



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 14.02.1974 (P. 168805)

Pierwszeństwo: 16.02.1973 Węgry

Zgłoszenie ogłoszono: 01.04.1975

Opis patentowy opublikowano: 31.08.1977

MKP C07d 57/02

Int. Cl.² C07D 519/04

CZYTELNIA

Urzędu Patentowego
PRL - Budapeszt - 1977

Twórca wynalazku: _____

Uprawniony z patentu: Richter Gedeon Vegyészti Gyár RT, Budapeszt,
(Węgry)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych leurozyny

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych leurozyny o ogólnym wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza atom wodoru lub grupę formylową, oraz ich farmakologicznie dopuszczalnych soli addycyjnych z kwasami, wykazujących cenne właściwości farmakologiczne.

W ostatnich dziesięcioleciach prowadzono bardzo intensywne prace badawcze nad wytwarzaniem leków dających się stosować w leczeniu raka. Podczas tych rozległych prac badawczych przebadano pod względem oddziaływań biologicznych i klinicznych substancje o najrozmaitszej strukturze chemicznej, jednak tylko nieliczne z nich okazały się odpowiednie w leczeniu ludzi. Z tych produktów farmaceutycznych, dających pozytywne rezultaty w praktyce klinicznej, szczególnie ważne są alkaloidy dwuindolowe (dimeryczne alkaloidy indolu). Do alkaloidów dwuindolowych zalicza się np. winkaleukoblastynę (winblastyna), leukokrystynę (winkrystyna), winleurozydina (leurozydina), winleurozynę (leurozynę) itp. Wszystkie te związki otrzymano, jako rezultat intensywnych prac badawczych rośliny *Catharanthus roseus* G. Don (lub *Vinca rosea* L.) z rodziny Apocynaceae. Alkaloidy dwuindolowe stanowią około 1—3% wszystkich alkaloidów zawartych w roślinie, która zawiera ponad 70 różnych alkaloidów. Na podstawie analizy strukturalnej stwierdzono, że alkaloidy dwuindolowe mają bardzo podobną budowę. Na przykład

2

części winblastyny i winkrystyny zawierają część cząsteczki welbanaminy i część cząsteczki windomie azotu rodnikiem metylowym, a winkrystyna cząsteczka windoliny jest podstawiony przy atomie azotu rodnikiem metylowym, a winkrystyna zawiera przy atomie azotu rodnik formylowy. Ta niewielka różnica w budowie jest jednak przyczyną znacznych różnic w czynności biologicznej tych związków. Stwierdzono mianowicie, że winkrystyna odznacza się większą aktywnością w testach na zwierzętach i, przede wszystkim, w leczeniu ludzi.

Budowa leurozyny różni się od omawianej wyżej winblastyny lub winkrystyny tym, że zamiast segmentu welbanaminy zawiera ona segment epoksywelbanaminy.

Omawiane wyżej alkaloidy dwuindolowe i ich sole addycyjne z kwasami oraz sposób wytwarzania tych związków opisano w wielu publikacjach, takich jak opisy patentowe Stanów Zjednoczonych Ameryki nr nr 3 097 137, 3 205 220 i 3 225 030 oraz węgierskie opisy patentowe nr nr 153 200, 154 715 i 160 987.

Podczas badań utleniania leurozyny stwierdzono, że można ją szybko i z dobrą wydajnością utlenić, otrzymując dwa związki, a mianowicie N-formyloleurozynę i N-demetyloleurozynę. N-de-

metyleurozyny można, ewentualnie przekształcić na drodze formylowania w N-formyleurozyny.

N-formyleurozyna oraz N-demetyloleurozyna są związkami nowymi dotychczas nieznanymi.

Sposób wytwarzania nowych pochodnych leurozyny o ogólnym wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza atom wodoru lub grupę formylową, oraz addycyjnych soli tych związków z kwasami, polega według wynalazku na tym, że leurozyny lub jej addycyjną sól z kwasem utlenia się, otrzymany produkt ewentualnie formuluje się, i następnie wyodrębnia, a wolne zasady ewentualnie przeprowadza się w ich sole addycyjne z kwasami.

N-formyleurozyna jest związkiem o silnej **aktywności przeciwnowotworowej**. Wartość LD₅₀ dla tego związku wynosi 28,8 mg/kg w badaniu na przykład na myszach. Związek ten jest około pięćdziesiąt razy mniej toksyczny niż winblastyna i około dziesięciokrotnie mniej toksyczny niż winkrystyna.

Substancja ta powoduje całkowity powrót do zdrowia lub 300% przedłużenie życia w 50—70% przypadków, co stwierdzono w wyniku badań na myszach szczepionych rakiem wysiękowym Ehrlicha lub chłoniakiem NK/Ly.

Leczenie przedłuża, o około 150—250% okres życia zwierząt cierpiących na białaczkę limfatyczną L-1210, na raka wysiękowego s37 lub raka wysiękowego Yoshida. Wytworzony sposobem według wynalazku związek, wstrzyknięty podskórnie w 70—80% zahamowuje wzrost przeszczepionego nowotworu, guza twardego (rak Guerin, mięsak S-180). Związek ten w znacznej mierze hamuje wzrost wielu nowotworów, takich jak czerniak Harding Passey'a, rak VX podbrzusza u królików, albo wywołany lub przeszczepiony mięśniak o-mięsak, na które nie oddziaływały wcale lub prawie wcale, znane dotychczas środki cytostaticzne, obejmujące również winblastynę i winkrystynę.

W badaniach na zwierzętach, związek według wynalazku można podawać długotrwale w dawkach 0,3—5,0 mg/kg nie powodując ubocznych efektów, nieuniknionych w przypadku podawania znanych winkoalkaloidów. Zasięg leczniczego działania tego alkaloidu jest podobny do zakresu działania winkrystyny i około czterokrotnie większy niż w przypadku winleurozyny.

Sposób według wynalazku składa się z następujących etapów. Leurozyny, otrzymaną na drodze chromatograficznego rozdzielania alkaloidów dwuindolowych z rośliny *Catharanthus roseus* G. Do n, przeprowadzonego sposobem podanym w węgierskim opisie patentowym nr 160 968, albo jej sól, korzystnie siarczan, rozpuszcza się w rozpuszczalniku organicznym lub w mieszaninie rozpuszczalników, korzystnie w mieszaninie acetonu i kwasu octowego lodowatego, roztwór chłodzi się do temperatury poniżej 0°C, korzystnie do temperatury od —30 do —90°C, i energicznie mieszając i chłodząc dodaje się kwas chromowy lub jego sól rozpuszczoną w rozpuszczalniku organicznym o tej samej temperaturze, korzystnie w kwasie octowym. Mieszaninę reakcyjną pozostawia się na

5—15 minut, korzystnie 8 minut. Następnie mieszaninę reakcyjną zadaje się ostrożnie zimnym wodnym roztworem amoniaku o temperaturze —40 do —50°C, doprowadzając odczyn do wartości pH = 8—9, rozcieńcza się wodą i ekstrahuje kilkoma porcjami rozpuszczalnika organicznego, korzystnie chlorku metylenu, aż do całkowitego wyekstrahowania alkaloidu. Połączone ekstrakty przemycza się wodą, suszy i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymuje się białą, bezpostaciową, podobną do piany suchą pozostałość, zawierającą głównie N-formyleurozyny oraz N-demetyloleurozyny. Związki te rozdziela się na drodze chromatografii za pomocą kolumny wypełnionej tlenkiem glinowym (o stopniu aktywności IV—V). Wypełnienie sporządza się z benzenowej zawiesiny tlenku glinowego. Jako pierwszy eluent stosuje się benzen, a jako następne stosuje się mieszaniny o różnym stosunku ilościowym benzenu i chlorowęgłowodoru, korzystnie mieszaniny benzenu z chloroformem. Substancje obecne w różnych frakcjach identyfikuje się na drodze chromatografii cienkowarstwowej. Jako pierwsze wymywane są z kolumny zanieczyszczenia, później N-demetyloleurozyna, a ostatecznie N-formyleurozyna. Frakcje zawierające identyczne związki łączy się, odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem i, otrzymane zasady ewentualnie przeprowadza się w ich sole addycyjne z kwasami, korzystnie w wodorosiarczany. W razie potrzeby związki te można oczyszczać na drodze rekryształizacji, stosowanej zwłaszcza w przypadku soli. N-demetyloleurozyny można w znany sposób formylować (por. C.W. Huffman, J. Org. Chem. 23, 727 (1958) otrzymując N-formyleurozyny.

Korzystna postać realizacji sposobu według wynalazku polega na tym, że suchą pozostałość, otrzymaną z mieszaniny reakcyjnej po utlenieniu, formuluje się za pomocą mieszaniny kwasu mrówkowego i bezwodnika octowego. N-demetyloleurozyna ulega wówczas przekształceniu w N-formyleurozyny. Następnie mieszaninę reakcyjną zobojętnia się, ekstrahuje chlorkiem metylenu, ekstrakt przemycza się wodą i zateża do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymaną suchą pozostałość oczyszcza się chromatograficznie. Wytworzoną N-formyleurozyny ewentualnie przeprowadza się w sól, korzystnie w siarczan, który można rekryształizować.

Przykład I. 12 g (0,0132 mola) siarczanu leurozyny rozpuszcza się w 2640 ml acetonu, a następnie dodaje się 0,6 litra lodowatego kwasu octowego, świeżo oddestylowanego z mieszaniny zawierającej kwas chromowy. Roztwór chłodzi się do temperatury —55°C i mieszając dodaje się do niego zimny bezwodnik octowy zawierający 5,94 g (0,135 moli) kwasu chromowego w ciągu 3 minut. Mieszaninę pozostawia się w ciągu 5 minut, po czym pH roztworu doprowadza się do wartości 6 za pomocą zimnego, stężonego wodnego roztworu amoniaku w ilości około 6 litrów, dodając go w ciągu 7 minut. Podczas zobojętniania mieszaninę chłodzi się w celu zapobieżenia wzrostowi temperatury powyżej 50°C. Otrzymaną tak

mieszaninę wylewa się do naczynia szklanego zaopatrzonego w szklane mieszadło i kurek spustowy, zawierającego 9 litrów wody destylowanej. Rozcieńczony roztwór alkalizuje się wodnym roztworem amoniaku do pH równego 8,5.

Następnie mieszaninę reakcyjną ekstrahuje się czterokrotnie 1,5-litrowymi porcjami chlorku metylenu, a wówczas alkaloidy w postaci zasad przechodzą do warstwy chlorku metylenu. Warstwy rozdziela się, warstwy organiczne łączy się i trzykrotnie przemywa litrowymi porcjami wody destylowanej w celu usunięcia octanu amonowego powstającego podczas zobojętniania. Następnie warstwę organiczną suszy się nad siarczanem sodowym i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem.

Otrzymuje się 10 g beżowo-białej suchej pozostałości stanowiącej surówkę mieszaninę N-formyloleurozyny oraz N-demetyloleurozyny.

Suchą pozostałość rozpuszcza się w 60 ml benzenu i roztwór wlewa się do kolumny chromatograficznej o średnicy 35 mm, wypełnionej 500 g tlenku glinowego o stopniu aktywności IV—V. Wypełnienie przygotowuje się z benzenowej zawiesiny tlenku glinowego.

Kolumnę eluuje się rozpuszczalnikami lub mieszaninami rozpuszczalników, zestawionymi w tablicy I.

Tablica I

Skład eluenta	Ilość eluenta, ml
benzen	900
benzen i chloroform w stosunku 9:1	1800
benzen i chloroform w stosunku 8,5:1,5	1000
benzen i chloroform w stosunku 8:2	2800
benzen i chloroform w stosunku 1:1	2800
chloroform	800

Eluat wypływający z kolumny zbiera się w postaci frakcji o objętości 400 ml. Różne frakcje bada się na drodze chromatografii cienkowarstwowej (N. R. Fransworth i inni, Lloydia, 27, 302 (1964)).

Frakcje 1—5 nie zawierają alkaloidów. Pierwsze ślady alkaloidu pojawiają się zwykle we frakcji 6 zawierającej przeważnie nieprzereagowaną leurozynę. N-demetyloleurozyna pojawia się najwcześniej we frakcji 7, a całkowicie jest wymyta we frakcji 15. Wymywanie N-formyloleurozyny zachodzi od frakcji 13, a kończy się zwykle we frakcjach 19—21.

Zanalizowane na drodze chromatografii cienkowarstwowej frakcje zawierające te same alkaloidy, łączy się i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując 5,6 g surowej, bezpostaciowej N-demetyloleurozyny.

W następnym etapie surowe, bezpostaciowe za-

sady przeprowadza się kolejno w wodorosiarczany. Jedną część wagową surowego produktu rozpuszcza się w 5 częściach objętościowych suchego etanolu, następnie roztwór zakwasza się do odczynu o wartości pH = 4, dodając 1% roztwór kwasu siarkowego w suchym etanolu, po czym od razu zaczyna wydzielać się krystaliczny siarczan. Mieszaninę pozostawia się na kilka godzin w temperaturze pokojowej, po czym odsąca się wydzielone kryształy. Sole rekrystalizuje się, rozpuszczając 1 część wagową krystalicznego siarczanu w 5 częściach objętościowych metanolu, i dodając czterokrotnie większą (objętościowo) ilość suchego etanolu. Roztwór pozostawia się w temperaturze pokojowej, a następnie wydzielony produkt odsąca się, przemywa suchym etanolem i suszy.

Opisanym sposobem otrzymuje się 4,8 g (wydajność 40,1%) wodorosiarczanu N-formyloleurozyny o temperaturze topnienia 248—252°C (mierzonej w aparacie Boetiusa) i skręcalności właściwej, $[\alpha]_{20}^D = +3,7^\circ$ (1% roztwór wodny) oraz 1,1 g (9,3% wydajności teoretycznej wodorosiarczanu N-demetyloleurozyny, ulegającego rozkładowi termicznemu przed osiągnięciem temperatury topnienia i charakteryzującego się skręcalnością właściwą $[\alpha]_{20}^D = 3,2^\circ$ (1% roztwór wodny).

W celu określenia fizycznych właściwości zasady N-formyloleurozynowej, część otrzymanego wyżej opisanym sposobem wodorosiarczanu N-formyloleurozyny rozpuszcza się w wodzie pH roztworu doprowadza się do wartości 8—9 za pomocą stężonego, wodnego roztworu amoniaku i mieszaninę trzykrotnie ekstrahuje się chlorkiem metylenu. Fazy organiczne łączy się, suszy i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem. Tak wytworzoną bezpostaciową N-formyloleurozynę rekrystalizuje się z metanolu, otrzymując krystaliczny produkt o temperaturze topnienia 209—211°C (w aparacie Boetiusa) i o skręcalności właściwej $[\alpha]_{20}^D = +80,3^\circ$ (1% roztwór wodny).

Widmo N-formyloleurozyny w podczerwieni (uwidoczniono w fig. 2 przedstawionej na rysunku). Różni się ono od widma leurozyny silnym pasmem absorbcyjnym grupy formylowej przy 1672 cm⁻¹.

Z widma masowego wynika, że liczba masowa jonu. cząsteczki N-formyloleurozyny wynosi 822. Dokładnie zmierzona masa cząsteczkowa związku równa jest 822, 3977, zaś obliczona z wzoru C₄₆H₅₄N₄O₁₀ wynosi 822, 3909. Z analizy wynika: Wzór sumaryczny C₄₆H₅₄N₄O₁₀
Obliczono: C — 67,15%; H — 6,61%; N — 6,81%; O — 19,4%
Znaleziono: C — 66,95%; H — 6,58%; N — 6,75%; O — 19,27%

W widmie masowym znajduje się pik jonu o liczbie masowej 793, odpowiadający jonowi bez grupy formylowej a jego masa wynosi dokładnie

$$m/e \text{ oznaczona} = 793,3866$$

Tej liczbie masowej odpowiada empiryczny wzór C₄₅H₅₃N₄O₉; masa cząsteczkowa takiego związku wynosi

$$m/e \text{ obliczona} = 793,3882$$

Podobnie jak w przypadku widma masowego leurozyny w postaci zasady, również i w widmie N-formyloleurozyny w postaci zasady pojawia się pik odpowiadający liczbie masowej 353, tj. segmentu pochodzącego od epoksywelbanaminy. Potwierdzają to dokładnie pomiary masy wynoszącej

$$m/e \text{ oznaczona} = 353,1874$$

odpowiadającej empirycznemu wzorowi $C_{21}H_{25}-N_2O_3$, którego masa cząsteczkowa równa jest

$$m/e \text{ obliczona} = 353,1858$$

W celu określenia fizycznych właściwości zasady N-demetyloleurozyny jej wodorosiarczan rozpuszcza się w wodzie, odczyn roztworu doprowadza się do wartości pH = 8—9 wodnym roztworem amoniaku, a uwolnioną zasadę ekstrahuje się chlorkiem metylenu. Warstwy organiczne łączy się, suszy i odparowuje do sucha. Bezpostaciową, suchą pozostałość rekrytalizuje się z metanolu, otrzymując krystaliczną N-demetyloleurozynę. Temperatura topnienia tego związku, mierzona w aparacie Boetiusa, wynosi 208—210°C, a skręcalność właściwa $[\alpha]_{20}^D = +50,1^\circ$ (1% roztwór chloroformowy).

Widmo tego związku w podczerwieni uwidoczniło się ono od widma leurozyny silnym pasmem absorpcyjnym, charakterystycznym dla drugorzędowej grupy aminowej, powstałej wskutek demetylacji, występującym przy 3350 cm^{-1} .

Z widma masowego wynika, że liczba masowa jonu omawianej pochodnej leurozyny wynosi 794. Z dokładnych pomiarów masy cząsteczkowej wyprowadzono empiryczny wzór $C_{45}H_{54}N_4O_9$. Z analizy wynika:

Wzór sumaryczny: $C_{45}H_{54}N_4O_9$
obliczono: C — 68,08%; H — 6,85%; N — 7,05%; O — 18,10%
znaleziono: C — 67,85%; H — 6,79%; N — 6,90%; O — 17,95%

Zmierzona masa cząsteczkowa wynosi

$$m/e \text{ oznaczona} = 794,3895$$

a masa obliczona z wzoru powyższego związku wynosi

$$m/e \text{ obliczona} = 794,3882$$

Przykład II. 1 g N-demetyloleurozyny rozpuszcza się w mieszaninie 6 ml stężonego kwasu mrówkowego i 1 ml bezwodnika octowego i całość pozostawia się w ciągu 10 minut w temperaturze pokojowej. Następnie mieszaninę wylewa się do 30 ml zimnej wody o temperaturze 0—5°C i odczyn mieszaniny doprowadza się do wartości pH = 9,0 za pomocą zimnego stężonego roztworu amoniaku, przy czym całość miesza się. Alkaloid ekstrahuje się z roztworu wodnego 3 porcjami po 30 ml chlorku metylenu. Roztwory chlor-

ku metylenu łączy się, suszy i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem.

Otrzymuje się 0,95 g bezpostaciowej, stałej N-formyloleurozyny, którą przeprowadza się w wodorosiarczan, analogicznie jak w przykładzie I, otrzymując 1,01 g wodorosiarczanu N-formyloleurozyny.

Przykład III. 10 g beżowo-biało zabarwionej, podobnej do piany surowej pozostałości zawierającej N-formyloleurozynę i N-demetyloleurozynę, otrzymanej na drodze utleniania 12 g (0,0132 mola) siarczanu leurozyny sposobem opisanym w przykładzie I, rozpuszcza się w mieszaninie 60 ml stężonego kwasu mrówkowego i 10 ml bezwodnika octowego. Roztwór mieszając wlewa się do 300 ml zimnej wody o temperaturze 0—5°C a odczyn mieszaniny doprowadza się do wartości pH = 9,0 dodatkiem zimnego, stężonego, wodnego roztworu amoniaku, jednocześnie mieszając. Roztwór ten trzykrotnie ekstrahuje się porcjami po 100 ml chlorku metylenu, warstwy chlorku metylenu łączy się, suszy i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując 9,8 g bezpostaciowej, biało zabarwionej surowej N-formyloleurozyny.

Surową N-formyloleurozynę oczyszcza się na drodze chromatografii kolumnowej. Produkt rozpuszcza się w 60 ml benzenu a roztwór wprowadza się do kolumny o średnicy 45 mm wypełnionej tlenkiem glinowym (o stopniu aktywności III) w benzenie. Kolumnę eluuje się kolejno rozpuszczalnikami zestawionymi w tablicy 8. II

Tablica 8 II

Skład eluenta	Ilość eluenta, ml
benzen	1200
mieszanina benzenu i chloroformu w stosunku 1:1	5000
mieszanina benzenu i chloroformu w stosunku 1:1	3000
chloroform	800

Eluat wypływający z kolumny zbiera się w postaci frakcji o objętości 400 ml.

Frakcje 1—3 nie zawierają alkaloidów. We frakcjach 4—10 znajdują się zanieczyszczenia, zaś we frakcji 11, obok zanieczyszczeń pojawia się również N-formyloleurozyna. Frakcję 15—20 zawierają zasadniczo tylko N-formyloleurozynę. Zawartość N-formyloleurozyny w następnych frakcjach stopniowo się zmniejsza. Frakcje zawierające tylko N-formyloleurozynę łączy się i odparowuje do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując 6,5 g surowej, bezpostaciowej N-formyloleurozyny.

Surowy produkt przeprowadza się następnie w wodorosiarczan. W tym celu 6,5 g N-formyloleurozyny rozpuszcza się w 32,5 ml suchego etanolu, po czym roztwór zakwasza się dodając 1% roztworu kwasu siarkowego w suchym etanolu, doprowadzając odczyn do wartości pH = 4. Na-

tychmiast po dodaniu kwasu zaczynają się wydzielac kryształy. Mieszaninę pozostawia się w ciągu kilku godzin w temperaturze pokojowej, a następnie odsącza się kryształy i przemywa suchym etanolem. Otrzymuje się 6,5 g krystalicznego wodorosiarczanu N-formyloleurozyny.

Fracje zebrane przed i po frakcjach zawierających czystą N-formyloleurozynę zawierają zanieczyszczenia i N-formyloleurozynę. Fracje te łączy się i odparowuje do sucha. 1,75 g tak otrzymanej substancji bezpostaciowej rozpuszcza się w benzenie i oczyszcza sposobem chromatograficznym. W celu zapewnienia lepszego rozdzielania substancji kolumnę wymywa się 1200 ml mieszaniny benzenu z chloroformem w stosunku 2:1. Fracje zawierające tylko N-formyloleurozynę poddaje się wyżej omówionej obróbce otrzymując jeszcze 1,05 g czystego, krystalicznego wodorosiarczanu N-formyloleurozyny, to jest łącznie 7,10 g tego związku (wydajność 63,7%). Właściwości fizyczne tego produktu są identyczne z właściwościami wodorosiarczanu N-formyloleurozyny, otrzymanego sposobem podanym w przykładzie I.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych pochodnych leurozyny o wzorze ogólnym przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza atom wodoru lub grupę formylową, oraz ich farmakologicznie dopuszczalnych soli addycyjnych z kwasami, **znamienny tym**, że leurozynę lub jej sól addycyjną z kwasem utlenia się, a z otrzymanej mieszaniny reakcyjnej wyodrębnia się produkty utlenienia, to jest N-formyloleurozynę i N-demetyloleurozynę, i wolne zasady ewentualnie przeprowadza się w ich sole addycyjne z kwasami.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się za pomocą kwasu chromowego lub chromianu.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się w obecności rozpuszczalnika, korzystnie bezwodnika octowego.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się w obniżonej temperaturze, korzystnie w temperaturze poniżej -30°C .

5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że wyodrębnianie prowadzi się na drodze chromatografii.

6. Sposób wytwarzania nowej pochodnej leurozyny o wzorze ogólnym przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza grupę formylową, oraz jej farmakologicznie dopuszczalnych soli addycyjnych z kwasami, **znamienny tym**, że leurozynę lub jej sól addycyjną z kwasem utlenia się, otrzymaną mieszaninę reakcyjną, zawierającą N-formyloleurozynę i N-demetyloleurozynę, formuluje się, a otrzymaną wolną N-formyloleurozynę ewentualnie przeprowadza się w jej sól addycyjną z kwasem.

7. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się za pomocą kwasu chromowego lub chromianu.

8. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się w obecności rozpuszczalnika, korzystnie bezwodnika octowego.

9. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się w obniżonej temperaturze, korzystnie w temperaturze poniżej -30°C .

10. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że formylowanie prowadzi się za pomocą kwasu mrówkowego w obecności bezwodnika octowego.

11. Sposób wytwarzania nowej pochodnej leurozyny o wzorze ogólnym przedstawionym na rysunku, w którym R oznacza grupę formylową, oraz jej farmakologicznie dopuszczalnych soli addycyjnych z kwasami, **znamienny tym**, że leurozynę lub jej sól addycyjną z kwasem utlenia się, z otrzymanej mieszaniny reakcyjnej, zawierającej N-formyloleurozynę i N-demetyloleurozynę, wyodrębnia się N-demetyloleurozynę, którą następnie formuluje się, a otrzymaną wolną N-formyloleurozynę ewentualnie przeprowadza się w jej sól addycyjną z kwasem.

12. Sposób według zastrz. 11, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się za pomocą kwasu chromowego lub chromianu.

13. Sposób według zastrz. 11, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się w obecności rozpuszczalnika, korzystnie bezwodnika octowego.

14. Sposób według zastrz. 11, **znamienny tym**, że utlenianie prowadzi się w obniżonej temperaturze, korzystnie w temperaturze poniżej -30°C .

15. Sposób według zastrz. 11, **znamienny tym**, że formylowanie prowadzi się za pomocą kwasu mrówkowego w obecności bezwodnika octowego.

16. Sposób według zastrz. 11, **znamienny tym**, że wyodrębnianie prowadzi się na drodze chromatografii.

ERRATA

łam 2, wiersz 6

jest: nie azotu rodnikiem metylowym, a winkrystyna
powinno być: liny, a różnią się tylko tym, że w winblastynie

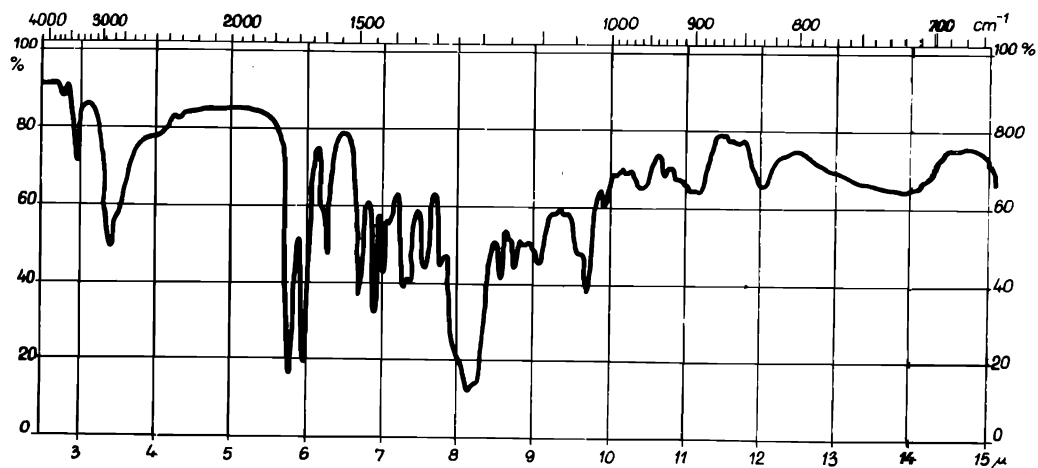


Fig. 2

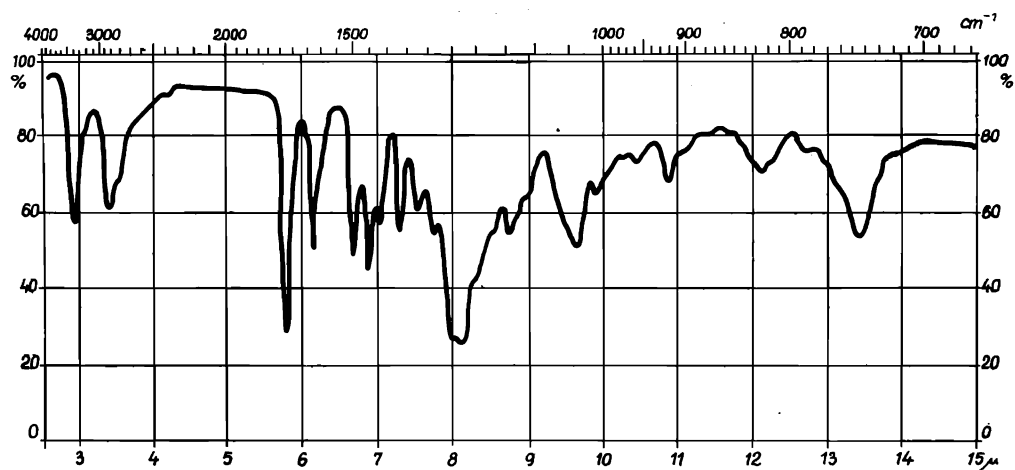


Fig. 3

