



(19) **HU**

MAGYAR KÖZTÁRSASÁG
Magyar Szabadalmi Hivatal

(11) Lajstromszám: **225 413**

(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 98 02336**

(22) A bejelentés napja: **1996. 03. 19.**

(40) A közzététel napja: **1999. 03. 01.**

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértesítőben: **2006. 11. 28.**

(51) Int. Cl.: **C07H 15/252** (2006.01)

(86) A nemzetközi (PCT) bejelentési szám:

PCT/EP 96/01174

(87) A nemzetközi közzétételi szám: **WO 9629335**

(30) Elsőbbségi adatok:

MI95A000566 1995. 03. 22. IT

(72) Feltalálók:

Bigatti, Ettore, Rho (IT);
Bianchi, Francesco, Milánó (IT)

(73) Jogosult:

Sicor Societa' Italiana Corticosteroidi S.p.A.,
Milánó (IT)

(74) Képviselő:

dr. Fehérvári Flóra, DANUBIA Szabadalmi és
Védjegy Iroda Kft., Budapest

(54)

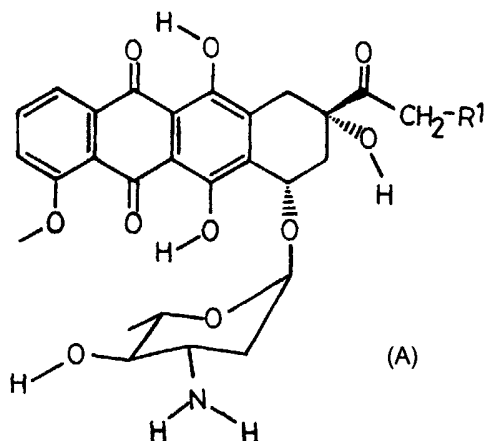
Eljárás antraciklin típusú antibiotikumok előállítására

(57) Kivonat

A találmány tárgya eljárás az (A) általános képletű antraciklin típusú antibiotikumok előállítására, a képletben

R¹ jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoport
vagy -OCOR₂ általános képletű csoport, ahol
R² jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport.

Az eljárás során a daunózamin-molekularész 4'-hidroxilcsoportját epimerizálják oly módon, hogy a trifluor-metil-szulfonil-csoportot nukleofil szubsztitúcióval karboxilátra cserélik, az epimerizáció és a további átalakítási eljárások folyamán a molekula hidroxilcsoportjai védettek.



HU 225 413 B1

A találmány tárgya eljárás antraciklin típusú antibiotikumok előállítására.

Az epirubicin (epidoxorubicin) és az epidaunomicin az antraciklinek csoportjába tartozó tumorelles hatású antibiotikumok.

Ezek a vegyületek a glikozid-molekularész C-4' helyzetű hidroxilcsoportjának konfigurációjában különböznek a tumorelles hatású doxorubicin- és daunorubicinvegyületektől, mivel a doxo- és daunorubicinben a hidroxilcsoport konfigurációja axiális, az epirubicinben és epidaunorubicinben pedig ekvatoriális.

A doxorubicint régóta használják daganatok kezelésére (Arcamone, ed. „Doxorubicin”, Acad. Press, New York (1981)). A doxorubicin súlyos mellékhatása a gyakran visszafordíthatlanul kialakuló miokardiopátia.

Az epirubicin gyógyászati tulajdonságai a különböző epirubicinszármazékokéval összehasonlítva igen előnyösek, mivel azonos tumorelles hatás mellett kevesebb mellékhatást mutatnak (Weiss, R. B. és munkatársai: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 18, 185–97 (1986)). Az epirubicint a (B) képletű daunorubicin-aglikon és a trifluor-acetamid formában védett akózamin 1-klór-származékának kondenzációjával állították elő [Arcamone, F. és munkatársai: *J. Med. Chem.*, 18/7, 703–707 (1975)], majd a védőcsoportot lehasították, és az oldalláncot a szakirodalomban jól ismert módszerrel eltávolították, így állították elő daunorubicinből doxorubicint (Acton, E. M. *J. Med. Chem.*, 17, 65 (1974); DE 1917874).

A trifluor-acetil-akózaminil-klorid N,O-származékát különböző természetes cukrokból egy sor meglehetősen bonyolult és költséges szintézis-eljárással állítják elő.

A trifluor-acetil-daunorubicin-glikozid előállítását az 1 163 001 számú olasz szabadalmi leírásban, majd ezt követően egy további publikációban ismertették [Bonadonna G.: „Advances in Anthracycline Chemotherapy Epirubicin”, Masson Ed., Milan, Italy, (1984)]. Az eljárás során a C-4' helyzetű hidroxilcsoportot ketocsoporttá oxidálták, majd ezt nátrium-bór-hidriddel sztereoselektív redukcióban visszaalakították hidroxilcsoporttá. Az oxidációs reakciót meglehetősen alacsony hőmérsékleten (–70 °C-on) kellett végezni, mivel a ketoszámazék bomlásra nagyon érzékeny. Ezenkívül a nátrium-bór-hidrides redukciót is alacsony hőmérsékleten kellett végezni az aglikon-karbonil-csoport párhuzamos redukciójának visszaszorítására. Az izomerizáció maximális kitermelését a leírásban nem adták meg, becslésünk szerint ez az érték körülbelül 48%.

Barbieri, B. és munkatársai szintén a C-4' epimerizációjára dolgoztak ki eljárást [Barbieri, B. és munkatársai: *Cancer Research*, 47, 4001 (1987)]. Az eljárásban 4'-halogén-daunorubicint állítottak elő, melynek során a szénatom ekvatoriális konfigurációját epimerizációval axiálissá alakították át, azaz az ellentétes irányultságot a találmány szerint kívánatos irányultsággá alakították át. Az epimerizációs reakciót (ekvatoriális) trifluor-metil-szulfonsav-csoport tetrabutil-ammónium-haliddal történő nukleofil szubsztitúciójával végezték.

A találmányunk szerinti új eljárással a teljes antraciklin antibiotikum-molekula daunózaminrészének 4'-hidroxilcsoportját izomerizáljuk, jól szabályozható reakciókörülmények között, különösen a reakció-hőmérséklet és a tisztítási eljárás egyszerűsége tekintetében.

A találmányunk szerinti eljárással a megfelelően védett aminocsoportot tartalmazó daunózaminrész 4'-hidroxilcsoportját epimerizálással axiális konfigurációból ekvatoriálissá alakítjuk át oly módon, hogy egy erős távozócsoportot viszünk be, majd ezt karboxilát-csoporttal helyettesítjük, ekkor a 4'-szénatom konfigurációja átfordul. Ezután a karbonsav-észtert hidrolizáljuk visszaalakítva hidroxilcsoporttá, végül eltávolítjuk az amino-védőcsoportot.

Az epimerizációs reakciót megvizsgálva úgy találtuk, hogy a kívánt epimer kitermelése nem nagy, mivel a trimetil-szulfonsav távozócsoport helyettesítési reakciójával párhuzamosan melléktermék-képződési reakciók játszódnak le.

Meglepő módon, a kívánt epimer az aglikonrész hidroxilcsoportjának – különösen 9-helyzetű csoportjának – védésével melléktermék képződése nélkül állítható elő.

A találmányunk szerinti eljárás kivitelezéséhez elengedhetetlen az aglikonrész 9-helyzetű hidroxilcsoportjának védelem. A 6- és 11-helyzetű hidroxilcsoportok védelem javítja a kitermelést.

Találmányunk célja eljárás (A) általános képletű antraciklin típusú antibiotikumok előállítására, a képletben

R¹ jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy –OCOR² általános képletű csoport, ahol R² jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport,

melynek során a 4'-hidroxilcsoportot epimerizáljuk oly módon, hogy a 4'-helyzetű trifluor-metánszulfonsavat nukleofil szubsztitúcióval karboxilát-csoporttá alakítjuk, közben a molekula aglikonrészének hidroxilcsoportjait védjük.

A találmány első megvalósítási módja szerinti előállítási eljárás a következő lépésekből áll:

a) egy (I) általános képletű N-védett daunorubicin-származékot, ahol R¹ jelentése hidrogén- vagy halogénatom, vagy megfelelően védett hidroxilcsoport és R₃ jelentése amino-védőcsoport, trifluor-metánszulfonsavval vagy reakcióképes származékával reagáltatunk, ezáltal (II) általános képletű vegyületet állítunk elő, ahol R¹ és R₃ jelentése a fent megadott;

b) a 9-helyzetű és adott esetben a 6- és 11-helyzetű hidroxilcsoportokat védjük, ezáltal (III) általános képletű köztiterméket állítunk elő, ahol T jelentése védőcsoport és R¹ jelentése a fent megadott;

c) a b) lépésben kapott vegyületet egy szekunder vagy terciér amin RCOOH képletű karbonsavval képzett sójával kezeljük, a képletben R jelentése adott esetben helyettesített vagy heteroatomokkal megszakított alifás csoport, vagy adott esetben helyettesített aromás csoport, ezáltal (IV) általános képletű észter-származékot állítunk elő, ahol R, R¹, R₃ és T jelentése a fent megadott;

d) a 9-helyzetű hidroxilcsoport védőcsoportját eltávolítjuk, ezáltal (V) képletű köztiterméket állítunk elő, ahol R, R¹, R₃ jelentése a fent megadott;

e) az észtert hidrolizáljuk, ezáltal (VI) általános képletű N-védett epidaunorubicint állítunk elő, ahol R¹ és R₃ jelentése a fent megadott;

f) kívánt esetben az amino-védőcsoportot eltávolítjuk;

g) a kapott vegyületet az (A) általános képletű epirubicinné vagy ennek észterévé alakítjuk, a képletben R¹ jelentése hidroxilcsoport vagy -OCOR₂ általános képletű csoport, ahol R² jelentése a fent megadott.

Kiindulási anyagként a szakirodalomban ismert és daunorubicinből és trifluor-ecetsavanhidridből kiindulva ismert módon előállítható daunorubicin-trifluor-acetamidot használunk [J. Med. Chem., 18/7, 703–707 (1975)].

Amino-védőcsoportként más csoportokat is használhatunk, például karbamát-észtert, mint a fluorenil-metoxi-karbamát (Fmoc) és hasonlókat.

Az eljárásban távozócsoportként trifluor-metánszulfonil-iont használunk, amelyet a kereskedelemben beszerezhető megfelelő anhidrid formájában reagáltathatunk. A reakciót a kiindulási anyagokkal és a végtermékkel reakcióba nem lépő megfelelő oldószerben, például gyengén poláros oldószerben végezzük, ilyen a diklór-metán, diklór-etán, kloroform, dioxán, tetrahidrofurán vagy benzol.

A reakciót alacsony hőmérsékleten végezzük (körülbelül 0 °C) a teljes lejátszódáshoz szükséges ideig.

A képződő (II) általános képletű köztiterméket visszanyerés nélkül, közvetlenül felhasználhatjuk a következő lépésben. Eszerint ugyanebbe a reakcióedénybe megfelelő reagenst adagolunk, amellyel az aglikonrész 9-helyzetű, valamint kívánt esetben 6- és 11-helyzetű hidroxilcsoportjait védőcsoporttal látjuk el. A (III) általános képletű köztiterméket szintén közvetlenül felhasználjuk a következő lépésben. A reakcióban alkalmazott védőcsoportok a szakirodalomból ismertek. Alacsony ára miatt előnyösen trimetil-szilil-csoportot használunk, de más szililszarmazék-csoportok hasonlóképpen megfelelőek.

A következő lépésben szekunder vagy terciér aminokkal képzett karboxilátsót adunk hozzá. Úgy találtuk, hogy a reakció kvaterner ammóniumsókkal nem megy kielégítően végbe.

Megfelelő karboxilátok a formát, acetát, izobutirát, trimetil-szilil-acetát, p-nitro-benzoát és a halogénezett acetátszarmazékok, például trifluor-acetát. Az RCOOH sav alifás vagy aromás csoportjának helyettesítői vagy az alifás lánc heteroatomjai nem befolyásolják a nukleofil szubsztitúciós reakciót. Amiként előnyösen alkalmazható trietil-amin. A reakciót 0 °C és 50 °C közötti hőmérsékleten, előnyösen szobahőmérsékleten végezzük, a reakció lejátszódásához szükséges ideig. Végül a (IV) általános képletű terméket szokásos eljárásokkal nyerjük ki, és a 9-helyzetű hidroxilcsoport védőcsoportját szokásos eljárásokkal eltávolítjuk el, ezáltal (V) általános képletű vegyületet kapunk.

Az észter hidrolízisét bázisos körülmények között végezzük, a szakterületen járatos személy számára is-

mert módon, például az (V) általános képletű vegyületet egy poláros oldószerben, például metanolban oldjuk és alkáli- vagy alkáliföldfém-hidroxiddal, például nátrium-hidroxiddal kezeljük. Így kapjuk a (VI) általános képletű N-védett epidaunorubicint, majd a nitrogén védőcsoportjának hidrolízise után az (A) általános képletű epidaunorubicint, melynek képletében R¹ jelentése hidrogénatom. Kívánt esetben ezt a szakirodalomban ismert eljárásokkal (A) általános képletű epirubicinné vagy észterré alakítjuk, a képletben R¹ jelentése hidroxilcsoport vagy -OCOR² általános képletű csoport [Suarato A. és munkatársai: Carbohydrate Res., 98, c1–c3 (1981)].

A találmány egy másik megvalósítási módja szerint az epirubicin a (C) képletű doxorubicin kiindulási anyagból állítjuk elő a következő reakciólépésekben:

a) doxorubicint egy védőcsoport bevitelére alkalmas vegyülettel reagáltatunk a 9- és 14-helyzetű hidroxilcsoport, majd ezt követően a 3'-helyzetű amincsoport védelmére, ezáltal (VII) általános képletű vegyületet állítunk elő, ahol M₁ jelentése 1–4 szénatomos alkoxycsoport és M₂ jelentése hidrogénatom vagy 1–4 szénatomos alkilcsoport;

b) a (VII) általános képletű köztiterméket trifluor-metánszulfonsavval vagy ennek reakcióképes származékával reagáltatjuk, ezáltal (VIII) általános képletű vegyületet állítunk elő, ahol M₁, M₂ és R₃ jelentése a fent megadott;

c) a 6- és 11-helyzetű hidroxilcsoport védelmével (IX) általános képletű köztiterméket állítunk elő, a képletben T jelentése védőcsoport, M₁, M₂ és M₃ jelentése a fent megadott;

d) a c) pont szerinti vegyületet egy szekunder vagy terciér amin RCOOH általános képletű karbonsavval képzett sójával kezeljük, ahol R jelentése adott esetben helyettesített vagy heteroatomokkal megszakított alifás csoport vagy adott esetben helyettesített aromás csoport, ezáltal (X) általános képletű észtert állítunk elő, ahol R, R₃, M₁ és M₂ jelentése a fent megadott;

e) a kapott észtert hidrolizáljuk, majd a 9- és 14-helyzetű hidroxilcsoportok és az aminocsoport védőcsoportját eltávolítjuk.

A kiindulási anyagokat szokásos eljárásokkal állítjuk elő. A doxorubicint előnyösen trietil-ortoformáttal reagáltatjuk (M₁ jelentése C₂H₅O-csoport és M₂ jelentése hidrogénatom) (Arcamone fenti hivatkozás 21. oldal). A további lépéseket a találmány első megvalósítási módjánál ismertettük. A d) lépésben 0 °C és 50 °C közötti hőmérsékleten, előnyösen szobahőmérsékleten dolgozunk. A védőcsoportokat jól ismert eljárásokkal távolítjuk el.

Találmányunkat a következő példákkal illusztráljuk.

1. példa

5 g (I) képletű vegyület 500 ml diklór-metánnal és 2,5 ml piridinnel készült elegyét 0 °C-ra hűtjük, és lassan 2,5 ml trifluor-metánszulfonsavanhidrid 125 ml diklór-metánnal készült oldatához adjuk. Az elegyet körülbelül 1 órán át hagyjuk reagálni, ekkor (II) trifluor-metánszulfonsav-származék keletkezik.

Az elegyhez 10 ml N,O-bisz(trimetil-szilil)-acetamidot adunk, szobahőmérsékletre melegítjük, és 4 órán át kevertetjük. A (III) képletű (T jelentése trimetil-szilil-csoport) triszszililátszármazékot 500 ml 0,1 mólos trietil-amin-izobutirát diklór-metánnal készült oldatához adjuk, és szobahőmérsékleten további 15 órán át kevertetjük. A reakcióelegyet 500 ml 0,25 n sósavval, majd 2%-os nátrium-bikarbonát-oldattal, végül 2×500 ml vízzel mossuk. A szerves fázist nátrium-szulfáton vízmentesítjük, szűrjük és szárazra pároljuk.

5 g (IVc) vegyületet kapunk, ez olyan (IV) képletű vegyületet jelent, amelynek képletében R jelentése $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ -csoport, T jelentése $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -csoport, R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): ppm: 13,92 (s, 1H, fenol OH); 13,40 (s, 1H, fenol OH); 8,05 (d, 1H, H-1); 1,80 (t, 1H, H-2); 7,40 (d, 1H, H-3) 6,55 (d, 1H, CONH); 5,31 (d, 1H, H-1'); 5,05 (m, 1H, H-1); 4,65 (t, 1H, H-4'); 4,55-4,40 (m, 2H, H-3' és H-5'); 4,08 (s, 3H, OCH_3); 3,25 (q, 2H, 10- CH_2); 2,65-2,55 (m, 1H, CHCOO); 2,45-2,20 (m, 2H, 8- CH_2); 2,37 (s, 3H, COCH_3); 2,10-1,70 (m, 2H, 2'- CH_2); 1,30-1,10 (m, 9H, 5'- CH_3 és $(\text{CH}_3)_2$); 0,15 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$).

2. példa

Az 1. példában ismertetett eljárás szerint járunk el trimetil-amin-acetátot használva, 5 g (IVa) képletű vegyületet kapunk, ami olyan (IV) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése metilcsoport, T jelentése $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -csoport és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

3. példa

Az 1. példában ismertetett eljárás szerint járunk el dietil-amin-formátot használva 5,1 g (IVd) képletű vegyületet kapunk, ami olyan (IV) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése hidrogénatom, T jelentése $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -csoport és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

4. példa

Az 1. példában ismertetett eljárás szerint járunk el trietil-amin p-nitro-benzoátot használva, 4,9 g (IVe) képletű vegyületet kapunk, ami olyan (IV) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése p- $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_4$ -csoport, T jelentése $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -csoport és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

5. példa

Az 1. példában ismertetett eljárás szerint járunk el, trietil-amin-trimetil-szilil-acetátot használva 5,1 g (IVb) képletű vegyületet kapunk, ami olyan (IV) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése $(\text{CH}_3)_3\text{SiCH}_3$ -csoport, T jelentése $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -csoport és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

6. példa

5 g (IVc) képletű vegyület 1000 ml diklór-metánnal készült oldatát 20 ml 48%-os kálium-fluorid és 1 g trietil-amin-acetát vizes oldatához adjuk. Az elegyet szo-

bahőmérsékleten két napig kevertetjük, majd a fázisokat elválasztjuk. A szerves fázist nátrium-szulfáton vízmentesítjük, és szárazra pároljuk.

A visszamaradó anyagot oszlopkromatográfiával tisztítjuk (szilikagél: diklór-metán/aceton 95:5 eluenst alkalmazunk) 4,5 g (Vc) képletű vegyületet kapunk, ez olyan (V) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ -csoport.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): ppm: 14,00 (s, 1H, fenol OH); 13,28 (s, 1H, fenol OH); 8,03 (d, 1H, H-1); 1,19 (t, 1H, H-2); 7,40 (d, 1H, H-3) 6,68 (d, 1H, CONH); 5,53 (d, 1H, H-1'); 5,30 (m, 1H, H-7); 4,65 (t, 1H, H-4'); 4,40-4,10 (m, 2H, H-3' és H-5'); 4,10 (s, 3H, OCH_3); 3,35-2,85 (m, 2H, 10- CH_2); 2,65-2,55 (m, 1H, CHCOO); 2,45 (s, 3H, COCH_3); 2,45-1,70 (m, 4H, 8- CH_2 és 2'- CH_2); 1,27 (d, 3H, 5'- CH_3); 1,15 (t, 6H, $(\text{CH}_3)_3$).

7. példa

5 g (IVa) képletű vegyületből kiindulva a 6. példában ismertetett eljárás szerint eljárva 4,2 g (Va) képletű vegyületet kapunk, ez olyan (V) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése metilcsoport és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

25

8. példa

5,1 g (IVd) képletű vegyületből kiindulva a 6. példában ismertetett eljárás szerint eljárva 4,4 g (Vd) képletű vegyületet kapunk, ez olyan (V) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése hidrogénatom és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

30

9. példa

4,9 g (IVe) képletű vegyületből kiindulva a 6. példában ismertetett eljárás szerint eljárva 4,3 g (Ve) képletű vegyületet kapunk, ez olyan (V) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése p- $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_4$ -csoport és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

40

10. példa

5,1 g (IVb) képletű vegyületből kiindulva a 6. példában ismertetett eljárás szerint eljárva 3,9 g (Va) képletű vegyületet kapunk, ez olyan (V) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R jelentése metilcsoport és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

45

11. példa

4,5 g (Vc) képletű 270 ml metanollal készült oldatát 0,3 ml 10%-os nátrium-hidroxid-oldattal kezeljük 2 órán át. Az elegyet 0,1 ml ecetsavval semlegesítjük, majd szárazra pároljuk. A visszamaradó anyagot 20 ml diklór-metánban és 0,5 ml vízben oldjuk.

50

Az oldatot 10 órán át hagyjuk kristályosodni, 3 g (VI) képletű vegyületet kapunk, a képletben R^1 jelentése hidrogénatom és R_3 jelentése CF_3CO -csoport.

55

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): ppm: 14,00 (s, 1H, fenol OH); 13,25 (s, 1H, fenol OH); 8,05 (d, 1H, H-1); 1,80 (t, 1H, H-2); 7,40 (d, 1H, H-3) 6,55 (d, 1H, CONH); 5,55 (d, 1H, H-1'); 5,25 (m, 1H, H-7); 4,10 (s, 3H, OCH_3); 4,10-3,85 (m, 3H, H-3', H-4' és H-5');

60

3,35–2,85 (dd, 2H, 10-CH₂); 3,30 (s, 1H, 9-OH); 2,40 (s, 3H, COCH₃); 2,40–1,75 (m, 4H, 8-CH₂ és 2'-CH₂); 1,40 (d, 3H, 5'-CH₃).

12. példa

4,2 g (Va) képletű vegyületből kiindulva a 11. példában ismertetett eljárás szerint eljárva 3,5 g olyan (VI) képletű vegyületet kapunk, melynek képletében R¹ jelentése hidrogénatom és R₃ jelentése CF₃CO-csoport.

13. példa

4,4 g (Vd) képletű vegyületből kiindulva a 11. példában ismertetett eljárás szerint eljárva 3,9 g olyan (VI) képletű vegyületet kapunk, melynek képletében R¹ jelentése hidrogénatom és R₃ jelentése CF₃CO-csoport.

14. példa

4,3 g (Ve) képletű vegyületből kiindulva a 11. példában ismertetett eljárás szerint eljárva 2,9 g olyan (VI) képletű vegyületet kapunk, melynek képletében R¹ jelentése hidrogénatom és R₃ jelentése CF₃CO-csoport.

15. példa

1,6 g doxorubicin-hidroklorid (32 ml) dimetil-formamidral készült elegyéhez 8 ml trietil-ortoformátot és 0,8 ml trifluor-ecetsavat adunk. A képződő oldatot szobahőmérsékleten 3 órán át kevertetjük, majd 60 ml diklór-metánnal hígítjuk, és 2,5 ml N-metil-morfolint adunk hozzá. 0 °C-ra hűtjük, majd 0,8 ml trifluor-ecetsavanhidrid 6 ml diklór-metánnal készült oldatát adjuk hozzá. Az elegyet 3 órán át 0 °C-on reagáltatjuk, majd 3 g nátrium-bikarbonátot és 30 ml metanolt adunk hozzá. Körülbelül 20 perc elteltével a reakcióelegyet 50 ml vízzel, 50 ml 0,25 N sósavoldattal és 50 ml vízzel mossuk. A szerves fázist nátrium-szulfáton vízmentesítjük, és szárazra pároljuk.

A visszamaradó (VII) képletű vegyületet (a képletben M₁ jelentése C₂H₅O-csoport és M₂ jelentése hidrogénatom) 100 ml diklór-metánban és 5 ml piridinben oldjuk, 0 °C-ra hűtjük, és cseppenként 0,5 ml trifluor-metánszulfonsavanhidrid és 20 ml diklór-metán oldatát adjuk hozzá. Az elegyet 0 °C-on körülbelül 1 órán át reagáltatjuk, ezzel olyan (VIII) képletű trifluor-metil-szulfonsav-származékot állítunk elő, amelynek képletében M₁ jelentése C₂H₅O-csoport M₁ jelentése hidrogénatom és R₃ jelentése CF₃CO-csoport.

Az elegyhez 2 ml bisztrimetil-szilil-acetamidot adunk, és szobahőmérsékleten 4 órán át melegítjük, így (IX) képletű biszszililátszármazékot kapunk [a képletben M₁ jelentése C₂H₅O-csoport, M₁ jelentése hidrogénatom, T jelentése Si(CH₃)₃-csoport és R₃ jelentése CF₃CO-csoport], ezután 100 ml 1 mólos trietil-amin-formát diklór-metános oldatát adjuk hozzá. Az elegyet 15 órán át hagyjuk reagálni, így (X) képletű vegyületet kapunk (a képletben R jelentése hidrogénatom, M₁ jelentése C₂H₅O-csoport és M₂ jelentése hidrogénatom).

Ezután 10 ml 48%-os kálium-fluorid-oldatot és 20 ml metanolt adunk hozzá, és 2 napig kevertetjük.

A szerves fázist 100 ml 0,5 N sósavoldattal, majd 100 ml 3%-os nátrium-bikarbonát-oldattal, végül 100 ml vízzel mossuk. A szerves fázist nátrium-szulfáton vízmentesítjük és szárazra pároljuk. A visszamaradó anyagot 5 °C-on 3 órán át 250 ml 0,1 mólos vizes nátrium-hidroxiid-oldattal kezeljük, majd a terméket 4×250 ml kloroformmal extraháljuk, az összeöntött szerves fázisokat nátrium-szulfáton vízmentesítjük és szárazra pároljuk.

A kapott anyagot 100 ml metanolban oldjuk és sósavval pH 2-re állítjuk be.

Az ortoészter hidrolízise körülbelül 30 perc alatt játszódik le.

Az elegyet szobahőmérsékleten vákuumban szárazra pároljuk, és a visszamaradó anyagot diizopropil-éterrel eldörgöljük, 0,5 g nyers epirubicin-hidrokloridot kapunk.

A tisztítást az 1 237 202 számú olasz szabadalmi leírás szerint végezzük, tiszta epirubicin-hidrokloridot kapunk.

¹H-NMR (DMSO): ppm: 14,00 (s, 1H, fenol OH); 13,25 (s, 1H, fenol OH); 8,20–8,00 (széles, s, 3H, NH₃⁺); 1,90 (m, 2H, H-1 és H-3); 7,65 (m, 1H, H-2) 5,80 (d, 1H, 4' OH); 5,55 (s, 1H, 9-OH); 5,30 (széles, s, 1H, H-1'); 4,95 (m, 2H, H-7 és 14-OH); 4,60 (m, 2H, 14-CH₂); 4,00 (széles s, 4H, OCH és H-5'); 3,15 (m, 2H, H-3' és H-4'); 2,95 (q, 2H, 10H-CH₂); 2,30–1,70 (m, 4H, 8-CH₂ és 2'-CH₂); 1,25 (d, 3H, 5'-CH₃).

16. példa

5 g (I) képletű vegyület 500 ml diklór-metánnal és 2,5 ml piridinnel készült elegyét 0 °C-ra hűtjük, és lassan 2,5 ml trifluor-metánszulfonsavanhidrid 125 ml diklór-metánnal készült oldatát adjuk hozzá. Az elegyet 1 órán át hagyjuk reagálni, ekkor (II) képletű trifluor-metánszulfonsav-származékot kapunk (a képletben R¹ jelentése hidrogénatom), majd 6 ml piridin és 15 trietil-szilil-trifluor-metánszulfonátot adunk hozzá, szobahőmérsékletre melegítjük, és 4 órán át kevertetjük.

A (III) triszszililátszármazékot [a képletben R¹ jelentése hidrogénatom és T jelentése Si(C₂H₅)₃-csoport] 0,1 mol trietil-amin-formát 500 ml diklór-metánnal készült oldatához adjuk, és szobahőmérsékleten további 15 órán át kevertetjük.

A reakcióelegyet 500 ml 0,25 N sósavoldattal, majd 2%-os nátrium-bikarbonát-oldattal, végül 2×500 ml vízzel mossuk. A szerves fázisokat nátrium-szulfáton szárítjuk, szűrjük, és szárazra pároljuk.

5, 2 g (IVf) képletű vegyületet kapunk, ez olyan (IV) képletű vegyületnek felel meg, amelynek képletében R¹ jelentése hidrogénatom, R jelentése hidrogénatom, R jelentése Si(CH₂CH₃)₃-csoport, R₃ jelentése CF₃CO-csoport és R₃ jelentése CF₃CO-csoport.

¹H-NMR (CDCl₃): ppm: 13,96 (s, 1H, fenol OH); 13,39 (s, 1H, fenol OH); 8,14 (s, 1H, HCO₂); 8,02 (d, 1H, H-1); 7,77 (t, 1H, H-2); 7,36 (d, 1H, H-3); 6,39 (d, 1H, CONH); 5,41 (d, 1H, H-1'); 5,09 (m, 1H, H-7); 4,74 (t, 1H, H-4'); 4,51–4,31 (m, 2H, H-3' és H-5'); 4,07 (s, 3H, OCH₃); 3,43–3,00 (q, 2H, 10-CH₂);

2,31–1,64 (m, 2H, 8-CH₂ és 2'-CH₂); 2,29 (s, 3H, COCH₃) 1,29 (d, 3H, 5'-CH₃); 0,90 (t, 9H, Si(CH₂CH₃)₃); 0,62 (q, 6H, Si(CH₂CH₃)₃).

17. példa

5,2 g (IVf) képletű vegyületből kiindulva a 6. példában ismertetett eljárással 4,2 g (Vd) képletű vegyületet kapunk.

145 mg (0,2 mmol, 4 033 566 számú amerikai egyesült szabadalmi leírás szerint előállított) n-trifluor-ecetil-adriamicin-14-valerátot (továbbiakban AD32), a 10 ml vízmentes diklór-metánban oldunk, az elegyet 5 °C-ra hűtjük, és 48 µl piridint és 49 µl trifluor-metánszulfonsavanhidridet (0,3 mmol) adunk hozzá. 2 óra elteltével, amikor a reakció teljesen végbement, 49 µl (0,2 mmol) bisztrimetil-szilil-acetamidot adunk hozzá, az elegyet szobahőmérsékletre melegítjük, és 4 órán át kevertetjük. A szililezett termékhez 450 µl (3,3 mmol) trietil-amin és 124 µl 3,3 mmol hangyasavat adunk. Az elegyet szobahőmérsékleten további 15 órán át kevertetjük, majd 2 ml metanolt és 2 ml 48%-os vizes kálium-fluorid-oldatot adunk hozzá. 2 nap múlva a fázisokat elválasztjuk, és a szerves fázist 10 ml vízzel extraháljuk. A szerves fázist bepároljuk, és a visszamaradó anyagot tiszta diklór-metánból kristályosítjuk. A kapott kristályos epiadriamicin-14-valerát-3-trifluor-acetamid olvadáspontja 230 °C; NMR (dimetil-szulfoxid) és tömegspektrometriás adatai a szerkezettel összhangban vannak.

A kapott termék R_f-értéke kissé alacsonyabb, mint a kiindulási AD32 vegyületé.

A termék hidrolízisét 5 °C-on 10 percig 0,05 mólos vizes nátrium-hidroxid-oldatban végezzük, részben epirubicin képződik, amelyet kromatográfiával választunk el a fent ismertetett módon.

19. példa

1 g daunorubicin-hidrokloridot 40 ml vízmentes diklór-metánban szobahőmérsékleten 0,4 l N-metil-morfolinnal és 0,6 g Fmoc kloriddal reagáltatunk. 1 óra elteltével 3 ml metanolt adunk hozzá, és 12 órán át szobahőmérsékleten hagyjuk állni. A reakcióelegyet 20 ml 0,2 mólos sósavoldattal, majd 20 ml vízzel mossuk, aztán nátrium-szulfáton vízmentesítjük, és a visszamaradó anyagot diizopropil-éterből kristályosítjuk. 0,5 g első hozamot kapunk, melynek olvadáspontja 174–175 °C.

150 mg kapott anyagot a 18. példa szerint reagáltatunk, de az utolsó hidrolízist 0,05 mol nátrium-hidroxid helyett 1 ml dimetil-formamiddal és 0,15 ml dimetil-amminnal végezzük, körülbelül 1 órán át –10 °C-on. A reakcióelegyet 20 ml etil-éterben kicsapjuk, és a kapott gumyszerű anyagot szűrjük, és vízzel szuszpendáljuk. A visszamaradó anyagot 0,1 mólos sósavoldatban oldjuk, és kémhatását pH 3,7-re állítjuk be. Az oldatot az 1 237 202 számú olasz szabadalmi leírásban ismertetett módon, RP18-on tisztítjuk, a kapott tiszta anyag megegyezik az szakirodalomból ismert epidaunorubicinnel.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (A) általános képletű vegyület előállítására, a képletben

5 R¹ jelentése hidrogénatom, hidroxilcsoport vagy –OCOR² általános képletű csoport, ahol R² jelentése 1–4 szénatomos alkilcsoport,

azzal jellemezve, hogy

a) egy (I) általános képletű N-védett daunorubicin-származékot, ahol R¹ jelentése hidrogén- vagy halogénatom, vagy megfelelően védett hidroxilcsoport és R₃ jelentése amino-védőcsoport, trifluor-metánszulfonsavval vagy reakcióképes származékával reagáltatunk, ezáltal (II) általános képletű vegyületet állítunk elő, ahol

15 R¹ és R₃ jelentése a fent megadott;

b) a 9-helyzetű és adott esetben a 6- és 11-helyzetű hidroxilcsoportokat védjük, ezáltal (III) általános képletű köztterméket állítunk elő, ahol T jelentése védőcsoport és R¹ jelentése a fent megadott;

20 c) a b) lépésben kapott vegyületet egy szekunder vagy terciér amin RCOOH képletű karbonsavval képzett sójával kezeljük, a képletben R jelentése adott esetben helyettesített vagy heteroatomokkal megszakított alifás csoport, vagy adott esetben helyettesített aromás csoport, ezáltal (IV) általános képletű észter-származékot állítunk elő, ahol R, R¹, R₃ és T jelentése a fent megadott;

d) a 9-helyzetű hidroxilcsoport védőcsoportját eltávolítjuk, ezáltal (V) képletű köztterméket állítunk elő, ahol R, R¹, R₃ jelentése a fent megadott;

30 e) az észtert hidrolizáljuk, ezáltal (VI) általános képletű N-védett epidaunorubicint állítunk elő, ahol R¹ és R₃ jelentése a fent megadott;

f) kívánt esetben az amino-védőcsoportot eltávolítjuk;

35 g) a kapott vegyületet az (A) általános képletű epirubicinné vagy ennek észterévé alakítjuk, a képletben R¹ jelentése hidroxilcsoport vagy –OCOR₂ általános képletű csoport, ahol R² jelentése a fent megadott.

40 2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, karbonsavsóként trietil-amin-sót használunk.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy savként hangyasavat, ecetsavat, izovajsavat, trimetil-szilil-ecetsavat vagy p-nitro-benzoetsavat használunk.

4. Az 1–3. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a c) lépést 0 °C és 50 °C közötti hőmérsékleten végezzük.

5. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a 6-, 9- és 11-helyzetben lévő hidroxilcsoportokat trialkil-szilil-csoporttal védjük.

6. Az 1–5. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy R₃ helyén trifluor-acetil-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületből indulunk ki.

7. Eljárás az (A') képletű epirubicin előállítására, azzal jellemezve, hogy

a) doxorubicint egy védőcsoport bevitelére alkalmas vegyülettel reagáltatunk a 9- és 14-helyzetű hidroxilcsoport, majd ezt követően a 3'-helyzetű amincso-

port védésére, ezáltal (VII) általános képletű vegyületet állítunk elő, ahol M_1 jelentése 1–4 szénatomos alkoxi-csoport és M_2 jelentése hidrogénatom vagy 1–4 szénatomos alkilcsoport;

b) a (VII) általános képletű köztiterméket tri-fluor-metánszulfonsavval vagy ennek reakcióképes származékával reagáltatjuk, ezáltal (VIII) általános képletű vegyületet állítunk elő, ahol M_1 , M_2 és R_3 jelentése a fent megadott;

c) a 6- és 11-helyzetű hidroxilcsoport védésével (IX) általános képletű köztiterméket állítunk elő, a képletben T jelentése védőcsoport, M_1 , M_2 és M_3 jelentése a fent megadott;

d) a c) pont szerinti vegyületet egy szekunder vagy terciér amin RCOOH általános képletű karbonsavval képzett sójával kezeljük, ahol R jelentése adott esetben helyettesített vagy heteroatomokkal megszakított alifás csoport, vagy adott esetben helyettesített aromás

csoport, ezáltal (X) általános képletű észtert állítunk elő, ahol R, R_3 , M_1 és M_2 jelentése a fent megadott;

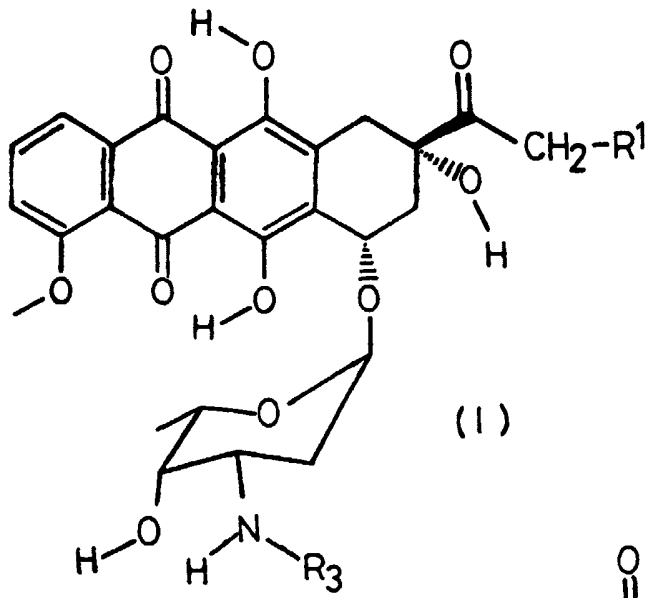
e) a kapott észtert hidrolizáljuk, majd a 9- és 14-helyzetű hidroxilcsoportok és az aminocsoport védőcsoportját eltávolítjuk.

8. A 7. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy karbonsavsóként trietil-amin-sót használunk.

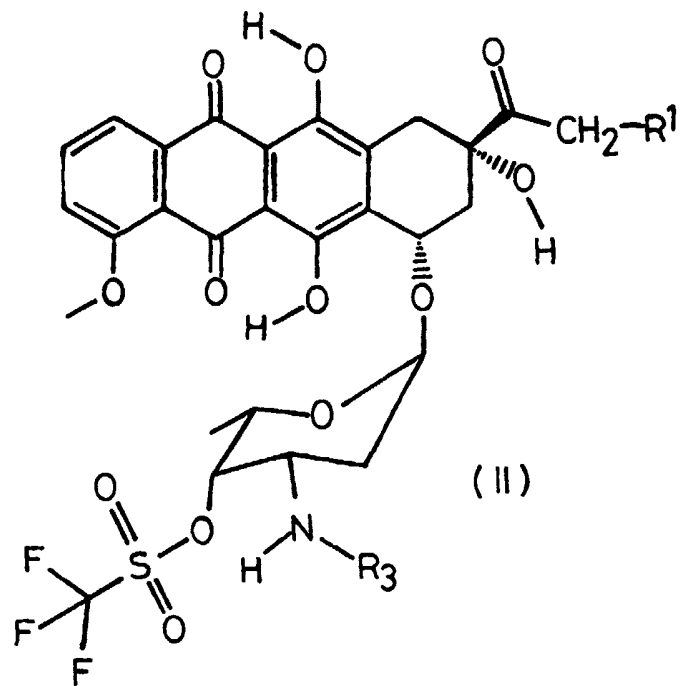
9. A 7. vagy 8. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy savként hangyasavat, ecetsavat, izovajsavat, dimetil-szilil-ecetsavat vagy p-nitro-benzoetsavat használunk.

10. A 7–9. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a d) lépést 0 °C és 50 °C közötti hőmérsékleten végezzük.

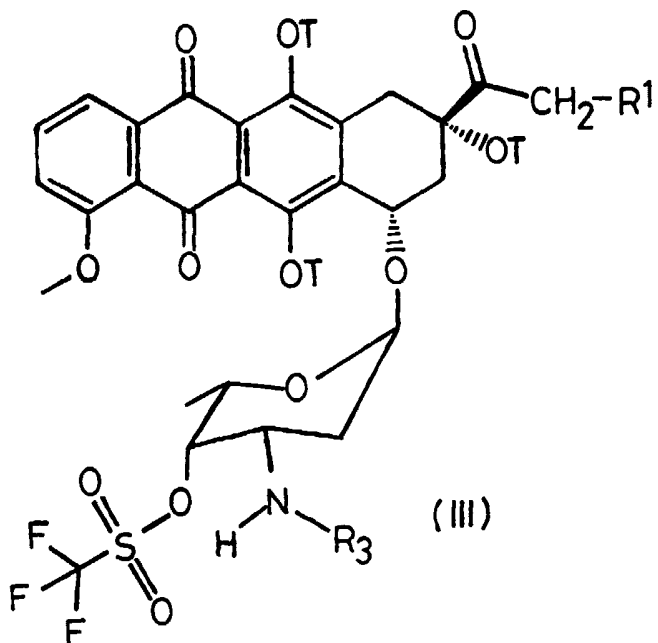
11. A 7–10. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy R_3 helyén trifluor-acetilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületből indulunk ki.



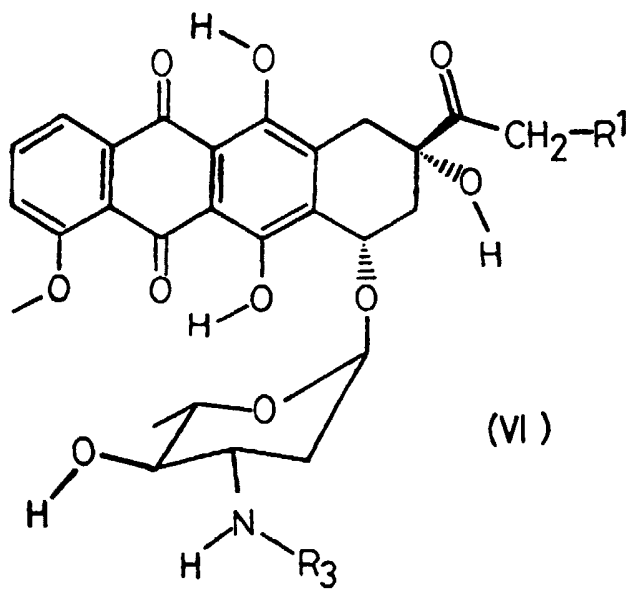
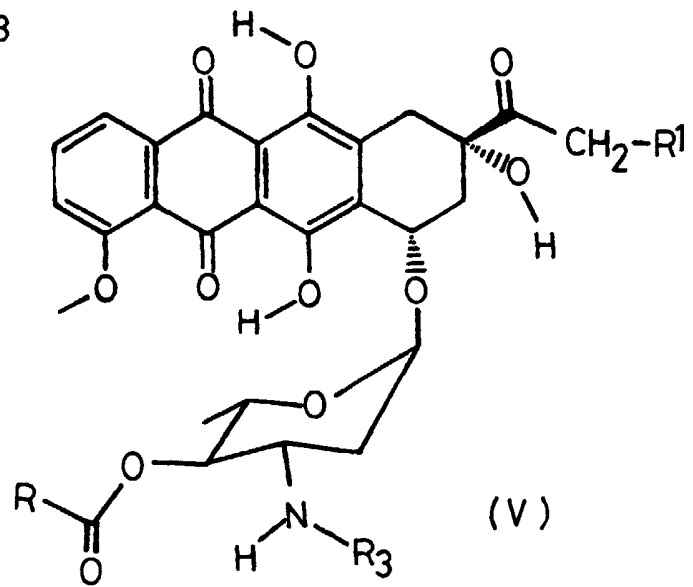
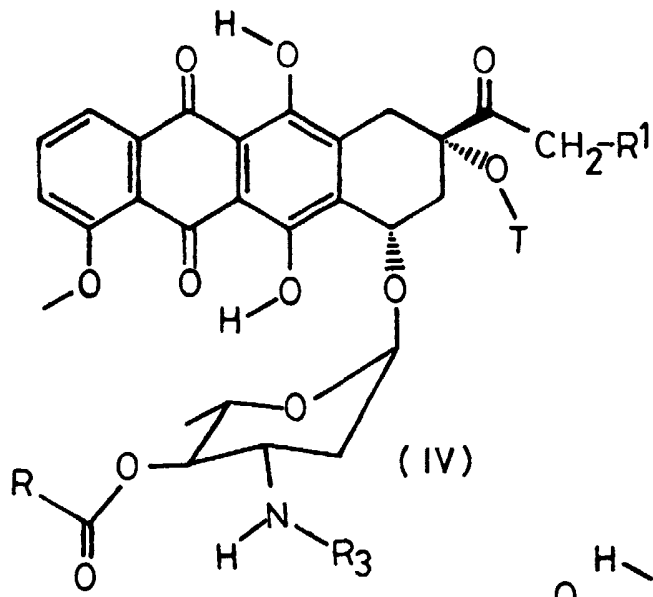
(I)

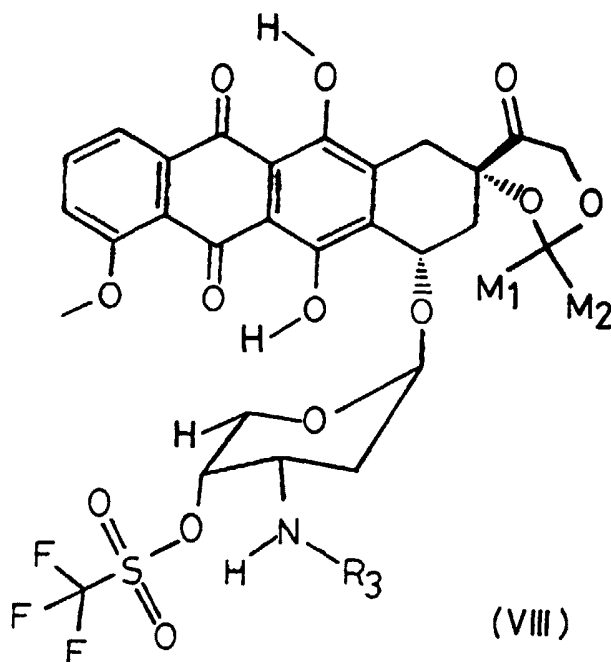
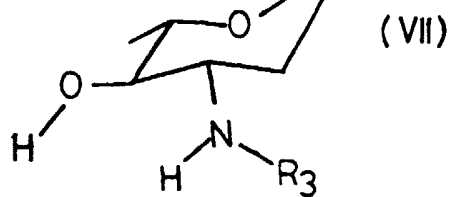
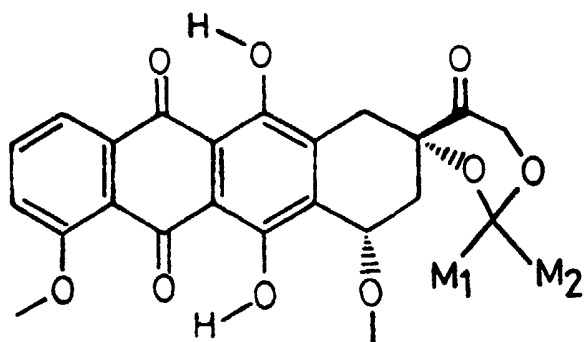


(II)

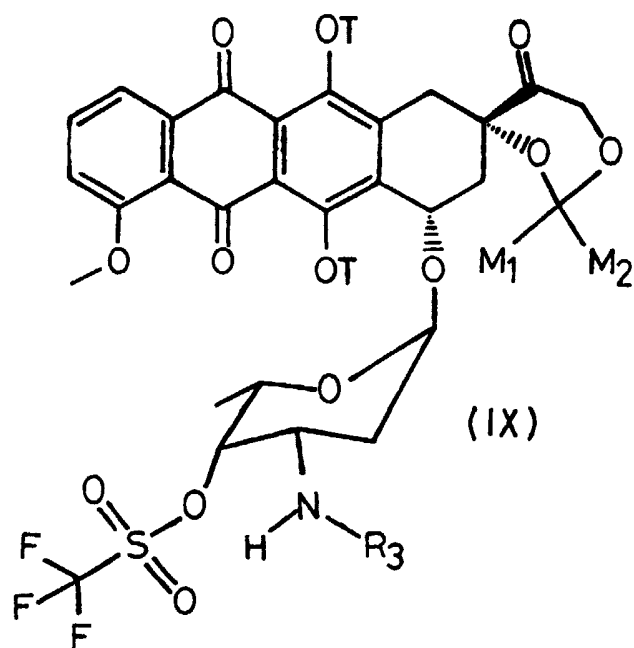


(III)





(VIII)



(IX)

