

(19) HU

SZABADALMI LEÍRÁS

(11)195 667

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

B

A bejelentés napja: (22) 86. 11. 18.

(21) 4763/86

A bejelentés elsőbbsége: (33) GB

(32) 85. 11. 19.

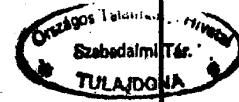
(31) (8528440)

A közzététel napja: (41) (42) 87. 06. 29.

Megjelent: (45) 89. 12. 08.

Nemzetközi
osztályjelzet:
(51) NSZO₄

C 07 H 15/252
A 61 K 31/70



Feltaláló(k): (72)

ANGELUCCI Francesco, PENCO Sergio, Milánó,
GIGLI Mauro, Merano, GIULIANI Fernando,
Cassina de Pecchi, IT

Szabadalmas: (73)

Farmitalia Carlo Erba S.P.A.,
Milánó, IT

(54)

ELJÁRÁS NITRO-ANTRACIKLIN-SZÁRMAZÉKOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás új, tumorelles hatá-
sú antraciklin-glikozid-származékok előállítására, melyek

(A') általános képletében

R₁ hidrogénatom,

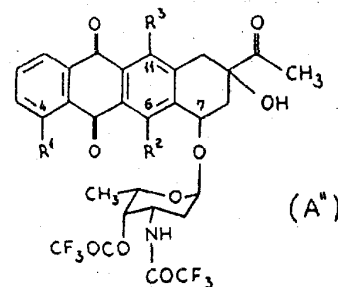
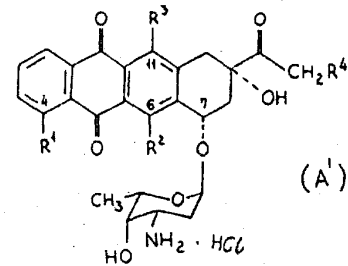
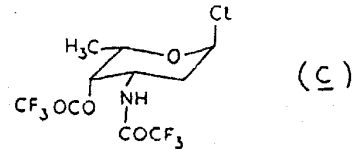
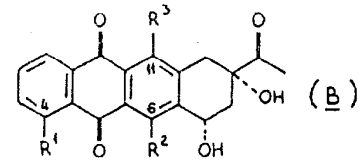
R₂ és R₃ közül az egyik hidroxilcsoport és a másik
nitrocsoport, és

R₄ hidrogénatom vagy hidroxilcsoport.

Az eljárás során (B) általános képletű aglikont (C)
képletű vegyülettel kondenzálnak, a kapott (A'') általá-
nos képletű antraciklon-glikozid 7(S):9(S)- és 7(R):8(R)-
-diasztereomer elegyéről lehasítják az O-trifluor-acetil-
-csoportot, a 7(S):9(S) antraciklin-glikozidot elválasztják
a 7(R):9(R) antraciklin-glikozidtól, a 7(S):9(S) antracik-
lin-glikozidról enyhe alkálikus hidrolízissel lehasítják az
N-trifluor-acetil-védőcsoportot, a kapott vegyületet hid-
roklorid sójává alakítják és így olyan, (A') általános kép-
letű vegyületet nyernek, melyben

R₄ hidrogénatom,

az (A') általános képletű vegyületet kívánt esetben 14-
helyzetben bromozzák, a kapott vegyületet hidrolizálják,
majd a kapott vegyületet hidroklorid sóvá alakítják és
így olyan (A') általános képletű vegyületet nyernek,
melyben R₄ jelentése hidroxilcsoport.



A találmány tárgya eljárás új, tumorelleses hatású antraciklin-glikozid-származékok előállítására.

A találmány szerint (A') általános képletű antraciklin-glikozid-származékokat állítunk elő. A képletben R_1 hidrogénatom, R_2 és R_3 közül az egyik hidroxilcsoport és a másik nitrocsoporthoz, és R_4 hidrogénatom vagy hidroxilcsoport.

Az (A') általános képletű antraciklin-glikozidokat a találmány szerint úgy állítjuk elő, hogy valamely (B) általános képletű aglikont, ahol a képletben

R_1 , R_2 és R_3 a fenti,

(C) képletű 1-klór-N,O-di-(trifluor-acetil)-daunozaminnal kondenzálunk, és így módon az (A') általános képletű antraciklin-glikozidok 7(S), 9(S)- és 7(R), 9(R)- diasztereómer elegyét állítjuk elő, ahol

R_1 , R_2 és R_3 a fenti,

majd az O-trifluor-acetil-csoportot lehasítjuk, a 7(S), 9(S)-antraciklin-glikozidot elválasztjuk a 7(R), 9(R)-antraciklin-glikozidtól, a 7(S), 9(S)-antraciklin-glikozidról lehasítjuk az N-trifluor-acetil-védőcsoportot, a kapott vegyületet hidroklorid sójává alakítjuk és így olyan (A') általános képletű vegyületet nyerünk, melyben R^4 hidrogénatom, és kívánt esetben a keletkezett (A') általános képletű vegyületet brómozunk, majd a 14-bróm-származékot hidrolizáljuk, és a kapott vegyületet hidroklorid sójává alakítjuk, és így olyan (A') általános képletű vegyületet állítunk elő, ahol R^4 hidroxilcsoport.

A cukorrész trifluor-acetil védőcsoportjainak eltávolítása, célszerűen hidrolízise után a daunorubicinnel analóg glikozidokat nyerünk. A doxorubicin-származékokat a megfelelő daunorubicin-származékokból a 14-brómszármazékokon keresztül állítjuk elő a 3.803.124 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban leírtak szerint.

Az új antraciklin-származékok fentiekben leírt előállításának lényege, hogy az antraciklin-intermedierek B-gyűrűjén, melyen a reakció központhoz képest p-helyzetben hidroxilcsoport helyezkedik el, közvetlenül nitráljuk. A nitrocsoporthoz általában trifluor-acetsav-anhidrid-ammónium-nitrát reagens alkalmazásával végezzük. A reakciót oxigén és nedvesség kizárásával kell végeznünk, különben a reagensek oxidálószerként viselkednek, és egy aromás hidroxilcsoport bevitelét segítik elő, a nitrocsoporthoz bevitelével szemben, majd a megfelelő oxidációs termékek alakulnak ki [lásd: J. V. Crivello, J. Org. Chem., 46, 3056 (1981)]. A keletkezett termék a (B) általános képletű aglikon.

A (B) általános képletű 6-nitro- és 11-nitro-antraciklin-származékok előállítására alkalmazott általános szintézist az I és II reakcióvázlatok szemléltetik.

A reakció során kiindulási anyagként a 6-nitro-antraciklinon-származékok esetén (1) általános képletű (\pm)-4-demetoxi-6-dezoxi-daunomicinont ($R^1 = H$) [lásd: 3.219.380 sz. NSZK-beli nyilvánossággrahozatali irat] a 11-nitro-antraciklinonok esetén pedig (7) általános képletű (\pm)-4-demetoxi-11-dezoxi-daunomicinont ($R^1 = H$) [lásd: 3.219.380 sz. NSZK-beli nyilvánossággrahozatali irat] és 11-dezoxi-daunomicinont ($R = OCH_3$) használunk.

Hogy a C-7 és C-9-helyzetben megakadályozzuk a nitrát-képződést, ezekben a helyzetekben levő hidroxilcsoportokat védjük, például acetátként. Ezt úgy érhetjük el, hogy az (1) és (7) általános képletű vegyületeket ecetsavanhidriddel kezeljük, piridin jelenlétében, 85–90 °C

hőmérsékleten, és így valamennyi hidroxilcsoportot acilezzük. Így (2) illetve (8) általános képletű vegyületeket kapunk, és ezeket az aromás triacetátokat ezután morfolinnal kezelve szelektív hidrolízisnek vetjük alá, és így (3) és (9) általános képletű vegyületeket kapunk, csaknem kvantitatív kitermeléssel. Előnyösen 1 normál metanolos morfolin-oldatot alkalmazunk 40 °C hőmérsékleten 5 órán át.

A nitrálást feleslegben levő trifluor-acetsavanhidrid-ammónium-nitrát reagenssel végezzük metilén kloridban. A nitrálást szobahőmérsékleten, nitrogén atmoszférában és erős keverés mellett végezhettjük. Így módon a megfelelő (4) és (10) általános képletű nitro-származékokat 70%-os kitermeléssel nyerhetjük.

Végül tetrahydro-furanban, 0,1 normál nátrium-hidroxiddal szobahőmérsékleten és nitrogén atmoszférában végzett enyhe lúgos hidrolízissel az alábbi aglikonokat nyerjük:

(\pm)-4-demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-daunomicinon (5) általános képletű vegyület ($R^1 = H$),

(\pm)-4-demetoxi-11-dezoxi-11-nitro-daunomicinon (11) általános képletű vegyület ($R^1 = H$).

A (B) általános képletű aglikonokat tehát a találmány szerint úgy állítjuk elő, hogy a (\pm)-4-demetoxi-6-dezoxi-daunomicinon vagy (\pm)-4-demetoxi-11-dezoxi-daunomicinon C-7- és C-9-hidroxil-csoportjait szelektíven védjük, ezután az így kapott vegyület B-gyűrűjét a hidroxil-subsztituenshez képest p-helyzetben nitráljuk, a C-7- és C-9-hidroxil-védőcsoportokat eltávolítjuk, így olyan (B) általános képletű aglikont kapva, melyben R^1 hidrogénatom.

A megfelelő glikozidokat úgy állítjuk elő, hogy az (5) [$R^1 =$ hidrogénatom] és (11) [$R^1 =$ hidrogénatom] általános képletű vegyületeket 1-klór-N,O-di-(trifluor-acetil)-daunozaminnal kapcsoljuk, előnyösen ezüst-trifluorometil-szulfonát jelenlétében, vízmentes metilén-dikloridban, nitrogén atmoszférában. Az O-trifluor-acetil-csoportot metanollal történő kezeléssel lehidrolizálva α -glikozidokat nyerünk, a 7(S)-9(S)- és 7(R)-9(R)-diasztereoiszomerek N-trifluor-acetilézett elegyként.

A 7(S)-9(S)-glikozidokat ezután elválasztjuk, például szilikagélen végzett kromatográfiával, majd enyhe lúgos hidrolízisnek vetjük alá az N-trifluor-acetilcsoport lehasítására, így a megfelelő daunorubicin-származékokat állítjuk elő. Ezeket hidrokloridjaikként izolálhatjuk, metanolos sósavval történő kezeléssel, majd kívánt esetben a megfelelő doxorubicin-származékokká alakítjuk át, 14-brómozással és vizes nátrium-formiáttal történő kezeléssel, a 3.803.124 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban leírtak szerint.

A doxorubicin-származékokat a fentiek szerint hidrokloridjuk alakjában izolálhatjuk.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példákban részletesen ismertetjük:

1. példa

(\pm)-4-Demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-daunomicinon (5) általános képletű vegyület ($R^1 = H$)

(2) általános képletű intermedier előállítása ($R^1 = H$)

1,7 g (4,8 mmól) (1) általános képletű vegyületet ($R = H$) 90 °C hőmérsékleten keverés közben 25 ml ecetsavanhidriddel és 25 ml piridinnel melegítjük, 2 óra el-

teltével a reakcióelegyet jeges vízre öntjük, majd 30 percen át keverés közben állni hagyjuk. A szilárd anyagot kiszűrjük, vízzel mossuk és metanolból kikristályosítjuk. Így módon 2,19 (94%) (2) általános képletű vegyületet nyerünk.

Op.: 225–226 °C.

IR-spektrum (KBr): 1770 (aromás észter), 1740 (alifás észter), 1720 (alifás keton), 1675 (aromás keton), 1590 (aromás) cm^{-1} .

UV-spektrum (MeOH), λ_{max} : 210, 258, 334 nm.

Tömegspektrum: $m/z = 478$ (100, M^+).

PMR (200 MHz, CDCl_3), delta: 2,11, 2,01, (s, 6H, $\text{OCO}-\text{CH}_3$), 2,22 (s, 3H, COCH_3), 2,52 (s, 3H, $\text{Ar}-\text{OCOCH}_3$), 2,4–3,3 (m, 4H), 6,17 (széles, 1H, 7-H), 7,7–8,25 (m, 5H).

b/ (3) általános képletű intermedier előállítás (R¹ = H)

2,1 g (4,5 mmól) (2) általános képletű terméket 220 ml metanolban és 110 ml metilén-dikloridban oldunk. Az oldathoz 18 ml (4 egyenértéknyi) 1 normál metanolos morfolin-oldatot adunk, majd 40 °C hőmérsékleten 5 órán át állni hagyjuk. Ezután 1 normál vizes sósavval semlegesítjük, majd az oldószert vákuumban lepároljuk, és a maradékot metanolból kikristályosítjuk. Így (3) általános képletű terméket kapunk, kitermelés: 1,7 g (90%).

Op.: 265 °C (bomlás közben).

IR-spektrum (KBr): 3440 (fenolos OH), 1745, 1720, 1670 (nem kelált kinon), 1630 (kelált kinon) 1590 cm^{-1} .

Tömegspektrum: $m/z = 436$ (M^+).

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), λ_{max} : 204, 226, 258, 336, 386, 404 nm.

PMR (200 MHz, CDCl_3), delta: 2,09, 2,04 (s, 6H, $\text{OCO}-\text{CH}_3$), 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/ (4) képletű intermedier előállítás (R¹ = H)

1,6 g (3,66 mmól) (3) képletű vegyület 1,6 g (20 mmól) ammónium-nitrát és 18 ml trifluor-ecetsav-anhidrid elegyéhez 300 ml vízmentes metilén-dikloridot adunk nitrogén atmoszférában, erős keverés közben, szobahőmérsékleten. 90 perc elteltével az elegyhez 3 l metanolt adunk, és így sárga csapadék keletkezik, melyet kiszűrünk, friss metanollal és etil-éterrel mossuk. Szárítás után 1,23 g (4) képletű terméket kapunk (70%).

Op.: 263–264 °C.

IR-spektrum (KBr): 3470, 1745, 1720, 1675, 1635, 1585, 1540 ($\text{Ar}-\text{NO}_2$) cm^{-1} .

Tömegspektrum: $m/z = 481$ (M^+).

UV-spektrum és látható spektrum, λ_{max} : 216, 260, 338, 400 nm.

PMR (200 MHz, CDCl_3), delta: 2,04, 2,00 (s, 6H, $\text{OCO}-\text{CH}_3$), 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/ 1,1 g (2,3 mmól) (4) képletű terméket 220 ml tetrahydro-furánban oldunk, majd szobahőmérsékleten, nitrogén atmoszférában és keverés közben 220 ml 0,1 normál nátrium-hidroxidot adunk hozzá. 1 óra elteltével az oldat pH-értékét 1 normál sósavval 7-re állítjuk, majd az oldószert vákuumban lepároljuk. A maradékot metilén-dikloridban oldjuk, az oldatot vízzel semlegességig mossuk, vízmentes nátriumszulfát felett szárítjuk és az oldószert lepároljuk.

Szilikagélen végzett oszlop-kromatográfia után 0,77 g (90%) (5) képletű terméket nyerünk.

Op.: 233–234 °C (bomlás közben).

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

Tömegspektrum: $m/z = 398$ (MH^+), 397 (M^+).

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), λ_{max} : 216, 260, 341, 384, 401 nm.

PMR (200 MHz, CDCl_3), delta: 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).

2. példa

4-Demetoxi-11-dezoxi-11-nitro-daunomicinon (11) általános képletű vegyület (R¹ = H)

a/ (8) képletű intermedier előállítás (R¹ = H)

0,7 g (2 mmól) (7) képletű vegyületet 10 ml ecetsavanhidridben és 10 ml piridinben szobahőmérsékleten keverünk. 24 óra elteltével a reakcióelegyet az 1a/ példában leírtak szerint feldolgozva 0,88 g (93%) (8) képletű vegyületet kapunk.

Op.: 220–222 °C.

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

UV-spektrum (MeOH), λ_{max} : 210, 258, 334 nm.

Tömegspektrum: $m/z = (\text{MH}^+)$, 478 (M^+).

PMR (200 MHz, CDCl_3 , T= 40 °C), delta: 2,03 (s, 6H, OCOCH_3), 2,23 (s, 3H, COCH_3), 2,44 (s, 3H, $\text{Ar}-\text{OCOCH}_3$), 2,44–3,39 (m, 4H), 6,46 (széles, 1H, 7-H), 7,75–8,3 (m, 5H).

b/ (9) képletű intermedier előállítás (R¹ = H)

0,83 g (1,74 mmól) (8) képletű vegyületet az 1b/ példában leírtak szerint reagáltatva 0,67 g (88%) (9) képletű vegyületet állítunk elő.

Op.: 244 °C.

IR-spektrum (KBr): 3430, 1730, 1665, 1640, 1590 cm^{-1} .

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), λ_{max} : 208, 226, 254, 334, 384, 400 nm.

Tömegspektrum: $m/z = 436$ (M^+).

PMR (200 MHz, CDCl_3), delta: 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/ (10) képletű intermediér előállítása ($R^1 = H$)

0,62 g (1,42 mmól) (9) képletű vegyületet 0,57 g (7,1 mmól) ammónium-nitráttal és 4 ml trifluor-ecetsav-anhidriddel kezelünk 90 ml vízmentes metilén-dikloridban. Az 1c/ példában leírtak szerint eljárva 0,5 g (73%) (10) képletű terméket nyerünk.

Op.: 272–274 °C (bomlás közben).

IR-spektrum (KBr): 3450, 1740, 1710, 1680, 1635, 1590, 1545, (Ar-NO₂) cm⁻¹.

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), lambda_{max}: 208, 254, 334, 400 nm.

Tömegspektrum: m/z = 481 (M⁺).

PMR (200 MHz, CDCl₃), delta: 2,06, 2,04 (s, 6H, OCO-CH₃), 2,2 (s, 3H, COCH₃) 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).

d/ 0,45 g (0,94 mmól) (10) képletű terméket az 1d/ példában leírtak szerint 0,1 normál nátrium-hidroxid-oldattal kezelve 0,34 g (91%) (11) képletű terméket nyerünk.

Op.: 231–233 °C.

IR-spektrum (KBr): 3550, 1710, 1675, 1630, 1540 cm⁻¹.

UV-spektrum és látható spktrum (MeOH), lambda_{max}: 210, 214, 218, 250, 326, 336, 400 nm.

Tömegspektrum: m/z = 397 (M⁺).

Molekulatömeg [C₂₀H₁₅NO₈]: 397,0798 (mért: 397,0808)

PMR (200 MHz, CDCl₃), delta: 2,18 - 3,1 (m, 4H), 2,38 (s, 3H, COCH₃), 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, 7-H), 7,8-8,4 (m, 4H), 13,7 (s, 1H, 6-OH).

3. példa

4-Demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-N-trifluor-acetil-daunorubicin előállítása

0,7 g (1,76 mmól) racém 4-demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-daunomicinon [(5) általános képletű vegyület, R¹ = H] 140 vízmentes metilén-kloriddal készített, 15 °C-ra hűtött oldatához 1,88 g (5,28 mmól) 1-klór-N,O-di-(trifluor-acetil)-daunozamint [előállítását lásd Cancer Chemotherapy Reports, 3. rész, 6. kötet, 2. szám, 123. oldal] 40 ml vízmentes metilén-dikloriddal készített oldatát és 1,4 g (5,28 mmól) ezüst-trifluor-metán-szulfonát 40 ml vízmentes dietil-éterrel készített oldatát adjuk egy időben, és gyorsan, erőteljes keverés és nitrogén átbuborékoltatása közben. 20 perc elteltével az elegyhez telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldatot (100 ml) adunk, majd 10 percen át tovább keverjük. Ezután az elegyet celiten keresztül szűrjük, a szerves fázist elválasztjuk, vízzel mossuk, vízmentes nátriumszulfát felett szárítjuk, és az oldószert vákuumban eltávolítjuk.

A sárga anyagot 300 ml metanolban oldjuk, majd egy éjszakán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk, így módon eltávolítva az O-trifluor-acetil-csoportot. Az oldószert lepároljuk, majd a maradékot szilikagélén kromatografáljuk, így 0,43 g (39%) 7(S)-9(S)-α-glikozidot és

0,43 g (39%) 7(R)-9(R)-α-glikozidot nyerünk. Eluációs rendszer: CH₂Cl₂-EOAc-CH₃COOH (90:10:1 térfogat/térfogat).

A termékek fizikai állandói:

7(S):9(S):

Op.: 245–246 °C.

IR-spektrum (KBr): 3470, 3450, 1720, 1700 (N-trifluor-acetil), 1680, 1635, 1590, 1535 cm⁻¹.

10. Tömegspektrum: m/z = 623 (M⁺).

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), lambda_{max}: 208, 260, 341, 384, 401 nm.

[α]_D²⁵ = + 337 (c = 0,05541 MeOH).

15 CD (MeOH): Δε 226 nm = + 19,31, 270 nm = -9,94, 292 nm = + 5,67, 340 nm = + 7,68.

PMR (200 MHz, CDCl₃), delta: 1,24 (d, J= 6,8 Hz, 3H, 5'-CH₃), 1,82 (td, J= 4,1, 12,4 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, COCH₃), 2,48 (ddd, J= -1,8, 2,3, 15,1 Hz, 1H, 8_{eq}-H), 3,10 (d, J= 18,7 Hz, 1H, 10_{ax}-H), 3,27 (dd, J= 1,8, 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 (m, 2H, 1-H, 4-H), 13,55 (s, 1H, 11-OH).

7(R):9(R):

Op.: 145–146 °C.

Tömegspektrum: m/z = 623 (10, MH⁺): 579 (100).

40 CD (MeOH): Δε 226 nm = -10,9, 271 nm = + 7,26, 291 nm = 0,27, 300 nm = + 0,56, 340 nm = -5,1.

[α]_D²⁵ = -293 (c = 0,0635 MeOH).

PMR (200 MHz, CDCl₃), delta: 5,14 (t, J= 30 Hz, 1H, 7-H), 5,27 (m, 1H, 1'-H).

4. példa

4-Demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-daunorubicin-hidroklorid előállítása

50 0,130 g (0,2 mmól) 4-demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-N-trifluor-acetil-daunorubicint 6 ml acetonban oldunk. 0 °C hőmérsékleten, nitrogén atmoszférában és keverés közben 60 ml 0,1 normál nátrium-hidroxid-oldatot adunk hozzá. 2 óra elteltével az acetont vákuumban lepároljuk, és az elegy pH-ját 0,1 normál sósavval 4,5-re állítjuk.

55 A vizes oldatot metilén-dikloriddal extraháljuk, pH-értékét 0,1 normál nátrium-hidroxid-oldattal 6,5 - 7,0-ra állítjuk, majd metilén-dikloriddal extraháljuk. A szerves fázist vízzel mossuk, vízmentes nátriumszulfát felett szárítjuk, és az oldószert lepároljuk. A maradékot 5 ml metanolban oldjuk, néhány csepp sósavval metanolal megsavanyítjuk, és a hidrokloridot dietil-éter és n-hexán hozzáadásával kicsapjuk. A szilárd anyagot szűr-

jük, dietil-éterrel semlegességig mossuk, majd szárítás után 0,080 g (68%) cím szerinti vegyületet kapunk.

Op.: 173 °C (bomlás közben).

IR-spektrum (KBr): 3400, 1710, 1675, 1630, 1590, 1540 cm⁻¹.

Tömegspektrum: m/z = 527 (MH⁺).

5. példa

4-Demetoxi-11-dezoxi-11-nitro- N -trifluor-acetil-daunorubicin előállítás

0,290 g (0,73 mmól) (11) általános képletű racém aglikont (R = H) a 3. példában leírtak szerint a megfelelő glikoziddá alakítunk. Ily módon 0,1 g (24%) 7(S):9(S) terméket és 0,1 g (24%) diasztereomer 7(R):9(R) vegyületet kapunk, melyet kromatográfiával választunk el. A termék fizikai állandói a következők:

7(S):9(S):

Op.: 237–240 °C (bomlás közben).

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

Tömegspektrum: m/z = 579 (M⁺ = COCH₃).

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), lambda_{max}: 207, 259, 335, 400 nm.

CD (MeOH): Δε 221 nm = +11,1, 250 nm = +4,0, 289 nm = -5,1, 330 nm = +3,1, 400 nm = +1,0.

[α]_D²⁵ = +22 (c = 0,0623 MeOH).

PMR (200 MHz, CDCl₃), delta: 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= 4,4 (3,0 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), 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):

Tömegspektrum: m/z = 579 (100, M⁺ = COCH₃).

PMR (200 MHz, CDCl₃), delta: 5,35 (m, 1H, 1'-H), 5,59 (dd, J= 2,0, 3,5 Hz, 1H, 7-H).

6. példa

4-Demetoxi-11-dezoxi-11-nitro-daunorubicin-hidroklorid előállítás

0,090 g (0,145 mmól) 5. példa szerinti vegyületet a 4. példában leírtak szerint kezelve 0,061 g (75%) cím szerinti vegyületet állítunk elő.

Op.: 212 °C (bomlás közben).

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

Tömegspektrum: m/z = 527 (MH⁺).

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), lambda_{max}: 208, 222, 256, 402 nm.

7. példa

4-demetoxi-6-dezoxi-6-nitrodoxorubicin előállítás

0,86 g (1,52 mmól) 4. példa szerinti 4-demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-daunorubicin-hidrokloridot 50 ml metanolból és 50 ml dioxánból álló oldószerkeletben oldunk, és 1,5 ml trietil-ortoformát és 0,92 ml tömeg/térfogat%-os Br₂/CH₂Cl₂ keverésben tartott oldatához adjuk.

4 órás, szobahőmérsékleten való állás után az oldatot 300 ml etiléter és 500 ml n-hexán elegyébe öntjük és a képződött csapadékot összegyűjtjük, majd étérrel mossuk.

A szilárd anyagot 120 ml 0,25 N hidrogén-bromidban és 120 ml acetonban oldjuk. 16 órás, szobahőmérsékleten való állás után 4,8 g 50 ml vízben oldott nátrium-formiátot adagolunk, és 24 óra hosszat 50 °C hőmérsékleten tartjuk. Ezután az oldatot telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal kezeljük, míg pH-ja bázikusá válik.

A reakcióelegyet szén-dikloriddal kirázzuk, így vöröses csapadékot kapunk, melyet szűrünk és vízzel mosunk.

Az anyalúgot szén-dikloriddal többször extraháljuk és az oldószeret vákuumban eltávolítjuk. Így a nyers termék második részét megkapjuk.

A két részt egyesítjük és 10% ecetsavat tartalmazó metanolban oldjuk, 20 g szilikagél adunk hozzá és vákuumban óvatosan bepároljuk. A szilárd anyagot szilikagélből szén-dikloriddal készített oszlop tetejére töltjük (5 x 30), majd szén-diklorid /95%-os etanol (80:10 térfogat/térfogat) eluálószerrel eluáljuk.

A tiszta frakciókat összegyűjtjük és az oldószeret vákuumban eltávolítjuk. A maradékot metanolban oldjuk, 0 °C-ra hűtjük, megsavanyítjuk 0,5 N sósav/metanol oldattal, míg pH-ja kb. 3 lesz.

Etil-éter hozzáadására sárga csapadékot kapunk, melyet szűrünk és étérrel mosunk. Vákuumban való szárítás után 0,45 g 4-demetoxi-6-dezoxi-6-nitro-doxorubicin-hidrokloridot kapunk (hozam: 51%).

IR-spektrum (KBr): 3400, 1710, 1675, 1630, 1590, 1540 cm⁻¹.

Tömegspektrum: m/z 543 (MH⁺).

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH), lambda_{max}: 208, 260, 341, 394, 401 nm.

R_f (F 254 Merck szilikagél lemezen; CH₂Cl/MeOH/AcOH/H₂O 80:20:7:3) = 0,37.

8. példa

4-demetoxi-11-dezoxi-11-nitro-doxorubicin

0,35 g 6. példa szerinti 4-demetoxi-11-dezoxi-11-nitro-daunorubicin-hidrokloridot 15 ml metanolból és 15 ml dioxánból álló oldószerkeletben oldunk, és 0,5 ml trietil-ortoformiát és 0,34 ml 30 t/térfogat%-os Br₂/CH₂Cl₂ oldatához adjuk.

4 órás állás után a reakcióelegyet 150 ml etil-éter és 300 ml n-hexán elegyébe öntjük; a képződött csapadékot szűrjük és étérrel mossuk.

A szilárd anyagot 25 ml 0,25 N hidrogén-bromid és 25 ml aceton elegyében oldjuk és egy éjszakán át szobahőmérsékleten tartjuk.

1,5 g nátrium-formiátot 15 ml vízben oldunk és az előbbi reakcióelegyhez adjuk, a szobahőmérsékletéről 50 °C-ra emeljük a hőmérsékletet, és ezt fenntartjuk 24 óra hosszat.

A reakcióelegyhez nátrium-hidrogén-karbonát telített vizes oldatát adjuk, míg a pH bázikussá válik, majd az elegyet szén-dikloriddal extraháljuk.

A szerves réteget nátrium-szulfát felett szárítjuk és az oldószert eltávolítjuk.

A nyers terméket szilikagél oszlopon kromatografálva tisztítjuk, eluálószerként $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ (160:20:8) elegyet alkalmazva. A tiszta frakciókat összegyűjtjük, vizes telített nátrium-hidrogén-karbonát oldattal mossuk, majd vízzel semlegesséig, végül a terméket extraháljuk, víz és 0,1 N sósav-oldat eleggyel, míg pH-ja kb. 3 lesz.

A vizes oldatot liofilizálva 0,17 g 4-demetoxi-11-dezoxi-11-nitro-doxorubicin hidrokloridot kapunk (47%-os kitermelés).

IR-spektrum (KBr): 3400, 2900, 1710, 1670, 1635, 1590, 1540 cm^{-1} .

Tömegspektrum: m/z 543 (MH^+).

UV-spektrum és látható spektrum (MeOH) λ_{max} :

208, 222, 256, 402 nm.

R_f (F₂₅₄ Merck szilikagél lemezt használva; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ 80:20:7:3) = 0,407.

A találmány szerinti eljárással előállított (A') általános képletű antraciklin-glikozidot, vagy annak gyógyszerileg elfogadható sóját gyógyszerileg készítmények hatóanyagaként alkalmazhatják, gyógyszerileg elfogadható hígító- vagy hordozóanyagokkal keverve. Az (A') általános képletű vegyület vagy sója terápiásan hatásos mennyisége inert hordozó- vagy hígítószerezrel kombinálható.

Az (A') általános képletű vegyületek és sóik értékes hatóanyagok ember- és állatok terápiás kezelésében. Ezek elsősorban tumorelles hatású szerek, a kezelt személyeknek terápiásan hatékony mennyiségben adagolva.

A 6. példa szerinti és 4. példa szerinti vegyületek biológiai hatékonysága

A fenti vegyületeket daunorubicinnel (DNR) összehasonlítva, *in vitro* vizsgáltuk HeLa és P388 sejtekkel szemben. A vegyületek hidrokloridjaikként, vízben oldva vizsgáltuk.

A 6. példa szerinti vegyület *in vivo* hatását P388 ascites leukémia ellen az 1. táblázat mutatja.

A 6. és 4. példa szerinti vegyületek hatását disseminált Cross leukémia ellen vizsgáltuk. Az eredményeket a 2. táblázat mutatja. Ebben a rendszerben a két új vegyület a legnagyobb vizsgált dózisban (22,5 mg/kg 6. példa szerinti vegyület, illetve 50 mg/kg 4. példa szerinti vegyület) hatékonyabb volt, mint a DNR a maximális tolerálható dózisban (10 mg/kg).

1. Táblázat

Hatás P388 ascites leukémia ellen^{a)}

Vegyület	Dózis ^{b)}	T/C% ^{c)}	Toxicitás (elhullás) ^{d)}
DNR	2,9	152	1/10
	4,4	157	5/10
6. példa szerinti vegyület	4	152	0/10
	6	162	0/10
	9	171	1/10
	13,5	124	9/10

a) = A kísérletet CDF₁ egereken végeztük, melyeket intraperitoneálisan 10⁶ leukémia sejttel inokuláltunk.

b) = Intraperitoneális kezelés egy nappal a tumor-inokulálás után.

c) = Kezelt egerek átlagos túlélési ideje/kontroll egerek átlagos túlélési ideje x 100.

d) = Autoptikus megfigyelések alapján tett értékelés.

2. Táblázat

Hatás Gross leukémia^{a)} ellen

Vegyület	Dózis ^{b)}	T/C% ^{c)}	Toxicitás (elhullás) ^{d)}
DNR	10	158.150	0/20
	15	175.225	3/20
6. példa szerinti vegyület	10	125	0/10
	15	150	0/10
	22,5	200	0/10
4. példa szerinti vegyület	25	175	0/10
	50	208	0/10

a) = (A kísérletet C₃H egereken végeztük, melyeket intravénásan 2 x 10⁶ leukémia sejttel inokuláltunk.

b) = Intravénás kezelés egy nappal a tumor-inokulálás után.

c) = Kezelt egerek átlagos túlélési ideje/kontroll egerek átlagos túlélési ideje x 100.

d) = Autoptikus megfigyelések alapján tett értékelés.

3. Táblázat

In vitro aktivitás HeLa sejtekkel és LoVo sejtekkel szemben

	ID ₅₀ (ng/ml)	
	HeLa ¹	LoVo ¹
DX	19	36
8. példa szerinti vegyület	18	220
7. példa szerinti vegyület		

¹ Telep-gátló vizsgálat 24 órás kezelés után végezve.

4. Táblázat

In vivo aktivitás hasvízkóros P338 és kiterjedt Gross leukémia ellen

Vegyület	P338 ¹			Gross ²			
	dózis mg/kg	T/C% ³	toxici- ⁴ tásból eredő el- hullás	dózis mg/kg	T/C% ³	toxici- tásból eredő el- hullás	
DX	4,4	182	0/10	10	183	0/10	10
	6,6	209	0/10	13	225	0/10	
	10	391	0/10	16,9	233	0/10	
Vegyület	6,6	195	0/10	17,3	275	0/10	15
8. példa	10	223	0/10	22,5	308	1/10	
szerint	15	209	9/10	29,25	117	9/10	

¹P388 0. napon i.p. inokulált leukémia. Kezelés i.p. 1. napon.

²0. napon i.v. inokulált Gross leukémia. Kezelés i.v. 1. napon.

³Kezelt egerek átlagos túlélési ideje/kontroll átlagos túlélési ideje x 100.

⁴Autoptikus megfigyelések alapján tett értékelés.

5. Táblázat

In vivo aktivitás Gross leukémia és C₃H emlőrák ellen

Vegyület	Gross ¹			Emlőrák (s. c.) ²		
	dózis mg/kg	T/C% ³	toxici- ⁴ tásból eredő el- hullás	dózis mg/kg	%-os tumor növekedés gátlás	
DX	10	158	0/10	6,0	100	40
	13	200	0/10	7,5	100	
	16,9	200	4/10			
Vegyület	29,6	200	0/10	8,88	96	
7. példa	38,5	242	0/10	11,54	100	45
szerint	50	142	0/10	15	100	

1) 0. napon i.v. inokulált Gross leukémia kezelés: i.v. 1. nap.

2) Kezelés i.v. q 7 d x 4, attól kezdődően, hogy a tumor tapintható lett.

5) 3) Kezelt egerek átlagos túlélési ideje/kontroll túlélési ideje x 100.

4) Autoptikus megfigyelések alapján tett értékelés.

Szabadalmi igénypont

Eljárás (A') általános képletű antraciklin-glikozid-származékok előállítására, ahol

R₁ hidrogénatom,

R₂ és R₃ közül az egyik hidroxilcsoport és a másik nitrocsoport, és

R₄ hidrogénatom vagy hidroxilcsoport,

azzal jellemezve, hogy valamely (B) általános képletű aglikont, ahol

R₁, R₂ és R₃ a fent megadott,

(C) képletű 1-klór-N,O-di-(trifluor-acetil)-daunóz-aminál - előnyösen vízmentes metilén-dikloridban, nitrogén

atmoszférában, szobahőmérsékleten, ezüst-trifluor-metán-szulfonát jelenlétében - kondenzálunk, a keletkezett

(A'') általános képletű antraciklin-glikozidok, ahol

R₁, R₂ és R₃ a fent megadott,

7(S):9(S)- és 7(R):9(R)-diasztereomer elegyéről lehasítjuk az O-trifluor-acetil-csoportot, célszerűen metanolos

kezeléssel, a 7(S):9(S) antraciklin-glikozidot célszerűen kromatografiálva elválasztjuk a 7(R):9(R) antraciklin-

glikozidtól, a 7(S):9(S) antraciklin-glikozidról enyhe alkálikus hidrolízissel lehasítjuk az N-trifluor-acetil-védő-

csoportot, a kapott vegyületet hidroklorid sójává alakítjuk és így olyan, (A') általános képletű vegyületet nyerünk, melyben

R₄ hidrogénatom,

az így kapott (A') általános képletű vegyületet kívánt esetben a 14-helyzetben brómozunk, majd a keletkezett

14-bróm-származékot - célszerűen nátrium-formiát víz-es oldatával - hidrolizáljuk, majd a kapott vegyületet

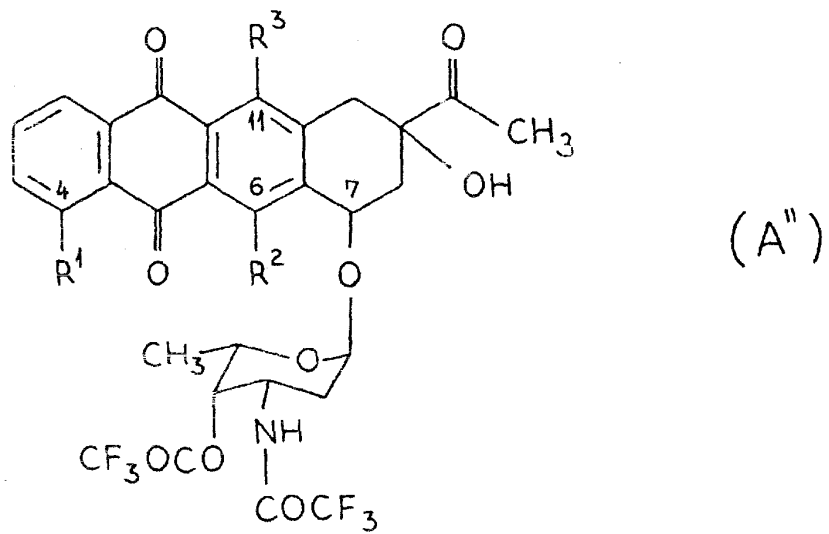
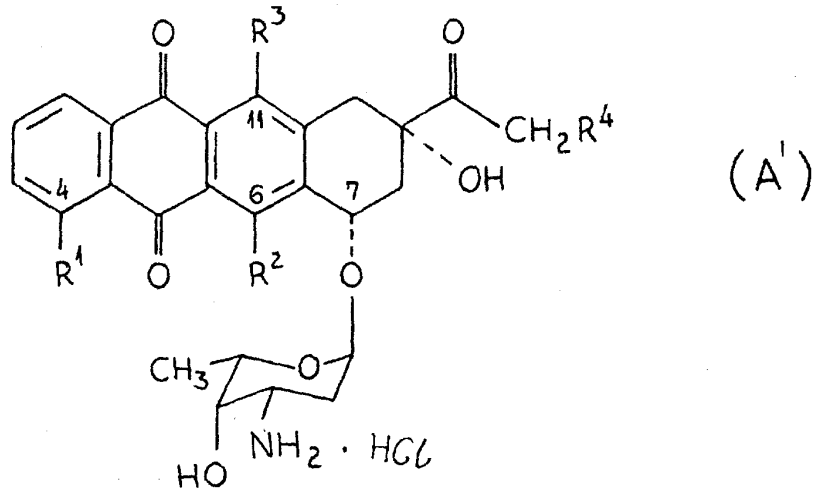
hidroklorid sójává alakítjuk és így olyan (A') általános képletű vegyületet nyerünk, ahol

R₄ hidroxilcsoport,

és a kapott vegyületeket elkülönítjük.

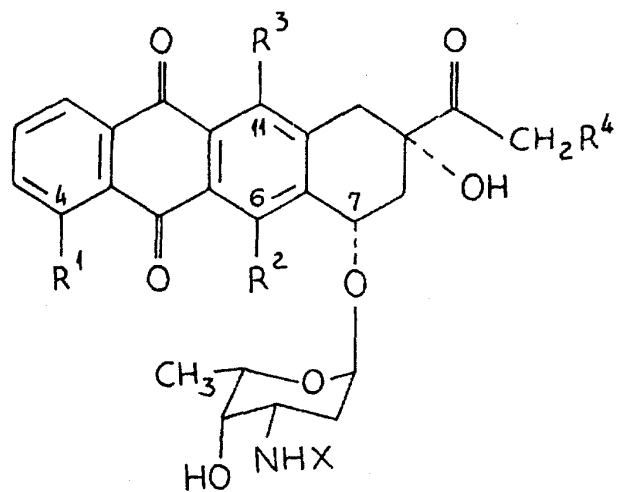
195 667

NSZO₄: C 07 H 15/252
A 61 K 31/70

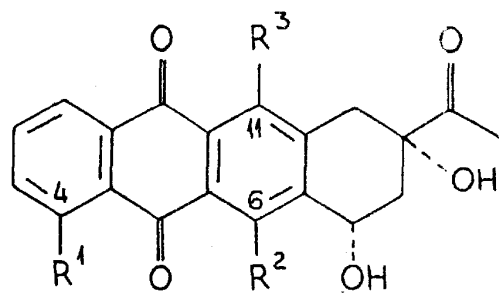


195 667

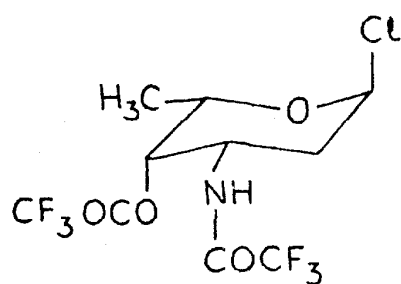
NSZO₄: C 07 H 15/252
A 61 K 31/70



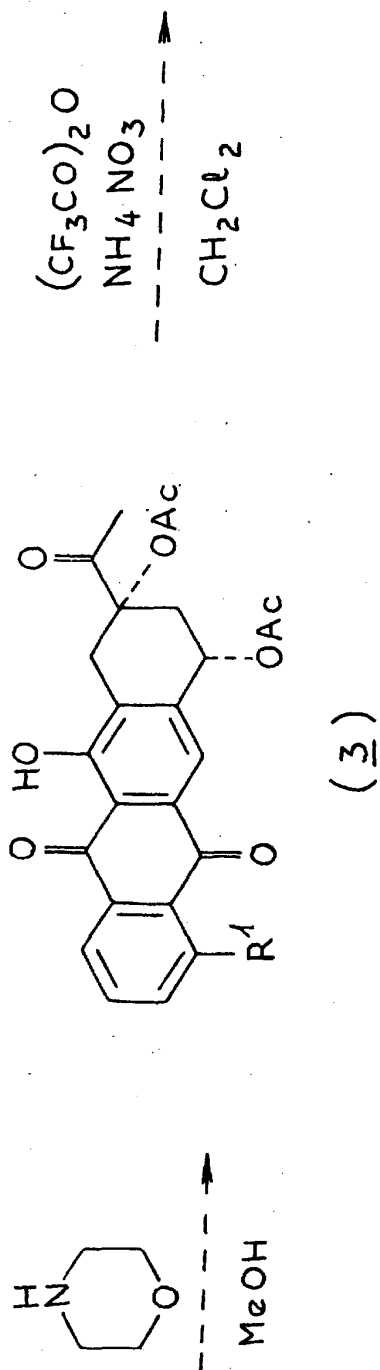
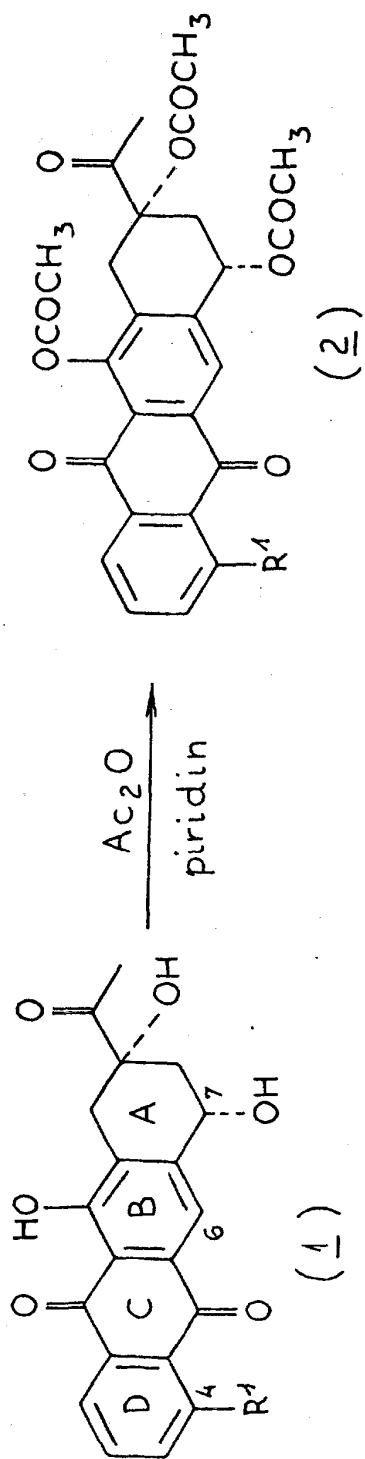
(A)



(B)



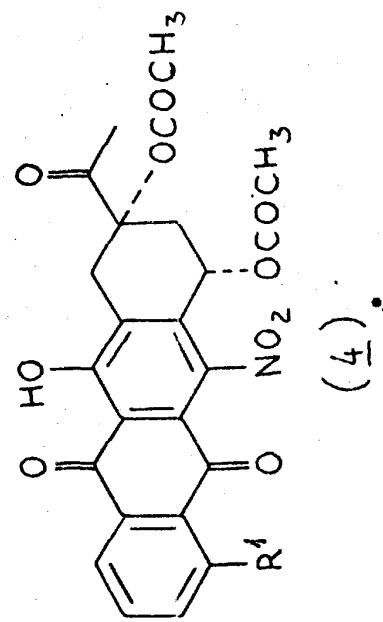
(C)

I. reakcióvázlat

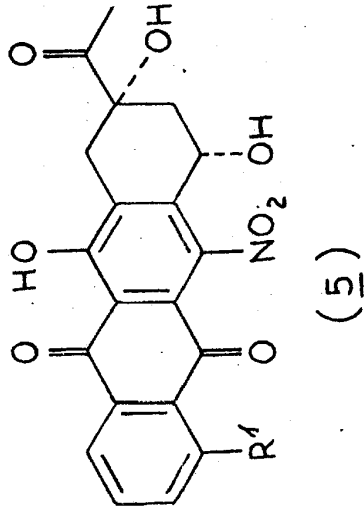
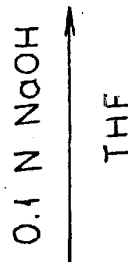
195 667

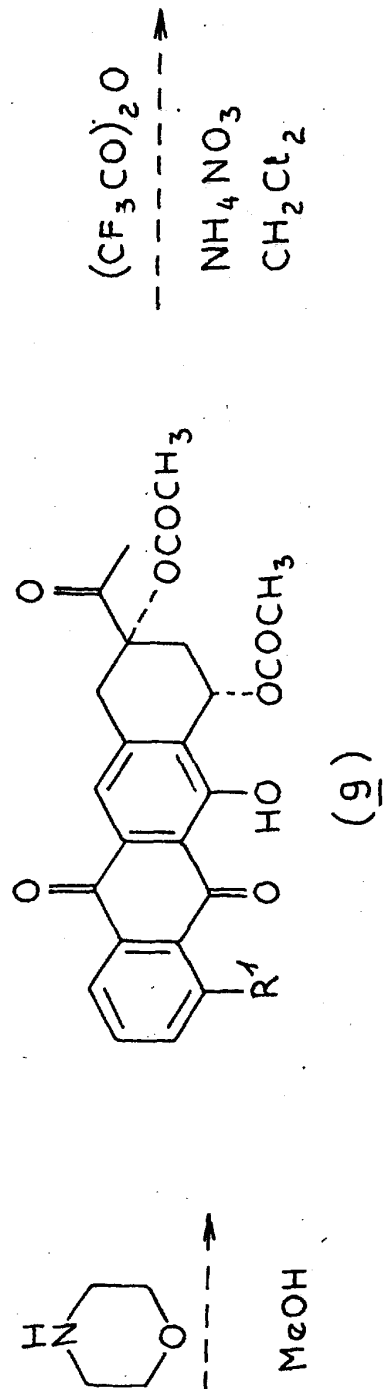
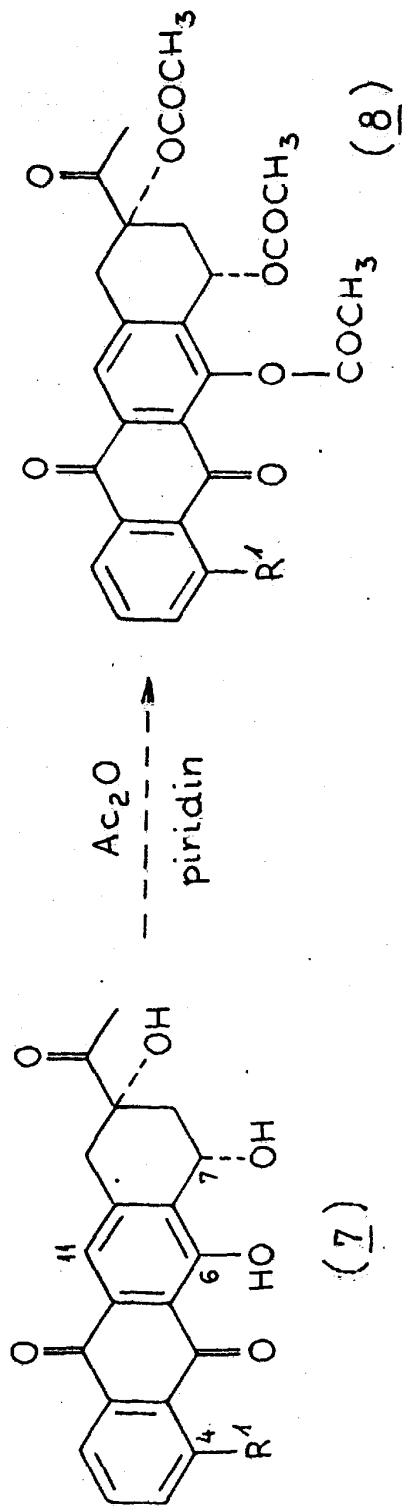
NSZO₄: C 07 H 15/252
A 61 K 31/70

I. reakcióvázlat (folyt.)



ahol R¹=H, OCH₃

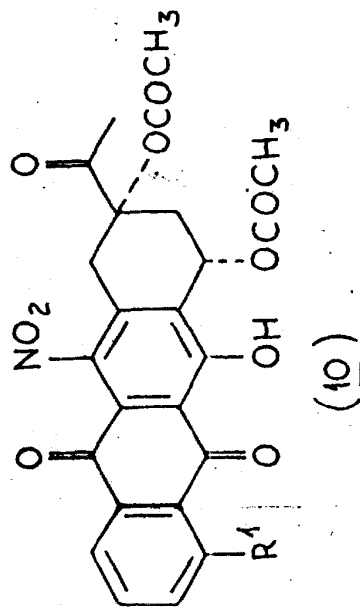


II. reakcióvázlat

195 667

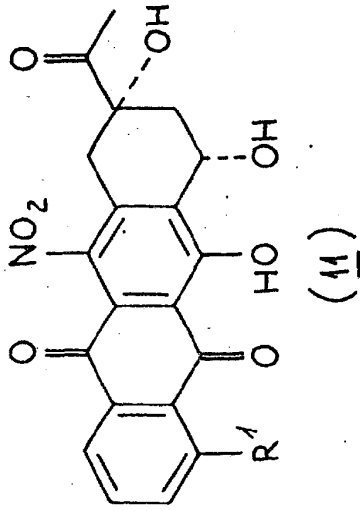
NSZO₄: C 07 H 15/252
A 61 K 31/70

II. reakcióvázlat (folyt.)



0.1 N NaOH

THF



ahol R¹ = H, OCH₃

Kiadja az Országos Tatálmányi Hivatal
A kiadásért felel: Himer Zoltán osztályvezető
Megjelenik a Műszaki Könyvkiadó gondozásában
KULTÚRPROFIL - FOTON nyomda
K 88083