

(19) Országkód:

HU



MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLmányi
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

199862 B

(51) Int Cl⁵

C 07 H 15/24

A 61 K 31/70

(22) Bejelentés napja: 1988.11.08. (21) (5737/88)

(30) Bejelentés elsőbbsége: GB 1987.11.10. 8726272

(40) Közzététel napja: 1989.06.28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma
a Szabadalmi Közlönyben: 1990.03.28.

(72) Feltalálók:

Bargiotti, Alberto,
Grandi, Maria,
Suarato, Antonio,
Giuliani, Fernando,
Milánó, IT

(73) Szabadalmaz:

Farmitalia Carlo Erba S.r.l., Milánó, IT

(54) Eljárás 4-demetoxi-antraciklin származékok előállítására

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás (I) általános képletű 4-demetoxi-glikozidok – a képletben R^1 jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport – és gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóik előállítására.

A találmány lényege, hogy

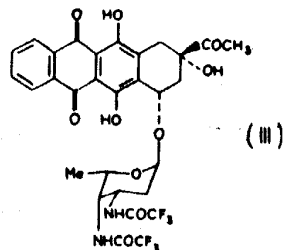
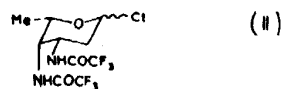
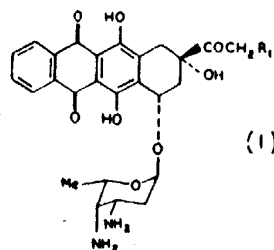
az ismert 4-demetoxi-daunomicinont (II) képletű 2,3,4,6-tetradexoxi-3,4-di(trifluor-acetamido)-L-lixo-hexapiranozil-kloriddal reagáltatják, és

a kapott (III) képletű vegyület N-trifluor-acetil-csoportjait eltávolítják, így R^1 helyén hidrogénatomot tartalmazó (I) általános képletű glikozidszármazékot kapnak, és

kívánt esetben a kapott glikozidszármazékot gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sójává alakítják, és/vagy

kívánt esetben a kapott glikozidszármazékot vagy gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóját brómozák, és a kapott 14-bróm-származékot hidrolizálják, így R^1 helyén hidroxilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű antraciklin-glikozidot kapnak, és

kívánt esetben az R^1 helyén hidroxilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű glikozidszármazékot gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sójává alakítják.



HU 199862 B

A leírás terjedelme: 4 oldal, 1 dbra

A találmány tárgya eljárás új antraciklin-glikozidok előállítására.

Az új 4-demetoxi-antraciklin-származékok (I) általános képletben R^1 jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport. A találmány körébe tartozik az új vegyületek gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóinak előállítása is, amelyek közül az előnyös só a hidroklorid.

A találmány szerinti vegyületek a 4-demetoxi-daunorubicin (idarubicin) származékai; ez a vegyület ismert daganatellenes antibiotikum. Az előnyös (I) általános képletű antraciklin-glikozidok a 4-demetoxi-4'-amino-4'-dezozi-daunorubicin / (I-A) vegyület; olyan (I) általános képletű vegyület, amelyben R_1 jelentése hidrogénatom/ és a 4-demetoxi-4'-amino-4'-dezozi-doxorubicin / (I-B) vegyület; olyan (I) általános képletű vegyület, amelyben R_1 jelentése hidroxilcsoport).

A találmány értelmében az (I) általános képletű antraciklin-glikozidokat és gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóikat a következőképpen állítjuk elő:

i) az ismert 4-demetoxi-daunomicinont – ami az idarubicin nevű daganatellenes antraciklin-származék ismert aglikonja – (II) képletű 2,3,4,6-tetradexoxi-3,4-di(trifluor-acetamido)-L-lixo-hexapiranozil-kloriddal reagáltatjuk, és

ii) a kapott (III) képletű vegyület N-trifluor-acetil-csoportjait eltávolítjuk, így R_1 helyén hidrogénatomot tartalmazó (I) általános képletű glikozidszármazékot kapunk, és

iii) kívánt esetben a kapott glikozidszármazékot gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sójává alakítjuk, és/vagy

iv) kívánt esetben a kapott glikozidszármazékot vagy gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóját brómozzuk, és a kapott 14-bróm-származékot hidrolizáljuk, így R^1 helyén hidroxilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű antraciklin-glikozidot kapunk, és

v) kívánt esetben az R^1 helyén hidroxilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű glikozidszármazékot gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sójává alakítjuk.

A (II) képletű 2,3,4,6-tetradexoxi-3,4-di(trifluor-acetamido)-L-lixo-hexapiranozil-klorid előállítható a 4 360 149 számú USA-beli szabadalmi leírásban ismertetett eljárással.

A találmányunk szerinti eljárás i) lépését végrehajthatjuk úgy, hogy a száraz metilén-dikloridban feloldott 4-demetoxi-daunomicinont szobahőmérsékleten reagáltatjuk a 2,3,4,6-tetradexoxi-3,4-di(trifluor-acetamido)-L-lixo-hexapiranozil-kloriddal molekulaszita és ezüst-trifluor-metán-szulfonát jelenlétében.

Az i) lépés után, de az ii) lépés előtt a (II) képletű vegyületet kromatográfiás tisztításnak vethetjük alá szilikagél oszlopon, eluálószerként metilén-diklorid és aceton 97:3 térfogatarányú elegyét alkalmazva. Az ii) lépést végrehajthatjuk úgy, hogy a (III) képletű vegyületet lúgos hidrolízisnek vetjük alá 0,2 n vizes nátrium-hidroxid oldattal szobahőmérsékleten, nitrogénatmoszférában másfél óra hosszat.

Az iii) lépést végrehajthatjuk úgy, hogy a 4-

demetoxi-4'-amino-4'-dezozi-daunorubicint metanolos hidrogén-kloriddal kezeljük, és a 4-demetoxi-4'-amino-4'-dezozi-daunorubicint hidrokloridja alakjában különítjük el.

A iv) lépést lépést brómozással és enyhe reakciókörülmények között végrehajtott hidrolizissal végezhetjük a 4 112 076 számú USA-beli szabadalmi leírásban ismertetett módon. A 14-bróm-származékot vizes nátrium-formiát oldattal, szobahőmérsékleten kezelve hidrolizálhatjuk. A kapott 4-demetoxi-4'-amino-4'-dezozi-doxorubicint jellemzően hidrokloridja alakjában különítjük el a v) lépésben metanolos hidrogén-kloriddal kezelve.

A találmány szerinti vegyületeknek és sóiknak daganatellenes hatása van.

A találmány szerinti megoldást a következő módon nem-korlátozó példákkal szemléltetjük.

A. Előállítási példák

1. példa

4-demetoxi-4'-amino-4'-dezozi-daunorubicin

/(I-A) vegyület/ előállítása

0,55 g (1,5 millimól) 4-demetoxi-daunomicint összekapcsolunk 0,43 g (1,2 millimól) (II) képletű 2,3,4,6-tetradexoxi-3,4-di(trifluor-acetamido)-L-lixo-hexapiranozil-kloriddal 75 ml száraz metilén-dikloridban, 4 g Merck gyártmányú, 4.A jelű molekulaszita jelenlétében, katalizátorként 0,31 g (10 ml száraz dietil-éterben feloldott) ezüst-trifluor-metán-szulfonátot alkalmazva. Az elegyet 15 percig élénken keverjük szobahőmérsékleten, majd telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal kezeljük, ezután a szerves fázist elkülönítjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. A visszamaradt nyersteget szilikagél oszlopkromatográfiásan tisztítjuk, eluálószerként metilén-diklorid és aceton 97:3 térfogatarányú elegyét alkalmazva, így 4-demetoxi-4'-(trifluor-acetamido)-4'-dezozi-N-(trifluor-acetil)-daunorubicint / (III) képletű vegyület/ kapunk 0,56 g (68%) mennyiségben; olvadáspontja 163 – 164 °C (bomlik).

PMR-sepektrum (200 MHz-en, deutero-kloroformban): 1,24 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-s'}$), 2,42 (s, 3H, COCH_3), 4,33 (m, 2H, h-3', h-4'), 4,49 (dq, $J < 1$, 4,0 Hz, 1H, H-1'), 5,26 (dd, $J = 1,8$, 4 Hz, 1H, H-7), 5,55 (d, $J = < 1$, 4,0 Hz, 1H, H-1'), 5,64 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H, $\text{NH-COCF}_3\text{-4'}$), 6,78 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, $\text{NH-COCF}_3\text{-3'}$), 7,81-7,86 (m, 2H, H-2, H-3), 8,29-8,36 (m, 2H, H-1, H-4), 13,30 (s, 1H, OH-11), 13,63 δ (s, 1H, OH-6).

0,5 g (0,73 millimól) (III) képletű vegyület 45 ml 0,2 n vizes nátrium-hidroxid oldattal készített oldatát nitrogénatmoszférában keverjük szobahőmérsékleten. Másfél óra után a reakcióelegy pH-ját vizes sósavoldattal 2,5-re állítjuk be, majd egyes szennyezések eltávolítására metilén-dikloriddal extraháljuk. A vizes fázis pH-ját 8,1-re állítjuk be, metilén-dikloriddal extraháljuk, az extraktumot vízzel mossuk, vízmentes nátrium-szulfát fölött szárítjuk és kis térfogatúra sűrítjük be. Ezután pH-ját metanolos sósavoldattal 4,5-re állítjuk be, majd dietil-étert adunk hozzá, így 0,37 g (90%) 4-demetoxi-4'-amino-4'-dezozi-dauno-

rubicint (I-A) vegyület/ kapunk hidrokloridja alakjában; olvadáspontja 155 – 156 °C (bomlik).

2. példa

4-demetoxi-4'-amino-4'-deoxi-doxorubicin

/(I-B) vegyület/ előállítása

0,2 g (I-A) vegyületet feloldunk 2,7 ml vízmentes metanol és 7,5 ml dioxán elegyében és az oldatot összekeverjük 0,2 ml etil-ortoformiáttal és 0,94 g bróm 10 ml metilén-dikloriddal készített oldatának 0,75 ml-ével.

A reakcióelegyet szobahőmérsékleten állni hagyjuk másfél órát, majd beleöntjük 40 ml dietil-éter és 20 ml petroléter elegyében. Vörös csapadék képződik, amit szűrünk és dietil-éterrel többször mosunk, amíg teljesen savmentes lesz. A csapadékot feloldjuk 6 ml aceton és 6 ml 0,25 n vizes hidrogén-bromid oldat keverékében.

Az oldatot szobahőmérsékleten állni hagyjuk 10 órát, majd hozzáadjuk 0,3 g nátrium-formiát 1 ml vízzel készített oldatát. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten keverjük 30 órát, hozzáadjuk 6 ml vizet és az oldatot az aglikonok eltávolítására metilén-dikloriddal extraháljuk. A vizes fázishoz 5 ml 8%-os vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldatot adunk, majd újra extraháljuk metilén-dikloriddal. A szerves extraktumokat nátrium-szulfáttal szárítjuk és csökkentett nyomáson

kis térfogatra pároljuk be.

A kapott vörös oldat pH-ját vízmentes metanolos hidrogén-klorid oldattal 3,5-re állítjuk be, és feleslegben etil-étert adunk hozzá, így 0,17 g 4-demetoxi-4'-amino-4'-deoxi-doxorubicint (I-B) vegyület/ kapunk hidroklorid alakjában; olvadáspontja 156 – 157 °C (bomlik).

B. Biológiai hatásvizsgálati példák

In vitro

In vitro megvizsgáltuk az (I-A) és (I-B) vegyületek telepnövekedést gátló hatását két emberi sejtvonalon: a LOVO (vastagbél adenokarcinóma) és a LOVO/DX (doxorubicinnel szemben rezisztens vastagbél adenokarcinóma) sejtvonalakon. Mindkét vegyület citotoxikusabbnak bizonyult LOVO-val és LOVO/DX-szel szemben, mint az alapvegyületek, a 4'-amino-4'-doxidaunorubicin, illetve a 4'-amio-4'-doxoi-doxorubicin (4 366 149 számú USA-beli szabadalmi leírás). Az adatokat az 1. táblázat mutatja.

Daunorubicinnel és doxorubicinnel összehasonlítva a doxorubicin-rezisztens sejtvonallal szemben meglepően nagyobb aktivitást tapasztaltunk az (I-A) vegyület 4'-amino-4'-deoxidaunorubicin, az (I-B) vegyület és 4'-amino-4'-deoxi-doxorubicin esetében.

30

1. táblázat
Citotixikus hatás LOVO és LOVO/DX
sejtvonalakon 4 órás kezelés

A vegyület neve	ID ₅₀ -érték ^{c)}		R.I. ^{d)}
	LOVO	LOVO/DX	
Doxorubicin ^{a)}	56,5	2087,0	36,90
4'-amino-4'-deoxi-doxorubicin ^{b)}	34,6	121,6	3,50
(I-B) vegyület ^{b)}	8,6	31,5	3,60
daunorubicin ^{a)}	42,4	2357,0	55,50
4'-amino-4'-deoxi-daunorubicin ^{b)}	82,5	440,0	5,30
(I-A) vegyület ^{b)}	12,5	65,6	5,24

50

a) 10 kísérlet adatai

b) 3 kísérlet adatai

c) ID₅₀ – 50%-os gátló dózis; a dózis – válasz görbékől

d) R.I. – rezisztencia index: a LOVO-val szembeni ID₅₀-érték és a LOVO/DX elleni ID₅₀-érték aránya.

60

In vivo

Elvégeztük az (I-A) és (I-B) vegyületek előzetes in vivo vizsgálatát Gross disszeminált leukémiában, egereken (2. táblázat). Mindkét vegyület hatásosabbnak mutatkozott, mint az alapvegyületek.

2. táblázat
Gross disszeminált leukémia elleni hatás –
intravénás kezelés a daganat átoltása utáni első
napon

A vegyület neve	O.D. ^{a)} (mg/kg)	T/C % ^{b)}
doxorubicin	13,0	200
4'-amino-4'- dezoxi-	26,0	183
-doxorubicin (I-B) vegyület	3,9	250
daunorubicin	15,0	200
4'-amino-4'- -dezoxi- -daunorubicin	28,0	185
(I-A) vegyület	4,4	240

a) optimális dózis

b) kezelt egerek átlagos túlélési ideje/kontroll
egerek átlagos túlélési ideje x 100

Szabadalmi igénypont

Eljárás (I) általános képletű 4-demetoxi-ant-
raciklin-glikozidok – a képletben R₁ jelentése
hidrogénatom vagy hidroxilcsoport – és gyógyá-
szatilag elfogadható savaddíciós sóik előállításá-
ra, azzal jellemezve, hogy

4-demetoxi-daunomicinont (II) képletű
2,3,4,6-tetradexoxi-3,4-di(trifluor-acetamido)-L-
lixo-hexapiranozil-kloriddal reagáltatunk, majd
a kapott (III) képletű vegyület N-trifluor-ace-

30 til-csoportjait eltávolítjuk, és

i) kívánt esetben a kapott, R₁ helyén hidro-
génatomot tartalmazó (I) általános képletű gli-
kozidszármazékot gyógyászatilag elfogadható
savaddíciós sójává alakítjuk, és/vagy

35 ii) kívánt esetben a kapott (I) általános képle-
tű glikozidszármazékot vagy gyógyászatilag elfo-
gadható savaddíciós sóját brómozzuk, és a ka-
pott 14-bróm-származékot hidrolizáljuk, így R¹
helyén hidroxilcsoportot tartalmazó (I) általános
képletű antraciklin-glikozidot kapunk, és

40 iii) kívánt esetben a kapott R¹ helyén hidroxil-
csoportot tartalmazó (I) általános képletű gli-
kozidszármazékot gyógyászatilag elfogadható sav-
addíciós sójává alakítjuk.

45

