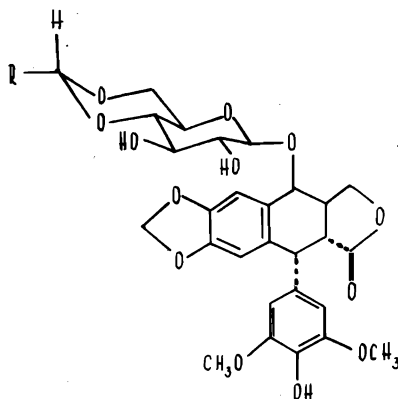
1. Sposób wytwarzania nowych glikozydów o wzorze 1, w którym R oznacza grupę fenyłową, 2-furyłową lub 2-tienylową, **znamienny tym**, że β -D-glikozyd 4'-demetylo-epipodofilotoksyny o wzorze 2 poddaje się reakcji z aldehydem o wzorze 3, w którym R ma znaczenie wyżej podane, w obecności kwaśnego katalizatora.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako katalizator stosuje się kwasy Lewisa.

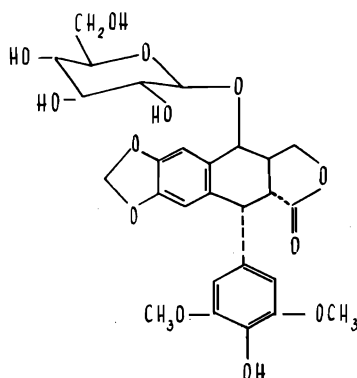
3. Sposób według zastrz. 1 i 2, **znamienny tym**, że jako katalizator stosuje się bezwodny chlorek cynkowy.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako katalizator stosuje się wysuszony kationit zawierający grupy kwasu sulfonowego w postaci H⁺.

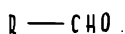
Dokonano trzech poprawek



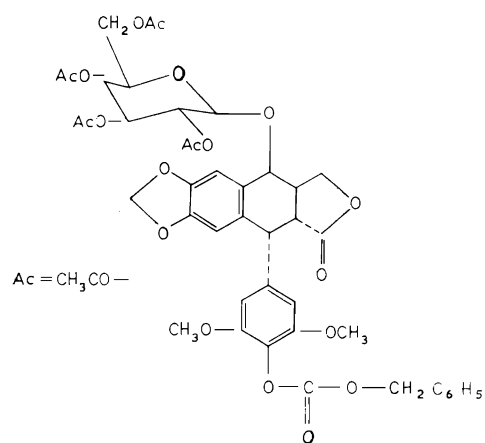
WZÓR 1.



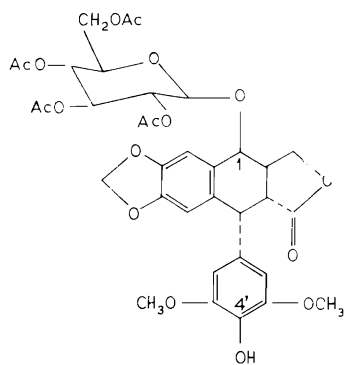
WZÓR 2.



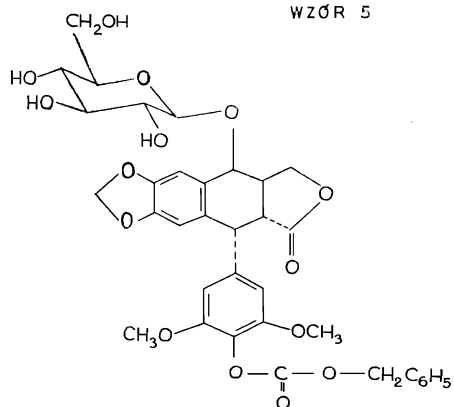
WZÓR 3.



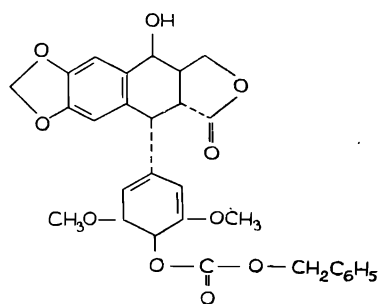
WZÓR 4



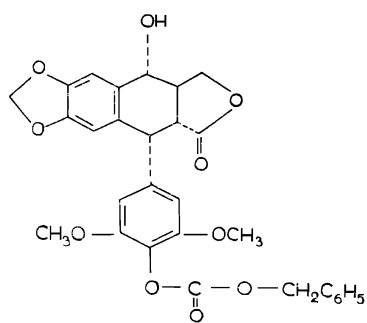
WZÓR 5



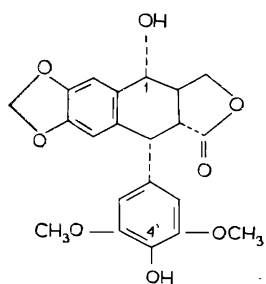
WZÓR 6



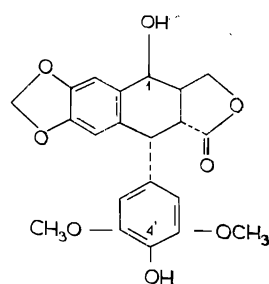
WZÓR 7



WZÓR 8



WZÓR 9



WZÓR 10