



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ И ПАТЕНТУ

1

- (21) 4355593/23-04
(22) 20.04.88
(31) 8709353
(32) 21.04.87
(33) GB
(46) 15.12.90. Бюл. № 46
(71) Фармитагна Карло Эрба С.р.л.
(IT)
(72) Микеле Карузо, Антонио Суарато,
Франческо Анджелуччи и Федерико
Аркамоне (IT)
(53) 547.455.6.07(088.8)
(56) Патент Швейцарии № 657622,
кл. С 07 H 15/252, 1986.
Патент Швейцарии № 652131,
кл. С 07 H 15/252, 1985.
С.М. Wong. Can. - J. Chem. 51,
446, 1973.

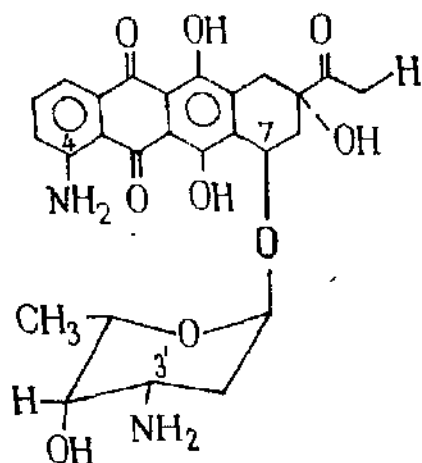
(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНТРАЦИКЛИНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ

(57) Изобретение касается гликозидов, в частности получения антрациклиновых гликозидов, обладающих противоопухолевой активностью, что может быть использовано в медицине. Цель изобретения - создание нового более активного соединения указанного класса. Синтез ведут удалением 7-гидроксигруппы в карминомициноне, растворенном в смеси диоксана и этанола (1:1), с помощью гидрогенолиза в присутствии 5% Pd/BaSO₄ при комнатной температуре в течение 3 ч с последующей обработкой полученного 4-диметил-7-деоксидауномицинона в безводном метиленхлориде 4-фторбензолсульфонилхлоридом в присутствии N,N-диизопропилэтил-

2

амин и каталитического количества 4-диметил-аминопиридина. Далее ведут реакцию полученного продукта в тетрагидрофуране с бензиламином при 40°C в течение 36 ч с последующим удалением бензильной группы с помощью каталитического гидрирования в присутствии 5% Pd/BaSO₄ при 1 атм и комнатной температуре в течение 1 ч с использованием в качестве растворителя смеси этанола с уксусной кислотой и каталитического количества 37%-ной водной HCl, защитой NH₂-группы в полученном 4-деметокси-4-амино-7-деоксидауномициноне с помощью трифторуксусного ангидрида в безводном метиленхлориде при 0°C, защитой 13-кетогруппы катализацией этиленгликолем при температуре дефлегмации в присутствии p-толуолсульфокислоты, бромированием в метиленхлориде бромом при 40°C в присутствии 2,2'-азобисизобутиронитрила в течение 3 ч, обработкой водной трифторуксусной кислотой при 0°C в течение 1 ч. Затем полученный 4-деметокси-4-N-трифторацетамидодауномицин подвергают реакции с хлорсахаром (защитным) в безводном метиленхлориде при 5-10°C в присутствии трифторметансульфоната серебра с последующей обработкой при 0°C в течение 3 ч 0,1 н. водным раствором NaOH. Целевой продукт выделяют в свободном виде или в виде гидрохлорида обработкой метанольным раствором HCl. Новые вещества обладают активностью на уровне даунорубина в клетках аденокарциномы толстой кишки человека.
2 табл.

Изобретение относится к способу получения новых гликозидов антрацикли- на общей формулы



обладающих противоопухолевой актив- ностью.

Цель изобретения - разработка спо- соба получения нового антрациклиново- го гликозида, обладающего преимущест- 25 вами в биологической активности.

Пример 1. 4-Диметил-7-деокси- дауномицинон.

1,5 г 4-диметилдауномицинона, раст- воренного в смеси 100 мл диоксана и 100 мл этанола, гидрируют в присутст- 30 вии 0,3 г 5% Pd/BaSO₄ при комнатной температуре в течение 3 ч. После филь- трования растворитель удаляют в ваку- уме и 4-деметокси-7-деоксидауномици- нон выделяют с почти количественным выходом, ТСХ на Кизельгеле F254 (Merck) с использованием смеси толуола и аце- тона (9:1 по объему), Rf = 0,30.

Пример 2. 4-Диметил-4-О-(4- фторбензолсульфонил)-7-деоксидауно- мицинон.

К перемешиваемому раствору 1,0 г 4-диметил-7-деоксидауномицинона в 200 мл безводного метилendioхлорида, содержащего 0,52 мл N,N-диизопропил- амина и каталитическое количество 4-диметиламинопиридина, при комнатной температуре добавляют 0,52 г 4-фтор- бензолсульфонилхлорида. Спустя 30 мин превращение завершается, и реакционную 50 смесь промывают 0,1 н. водной соляной кислотой, а затем водой.

Органический раствор сушат над без- водным сульфатом натрия, растворитель 55 отфильтровывают и удаляют в вакууме. Неочищенный продукт помещают в неболь- шое количество толуола и кристаллизу- ют до получения 0,6 г чистого произ-

водного 4-диметил-4-О-сульфоната. Дру- гие 0,3 г продукта выделяют очисткой маточного раствора на хроматографичес- кой колонке, используя в качестве элюента смесь толуола и ацетона. Вы- ход 80%. ТСХ на Кизельгеле F254 (Merck) с использованием смеси то- луола и ацетона (9:1 по объему), Rf = 0,26.

Полевая масс-спектрометрия (M⁺) 526.

УФ, λ_{макс} (MeOH): 524, 490 нм.

¹H ЯМР (200 МГц, CDCl₃), δ: 13,43, 13,36, (с, 2H, 11-OH, 6-OH); 8,38 (дд, J = 1,3, 7,9 Гц, 1H, 1-H); 8,02

(м, 2H, OCH₂-C₆H₄-F); 7,80 (дд, J =

20 = 7,9, 8,1 Гц, 1H, 2-H); 7,62 (дд, J = 1,3, 8,1 Гц, 1H, 3-H); 7,23 (м,

2H, OS O₂-C₆H₄-F); 3,77 (с, 1H,

9-OH); 3,1-2,8 (м, 4H, 7-CH₂, 10-CH₂); 2,38 (с, 3H, COCH₃); 2,0-1,9 (м, 2H, 8-CH₂).

Пример 3. 4-Деметокси-4-бен- зиламино-7-деоксидауномицинон.

0,8 г соединения примера 2 раство- ряют в 100 мл тетрагидрофурана и до- бавляют 0,5 мл бензиламина. Получен- ную смесь выдерживают при 40°C в те- чение 36 ч при перемешивании, затем добавляют 50 мл 1 н. водной соляной кислоты и 100 мл метилendioхлорида. Органическую фазу промывают дважды 35 водой и сушат над безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляют в ваку- уме. Неочищенный продукт хроматографи- руют с мгновенным испарением, исполь- зуя в качестве элюирующего раствори- теля смесь толуола и ацетона до полу- чения 0,48 г 4-деметокси-4-бензилами- но-7-деоксидауномицинона. Выход 69%. 40 ТСХ на пластине Кизельгеля F254 (Merck) с использованием смеси толуола и аце- тона (9:1 по объему), Rf = 0,28.

Полевая масс-спектрометрия (M⁺) 457.

УФ, λ_{макс} (MeOH): 548 нм.

¹H ЯМР (200 МГц, CDCl₃), δ: 13,58 (с, 2H, 6-OH, 11-OH); 9,86 (т, J = 5,7 Гц, 1H, NH-CH₂Ph); 7,64 (д, J = 7,3 Гц, 1H, 1-H); 7,49 (дд, J = 7,3, 8,3 Гц, 1H, 2-H); 7,4-7,2 (м, 5H, NHCH₂Ph); 7,00 (д, J = 8,3 Гц, 1H, 3-H); 4,60 (д, J = 5,7 Гц, 2H, NHCH₂Ph); 3,1-2,9 (м, 4H, 10-CH₂,

7-CH₂); 2,37 (с, 3H, COCH₃); 2,0-1,9 (м, 2H, 8-CH₂).

Пример 4. 4-Деметокси-4-амино-7-деоксидауномицинон.

0,45 г 4-деметокси-4-бензиламино-7-деоксидауномицинона растворяют в смеси 40 мл этанола, 20 мл уксусной кислоты и 0,4 мл 37%-ной водной соляной кислоты, добавляют 0,2 г Pd/BaSO₄ (катализатора) и полученную смесь гидрируют при 1 атм в течение 1 ч при комнатной температуре. После этого катализатор отфильтровывают, и растворитель выпаривают в вакууме. Неочищенный продукт хроматографируют с мгновенным испарением, используя в качестве элюента смесь толуола и ацетона до получения 0,2 г 4-деметокси-4-амино-7-деоксидауномицинона. Выход 75%. ТСХ 20 на пластине Кизельгеля F254 (Merck) использованием смеси толуола и ацетона (9:1 по объему), R_f = 0,17.

Полевая масс-спектрометрия (M⁺) 367.

УФ, λ_{макс} (MeOH): 536, 508 нм.
¹H ЯМР (200 МГц, CDCl₃), δ: 13,62, 13,55 (с, 2H, 11-OH, 6-OH); 7,64 (д, J = 7,7 Гц, 1-H); 7,46 (дд, J = 7,7, 8,3 Гц, 1H, 2-H); 6,93 (д, J = 8,3 Гц, 3H, 3-H); 6,8-7,0 (широкий сигнал, 2H, NH₂); 3,83 (с, 1H, 9-OH); 3,1-2,8 (м, 7-CH₂, 10-CH₂); 2,37 (с, 3H, COCH₃); 2,0-1,9 (м, 2H, 8-CH₂).

Пример 5. 4-Деметокси-4-N-трифторацетамидо-7-деоксидауномицинон.

0,2 г 4-деметокси-4-амино-7-деоксидауномицинона растворяют в 20 мл безводного метилендихлорида, охлаждают до 0°C и добавляют 0,3 мл трифторуксусного ангидрида. Спустя 10 мин добавляют бикарбонат натрия. Органическую фазу дважды промывают водой и выделяют, сушат над безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляют в вакууме до получения соединения с количественным выходом. ТСХ на Кизельгеле F254 (Merck) с использованием смеси толуола и ацетона (9:1 по объему), R_f = 0,32.

Пример 6. 2-Деметокси-4-N-трифторацетамидо-4-амино-7-деоксидауномицинон.

Суспензию 0,2 г соединения примера 5 в 15 мл бензола и 0,5 мл этиленгликоля кипятят с обратным холодильником в течение 4 ч в присутствии 0,015 г п-толуолсульфокислоты, используя аппарат Дина-Старка. Полученную

смесь охлаждают, промывают водным бикарбонатом натрия и водой, затем выпаривают досуха до получения 0,2 г целевого кетая.

Полученный кеталь растворяют в 125 мл метилендихлорида при 40°C и обрабатывают бромом (1,7 мл 0,6 М раствор в метилендихлориде) в присутствии 0,25 г 2,2'-азобисизобутиронитрила.

Спустя 3 ч полученную смесь охлаждают и экстрагируют водным раствором бикарбоната натрия, затем дважды промывают метилендихлоридом и растворитель удаляют в вакууме.

Остаток растворяют в 3 мл трифторуксусной кислоты и 0,3 мл воды при 0°C и перемешивают в течение 1 ч, затем экстрагируют метилендихлоридом.

Органическую фазу промывают водным бикарбонатом натрия и водой. Растворитель отфильтровывают, сушат над безводным сульфатом натрия и выпаривают в вакууме до получения 0,1 г 4-деметокси-4-N-трифторацетамидо-4-амино-7-деоксидауномицинона. Выход 48%. ТСХ на пластине Кизельгеля F254 (Merck) с использованием CH₂Cl₂ и ацетона (95:5 по объему), R_f = 0,23.

Полевая масс-спектрометрия (M⁺) 479.

Пример 7. 4-Деметокси-4-амино-4-деоксидауномицинон (Ia).

0,08 г 4-деметокси-4-N-трифторацетамидо-4-амино-7-деоксидауномицинона, полученного по примеру 6, растворяют в безводном метилендихлориде, и полученный раствор охлаждают до 5-10°C. Одновременно и быстро добавляют раствор 0,024 г 1-хлор-N,0-дифтрифторацетилдаунозамина, полученного по известному способу в диэтиловом эфире, и раствор 0,150 г трифторметансульфоната серебра в метилендихлориде при интенсивном перемешивании.

Спустя 5 мин добавляют еще 0,070 г трифторметансульфоната серебра и спустя 5 мин реакцию гасят коллидным.

Полученную смесь фильтруют, промывают насыщенным водным раствором бикарбоната натрия и водой, сушат и концентрируют в вакууме.

Остаток хроматографируют на колонке с силикагелем, элюируя метилендихлоридом до получения 4-деметокси-4-N-трифторацетамидо-N-трифторацетилдаунонорубидина (Ia). Полученное соединение растворяют в 10 мл ацетона и

обрабатывают 30 мл 0,1 н. водного гидроксида натрия при 0°C в течение 3 ч. Затем к раствору добавляют 0,1 н. водную соляную кислоту до установления pH 4,5 и исключают агликон экстракцией метилендихлоридом. Затем pH водного раствора устанавливают 8,6 и экстрагируют метилендихлоридом, сушат над безводным сульфатом натрия, концентрируют до небольшого объема и подкисляют до pH 4,5 0,1 н. метанольным раствором хлористого водорода до получения указанного в заглавии соединения в виде гидрохлорида.

Гликозиды по изобретению являются противоопухолевыми агентами. Активность представительного соединения формулы (I) 4-деметокси-4-аминодауно-рубицина (Ia) определяли, сравнивая его цитотоксичность in vitro с цитотоксичностью даунорубицина (DNR) в клетках аденокарциномы толстой кишки человека, чувствительных (Lovo) или устойчивых (Lovo / DX) к доксорубицину.

В табл. 1 приведен тест на ингибирование колонии спустя 4 ч после обработки.

Т а б л и ц а 1

Соединение	Lovo, ИД ₅₀ , мкг/мл	Lovo/DX, ИД ₅₀ , мкг/мл
Ia	0,7	99
DNR	50,3	1805

Определяли также активности in vivo (Ia) и DNR против рассеянной лейкемии Гросса.

Результаты приведены в табл. 2 (обработка внутривенно +1 ч).

Т а б л и ц а 2

Соединение	мг/кг	T/C, %	ТОКС
1	2	3	4
DNR	10	133	0/10
	15	167	0/10
	22,5	200	1/10

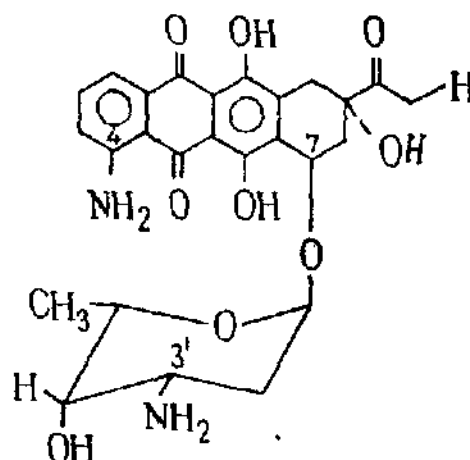
Продолжение табл. 2

1	2	3	4
Ia	1,6	183	0/10
	1,9	192	0/10
	2,29	200	1/10

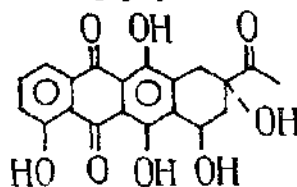
Примечание. T/C(%) - среднее время выживания обработанных мышей/среднее время выживания контрольных животных X 100.
ТОКС - смертность от токсикоза,

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

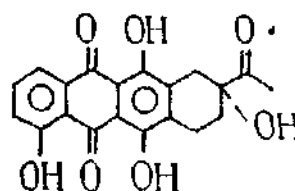
Способ получения антрациклиновых гликозидов формулы I



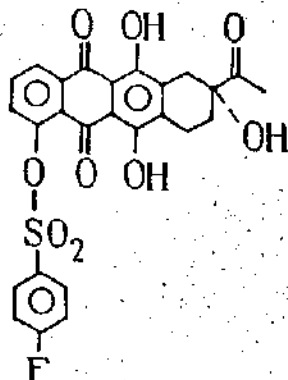
отличающийся тем, что удаляют 7-гидроксильную группу карминомицинона формулы II



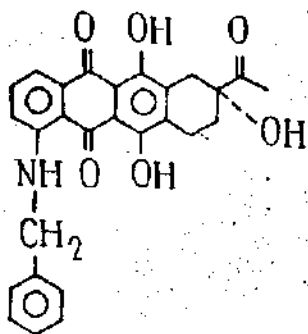
растворенного в смеси 1:1 диоксана и этанола, с помощью гидрогенолиза в присутствии 5% Pd/BaSO₄ при комнатной температуре в течение 3 ч, полученный 4-деметил-7-деоксидауномицин формулы III



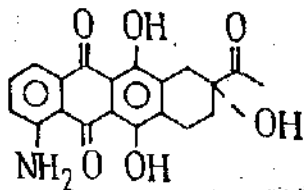
подвергают взаимодействию в безводном метиленхлориде с 4-фторбензолсульфонилхлоридом в присутствии N,N-диизопропилэтиламина и каталитического количества 4-диметиламинопиридина, полученный 4-деметокси-4-[4-фторбензолсульфонил]-7-деоксидауномицинон формулы IV



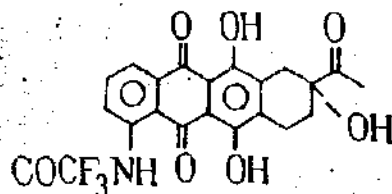
в тетрагидрофуране подвергают взаимодействию с бензиламином при 40°C в течение 36 ч, удаляют бензильную группу из полученного 4-деметокси-4-бензиламино-7-деоксидауномицинона формулы V



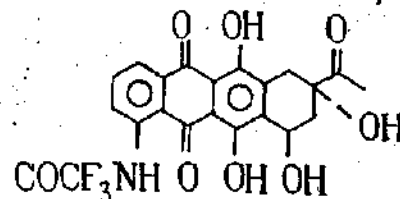
с помощью каталитического гидрирования в присутствии 5% Pd/BaSO₄ при 1 атм, при комнатной температуре в течение 1 ч, с использованием в качестве растворителя смеси этанол-уксусная кислота и каталитического количества 37%-ной водной соляной кислоты, защищают 4-аминогруппу полученного 4-деметокси-4-амино-7-деоксидауномицинона формулы VI



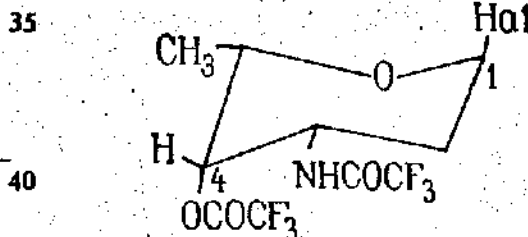
с помощью реакции при 0°C с трифторуксусным ангидридом в безводном метиленхлориде, вводят заново 7-гидроксигруппу в полученное защищенное соединение формулы VII



с помощью сначала защиты 13-кетогруппы кетализацией этиленгликолем при температуре дефлегмации в присутствии п-толуолсульфокислоты, взаимодействия полученного кетала при 40°C с бромом в метиленхлориде в присутствии 2,2'-азобисизобутиронитрила в течение 3 ч и последующей обработки 7-бромированного промежуточного соединения водной трифторуксусной кислотой при 0°C в течение 1 ч с получением 4-деметокси-4-N-трифторацетамидо-дауномицинона формулы VIII



которое подвергают взаимодействию с защищенным галактоидсахаром формулы IX



где Hal представляет собой атом хлора, в безводном метиленхлориде при 5 - 10°C в присутствии трифторметансульфоната серебра с получением 4-N-3',4'-N,0-антрациклинтрифторацетил - защищенного гликозида, из которого после обработки при 0°C в течение 3 ч 0,1 н. водной гидроокисью натрия при необходимости выделяют соединение формулы I в виде гидрохлорида с помощью обработки метанольным хлористым водородом.

Редактор М. Петрова	Составитель И. Федосеева Техред Л. Сердюкова	Корректор О. Кравцова
Заказ 3901	Тираж 295	Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР 113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5		

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101