



12 A Terinzagelegging 11 8602914

Nederland

19 NL

-
- 54 Nitroanthracyclines, werkwijze voor het bereiden daarvan en gebruik daarvan.
- 51 Int.Cl⁺: C07H 15/24, A61K 31/70.
- 71 Aanvrager: Farmitalia Carlo Erba S.p.A. te Milaan, Italië.
- 74 Gem.: Ir. Th.A.H.J. Smulders c.s.
Vereenigde Octrooibureaux
Nieuwe Parklaan 107
2587 BP 's-Gravenhage.

-
- 21 Aanvraag Nr. 8602914.
- 22 Ingediend 17 november 1986.
- 32 Voorrang vanaf 19 november 1985.
- 33 Land van voorrang: Groot-Brittannië (GB).
- 31 Nummer van de voorrangsaanvraag: 8528440 .
- 62 --

-
- 43 Ter inzage gelegd 16 juni 1987.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Titel: Nitroanthracyclines, werkwijze voor het bereiden daarvan en gebruik daarvan.

De uitvinding heeft betrekking op nieuwe anthracycline glycosiden met antitumorwerkzaamheid, alsmede op werkwijzen voor het bereiden daarvan en op farmaceutische samenstellingen die ze bevatten.

De uitvinding verschaft anthracycline glycosiden met de algemene formule (A') waarin R¹ een waterstofatoom, een hydroxyl groep of een methoxy groep voorstelt; een van R² en R³ een hydroxyl groep voorstelt en de ander van R² en R³ een nitro groep voorstelt en R⁴ een waterstofatoom of een hydroxyl groep voorstelt, alsmede farmaceutisch aanvaardbare zouten daarvan. De uitvinding verschaft ,
 5 ook verbindingen, welke gebruikt kunnen worden in de bereiding van de verbindingen met de formule (A'), met de algemene formule (A''') waarin R¹, R², R³ en R⁴ de bovenstaand vermelde betekenissen hebben.
 10

Meer in het bijzonder worden de verbindingen volgen de uitvinding gekarakteriseerd door de volgende substitutiepatronen,
 15 verwijzend naar formule A:

	Struktuur	Substituties:
	I	: R ¹ = R ⁴ = H; R ² = NO ₂ ; R ³ = OH; X = COCF ₃
	II	: R ¹ = R ⁴ = H; R ² = NO ₂ ; R ³ = OH; X = H
20	III	: R ¹ = H; R ² = NO ₂ ; R ³ = R ⁴ = OH; X = H
	IV	: R ¹ = R ³ = OH; R ² = NO ₂ ; R ⁴ = H; X = COCF ₃
	V	: R ¹ = R ³ = OH; R ² = NO ₂ ; R ⁴ = H; X = H
	VI	: R ¹ = R ³ = R ⁴ = OH; R ² = NO ₂ ; X = H
	VII	: R ¹ = OCH ₃ ; R ² = NO ₂ ; R ³ = OH; R ⁴ = H; X = COCF ₃
25	VIII	: R ¹ = OCH ₃ ; R ² = NO ₂ ; R ³ = OH; R ⁴ = H; X = H
	IX	: R ¹ = OCH ₃ ; R ² = NO ₂ ; R ³ = R ⁴ = OH; X = H
	X	: R ¹ = R ⁴ = H; R ² = OH; R ³ = NO ₂ ; X = COCF ₃
	XI	: R ¹ = R ⁴ = H; R ² = OH; R ³ = NO ₂ ; X = H
	XII	: R ¹ = H; R ² = R ⁴ = OH; R ³ = NO ₂ ; X = H
30	XIII	: R ¹ = R ² = OH; R ³ = NO ₂ ; R ⁴ = H; X = COCF ₃

XIV	:	$R^1 = R^2 = OH; R^3 = NO_2; R^4 = H;$	$X = H$
XV	:	$R^1 = R^2 = R^4 = OH; R^3 = NO_2;$	$X = H$
XVI	:	$R^1 = OCH_3; R^2 = OH; R^3 = NO_2; R^4 = H;$	$X = COCF_3$
XVII	:	$R^1 = OCH_3; R^2 = OH; R^3 = NO_2; R^4 = H;$	$X = H$
5 XVIII	:	$R^1 = OCH_3; R^2 = R^4 = OH; R^3 = NO_2;$	$X = H$

Verbindingen die de voorkeur hebben, zijn de hydrochloride zouten van de verbindingen met formule (A').

De anthracycline glycosiden met formule (A') en hun farmaceutisch aanvaardbare zouten worden volgens de onderhavige
10 uitvinding bereid door condensatie van een aglycon met de algemene formule (B), waarin R^1 , R^2 en R^3 de bovenstaand vermelde betekenissen hebben, met 1-chloro-N,O-di(trifluoroacetyl)daunosamine met formele (C), waarbij een diastereomeer mengsel wordt gevormd van 7(S), 9(S) en 7(R), 9(R) anthracycline glycosiden met de formule (A') waarin R^1 , R^2
15 en R^3 de bovenstaand vermelde betekenissen hebben; verwijdering van de O-trifluoroacetyl groep; afscheiding van het 7(S), 9(S) anthracyclineglycoside van het 7(R), 9(R) anthracycline glycoside, verwijdering van de N-trifluoroacetyl beschermende groep van het 7(S), 9(S) anthracycline glycoside, waarbij een verbinding met formule (A') wordt
20 verkregen, waarin R^4 waterstof is, desgewenst omzetting van deze verbindingen met de formule (A') in een farmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan; desgewenst bromering van deze verbinding met formule (A') of een farmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan en hydrolyse van het aldus verkregen 14-bromo derivaat, waarbij een verbinding met de
25 formule (A') wordt gevormd, waarin R^4 hydroxy voorstelt en desgewenst omzetting van de verbinding met formule (A') waarin R^4 hydroxy voorstelt, in een farmaceutisch aanvaardbaar zout ervan.

Derhalve worden na verwijdering, normaal door hydrolyse, van de trifluoroacetyl beschermende groepen van het suikergedeelte, de
30 daunorubicine analoge glycosiden verkregen. De doxorubicine analoga worden bereid uit de corresponderende daunorubicine analoga via 14-bromoderivaten volgens de methode die in het Amerikaanse octrooischrift 3.803.124 is beschreven.

De hierin beschreven werkwijze voor het bereiden van de nieuwe
35 anthracyclines is gebaseerd op een directe nitrering van ring B van anthracycline tussenprodukten, welke gekarakteriseerd zijn door een hydroxyl groep op de para-positie ten opzichte van het reactiecentrum.

De introductie van de nitro groep wordt in het algemeen uitgevoerd door gebruik te maken van trifluoroazijnzuuranhydride/ammonium nitraat reagens. De reactie moet worden uitgevoerd in afwezigheid van zuurstof en vocht omdat de reagentia anders als oxydatiemiddel werken, waardoor een aromatische hydroxyl groep kan worden geïntro-

5 ceerd in plaats van de nitrogroep, en daarna de corresponderende oxydatieprodukten (zie J.V. Crivello, J. Org.Chem. 46, 3056, 1981). De resulterende verbinding is een aglycon met de formule (B). De aglyconen maken deel uit van de uitvinding.

10 De algemene synthese route, die gevolgd wordt voor het bereiden van de 6-nitro en 11-nitro anthracyclines met de formule (B) worden resp. in de schema's I en II op het formuleblad weergegeven.

De onderhavige benadering is gebaseerd op het gebruik als uitgangsmateriaal van (+) 4-demethoxy-6-deoxydaunomycinon 1 (R=H),

15 (3219380) en (±)6-deoxydaunomycinon 1 (R=OCH₃), GB-A-2142022A voor de 6-nitroanthracyclinonen en van (±) 4-demethoxy-11-deoxydaunomycinon 7 (R=H), DE-A-3219380 en 11-deoxydaunomycinon 7 (R=OCH₃) verkregen door zure hydrolyse van het natuurlijke antibioticum (Arcamone et al. JACS, 102, 1462, 1980) voor de L-nitroanthracyclinonen.

20 Om de nitraatvorming van de C-7-OH en C-9-OH te vermijden, worden deze hydroxylgroepen beschermd, bijv. in de vorm van acetaten. Dit kan worden gerealiseerd door behandeling van 1 en 7 met azijnzuuranhydride in tegenwoordigheid van pyridine bij een temperatuur van 85-90°C waarbij alle vrije hydroxylgroepen worden geacyleerd onder

25 vorming van resp. 2 en 8, gevolgd door selectieve hydrolyse van deze aromatische triacetaten door morpholine als base te gebruiken waarbij 3 en 9 in nagenoeg kwantitatieve opbrengsten worden verkregen. Bij voorkeur wordt 1N morpholine in methanol gebruikt gedurende 5 uur bij 40°C.

30 De nitrering wordt normaal uitgevoerd met een overmaat trifluoroazijnzuur anhydride/ammoniumnitraat in methyleenchloride. De nitrering kan worden uitgevoerd bij kamertemperatuur onder een stikstofatmosfeer en onder hevig roeren. Dit kan de corresponderende nitroderivaten 4 en 10 opleveren in opbrengsten van bijv. 70%.

35 Tenslotte kan een milde basische hydrolyse met 0,1 N NaOH in tetrahydrofuran bij kamertemperatuur en onder een stikstofatmosfeer de aglyconen geven:

8602914

- (±) 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodaunomycinone 5 (R=H)
(±) 6-deoxy-6-nitrodaunomycinone 5 (R=OCH₃)
(±) 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodaunomycinone 11 (R=H)
11-deoxy-11-nitrodaunomycinone 11 (R=OCH₃)

5 De aglyconen kunnen desgewenst worden gezuiverd door chromatografie over silicagel. Een milde dealkylering met AlCl₃/Ph-NO₂ van 5 en 11 voor R=OCH₃ kan de overeenkomstige verbindingen:

- (±) 6-deoxy-6-nitrocarminomycinon 6
11-deoxy-11-nitrocarminomycinon 12

10 opleveren.

De aglyconen met formule (B) kunnen derhalve volgens de uitvinding worden bereid door selectieve bescherming van de C-7 en C-9 hydroxy groepen van :

- (±) 4-demethoxy-6-deoxydaunomycinon, (±) 6-deoxydaunomycinon,
15 (±) 4-demethoxy-11-deoxydaunomycinon of 11-deoxydaunomycinon;
nitreren van de ring B van de aldus gevormde verbinding op de para-positie ten opzichte van de hydroxy substituent aan ring B; verwijderen van de C-7 en C-9 hydroxy beschermende groepen waarbij een aglycon met formule (B) wordt verkregen, waarin R¹ waterstof
20 of methoxy voorstelt; en desgewenst omzetten van het aglycon met formule (B) waarin R¹ methoxy voorstelt, in een aglycon met formule (B) waarin R¹ hydroxy voorstelt.

De corresponderende glycosiden worden bereid door koppeling van 5 (R = H, OCH₃), 6, 11 (R=H, OCH₃) en 12 met het 1-chloro-N,O-di(trifluoroacetyl)daunosamine, bij voorkeur in tegenwoordigheid van
25 zilver trifluoromethaansulfonaat in watervrij methyleen dichloride onder een stikstof atmosfeer. Dit geeft na hydrolyse van de O-trifluoroacetyl groep door behandeling met methanol de α-glycosiden I, IV, VII, X, XIII, XVI als een mengsel van diastereoisomeren
30 7(S): 9(S) en 7(R): 9(R).

Na afscheiding bijv. door chromatografie over silica gel, worden de 7(S):9(S) glycosiden onderworpen aan een milde basische hydrolyse, om de N-trifluoroacetyl groep te verwijderen, waarbij de overeenkomstige daunorubicine analoga met de formules II, V, VIII,
35 XI, XIV, XVII worden verkregen. Deze kunnen in de vorm van hun hydrochloriden worden geïsoleerd door behandeling met waterstofchloride in methanol en desgewenst worden omgezet in de corresponderende

8602914

doxorubicine analoga met de formules III, XI, IX, XII, XV, XVIII,
via 14-bromering en behandeling met waterig natrium formiaat volgens
de in het Amerikaanse octrooischrift 3.803.124 beschreven methode.
De doxorubicine analoga kunnen in de vorm van hun hydrochloriden
5 worden geïsoleerd als bovenstaand is uiteengezet.

De uitvinding wordt aan de hand van de volgende voorbeelden
nader toegelicht.

Voorbeeld 1: (\pm) 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodaunomycinon
5 (R=H)

10 a) Bereiding van het tussenprodukt 2 (R=H)

Produkt 1 (1,7 g, 4,8 mM) werd onder roeren bij 90°C verwarmd met
25 ml azijnzuuranhydride en 25 ml pyridine. Na 2 uur werd het
reactiemengsel in ijs/water uitgegoten en liet men het gedurende 30
minuten onder roeren staan. Het vaste materiaal werd gefiltreerd,
15 gewassen met H₂O en gekristalliseerd uit methanol. Men verkreeg
2 (2,19 g, opbrengst 94%). m.p. 225-226°C

IR (KBr): 1770 (aromatische ester), 1740 (alifatische ester), 1720
(alifatisch keton), 1675 (aromatische keton), 1590 (Ar) cm⁻¹.
UV(MeOH) λ max :210, 258, 334 nm.

20 FD-MS : m/z 478 (100, M⁺).

PMR (200 MHz, CDCl₃), inter alia: δ 2.11, (2.01 (s, 6H, OCOCH₃),
2.22 (s, 3H, COCH₃), 2.52 (s, 3H, Ar-OCOCH₃), 2.4-3.3 (m, 4H),
6.17 (breed, 1H, 7-H), 7.7-8.25 (m, 5H).

b) Bereiding van tussenprodukt 3 (R=H)

25 Produkt 2 (2,1 g, 4,5 mM) werd opgelost in 220 ml methanol en 110
ml dichloromethaan. Een oplossing van 1 N morpholine in methanol
(18 ml, 4 equivalenten) werd toegevoegd en de oplossing liet met
gedurende 5 uur bij 40°C staan. Na neutralisatie met waterig
NHCl werd het oplosmiddel onder verminderde druk verwijderd en
30 werd het residu gekristalliseerd uit methanol. Men verkreeg
3 (1,7 g, opbrengst 90%). m.p. 265°C (ontl.)

IR (KBr): 3440 (phenolisch OH), 1745, 1720, 1670/(non-chelaat
chinon), 1630 (chelaat chinon), 1590 cm⁻¹.

FD-MS: m/z 436 (M⁺).

35 UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 204, 226, 258, 336, 386,
404 nm.

8602914

PMR (200 MHz, CDCl_3), inter alia: δ 2.09, 2.04 (s, 6H, OCOCH_3), 2.25 (s, 3H, COCH_3), 2.54-3.40 (m, 4H), 6.19 (dd, $J = 3.1, 5.6$ Hz, 1H, 7-H), 7.77-8.35 (m, 5H), 13.11 (s, 1H, 11-OH).

c) Bereiding van het tussenprodukt 4 (R=H). Aan een mengsel van 3 (1,6 g, 3,66 mM) + NH_4NO_3 (1,6 g, 20 mM) + $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ (18 ml) werd 300 ml watervrij CH_2Cl_2 onder een stikstofatmosfeer en hevig roeren bij kamertemperatuur toegevoegd. Na 90 minuten werd 3 liter methanol toegevoegd: er werd een geel neerslag verkregen dat werd gefiltreerd, werd gewassen met vers methanol en met ethyl ether. Na drogen werd het produkt 4 (1,23 g, 10 opbrengst 70%) verkregen.

m.p. 263-264°C.

IR (KBr): 3470, 1745, 1720, 1675, 1635, 1585, 1540 (Ar-NO_2) cm^{-1}

FD-MS: m/z 481 (M^+).

UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 216, 260, 338, 400 nm.

15 PMR (200 MHz, CDCl_3), inter alia: δ 2.04, 2.00 (s, 6H, OCOCH_3), 2.24 (s, 3H, COCH_3), 2.43-3.51 (m, 4H), 6.22 (dd, $J = 2.3, 5.4$ Hz, 1H, 7-H), 7.8 - 8.4 (m, 4H), 13.59 (s, 1H, 11-OH).

d) Produkt 4 (1,1 g, 2,3 mM) werd opgelost in 220 ml THF. Bij kamertemperatuur werd onder stikstofatmosfeer en roeren 0,1 N NaOH (220 ml) 20 toegevoegd. Na een uur werd de oplossing met N HCl ingesteld op een pH van ongeveer 7 en het oplosmiddel werd onder verminderde druk verwijderd. Het residu werd opgelost met CH_2Cl_2 , de oplossing werd gewassen met H_2O totdat een neutrale pH was bereikt. Gedroogd bove Na_2SO_4 en het oplosmiddel werd verdampt. Na silica gel kolom chromatografie werd 25 produkt 5 (0,77 g, opbrengst 90%).

m.p. 233-234°C (ontl.)

IR (KBr): 3570, 3470, 1710, 1680, 1630, 1585, 1535 cm^{-1} .

FD-MS: m/z 398 (MH^+), 397 (M^+).

UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 216, 260, 341, 384, 401 nm

30 PMR (200 MHz, CDCl_3), inter alia: δ 2.23-3.22 (m, 4H), 2.41 (s, 3H, COCH_3), 4.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, 7-OH), 4.67 (s, 1H, 9-OH), 5.02 (ddd, $J = 2.3, 4.3, 8.4$ Hz, 1H, 7-H), 7.8-8.4 (m, 4H), 13.51 (s, 1H, 11-OH).

Voorbeeld 2: 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodaunomycinon 11 (R=H)

a) Bereiding van tussenprodukt 8 (R=H)

35 Produkt 7 (0,7 g, 2mM) werd bij kamertemperatuur geroerd met 10 ml azijnzuur anhydride en 10 ml. pyridine. Na 24 uur werd het reactie-

8602914

mengsel opgewerkt op de wijze zoals beschreven in voorbeeld 1A.

Men verkreeg 8 (0,88 g, opbrengst 93%). m.p. 220-222°C,

IR (KBr): 1780, 1730, 1720, 1675, 1590 cm^{-1}

UV (MeOH) λ max: 210, 258, 334 nm.

5 FD-MS: m/z 479 (M^+), 478 (M^+).

PMR (200 MHz, CDCl_3 , T = 40°C), inter alia: δ 2.03 (s, 6H, OCOCH_3), 2.23 (s, 3H, COCH_3), 2.44 (s, 3H, Ar-OCOCH_3), 2.44-3.39 (m, 4H), 6.46 (breed), 1H, 7-H), 7.75-8.3 (m, 5H).

b) Bereiding van tussenprodukt 9 (R=H)

10 Produkt 8 (0,83 g, 1,74 mM) werd op dezelfde wijze behandeld als in voorbeeld 1b is beschreven. Men verkreeg 9 (0,67 g, opbrengst 88%). m.p. 244°C, IR (KBr): 3430, 1730, 1665, 1640, 1590 cm^{-1} .

UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 208, 226, 254, 334, 384, 402 nm.

FD-MS: m/z 436 (M^+).

15 PMR (200 MHz, CDCl_3) inter alia: δ 2.04 (s, 6H, OCOCH_3), 2.24 (s, 3H, COCH_3), 2.40-3.30 (m, 4H), 6.47 (dd, J=2.0, 5.5 Hz, 1H, 7-H), 7.8-8.3 (m, 5H), 13.06 (s, 1H, 6-OH).

c) Bereiding van tussenprodukt 10 (R=H)

Produkt 9 (0,62 g, 1,42 mM) werd behandeld met NH_4NO_3 (0,57 g, 7,1 mM).

20 $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ (4 ml) in 90 ml watervrij CH_2Cl_2 . Onder toepassing van dezelfde procedure als voorbeeld 1c werd produkt 10 (0,5 g, opbrengst 73%) verkregen.

m.p. 272-274°C (ontl)

IR(KBr): 3450, 1740, 1710, 1680, 1635, 1590, 1545 (Ar-NO_2) cm^{-1} .

25 UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 208, 254, 334, 400 nm.

FD-MS: m/z 481 (M^+).

PMR (200 MHz, CDCl_3) inter alia: δ 2.06, 2.04 (s, 6H, OCOCH_3), 2.2 (s, 3H, COCH_3), 2.42-3.03 (m, 4H), 6.50 (dd, J=1.7, 5.5 Hz, 1H, 7-H), 7.8-8.4 (m, 4H), 13.50 (s, 1H, 6-OH).

30 d) Produkt 10 (0,45 g, 0,94 mM) werd behandeld met 0,1N NaOH zoals beschreven in voorbeeld 1d, waarbij produkt 11 werd verkregen (0,34 g, 91% opbrengst).

m.p. 231-233°C IR(KBr): 3550, 1710, 1675, 1630, 1540 cm^{-1} .

UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 210, 214, 218, 250, 326, 336,

35 400 nm. FD-MS: m/z 397 (M^+).

HRMS berekend $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_8$: 397.0798. (gevonden: 397.0808).

8602914

PMR (200 MHz, CDCl_3) inter alia: δ 2.18-3.1 (m, 4H), 2.38 (s, 3H, COCH_3), 3.85 (d, $J=6.2$ Hz, 1H, 7-OH), 4.55 (s, 1H, 9-OH), 5.36 (ddd, $J=1.8, 4.8, 6.2$ Hz, 1H, 7-H), 7.8-8.4 (m, 4H), 13.7 (s, 1H, 6-OH).

5 Aan een gekoelde oplossing (15°C) van het racemische 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodaunomycinon 5 (R=H) (0,7 g, 1,76 mM) in 140 ml watervrij methyleen chloride, werden tegelijkertijd en snel onder hevig roeren en doorborrelen van stikstof 1-chloro-N,O-di(trifluoroacetyl) daunosamine (1,88 g, 5,28 mM) (bereid volgens de procedure van Cancer Chemotherapie
10 Reports deel 3, Vol, 6, no. 2, blz 123) in 40 ml watervrij CH_2Cl_2 en zilvertrifluoromethaan sulfonaat (1,4 g, 5,28 mM) in 40 ml watervrije diethyl ether toegevoegd. Na 20 minuten werd een verzadigde waterige NaHCO_3 oplossing (100 ml) toegevoegd en lieten het mengsel gedurende 10 minuten onder roeren staan. Het mengsel werd gefiltreerd over
15 celiet, de organische laag werd afgescheiden, gewassen met water, gedroogd boven Na_2SO_4 en de oplosmiddel werd onder verminderde druk verwijderd.

Het gele materiaal werd opgelost met 300 ml methanol en men liet de verkregen oplossing gedurende een nacht bij kamertemperatuur
20 staan om de O-trifluoroacetylgroep te verwijderen. Het residu dat door verdamping van het oplosmiddel werd verkregen werd chromatografisch behandeld op silicagel. Men verkreeg de α -glycosiden
7(S):9(S) (0,43 g, opbrengst 39%) en 7(R) :9(R) (0,43 g, opbrengst t 39%).

7(S):9(S):

25 m.p. $245-246^\circ\text{C}$.

IR(KBr): 3470,3450,1720,1700, (N-trifluoroacetyl), 1680, 1635, 1590, 1535 cm^{-1} .

FD-MS: m/z 623 (MH^+).

UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max:208,260,341,384,401 nm

30 $[\alpha]_D^{25} = +337$ (c = 0.05541 in MeOH).

CD (MeOH): $\Delta\epsilon$ 226 nm = + 19.31, $\Delta\epsilon$ 270 nm = -9.94, $\Delta\epsilon$ 292 nm = +5.67, $\Delta\epsilon$ 340 nm = +7.68.

PMR (200 MHz, CDCl_3) : δ 1.24 (d, $J=6.8$ Hz, 3H, 5'- CH_3), 1.82 (td, $J=4.1, 12.4, 12.4$ Hz, 1H, 2'_{ax}-H), 1.94 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, 4'-OH), 1.95 (dd, $J=5.0, 12.4$ Hz, 1H, 2'_{eq}-H), 2.15 (dd, $J=4.3, 15.1$ Hz, 1H, 8_{ax}-H), 2.34 (s, 3H, COCH_3), 2.48 (ddd, $J=1.5, 2.3, 15.1$ Hz, 1H, 8_{eq}-H), 3.10 (d, $J=18.7$ Hz, 1H, 10_{ax}-H), 3.27 (dd,

8602914

J=1.6, 18.7 Hz, 1H, 10_{eq}-H), 3.65 (dd, J=2.7, 8.2 Hz, 1H, 4'-H)
4.1-4.3 (m, 1H, 3'-H), 4.30 (q, J= 6.8 Hz, 1H, 5'-H), 5.00 (d,
J=4.1 Hz, 1H, 1'-H), 5.11 (dd, J=2.3, 4.3 Hz, 1H, 7-H), 6.61
(d, J=8.0 Hz, 1H, NHCOCF₃), 7.8-7.9 (m, 2H, 2-H, 3-H), 8.2-8.4
5 (m, 2H, 1-H, 4-H), 13.55 (s, 1H, 11-OH)

7(R):9(R)

m.p. 145-146°C

FD-MS: m/z 623 (10, MH⁺); 570 (100)

CD (MeOH): Δε 226 nm = -10.9, Δε 271 nm = + 7.26, Δε 291 nm =
10 -0.27, Δε 300 nm = + 0.56, Δε 340 nm = -5.1

[α]_D²⁵ = -293 (c = 0.0635 in MeOH)

PMR (200 MHz, CDCl₃), inter alia: δ 5.14 (t, J = 30 Hz, 1H,
7-H), 5.27 (m, 1H, 1'-H).

Voorbeeld 4

15 Bereiding van 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodaunorubicine hydrochloride (II)

Men loste 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitro-N-trifluoroacetyldaunorubicine
(I) (0,130 g, 0,2 mM) op in 6 ml aceton. Bij 0°C en een stikstofatmos-
feer werd onder roeren 60 ml 0,1 N NaOH toegevoegd. Na 2 uur werd het
aceton verwijderd onder verminderde druk en werd de pH met 0,1 N HCl
20 ingesteld op 4,5..

De waterige oplossing werd geëxtraheerd met CH₂Cl₂, ingesteld
op een pH van ongeveer 6,5-7,0 met behulp van 0,1 N NaOH en geëxtraheerd
met CH₂Cl₂. De organische laag werd gewassen met H₂O, gedroogd boven
Na₂SO₄ en het oplosmiddel werd verdampt. Het residu werd opgelost
25 met 5 ml methanol, aangezuurd met een paar druppels MeOH/HCl oplossing
en het hydrochloride werd neergeslagen door toevoeging van diethylether
en n-hexaan. Het vaste materiaal werd gefiltreerd, gewassen met diethyl-
ether totdat een neutrale pH was bereikt en gedroogd. Men verkreeg
(II) (0,080 g, opbrengst 68%). m.p. 173°C (ontl.)

30 IR (KBr): 3400,1710,1675,1630,1590,1540 cm⁻¹

FD-MS: m/z 527 (MH⁺)

Voorbeeld 5

Bereiding van 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitro-N-trifluoroacetyl dauno-
rubicine (X).

35 Het racemische aglycon 11 (R=H) (0,290 g, 0,73 mM) werd op de
in voorbeeld 3 beschreven wijze omgezet in het corresponderende
glycoside. Na chromatografische scheiding werden produkt

8602914

m.p. 237-240°C (ontl.)

IR (KBr): 3500, 3400, 1720, 1675, 1640, 1540 cm⁻¹

FD-MS: m/z 579 (M⁺ - COCH₃)

UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 207, 259, 335, 400 nm.

5 CD (MeOH): Δε 221 nm = +11.1, Δε 250 nm = +4.0, Δε 289 nm = -5.1, Δε 330 nm = +3.1, Δε 400 nm = +1.0.

$[\alpha]_D^{25} = +22$ (c = 0.0623 in MeOH)

PMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.30 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 5'-CH₃),
1.86 (td, J=4.0, 13.0, 13.0 Hz, 1H, 2'_{ax}-H), 2.03 (dd, J=
10 4.4, 13.0 Hz, 1H, 2'_{eq}-H), 2.13 (dd, J=4.3, 14.9 Hz, 1H,
8'_{ax}-H), 2.36 (ddd, J=1.6, 2.2, 14.9 Hz, 1H, 8'_{eq}-H), 2.37
(s, 3H, COCH₃), 2.89 (dd, J=1.6, 18.2 Hz, 1H, 10'_{eq}-H), 3.12
(d, J=18.2 Hz, 1H, 10'_{ax}-H), 3.68 (dd, J=3.0, 8.0 Hz, 1H,
4'-H), 4.15-4.30 (m, 1H, 3'-H), 4.25 (q, J=6.5 Hz, 1H, 5'-H),
15 4.30 (s, 1H, 9-OH), 5.30 (dd, J=2.2, 4.3 Hz, 1H, 7-H), 5.47
(d, J=4.5 Hz, 1H, 1'-H), 6.70 (d, J=8.0 Hz, 1H, NHCOCF₃),
7.8-7.9 (m, 2H, 2-H, 3-H), 8.2-8.4 (m, 2H, 1-H, 4-H), 13.72
(s, 1H, 6-OH).

7(R):9(R)

20 FD-MS: m/z 579 (100, M⁺ - COCH₃)

PMR (200 MHz, CDCl₃), inter alia: δ 5.35 (m, 1H, 1'-H),
5.59 (dd, J=2.0, 3.5 Hz, 1H, 7-H).

Voorbeeld 6

Bereiding van 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodaunorubicine

25 hydrochloride (XI)

Produkt x (0,090 g, 0,145 mM) werd behandeld als beschreven
in voorbeeld 4. Men verkreeg XI (0,061 g, opbrengst 75%).

m.p. 212°C (ontl.)

IR (KBr): 3400, 2900, 1710, 1670, 1635, 1590, 1540 cm⁻¹

30 FD-MS: m/z 527 (MH⁺).

UV en zichtbaar licht spectra (MeOH) λ max: 208, 222, 256, 402 nm./

Voorbeeld 7

4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodoxorubicine (III9)

Volgens de in het Amerikaanse octrooischrift 3.803.124 beschreven

35 techniek, de behandeling van 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodaunorubine,

8602914

hydrochloride (II), dat in voorbeeld 4 was verkregen, met broom en daarna met natriumformiaat, werd 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodoxorubicine (III) verkregen, dat als het hydrochloride werd geïsoleerd.

Voorbeeld 8

5 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodoxorubicine (XII)

Volgens de in het Amerikaanse octrooischrift 3.803.124 beschreven techniek, de behandeling van 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodoxorubicine hydrochloride (XI) dat in voorbeeld VI was verkregen, met broom en daarna met natriumformiaat, werd 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodoxo-
10 rubicine (XII) verkregen dat als het hydrochloride werd geïsoleerd.

De uitvinding verschaft ook farmacologische samenstellingen die een anthracycline glycoside met de formule (A') of een farmacologisch aanvaardbaar zout daarvan omvatten, gemengd met een farmacologisch aanvaardbaar verdunningsmiddel of drager. Een therapeutisch werkzame
15 hoeveelheid van een verbinding met de formule (A') of zout daarvan kan worden gecombineerd met een inerte drager of verdunningsmiddel.

De verbindingen met formule (A') en hun zouten zijn bruikbaar in werkwijzen voor het behandelen van het menselijke of dierlijke lichaam, de therapie. Ze kunnen worden gebruikt als anti-tumormiddelen
20 door een therapeutisch werkzame hoeveelheid aan een patiënt toe te dienen.

Biologische activiteit van verbinding XI en verbinding II

De verbindingen zijn getest in vergelijking met daunorubicine (DNR) tegen HeLa en P388 cellen in vitro. De verbindingen werden
25 getest door ze in de vorm van hydrochloriden op te lossen in water.

Het *in vivo* effect van de verbinding XI tegen P 388 ascitische leukemie is in tabel 1 vermeld.

De activiteit van de verbindingen XI en II werd getest tegen uitgezaaide Cross leukemie. De resultaten zijn in tabel 2 vermeld.
30 In dit systeem waren de twee nieuwe verbindingen bij de maximaal onderzochte dosis (22,5 mg/kg van XI, 50 g/kg van II) aktiever dan DNR bij de maximaal getolereerde dosis (10 mg/kg.)

Tabel 1 Effekt tegen P388 ascitische leukemie ^a

verbinding	dosis ^b	T/C% ^c	Toxisch ^d dood
DNR	2.9	152	1/10
	4.4	157	5/10
verbinding XI	4	152	0/10
	6	162	0/10
	9	171	1/10
	13,5	124	9/10

^aExperimenten werden uitgevoerd in CDF₁ muizen, die i.p. waren ingespoten met 10⁶ leukemie cellen

^bbehandeling i.p. op dag 1 na tumor inbrenging

^cMediane overlevingsduur van behandelde muizen mediane overlevingsduur van controle x 100.

^dgeëvalueerd op basis van autopsie bevindingen

Tabel 2 Effekt tegen Cross leukemie^a

Verbinding	dosis ^b mg/kg	T/C %	Toxisch ^d dood
DNR	10	158,150	0/20
	15	175,225	3/20
verbinding	10	125	0/10
	10	150	0/10
	22,5	200	0/10
verbinding II	25	175	0/10
	50	208	0/10

^aExperimenten werden uitgevoerd in C3H muizen, die i.v. waren ingespoten met 2×10^6 leukemie cellen

^bbehandeling i.c. op dag 1 na tumor inbrenging

^cMediane overlevingsduur van behandelde muizen/mediane overlevingsduur van controle x 100

^dgeëvalueerd op basis van autopsie bevindingen.

8602914

CONCLUSIES

1. Een anthracycline glycoside met de algemene formule (A') waarin R_1 een waterstof atoom, een hydroxylgroep of een methoxygroep voorstelt; een van R_2 en R_3 een hydroxyl groep voorstelt en de andere van R_2 en R_3 een nitrogroep voorstelt, en R_4 een waterstofatoom of een hydroxylgroep voorstelt; alsmede pharmaceutisch aanvaardbare zouten daarvan.
2. Verbinidng volgens conclusie 1, die in de vorm van een hydrochloride zout verkeert.
3. Verbinding volgens conclusie 1, te weten 4-demethoxy -6-deoxy-6-nitrodaunorubicine hydrochloride.
4. Verbinding volgens conclusie 1, te weten 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodaunorubicine hydrochloride .
5. Verbinding volgens conclusie 1, te weten 4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodoxorubicine hydrochloride.
6. Verbinding volgens conclusie 1, te weten 4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodoxorubicine hydrochloride.
7. Werkwijze voor het bereiden van een anthracycline glycoside volgens conclusie 1 of een pharmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan, welke werkwijze omvat een condensatie van een aglycon met de algemene formule (B) waarin R^1 , R^2 en R^3 zoals gedefinieerd in conclusie 1 zijn, met 1-chloro-N,O-di (trifluoroacetyl) daunosamine met formule (C) onder vorming an een diastereomeer mengsel van 7(S), 9(S) en 7(R), 9(R) anthracycline glycosiden met de formule (A'') waarin R^1 , R^2 en R^3 zijn zoals gedefinieerd in conclusie 1; verwijdering van de O-trifluoroacetyl groep; een scheiding van het 7(S), 9(S) anthracycline glycoside van het 7(R), 9(R) anthracycline glycoside; een verwijdering van de N-trifluoroacetyl beschermende groep van het 7(S), 9(S) anthracycline glycoside waarbij een verbinding met de formule (A') wordt verkregen waarin R^4 waterstof voorstelt; desgewenst een omzetting van deze verbinding met formule (A') in een pharmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan; desgewenst een bromering van de verbinding met formule (A') of een pharmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan en een hydrolyse van het aldus verkregen 14-bromoderivaat onder vorming van een verbinding met formule (A') waarin R^4 hydroxy

voorstelt; en desgewenst een omzetting van de verbinding met formule (A') waarin R^4 hydroxy voorstelt, in een pharmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan.

8. Werkwijze volgens 7, waarin de condensatie van het aglycon
5 met formule (B) en het 1-chloro-N,O-di(trifluoroacetyl) daunosamine
wordt uitgevoerd in watervrij methyleen dichloride onder een
stikstofatmosfeer en een tegenwoordigheid van zilvertrifluoromethaan
sulfonaat; O-trifluoroacetyl groepen worden verwijderd uit het
verkreten diastereomeren mengsel door behandeling met methanol;
10 het 7(S), 9(S) anthracycline glycoside wordt gescheiden van het
7(R), 9(R) anthracycline glycoside door chromatografie over silica gel;
de N-trifluoroacetylgroep werd verwijderd uit het 7(S), 9(S) anthra-
cycline glycoside doormilde basische hydrolyse; de verkregen verbinding
met de formule (A') waarin R^4 waterstof is, wordt geïsoleerd in de
15 vorm van zijn hydrochloride door behandeling met waterstof chloride
in methanol; en desgewenst het hydrochloride wordt omgezet in de
verbinding met de formule (A') waarin R^4 hydroxy is, door
bromering en behandeling met waterig natriumformiaat en de verbinding
met formule (A') waarin R^4 hydroxy is, wordt geïsoleerd in de vorm
20 van zijn hydrochloride door behandeling met waterstof chloride in
methanol.

9. Werkwijze voor de bereiding van een anthracycline glycoside
volgens conclusie 1 of een pharmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan,
welke werkwijze in hoofdzaak is zoals hiervoor beschreven in de voor-
25 beelden 3 en 4 tezamen, de voorbeelden 5 en 6 tezamen, de voorbeelden
3, 4 en 7 tezamen of de voorbeelden 5,6 en 8 tezamen.

10. Pharmaceutische samenstelling, omvattende een anthracycline
glycoside volgens conclusie 1, of een pharmaceutisch aanvaardbaar
zout daarvan, vermengd met een pharmaceutisch aanvaardbaar verdunnings-
30 middel of drager.

11. Anthracycline glycoside volgens conclusie 1 of een pharmaceutisch
aanvaardbaar zout daarvan voor gebruik in een werkwijze voor het
behandelen van het menselijk of dierlijk lichaam door chirurgie of
therapie of diagnose, uitgevoerd op het menselijk of dierlijk lichaam.

35 12. Verbinding volgens conclusie 11, voor gebruik als een anti-tumor
middel.

13. Aglycon met formule (B) zoals gedefinieerd in conclusie 7.

8602914

14. Verbinding volgens conclusie 13, te weten(±)4-demethoxy-6-deoxy-6-nitrodaunomycinon.

15. Verbinding volgens conclusie 13, te weten(±)4-demethoxy-11-deoxy-11-nitrodaunomycinon.

5 16. Werkwijze voor he bereiden van een aglycon volgens conclusie 13, welke werkwijze omvat het selektief beschermen van de C-7 en C-9 hydroxy groepen van (±) 4-demethoxy-6-deoxydaunomycinon, (±) 6-deoxydaunomycinon, (±) 4-demethoxy-11-deoxydaunomycinon of 11-deoxydaunomycinon; het nitreren van de ring B van de aldus
10 gevormde verbinding op de para-positie ten opzichte van de hydroxy substituent aan ring B; het verwijderen van de C-7 en C-9 hydroxy beschermende groepen, waarbij een aglycon met formule (B) wordt verkregen waarin R¹ waterstof of methoxy voorstelt; en
15 desgewenst het omzetten van het aglycon met formule (B) waarin R¹ methoxy voorstelt in een aglycon met formule (B) waarin R¹ hydroxy voorstelt.

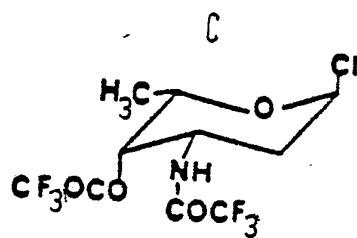
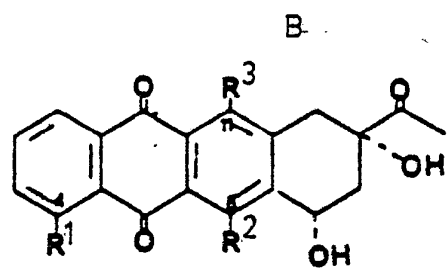
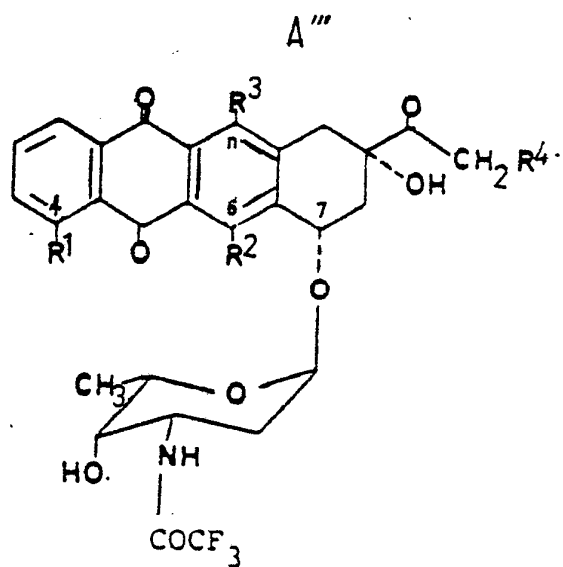
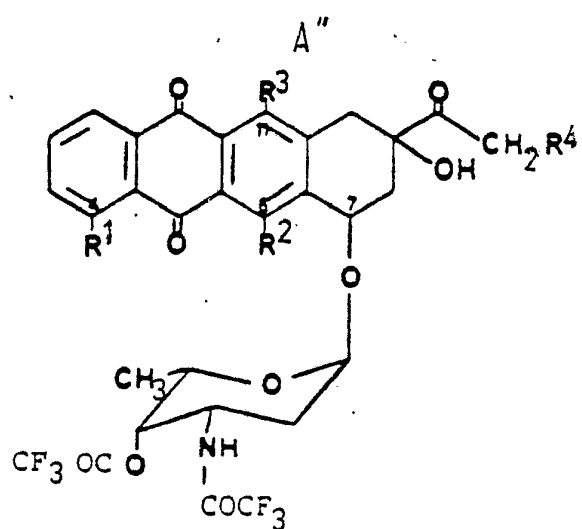
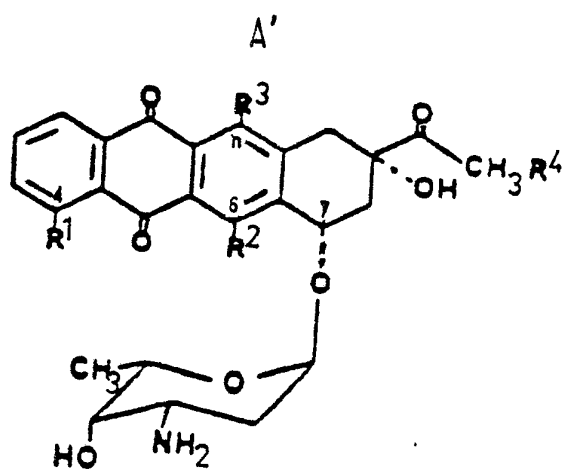
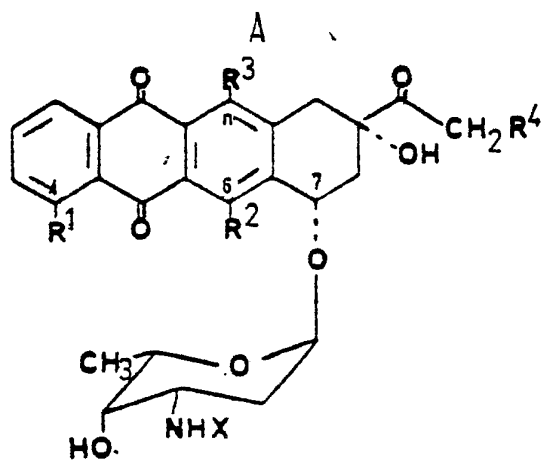
17. Werkwijze volgens conclusie 16, waarin (±) 4-demethoxy-6-deoxy-daunomycinon, (±) 6-deoxydaunomycinon, (±) 4-demethoxy-11-deoxydaunomycinon of 11-deoxydaunomycinon in reactie wordt gebracht met
20 azijnzuuranhydride en pyridine bij 85-90°C om alle vrije hydroxyl groepen te acyleren, het aldus gevormde triacetaat selektief wordt gehydrolyseerd door 1N morpholine in methanol gedurende 5 uur bij 40°C om het C-7-OH en C-9-OH diacetaat te verkrijgen; het diacetaat wordt behandeld bij kamertemperatuur onder een stikstofatmosfeer
25 en roeren met een overmaat trifluoroazijnzuuranhydride/ammonium-nitraat in methyleen chloride waarbij het overeenkomstige 6- of 11-nitroderivaat wordt verkregen; de 7- en 9- acetyl beschermende groepen van dit derivaat worden verwijderd door hydrolyse in tetrahydrofuran met 0,1 N natrium hydroxyde bij kamertemperatuur onder stikstofatmosfeer
30 waarbij het gewenste 6- of 11-nitro aglycon met formule (B) wordt verkregen waarin R¹ waterstof of een methoxy groep voorstelt en desgewenst dit aglycon wordt gezuiverd door chromatografie over silica gel.

18. Werkwijze volgens conclusie 17, waarin het 6- of 11-nitroaglycon
35 met formule (B), waarin R¹ een methoxy groep voorstelt, wordt onderworpen aan een milde 4-dealkylering met behulp van AlCl₃ in nitrobenzeen om het 6- of 11-nitroaglycon met formule (B) te verkrijgen waarin R¹ een hydroxylgroep voorstelt.

8602914

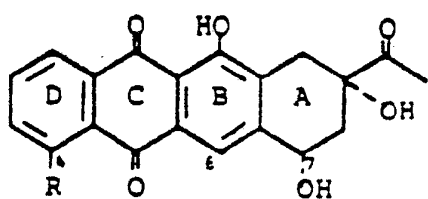
19. Werkwijze voor het bereiden van een aglycon volgens conclusie 13, welke werkwijze in hoofdzaak is zoals beschreven in voorbeeld 1 of 2.
20. Verbinding met de formule (A''') waarin R^1 , R^2 , R^3 , R^4 de
5 in conclusie 1 vermelde betekenissen hebben.

8602914

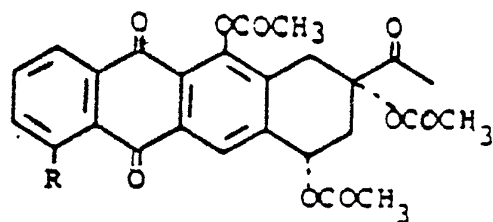
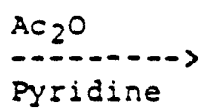


8602914

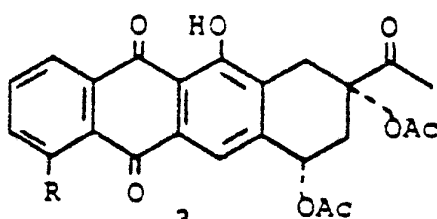
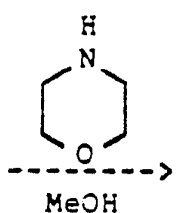
SCHEMA I



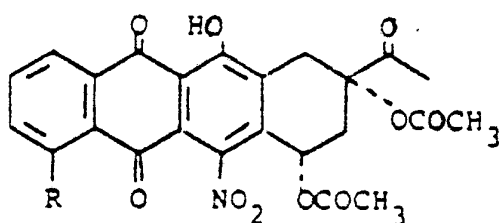
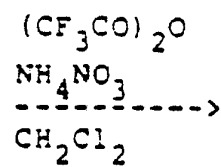
1



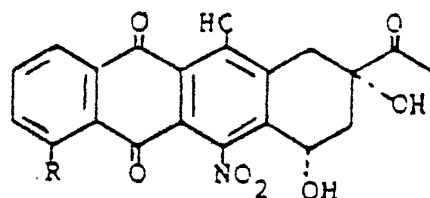
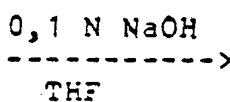
2



3

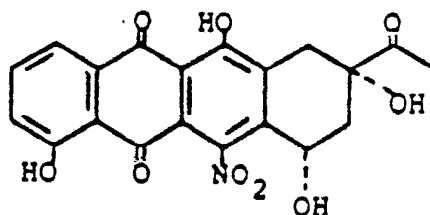
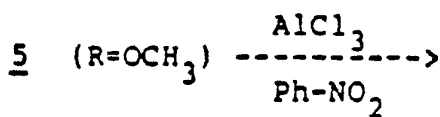


4



5

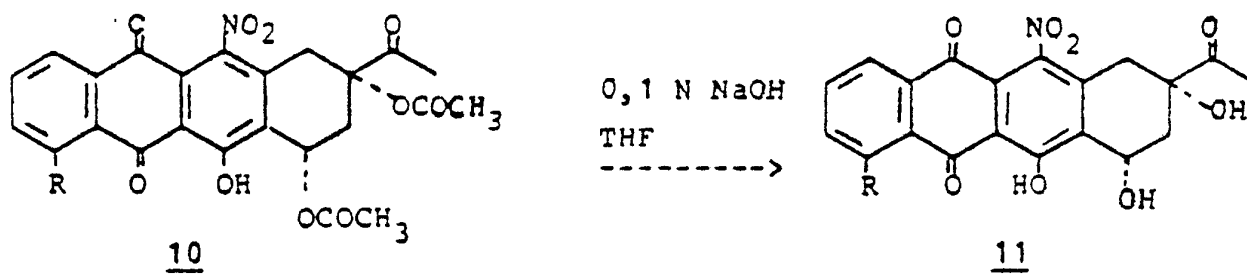
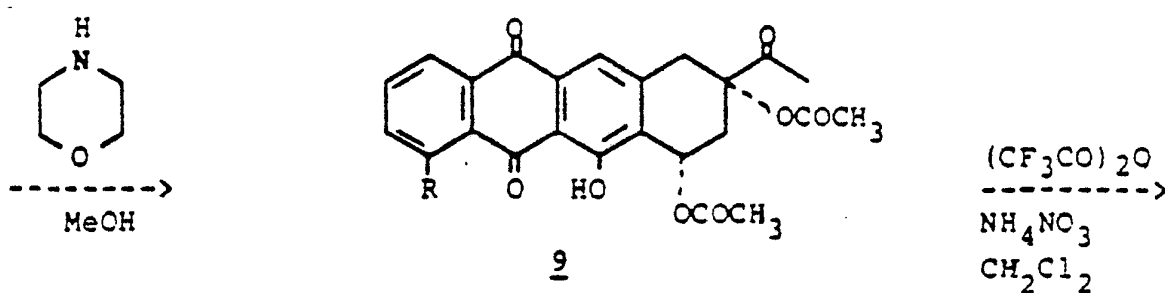
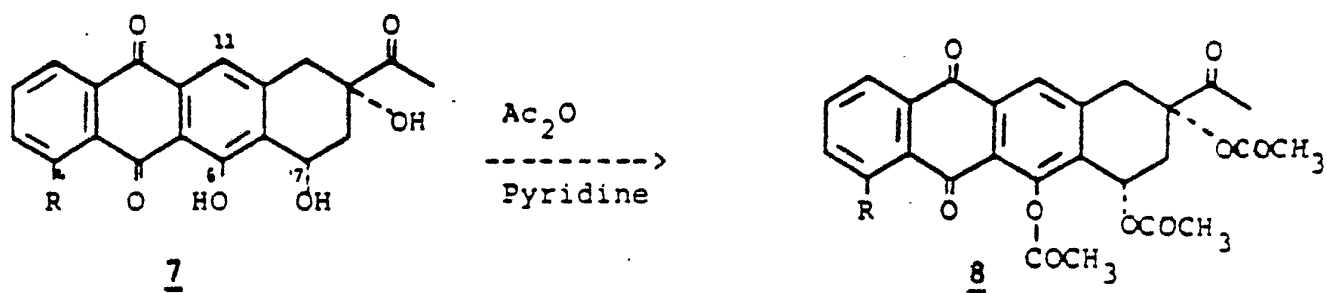
WAGGIN R = H, OCH₃



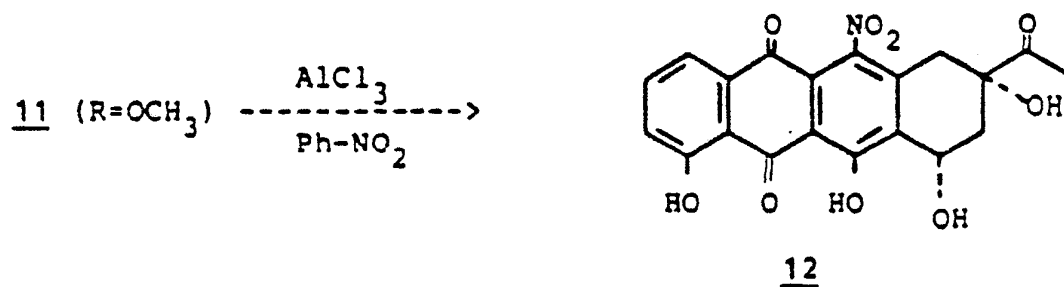
6

8602914

SCHEMA II



waarin R = H, OCH_3



8602914