



УКРАЇНА

(19) UA (11) 91349 (13) C2  
(51) МПК (2009)  
C07H 1/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

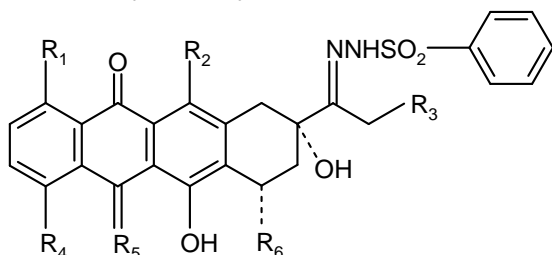
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОХІДНІ 13-БЕНЗОЛСУЛЬФОНІЛГІДРАЗОНАНТРАЦИКЛІНУ І СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ 13-ДЕОКСІАНТРАЦИКЛІНІВ (ВАРІАНТИ)

1

- (21) а200706517  
(22) 08.11.2005  
(24) 26.07.2010  
(86) PCT/US2005/040346, 08.11.2005  
(31) 10/982,873  
(32) 08.11.2004  
(33) US  
(46) 26.07.2010, Бюл.№ 14, 2010 р.  
(72) ВОЛШ ДЖЕРАЛЬД М., US, ОЛЬСОН РІЧАРД Д., US  
(73) ДЖ-І-ЕМ ФАРМАСУТИКАЛЗ, ЛЛС, US  
(56) US 5 948 896  
(57) 1. Сполука формули:



де:

- R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> і R<sub>3</sub> є Н або ОН;  
R<sub>4</sub> є Н, ОН, алкіл або О-алкіл;  
R<sub>5</sub> є О або NH; і  
R<sub>6</sub> є Н, ОН або цукровий фрагмент.  
2. Сполука за пунктом 1, де згадувана сполука - похідне антрацикліну, вибране із групи, що складається з наступних: доксорубіцин, даунорубіцин, епірубіцин, ідарубіцин, анаміцин і карміноміцин.  
3. Спосіб одержання сполуки за пунктом 1, за яким здійснюють реакцію 13-кетантрацикліну або його кислій солі з бензолсульфонілгідразидом в спиртовому розчиннику при приблизно 35-50 °С протягом приблизно 10-24 годин.  
4. Спосіб одержання 13-деоксіантрациклінів, за яким здійснюють:  
1) утворення спиртового розчину 13-бензол- або заміщеного бензолсульфонілгідразонантрацикліну;  
2) додавання відновлювального агента і кислоти до згаданого розчину;  
3) нагрівання розчину без струшування або перемішування для відновлення 13-бензол- або заміщеного бензолсульфонілгідразонантрацикліну; і

2

- 4) нейтралізацію розчину водною основою, одержуючи таким чином 13-деоксіантрациклін і осади.  
5. Спосіб за пунктом 4, за яким додатково здійснюють стадію фільтрування осаду, екстрагування 13-деоксіантрацикліну із осаду і екстрагування 13-деоксіантрацикліну із фільтрату.  
6. Спосіб за пунктом 4, де нагрівання здійснюють при приблизно 55-64 °С, відновлювальний агент - ціаноборогідрид, і згадувана кислота - п-толуолсульфонова кислота.  
7. Спосіб за пунктом 6, за яким нагрівання здійснюють при приблизно від 59 °С до приблизно 60 °С.  
8. Спосіб за пунктом 4, за яким 13-бензол- або заміщений бензолсульфонілгідразонантрациклін - похідне антрацикліну, вибране із групи, що складається з доксорубіцину, даунорубіцину, епірубіцину, ідарубіцину, анаміцину і карміноміцину.  
9. Спосіб одержання 5-іміно-13-деоксіантрациклінів, за яким здійснюють:  
1) одержання 13-деоксіантрацикліну за пунктом 4;  
2) розчинення 13-деоксіантрацикліну в спирті; і  
3) перетворення 13-деоксіантрацикліну у відповідний 5-іміно-13-деоксіантрациклін з аміаком при температурі менше ніж приблизно 20 °С.  
10. Спосіб за пунктом 9, за яким стадію перетворення 13-деоксіантрацикліну у відповідний 5-іміно-13-деоксіантрациклін з аміаком здійснюють при приблизно 1-4 °С протягом від 1 до 4 днів.  
11. Спосіб за пунктом 9, за яким 13-деоксіантрациклін вибраний із групи, що складається з 13-деоксиформ доксорубіцину, даунорубіцину, епірубіцину, ідарубіцину, анаміцину і карміноміцину.  
12. Спосіб за пунктом 9, за яким 13-деоксіантрациклін синтезують із відповідного 13-бензолсульфонілгідразонантрацикліну.  
13. Спосіб одержання 13-деоксіантрациклінів, за яким здійснюють:  
1) утворення спиртового розчину 13-бензол- або заміщеного бензолсульфонілгідразонантрацикліну;  
2) додавання відновлювального агента і кислій пиридинової солі до розчину; і  
3) нагрівання розчину для відновлення 13-бензол- або заміщеного бензолсульфонілгідразонантрацикліну.

(13) C2

(11) 91349

(19) UA

14. Спосіб за пунктом 13, за яким кисла піридино-ва сіль є піридин-п-толуолсульфонатом і відновлювальний агент - ціаноборогідрид.

15. Спосіб за пунктом 13, за яким додатково проводять стадію гідролізу відновленого 13-бензол- або заміщеного бензолсульфонілгідрозонантрацикліну, одержуючи таким чином 13-деоксіантрациклін.

16. Спосіб за пунктом 13, за яким нагрівання здійснюють при приблизно 65-75 °C.

17. Спосіб за пунктом 13, за яким 13-бензол- або заміщений бензолсульфонілгідрозонантрациклін - похідне антрацикліну, вибране із групи, що складається з доксорубіцину, даунорубіцину, епірубіцину, ідарубіцину, анаміцину і карміноміцину.

18. Спосіб одержання 5-іміно-13-деоксіантрациклінів, за яким здійснюють:

1) одержання 13-деоксіантрацикліну за пунктом 13; і

2) перетворення 13-деоксіантрацикліну у відповідний 5-іміно-13-деоксіантрациклін з аміаком при температурі менше ніж приблизно 20 °C.

19. Спосіб за пунктом 18, за яким стадію перетворення 13-деоксіантрацикліну у відповідний 5-іміно-13-деоксіантрациклін з аміаком здійснюють при температурі приблизно 1-4 °C протягом 1-4 днів.

20. Спосіб за пунктом 18, за яким 13-деоксіантрациклін вибраний із групи, що складається з 13-деоксиформ доксорубіцину, даунорубіцину, епірубіцину, ідарубіцину, анаміцину і карміноміцину.

21. Спосіб за пунктом 18, за яким 13-деоксіантрациклін синтезують із відповідного 13-бензолсульфонілгідрозонантрацикліну.

Даний винахід стосується композицій і способів одержання 13-деоксіантрациклінів, і, більш конкретно, застосування 13-бензолсульфонілгідрозонантрациклінових проміжних сполук для синтезу і виділення 13-деоксіантрациклінів, способів одержання 13-бензолсульфонілгідрозонантрациклінів. Даний винахід також стосується нових 13-бензолсульфонілгідрозонантрациклінових проміжних сполук і способів одержання цих проміжних сполук.

Найвідомішими протираковими антрацикліновими лікарськими засобами є доксорубіцин і даунорубіцин, які містять 13-кетогрупу. Доксорубіцин, розкритий в патенті США №3,590,028, має широкий спектр протиракового застосування і використовується при лікуванні лейкемії, лімфоми і солідних пухлин. Даунорубіцин, описаний в патенті США №3,616,242, придатний для лікування гострої лейкемії. Проте, використання цих лікарських засобів обмежується серйозними побічними ефектами кардіотоксичності, таким чином, що загальна кількість лікарського засобу, який може бути даний пацієнтові, не може перевищувати 550мг/М<sup>2</sup> (E.A. Lefrak та інші, *Cancer*, 32:302,1973). Навіть при такій рекомендованій максимальній загальній кумулятивній дозі (430-650мг/М<sup>2</sup>) у 60% пацієнтів спостерігається значна та персистентна серцева дисфункція, а у 14% розвивається застійна серцева недостатність (A. Dresdale та інші, *Cancer*, 52:51,1983). Таким чином, не зважаючи на те, що ці лікарські засоби є придатними для інгібування росту ракових пухлин, пацієнт може померти від застійної серцевої недостатності внаслідок важких кардіотоксичних побічних ефектів лікарських засобів.

Також було виявлено, що кардіотоксичність цих антрациклінів викликається метаболічним відновленням 13-кетогрупи до 13-дигідроалкогольного метаболіту (P.S. Mushlin та інші, *Fed. Proa*, 45: 809, 1986). У досліджуваних системах, в яких доксорубіцин суттєво не метаболізувався до 13-дигідроалкогольного метаболіту (доксорубіцинол), ніяких істотних кардіотоксичних

ефектів не спостерігається (P.S. Mushlin та інші, *Fed. Proa*, 44:1274, 1985; R.D. Olson та інші, *Fed. Proa*, 45:809,1986). Навпаки, 13-дигідрометаболіти, доксорубіцинол і даунорубіцинол, спричиняють кардіотоксичність в таких же досліджуваних системах при відносно низьких концентраціях (1-2мкг/мл, R.D. Olson та інші, *Proceed. Am. Assoc. Cancer Res.*, 26:227,1985; R.D. Olson та інші, *Proceed. Am. Assoc. Cancer Res.* 28:441,1987).

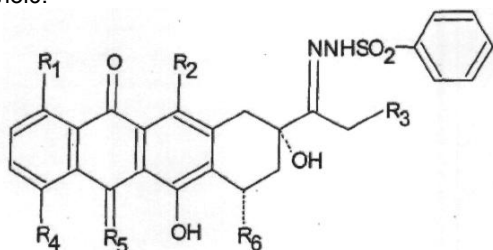
Якщо доксорубіцин залишається у досліджуваних системах навіть протягом коротких періодів часу, відбуваються деякі метаболічні конверсії, і 13-дигідрометаболіт утворюється в достатній кількості, внаслідок чого починає розвиватися кардіотоксичність (L. Rossini та інші, *Arch. Toxicol. Suppl.*, 9:474, 1986; M. Del Tossa та інші, *Pharmacol. Re. Commun.*, 17:1073, 1985). Таким чином, посилюються важливі докази того, що кардіотоксичність лікарських засобів, таких як доксорубіцин і даунорубіцин, є наслідком потужних кардіотоксичних ефектів, що викликаються їх 13-дигідрометаболітами (P. Mushlin та інші, *FASEB J.*, 2:A1133, 1988; R. Boucek та інші, *J. Biol. Chem.*, 262:15851,1987; і R. Olson та інші, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85:3585, 1988).

Нещодавно було виявлено, що 13-деоксиформи доксорубіцину, даунорубіцину або інших подібних антрациклінів не будуть метаболічно перетворюватись на кардіотоксичні 13-дигідроформи, і що 5-кетогрупа може бути перетворена на форму, яка буде менш придатною для утворення вільних радикалів, забезпечуючи таким чином додаткову покращену безпечність. Зокрема, див. WO 99/08687, патенти США №№5,984,896 і 5,942,605 і PCT/US 99/04704, розкриття яких включено тут як посилання.

Перший документально підтверджений спосіб одержання певних 13-деоксіантрациклінів з 13-п-метилбензолсульфонілгідрозонантрациклінів мав відносно низькі виходи, приблизно 10% (див. Smith, та інші, *J. Med. Chem.* 1978 21, 280-283). Покращені способи синтезу 13-

деоксиантрациклінів з 13-п-метилбензолсульфонілгідрозон-антрациклінів з підвищеними виходами розкрито в WO99/08687 і патенті США №5,984,896. Проте, ці способи використовують відносно великий надлишок реагентів і мають відносно тривалий час здійснення. Окрім того, вихід хоча і збільшений, є менший, ніж оптимальний для комерційного виробництва. До того ж, використання 13-п-метилбензолсульфонілгідрозонантрациклінів надає приблизно 3% або більше цієї стартової речовини в 13-деоксиантрацикліновому продукті. Використання 13-п-F-бензолсульфонілгідрозонантрациклінів відоме, але синтез 13-п-F-, 13-п-Cl-, або 13-п-нітробензолсульфонілгідрозонантрациклінів від їх прекурсорів 13-кетоантрациклінів приводить до нижчого виходу, у порівнянні з 13-п-метилбензолсульфонілгідрозон антрациклінами і також надає нижчий вихід 13-деоксиантрациклінів.

Композиції і способи даного винаходу забезпечують збільшений вихід і чистоту 13-деоксиантрациклінів від відповідних 13-кетоантрациклінів. Один аспект даного винаходу має відношення до сполук, представлених формулою:



де  
 $R_1, R_2$  і  $R_3$  є Н або ОН;  $R_4$  є Н, ОН, алкіл, або О-алкіл;  $R_5$  є О або NH;  
 $R_6$  є Н, ОН, або цукровий фрагмент.

Представлений винахід також має відношення до способу одержання 13-бензолсульфонілгідрозонантрациклінів, як розкрито вище, який включає реагування 13-кетоантрацикліну або його кислоти солі з бензолсульфонілгідрозидом в спиртовому розчині. Подальший аспект даного винаходу має відношення до способу одержання похідних 13-деоксиантрацикліну (13-метиленаантрациклінів) від 13-бензолсульфонілгідрозонантрациклінів, який складається з:

1. Утворення реакційної суміші комбінуванням 13-бензолсульфонілгідрозон антрацикліну з відновлювальним агентом, як наприклад, ціаноборогідрид натрію (NaCNBH) і сильною кислотою, як наприклад, пара-толуолсульфонова кислота (ПТСК) в спирті, як наприклад, метанолі.

2. Нагрівання реакційної суміші без перемішування або зтрушування.

3. Нейтралізація реакційної суміші з водною основою, як наприклад, водний розчин бікарбонату натрію (NaHCO<sub>3</sub>), і таким чином, утворюючи 13-деоксиантрациклін і осаджуючи солі в реакційній суміші.

4. Відфільтровування осаджених солей із реакційної суміші, екстрагування продукту із осадже-

них солей органічним розчинником, і екстрагування продукту із фільтрату органічним розчинником.

Подальший аспект даного винаходу має відношення до способу одержання похідних 5-іміно-13-деоксиантрацикліну із 13-деоксиантрациклінів реагуванням 13-деоксиантрацикліну з розчином аміаку у метанолі.

Представлений винахід робить можливим повне відновлення 13-бензолсульфонілгідрозонантрацикліну до відповідного 13-деоксиантрацикліну.

Згідно з даним винаходом, 13-деоксиантрациклін може бути виділений відносно простим способом.

Представлений винахід робить можливим одержання 5-іміно-13-деоксиантрациклінів із неочищених 13-деокси продуктів.

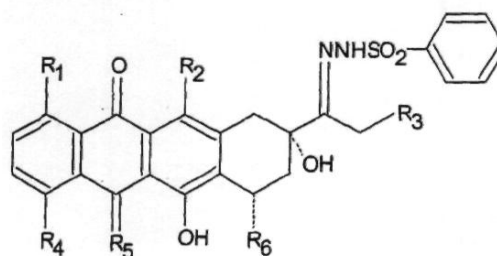
Представлений винахід робить можливим синтез бензолсульфонілгідрозонантрацикліну за 16-20 годин.

Згідно з даним винаходом, 5-іміно аналоги можуть бути синтезовані із неочищеного продукту 13-деоксиантрацикліну, використовуючи метанольний аміак без необхідності захисту цукро-аміної групи.

Було знайдено згідно з даним винаходом, що кисла піридинова сіль може використовуватися замість сильної кислоти, щоб прискорити відновлення стартової речовини таким чином, що немає необхідності в нейтралізації або екстракції, таким чином полегшуючи очищення продукту препаративною ВЕРХ (високо-ефективною рідинною хроматографією).

Тоді, як наступний опис деталізує переважні варіанти реалізації, буде зрозуміло, що розкриття не обмежується в цій заявці деталями структури і компонування частин, проілюстрованих в супровідних фігурах, після розкриття інших придатних варіантів реалізації і здійснюється різними шляхами.

Один варіант реалізації має відношення до сполук, представлених формулою:



де кожний  $R_1, R_2,$  і  $R_3$  індивідуально - Н або ОН;

$R_4$  вибраний із групи, що складається з Н, ОН, алкіл, і О-алкіл;

$R_5$  є О або NH;

$R_6$  вибраний із групи, що складається з Н, ОН, або цукру.

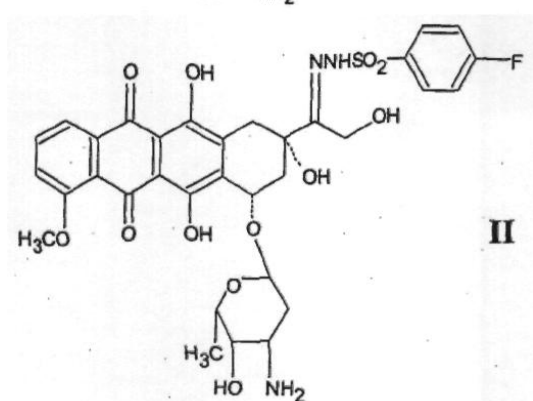
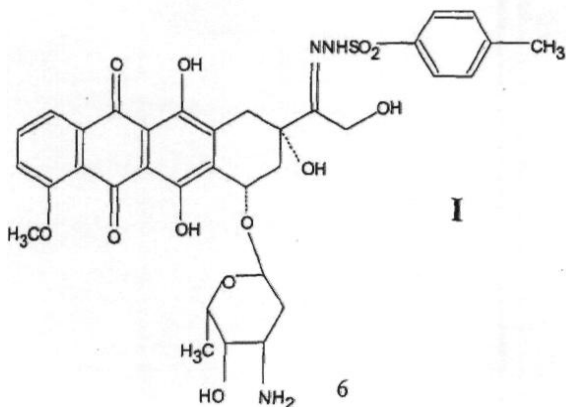
Алкільна група зазвичай містить 1-5 вуглецевих атомів і більш звичайно 1-3 вуглецевих атомів.

О-алкільна група зазвичай містить 1-5 вуглецевих атомів і більш звичайно 1-3 вуглецевих атомів; і

$R_4$  є зазвичай  $OCH_3$ .

Згадані вище сполуки - прекурсори для одержання 13-деоксиантрациклінових сполук і похідних 5-іміно-13-деоксиантрациклінів, які корисні, як протиракові лікарські засоби. Приклади антрациклінових сполук, використовуваних в способі даного винаходу - доксорубіцин, даунорубіцин, карміноміцин, епірубіцин, ідарубіцин, і аннаміцин, доксорубіцин і даунорубіцин - переважні.

13-кетантрацикліни може бути конвертовані до 13-деоксиантрациклінів шляхом першої конвертації 13-кетантрацикліну до 13-пара-заміщеного бензолсульфонілгідрозонантрацикліну. 13-пара-заміщеними бензолсульфонілгідрозонантрациклінами, що, як відомо, використовуються у якості стартової речовини у синтезі 13-деоксиантрациклінів є 13-п-метилбензолсульфонілгідрозонантрациклін і 13-п-ф-бензолсульфонілгідрозонантрациклін. Прикладами є 13-п-метилбензолсульфонілгідрозон доксорубіцин (I) і 13-п-ф-бензолсульфонілгідрозон доксорубіцин (II):

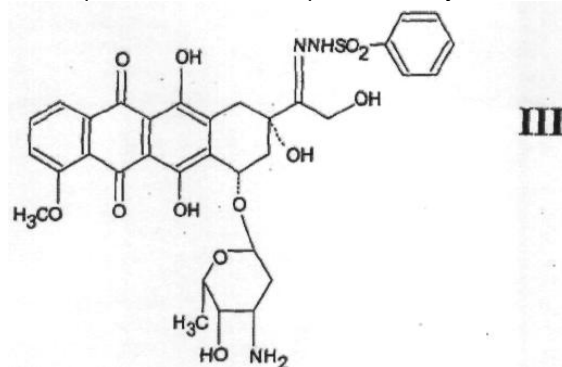


Сполука I має електронно-донорну групу в бензольному кільці фрагменту 13-п-метилбензолсульфонілгідрозон і повністю не відновлюється до 13-деоксидоксорубіцину в реакції відновлення. Сполуку I складно відокремити від 13-деоксидоксорубіцину і необхідна як колонкова хроматографія на силікагелі, так і препаративна

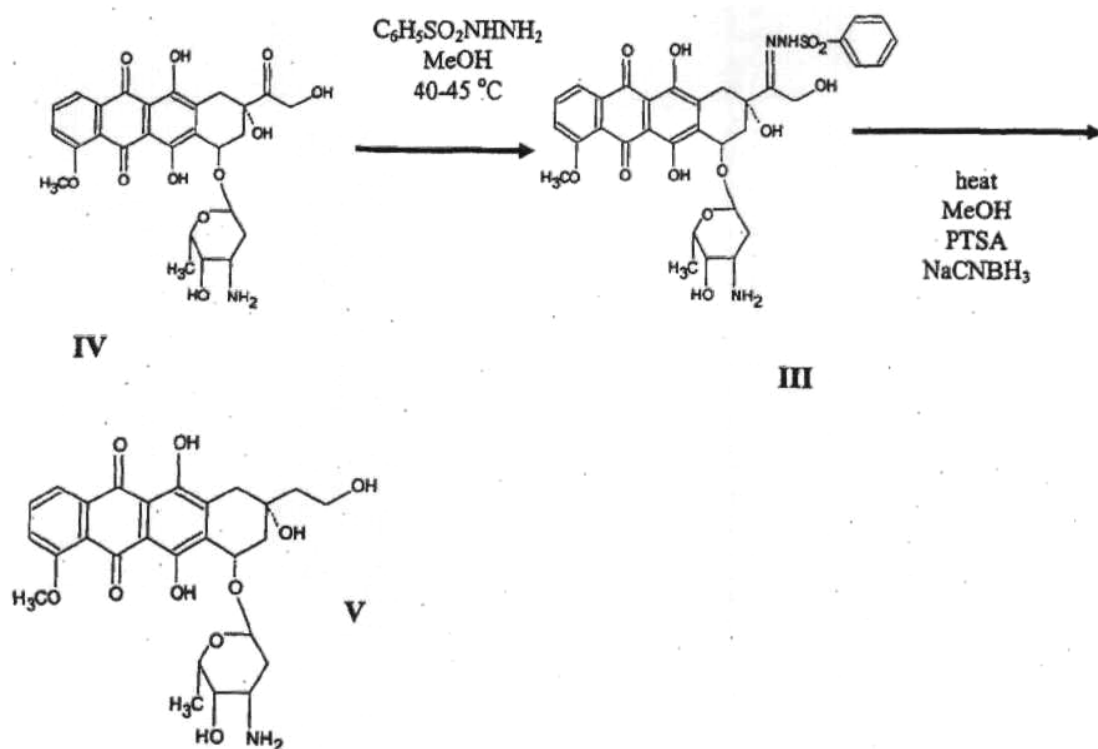
ВЕРХ для очищення 13-деоксидоксорубіцину, одержаного від Сполуки I.

Сполука II має електронно-акцепторну групу у бензольному кільці фрагменту 13-п-ф-бензолсульфонілгідрозону і повністю відновлюється до 13-деоксидоксорубіцину в реакції відновлення уданому винаході. Проте, синтез сполуки II із доксорубіцину і п-ф-бензолсульфонілгідрозину надає нижчий вихід, порівняно із синтезом сполуки I. Крім того, розчинність сполуки II в метанолі відносно незначна, і сполука II, можливо, потребує декілька годин для розпаду, залежно від температури і бажаної концентрації. Це також є у випадку з п-Cl і п-нітро аналогами. При температурі нижче  $20^{\circ}C$  сполука II в метанолі стає желатиноподібною, що перешкоджає обробці реакційних розчинів нижче  $20^{\circ}C$ . Вихід 13-деоксидоксорубіцину із сполуки II є, тому, зменшений. Інші приклади включають, наприклад, 13-п-заміщені аналоги бензолсульфонілгідрозону даунорубіцину, епірубіцину, ідарубіцину, аннаміцину і карміноміцину.

13-п-заміщені бензолсульфонілгідрозон антрацикліни синтезують комбінуванням п-заміщеного бензолсульфонілгідрозину з 13-кетантрацикліном у спирті і відстоюванням розчину при кімнатній температурі протягом 5 днів. У нашому пошуку ефективнішої стартової речовини для синтезу 13-деоксиантрациклінів ми виявили, що 13-бензолсульфонілгідрозондоксорубіцин (сполука III) без пара-заміщення у бензольному кільці був, несподівано, позбавлений проблем, пов'язаних з п-заміщеними бензолсульфонілгідрозонантрациклінами, як наприклад сполуки I і II.



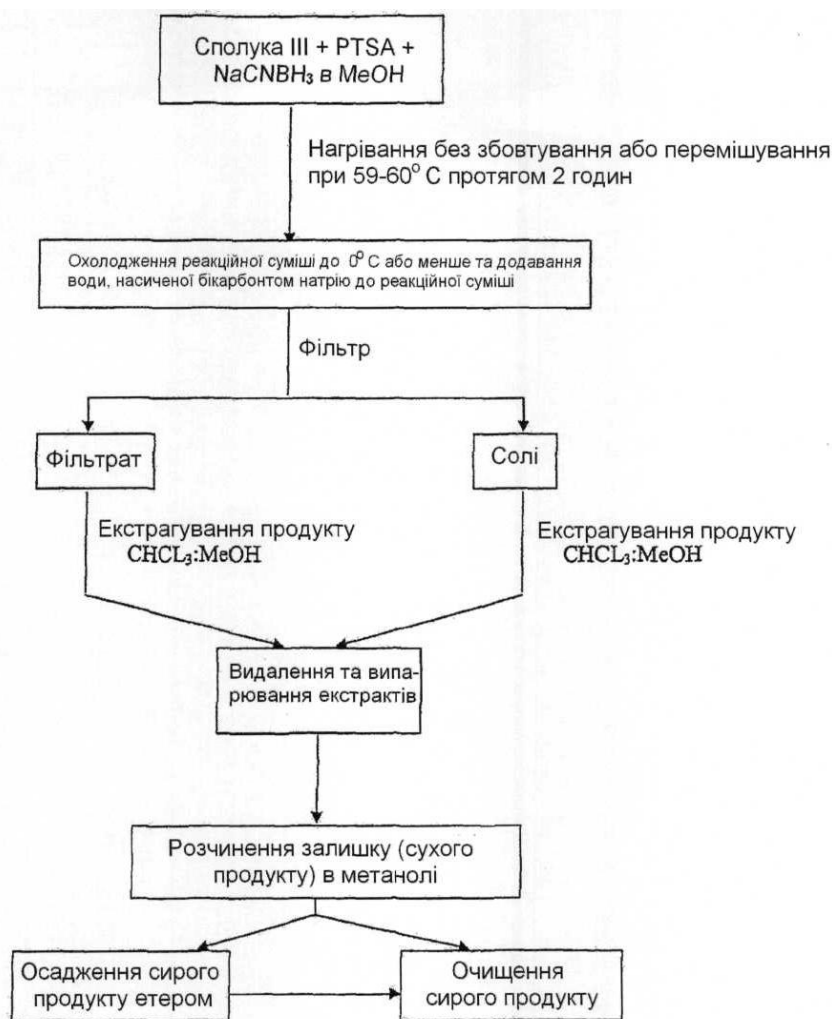
Крім того, ми далі виявили, що 13-бензол- (або п-заміщений 13-бензол-) сульфонілгідрозонантрацикліни можуть бути синтезовані за 10-24 годин в метанолі при приблизно  $35-60^{\circ}C$ , переважно при  $40-45^{\circ}C$ , з виходом і чистотою, рівними таким, що отримані від реакції, здійснюваній при кімнатній температурі протягом 5 днів. Реакція бензолсульфонілгідрозину з доксорубіцином (IV) для одержання сполуки III, завершувана відновленням до 13-деоксидоксорубіцину (сполука V), показана нижче:



13-п-заміщені бензолсульфонілгідрозантрацикліни конвертуються до 13-деокси антрациклінів утворенням реакційної суміші 13-п-заміщеного бензолсульфонілгідрозантрацикліну з відновлювальним агентом і сильною кислотою, в більшості випадків ціаноборогідридом і п-толуолсульфоновою кислотою (ПТСК) в метанолі. Вважають, що гідрозин відновлюється, приймаючи водень від кислоти і водень від ціаноборогідриду. Однак, кислота може також нейтралізувати ціаноборогідрид так, що концентрації реагентів і температура реакції з'являються в деякій мірі важливими для оптимального одержання 13-деоксиантрацикліну. Загальноприйнятно, що реакційну суміш в метанолі нагрівають до кипіння і, що реакційну суміш перемішують. В кінці реакції суміш нейтралізують додаванням водної основи, яка нейтралізує сильну кислоту і розщеплює відновлений гідрозин по 13 положенню, залишаючи метиленову групу у 13 положенні.

Додавання водної основи до реакційної суміші також викликає осадження солей, які зв'язують 13-

деоксиантрацикліновий продукт. Зв'язування продукту з осаджуваними солями вимагає комплексу процедур відновлення продукту, як, наприклад, екстракція кислоти і багаторазові розділення хроматографією на силікагелі і ВЕРХ. Ми спостерігали, що будь-яке зтрушування реакційної суміші протягом нагрівання сприяє надмірній нейтралізації ціаноборогідриду кислотою (ПТСК), з послідовним надмірним відривом цукру від антрацикліну, зменшуючи повний вихід продукту. Ми далі виявили, що, комбінуючи реагенти без перемішування або зтрушування, і, нагріваючи реакційну суміш без зтрушування або перемішування досягається істотно вищий вихід. Знайшли, що оптимальна температура становить  $55-64^\circ\text{C}$  без перемішування або зтрушування. Ми також виявили, що 13-деокси антрациклін може бути легко видалений з осаджених солей фільтруванням реакційної суміші після додавання водної основи і наступним промиванням залишку солі органічними розчинниками, як наприклад, суміш хлороформу і метанолу. Схема способу наведена нижче.

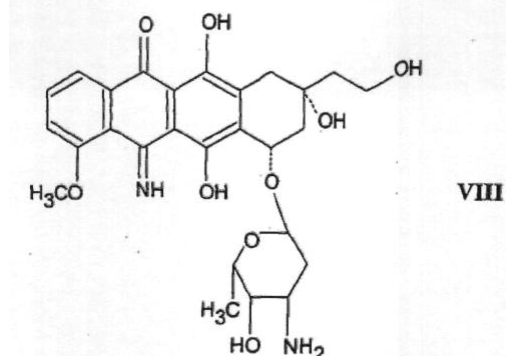


Стартову речовину, як наприклад, сполука III і ціаноборогідрид натрію розчиняли в безводненому метанолі і температура реакційної суміші зменшували до 0-4°C. ПТСК розчиняли в безводненому метанолі і додавали до холодної реакційної суміші. Реакційну суміш потім нагрівали між 55 і 64°C, переважно 59-60°C, від 1 до 4 годин, переважно протягом 2 годин без перемішування або зтрушування. Реакційну суміш потім охолоджували, переважно до 0°C або нижче, а потім додавали холодний (0-10°C) насичений водний розчин бікарбонату до холодної реакційної суміші, щоб нейтралізувати кислоту і одержати продукт, сполуку V. Осад солей у суміші води і метанолу і суміш води і метанолу фільтрували під вакуумом, використовуючи Buchner воронку і вакуумну колбу. Соли на фільтрувальному папері на воронці Buchner вимивали з приблизно 3.5:1 CHCl<sub>3</sub>/метанол під вакуумом, таким чином, екстрагуючи продукт, сполуку V, адгезовану на солях. Цей екстракт може бути зібраний в ту ж саму вакуумну колбу, що і суміш - водний розчин бікарбонату натрію/метанол, або може бути зібраний окремо в окрему вакуумну колбу. Додавали достатню кількість CHCl<sub>3</sub> до колби, що містить суміш водний розчин бікарбонату натрію/метанол, щоб одержати приблизно 3.5:1 суміш хлороформу і метанолу. Продукт, сполуку V,

потім екстрагують з водного розчину бікарбонату натрію в хлороформ/метанол. Органічні екстракти відділяються від води і випаровуються до сухості. Залишок, що містить продукт, сполуку V, розчиняють в метанолі. Сполука V може бути очищена хроматографічними способами, відомим у даній галузі, або може бути осаждена додаванням ефіру.

Загальновідомо, що 5-іміноантрацикліни можуть бути одержані від 5-кетантрациклінів реакцією 5-кетантрациклінів в холодному метанольному розчині аміаку. Крім того відомо, що 13-кет-14-ОН антрацикліни вимагають захисту аміногрупи в цукрі. 5-іміноаналоги 13-деоксидантрациклінів можуть також легко одержані реагуванням з холодним метанольним розчином аміаку, але ми виявили, що захист цукрового аміну не потрібний. У представленому винаході, неочищений 13-деоксидантрацикліновий продукт може бути розчинений в метанольному розчині аміаку і підтримуватися при менше, ніж приблизно 20°C, переважно приблизно 0-4°C, поки реакція не завершиться, зазвичай 1-5 днів. 5-іміно аналог 13-деоксидантрациклінів можуть бути одержані до утворення HCl солі 13-деокси сполук або згодом, і перед або після очищення або осадження. 5-іміно-13-деоксидантрацикліни можуть бути легко очищені

хроматографічними способами, добре відомими в даній галузі. Приклад 5-іміно-13-деоксидоксорубіцину, 5-іміно-13-деоксидоксорубіцину (VIII) наведений нижче.



Приклад 1  
Одержання гідрохлориду 13-бензолсульфонілгідрозондоксорубіцину (III)  
Синтез сполуки III був подібний синтезу сполук I і II і 13-п-метоксибензолсульфонілгідрозондоксорубіцину (VI) і 13-п-нітробензолсульфонілгідрозондоксорубіцину (VII). 375мг відповідно бензол- або п-заміщеного бензолсульфонілгідрозину і 500мг доксорубіцину HCl (IV) були розчинені в 15мл безводного метанолу. Розчини нагрівали при 40-45°C протягом приблизно 16-20 годин або підтримували при кімнатній температурі (приблизно 23-28°C) протягом приблизно 5 днів, або охолоджували до приблизно 0-4°C протягом приблизно 10 днів. В кінці реакції до реакційної суміші в метанолі додавали 100мл діетилену для осадження продукту. Осади промивали діетиленом, щоб видалити метанол, і осади потім висушували в десикаторі під вакуумом. Продукт був відновлений на 90% або більшій чистоті, виміряної ВЕРХ. Вихід, базуючись на доксорубіцину HCl (IV) - як вказано нижче:

| Сполука I<br>0-4°C | Вихід (%) |
|--------------------|-----------|
| III                | 96        |
| I                  | 91        |
| II                 | 62        |
| VI                 | 96        |
| 22-27°C            |           |
| III                | 96        |
| I                  | 98        |
| II                 | 86        |
| VI                 | 91        |
| 40-45°C            |           |
| III                | 98        |
| II                 | 88        |
| VII                | 94        |

Сполука III забезпечувала послідовно високі виходи, не зважаючи на температуру реакції, порівняно із сполукою II, яка забезпечувала відповідно відносно низькі виходи. Результати показують, що синтез може виконуватися при 40-45°C протягом скороченого періоду з виходом, еквівалентним

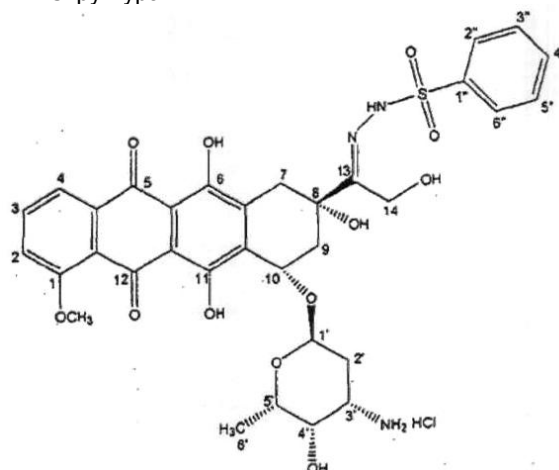
такому, що отримали при нижчих температурах протягом довшого періоду.

Сполука III:

Масспектр:

Виконували на Aligent Ion Trap масспектрофотометрі (EN 824) (ESI позитивна іонізація).

Структура:



Формула:  $C_{33}H_{36}N_3O_{12}S$

Молекулярна вага: 697,7 як вільна основа; 734,2, як гідрохлорид

УФ:

Виконували на Aligent Technologies 8453 спектрофотометрі UV/Vis (EN-246). Зразок готували в метанолі.

| $\lambda_{max}$                                |
|--|
| $\lambda_{max} = 234nm$ ( $\epsilon = 31737$ ) |
| $\lambda_{max} = 251nm$ ( $\epsilon = 22394$ ) |
| $\lambda_{max} = 292nm$ ( $\epsilon = 4,492$ ) |
| $\lambda_{max} = 497nm$ ( $\epsilon = 10284$ ) |

$^1H$ ЯМР (300 Мгц, ДМСО дб, δ):

Виконували на Varian Mercury 300. Зміщення надані від TMS (тетраметилсилан).

| δ, ppm | Розподіл                                |
|--------|---|
| 1,15   | д, 3H, J=6.3, 6'-CH <sub>3</sub>        |
| 1,68   | 1H, J=12.7, 3.2, 2'-CH <sub>2</sub>     |
| 1,90   | дт, 1H, J=12.2, 3.7, 2'-CH <sub>2</sub> |
| 2,05   | м, 1H, 9-CH <sub>2</sub>                |
| 2,34   | м, 1H, 9-CH <sub>2</sub>                |
| 2,68   | д 1H, J= 17.7, 7-CH <sub>2</sub>        |
| 3,14   | д, 1H, J= 17.7, 7-CH <sub>2</sub>       |
| 3,32   | м1H, 3'-H                               |
| 3,53   | м, 1H, 4'-H                             |
| 4,01   | с, 3H, 1-OCH <sub>3</sub>               |
| 4,03   | м, 1H, 5'-H                             |
| 4,29   | с, 2H, 14-CH <sub>2</sub>               |
| 4498   | т, 1H, J=6.3, 10-H                      |
| 5,30   | м, 1H, 1'-H                             |
| 5,38   | с, 1H, 8-OH                             |
| 5,45   | д 1H, J=6.3, 4'-OH                      |
| 5,62   | шс, 1H, 14-OH                           |

|       |                                   |
|-------|-----------------------------------|
| 7,48  | м, 3Н, 3"-Н, 4"-Н & 5"-Н          |
| 7,69  | т, 1Н, J=4,8, 3-Н                 |
| 7,73  | д, 2Н, J=7,2, 2"-Н & 6"-Н         |
| 7,81  | шс, 2Н, 3'-NH <sub>2</sub>        |
| 7,94  | д, 2Н, J=5,1, 2-Н & 4-Н           |
| 10,51 | шс, 2Н, PhSO <sub>2</sub> -HN-N=R |
| 13,30 | С, 1Н, 6-ОН або 11-ОН             |
| 14,01 | С, 1Н, 6-ОН або 11-ОН             |

#### Приклад 2

Одержання 13-деоксидоксорубіцину HCl (V) із 13-бензолсульфонілгідрозондоксорубіцину HCl (III)

Сполуку V синтезували від сполуки III, причому сполуку III синтезували при 23-27°C (кімнатна температура), 0-4°C (прохолодна) або 40-45°C (висока). Сполуку V також синтезували від сполуки II за подібних умов для порівняння. 100мг сполуки III (або сполуки II) розчиняли в 6мл збезводненого метанолу з 100мг NaCNBH<sub>3</sub>. Реакційну суміш розміщували в крижаній ванні. 275мг ПТСК розчиняли в 2мл збезводненого метанолу і потім додавали до холодної реакційної суміші без перемішування або зтрушування, доводячи до загального об'єму 8мл метанолом. Реакційну суміш потім нагрівали при 59-60°C протягом 2 годин без перемішування або зтрушування. Після 2 годин реакційну суміш поміщали в морозильну камеру, поки температура реакційної суміші не ставала 0°C або нижче. 12мл насиченого водного розчину бікарбонату натрію при температурі 1-4°C потім додавали до 8мл охолодженої реакційної суміші в метанолі. Суміш вода/метанол фільтрували через воронку Buchner

у вакуумній колбі. Солі на фільтрувальному папері у Buchner воронці промивали під вакуумом з 20-40мл 3.5:1 хлороформ/метанол, щоб екстрагувати продукт від солей в вакуумну колбу, що містить фільтрат суміші вода/метанол. Якщо бажано, солі можуть бути вимиті в окрему вакуумну колбу. 28мл хлороформу додавали до фільтрату вода/метанол, щоб одержати 3.5:1 хлороформ/метанол співвідношення. Фільтрат вода/метанол з доданим хлороформом був поміщений в роздільну воронку і продукт (сполука V) екстрагували в хлороформ/метанол. Вода і органічні розчинники дозволяли відокремити і органічний шар видаляли і фільтрували. Органічний шар випаровували під вакуумом при 30°C або менше. Залишок, що містить продукт, розчиняли в 2мл метанолу і поміщали в крижану ванну. 0,2мл 1М ефірної HCl додавали до 1мл збезводненого метанолу і 1мл діетилового ефіру, який потім додавали до охолодженого в крижаній ванні метанолу 2мл, одержуючи таким чином HCl сіль сполуки V. 30мл діетилового ефіру додавали до охолодженого метанолу для осадження продукту, 13-деоксидоксорубіцину HCl (V). Осад промивали діетилетером, щоб видалити метанол і потім вишували в десикаторі під вакуумом. Чистоту оцінювали ВЕРХ. Виходи продукту з реакцій відносно доксорубіцину HCl (TV), показані нижче.

Відновлення, чистота і вихід 13-деоксидоксорубіцину HCl (V), синтезованого із стартової речовини сполуки III або сполуки II, які були синтезовані при різних температурах

#### Температура синтезу стартової речовини

| Сполука       | Низька т-ра |    | Кімн. т-ра |    | Висока т-ра |    |
|---------------|-------------|----|------------|----|-------------|----|
|               | м           | п  | м          | п  | м           | п  |
| Відновлення % | 84          | 53 | 61         | 51 | 63          | 49 |
| Чистота (%)   | 57          | 69 | 83         | 66 | 69          | 69 |
| Вихід (%)     | 48          | 37 | 51         | 34 | 43          | 34 |

Вихід сполуки V був відповідно вище із сполуки III, як стартової речовини, порівняно з використанням сполуки II, як стартової речовини, не зважаючи на температуру, при якій стартову речовину синтезували. Середній вихід сполуки V від трьох стартових речовин сполуки III склав 47,3% + 2,3 (SE), який був на 35% більший, ніж середній вихід із трьох стартових речовин сполуки II 35,0% + 1,0 (SE),  $p < 0,05$ . Подібні експерименти із сполукою VII, синтезованою за умов високої температури проводив до 34% виходу сполуки V. Експерименти із сполуками I і VI підтвердили, що істотна кількість цих сполук все ще присутня в осадженому продукті сполуки V, надаючи незначну чистоту і вихід.

#### Приклад 3

Одержання 5-іміно-13-деоксидоксорубіцину HCl (VIII) із 13-бензолсульфонілгідрозондоксорубіцину HCl (III)

Сполуку V синтезували згідно Прикладу 1, починаючи з 200мг сполуки III. Реакція забезпечила 56,7% виходу неочищеного продукту сполуки V, що має 67,5% чистоти. 100мг цього матеріалу розчиняли в 2мл збезводненого метанолу і поміщали

в крижану ванну. Додавали 6мл 2М метанольного аміаку. Реакційну суміш підтримували при 0-4°C протягом чотирьох днів. Потім метанол випаровували під вакуумом при 30°C або менше. Щоб видалити сліди аміаку, залишок розчиняли в 15мл 4:1 хлороформ/метанол і розчин випарували. Це було повторено двічі. Залишок розчиняли в 4мл збезводненого метанолу і продукт, сполуку VIII осаджували додаванням 60мл діетилетеру. Осад промивали діетилетером і сушили під вакуумом в десикаторі. Було 81% відновлення з 67% чистотою, забезпечуючи 80% вихід.

Загальновідомо в даній галузі, що сильна кислота потрібна в реакції, щоб відновити стартову речовину 13-гідрозонантрацикліну за наявності ціаноборогідриду. Це є ймовірним, оскільки реакція виконується при відносно низьких температурах (менше, ніж 100°C), які, необхідні, щоб уникнути розпаду 13-деоксиантрациклінового продукту. Сильна кислота повинна бути погашена або нейтралізована в кінці реакції додаванням основи, або відокремлена від 13-деоксиантрациклінового продукту додаванням, наприклад, галогенвуглецевого



розчинника для того, щоб запобігти розпаду продукту. Очищення кінцевого продукту було б дуже полегшене, якщо реакційну суміш можливо висушити, а потім піддати для очищення препаративній ВЕРХ, або реакційну суміш застосовувати безпосередньо до препаративної ВЕРХ. Здається, присутність сильної кислоти заважає відділенню продукту від домішок протягом препаративної ВЕРХ, і надає відносно низький вихід чистого продукту. Будь-яка спроба висушити реакційну суміш в кінці реакції концентрує сильну кислоту і знищує продукт.

У нашому пошуку слабкої кислоти, яка надавала б істотне одержання продукту, але не вимагала б нейтралізації або розділення, ми знайшли, що піридинова сіль п-толуолсульфонової кислоти є, несподівано, ефективною у цьому відношенні. Реакційні розчини в кінці реакції є стабільними при кімнатній температурі і розчинник може бути видалений, щоб одержати стабільний сухий залишок. Залишок може зберігатися для майбутньої обробки, або може бути розчинений у відповідних розчинниках для безпосереднього застосування щодо очищення препаративною ВЕРХ.

Реакція може бути виконана, як викладено вище, за винятком того, що реакцію може бути здійснена переважно при приблизно 65°C - 75°C протягом приблизно 45 хвилин, і п-толуолсульфонові кислота замінюється на піридин-п-толуолсульфонат, при приблизно 66мг на 100мг стартової речовини гідразону. Раніше було невідомо, що кислоти піридинової солі були б корисні в реакції відновлення даного винаходу і забезпечували б ці переваги.

#### Приклад 4

Одержання 13-деоксидоксорубіцину HCl (V) із 13-бензолсульфоніл-гідрозондоксорубіцину HCl (III) використанням піридин-п-толуолсульфонату замість п-толуолсульфонової кислоти

100мг сполуки III розчиняли в 6мл збезводного метанолу з 100мг NaCNBH<sub>3</sub>. Реакційну суміш поміщали в крижану ванну. 66мг піридин-п-толуолсульфонату розчиняли в 2мл збезводного метанолу і потім додавали до холодної реакційної суміші, доводячи до загального об'єму 8мл метанолом. Реакційну суміш потім нагрівали при приблизно 72°C протягом 45 хвилин. По закінченні 45 хвилин, реакційну суміш охолоджували нижче 30°C і додавали 0,05мл води до реакційної суміші для сприяння гідролізу відновленого гідразону, одержаного продукту, 13-деоксидоксорубіцину HCl

(V). Аналіз ВЕРХ показав 55% вихід 13-деоксидоксорубіцину HCl (V) щодо доксорубіцину HCl (IV). Ця реакційна суміш може бути очищена безпосередньо препаративною ВЕРХ, метанол може бути видалений і залишок, розчинений в середовищі, прийнятному для хроматографії, реакційна суміш може бути нейтралізована і екстрагована, як викладено вище, і реакційна суміш може використовуватися для одержання похідного 5-іміно-13-деоксиантрацикліну додаванням аміаку, як викладено вище.

Вищевикладений опис був обмежений конкретними варіантами реалізації винаходу. Буде очевидно, однак, що зміни і модифікації можуть здійснюватися фахівцями в даній галузі щодо розкритих варіантів реалізації винаходу, з досягненням деяких або всіх його переваг і не виходячи за межі даного винаходу. Наприклад, екстрагування реакційної суміші вода/метанол або відфільтрованих солей можуть використовувати суміш розчинників галогенвуглеці:спирт, в співвідношенні від 9:1 до 2:1. Різні галогенвуглецеві розчинники можуть використовуватися, окрім хлороформу, як наприклад, дихлорметан. Різні спирти можуть використовуватися, окрім метанолу, як наприклад, етанол. Різні ефіри можуть використовуватися, окрім діетилового ефіру, як наприклад, наприклад, трет-метилбутиловий ефір. Різні кислоти можуть використовуватися, окрім пара-толуолсульфонові кислоти, як наприклад, камфорсульфонові кислота або HCl. Метанольна HCl може використовуватися на додаток до ефірної HCl. Бензол- або паразаміщений бензол, аглікони сульфонілгідразону можуть використовуватися для одержання 13-деокси агліконів, що можуть потім використовуватися для синтезу 13-деоксиантрациклінів додаванням цукру. HCl солі можуть бути одержані перед або після синтезу 5-іміно-13-деокси антрациклінів. 13-деокси, або 5-іміно-13-деоксиантрацикліни можуть бути очищені хроматографією перед або після утворення HCl солей. Замісники у бензольному кільці 13-бензолсульфонілгідрозонантрацикліну можуть бути в орто-, мета-також і пароположенні. Інші кислоти солі піридину можуть використовуватися, окрім піридин-п-толуолсульфонату.

Зрозуміло, що різні зміни в деталях, матеріалах і узгодженні частин, які були описані і ілюстровані вище для того, щоб пояснити природу цього розкриття, можливо, здійсняться фахівцями в даній галузі, не відходячи від принципу і межі винаходу, як викладено в наступній формулі винаходу.