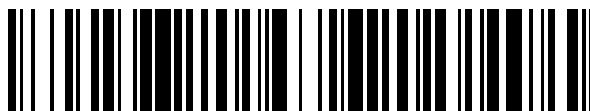


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 682**

51 Int. Cl.:

C07H 15/24

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.11.2005** **PCT/US2005/040346**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2006** **WO06052915**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.11.2005** **E 05816515 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.06.2016** **EP 1809644**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para preparar 13-desoxi-antraciclinas**

30 Prioridad:

08.11.2004 US 982873

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.12.2016

73 Titular/es:

GEM PHARMACEUTICALS, LLC (100.0%)
941 LAKE FOREST CIRCLE
BIRMINGHAM, AL 35244, US

72 Inventor/es:

WALSH, GERALD, M. y
OLSON, RICHARD, D.

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 592 682 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y procedimientos para preparar 13-desoxi-antraciclinas.

5 **Campo técnico**

La presente divulgación se refiere a composiciones y a procedimientos para preparar 13-desoxiantraciclinas y, más en particular, a la utilización de productos intermedios de 13-bencenosulfonilhidrazonaantraciclina para la síntesis y el aislamiento de 13-desoxi antraciclinas y a procedimientos para preparar 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclinas. La presente divulgación se refiere también a productos intermedios de 13-bencenosulfonilhidrazona nuevos y a procedimientos para preparar estos productos intermedios.

Antecedentes

Los fármacos antineoplásicos de antraciclina más conocidos son la doxorubicina y la daunorrubicina, que contienen un grupo 13-ceto. La doxorubicina, divulgada en la patente US nº 3.590.028 tiene un espectro amplio de utilidad antineoplásica y se utiliza en el tratamiento de leucemias, linfomas y tumores sólidos. La daunorrubicina, divulgada en la patente US nº 3.616.242, es útil en el tratamiento de leucemias agudas. Sin embargo, la utilidad de estos fármacos está limitada por unos efectos secundarios graves de cardiotoxicidad, de modo que la cantidad total de fármaco que puede administrarse a un paciente no puede exceder 550 mg/M² (E.A. Lefrak y et al., Cancer, 32:302, 1973). Incluso a la dosis acumulada total máxima recomendada (430-650 mg/M²) o cerca de la misma se produce una disfunción cardíaca significativa y persistente en el 60% de los pacientes y el 14% desarrolla insuficiencia cardíaca congestiva. (A. Dresdale y et al., Cancer, 52:51, 1983). Así, aunque estos fármacos son útiles para inhibir el crecimiento de tumores cancerosos, el paciente puede morir de insuficiencia cardíaca congestiva debida a los efectos secundarios cardiotoxícos graves de los fármacos.

Se ha observado también que la cardiotoxicidad de estas antraciclinas es producida por la reducción metabólica del resto 13-ceto a un metabolito 13-dihidroalcohólico (P.S. Mushlin y et al., Fed. Proc., 45:809, 1986). En sistemas de ensayo en los que la doxorubicina no se metaboliza de forma apreciable dando el metabolito 13-dihidroalcohólico (doxorubicinol) no se observan efectos cardiotoxícos significativos (P.S. Mushlin y et al., Fed. Proc., 44:1274, 1985; R.D. Olson y et al., Fed. Proc., 45:809, 1986). Por el contrario, los metabolitos 13-dihidro, doxorubicinol y daunorrubicinol, producen cardiotoxicidad en estos mismos sistemas de ensayo a concentraciones relativamente bajas (1-2 microgramos/ml, R.D. Olson y et al., Proceed. Am. Assoc. Cancer Res., 26:227, 1985; R.D. Olson y et al., Proceed Am. Assoc. Cancer Res. 28:441, 1987).

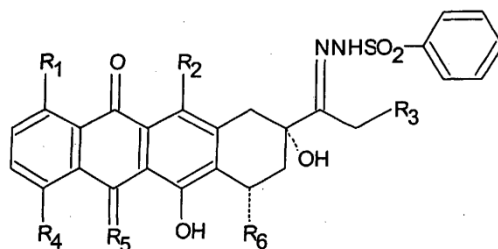
Si se deja permanecer la doxorubicina en los sistemas de ensayo incluso durante periodos cortos de tiempo, se produce alguna conversión metabólica y el metabolito 13-dihidro se forma en una cantidad suficiente como para que comience a desarrollarse cardiotoxicidad (L. Rossini y et al., Arch. Toxicol. Suppl., 9:474, 1986; M. Del Tocca y et al., Pharmacol. Res. Commun., 17:1073, 1985). Por lo tanto, se tienen evidencias sustanciales acumuladas de que la cardiotoxicidad de fármacos tales como doxorubicina y daunorrubicina es resultado de los efectos cardiotoxícos potentes producidos por sus metabolitos 13-dihidro (P. Mushlin y et al., FASEB Journal, 2:A1133, 1988; R. Boucek y et al., J. Biol. Chem., 262:15851, 1987; y R. Olson y et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 85:3585, 1988).

Más recientemente se ha descubierto que las formas 13-desoxi de doxorubicina, daunorrubicina u otras antraciclinas similares no se convertirán metabólicamente en formas 13-dihidro cardiotoxícas, y que el grupo 5-ceto puede modificarse a una forma que será menos probable que genere radicales libres, proporcionando de esta forma una seguridad mejorada adicional. En particular, véanse el documento WO99/08687, las patentes US nº 5.984.896 y nº 5.942.605 y el documento PCT/US99/04704, cuyas divulgaciones se incorporan a la presente memoria como referencia.

El primer procedimiento documentado para preparar determinadas 13-desoxiantraciclinas a partir de 13-p-metilbencenosulfonilhidrazonaantraciclinas tenía rendimientos relativamente bajos, del orden de aproximadamente el 10% (véase Smith, y et al., J. Med. Chem. 1978 21, 280-283). Unos procedimientos mejorados para sintetizar 13-desoxiantraciclinas a partir de 13-p-metilbencenosulfonilhidrazonaantraciclinas que mostraban rendimientos mejorados se divulgan en los documentos WO99/08687, WO99/45015 y la patente US nº 5.984.896. Sin embargo, estos procedimientos utilizan un exceso relativamente grande de reactivos y precisan un tiempo relativamente largo para su realización. Además, los rendimientos, aunque aumentados, son inferiores a los óptimos para una producción comercial. Además, la utilización de 13-p-metilbencenosulfonilhidrazonaantraciclinas da como resultado aproximadamente el 3% o más de este material de partida en el producto 13-desoxiantraciclina. La utilización de 13-p-F-bencenosulfonilhidrazonaantraciclinas es conocido (véase el documento GB 2 238 540 A), pero la síntesis de 13-p-F-, 13-p-Cl- o 13-p-nitrobencenosulfonilhidrazonaantraciclinas a partir de sus 13-cetoantraciclinas parentales produce rendimientos más bajos en comparación con 13-p-metilbencenosulfonilhidrazonaantraciclinas, y también produce rendimientos más bajos de 13-desoxi antraciclinas.

Sumario

Las composiciones y los procedimientos de la presente divulgación proporcionan un rendimiento y una pureza aumentados de 13-desoxi antraciclinas a partir de las 13-cetoantraciclinas correspondientes. Un aspecto de la presente divulgación se refiere a compuestos representados por la fórmula:



en la que:

- R₁, R₂ y R₃ son H u OH;
- R₄ es H, OH, alquilo u O-alquilo;
- R₅ es O o NH; y
- R₆ es H, OH o un resto de azúcar.

La presente divulgación se refiere también a un procedimiento para preparar una 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina tal como se ha divulgado anteriormente, que comprende hacer reaccionar una 13-ceto antraciclina, o una sal de ácido de la misma, con bencenosulfonilhidrazida en una disolución alcohólica.

Otro aspecto más de la presente divulgación se refiere a un procedimiento para preparar derivados 13-desoxiantraciclina (13-metilenantraciclina) a partir de 13-bencenosulfonilhidrazonaantraciclinas, que comprende:

1. Formar una mezcla de reacción mediante la combinación de una 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina con un agente reductor tal como cianoborohidruro de sodio (NaCNBH) y un ácido fuerte tal como ácido para-toluenosulfónico (PTSA) en un alcohol tal como metanol.
2. Calentar la mezcla de reacción sin agitar ni remover.
3. Neutralizar la mezcla de reacción con una base acuosa tal como bicarbonato de sodio en agua (NaHCO₃) y, de esta forma, formar el producto 13-desoxiantraciclina y precipitar sales en la mezcla de reacción.
4. Filtrar las sales precipitadas de la mezcla de reacción, extraer el producto de las sales precipitadas con disolvente orgánico y extraer el producto del filtrado con disolvente orgánico.

Otro aspecto más de la presente divulgación se refiere a un procedimiento para preparar derivados 5-imino-13-desoxiantraciclina a partir de 13-desoxiantraciclinas sometiendo la 13-desoxiantraciclina a amoniaco metanólico.

La presente divulgación posibilita la reducción completa de la 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina en la 13-desoxiantraciclina correspondiente.

Según la presente divulgación, la 13-desoxiantraciclina puede aislarse de una forma relativamente sencilla.

La presente divulgación posibilita producir 5-imino-13-desoxiantraciclinas a partir de productos 13-desoxi brutos.

La presente divulgación posibilita sintetizar la bencenosulfonilhidrazonaantraciclina en de 16 a 20 horas.

Según la presente divulgación los análogos 5-imino pueden sintetizarse a partir del producto 13-desoxiantraciclina bruto utilizando amoniaco metanólico sin la necesidad de proteger el grupo amino del azúcar.

Se ha observado según la presente divulgación que también puede utilizarse una sal de piridinio ácida en lugar del ácido fuerte para promover la reducción del material de partida, de tal forma que no es necesario neutralizar o extraer la reacción, facilitando de esta forma la purificación del producto por HPLC preparativa.

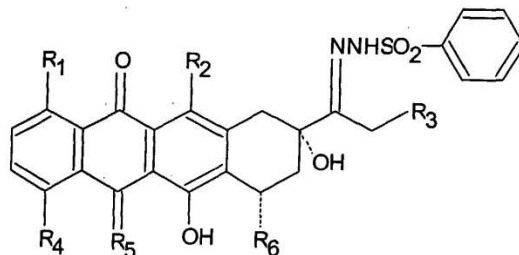
Descripción detallada de las formas de realización preferidas

Aunque la descripción siguiente detalla las formas de realización preferidas, debe apreciarse que la divulgación no está limitada en su aplicación a los detalles de construcción y disposición de las partes ilustradas en los dibujos

adjuntos, dado que la divulgación puede aplicarse en otras formas de realización y ponerse en práctica de diversas formas.

Una forma de realización se refiere a compuestos representados por la fórmula:

5



En la que cada uno de R_1 , R_2 y R_3 es individualmente H u OH;

10 R_4 se selecciona del grupo que consiste en H, OH, alquilo y O-alquilo;

R_5 es O o NH;

R_6 se selecciona del grupo que consiste en H, OH o un azúcar.

15

El grupo alquilo contiene normalmente de 1 a 5 átomos de carbono y más normalmente de 1 a 3 átomos de carbono.

El grupo O-alquilo contiene normalmente de 1 a 5 átomos de carbono y más normalmente de 1 a 3 átomos de carbono; y

20

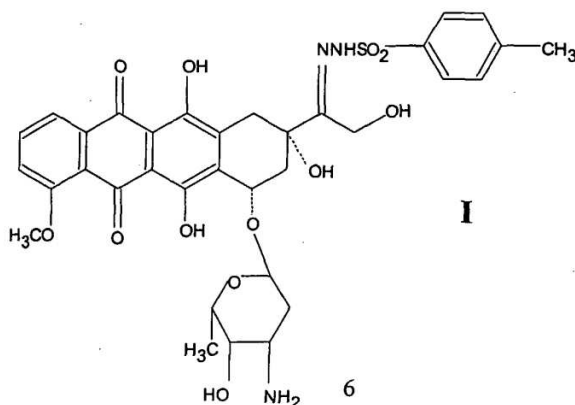
R_4 es normalmente OCH_3 .

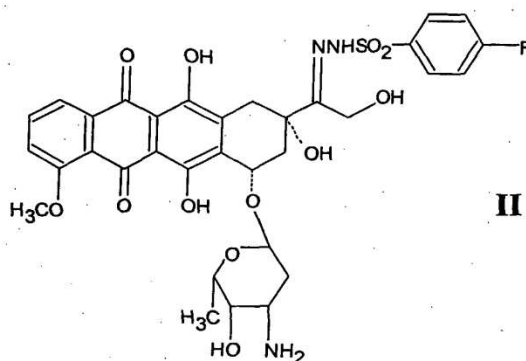
Los compuestos anteriores son precursores para la producción de compuestos de 13-desoxiantraciclinas y derivados de 5-imino-13-desoxiantraciclinas que son útiles como fármacos antineoplásicos. Ejemplos de compuestos de antraciclina utilizados en el procedimiento de la presente divulgación son doxorubicina, daunorrubicina, carminomicina, epirubicina, idarrubicina y anamicina, siendo preferidos la doxorubicina y la daunorrubicina.

25

Las 13-cetoantraciclinas pueden convertirse en 13-desoxiantraciclinas convirtiendo en primer lugar la 13-cetoantraciclina en una bencenosulfonilhidrazonaantraciclina sustituida en la posición 13-para. Las bencenosulfonilhidrazonaantraciclinas sustituidas en la posición 13-para que es conocido que son útiles como materiales de partida en la síntesis de 13-desoxiantraciclinas son 13-p-metilbencenosulfonilhidrazonaantraciclina y 13-p-F-bencenosulfonilhidrazonaantraciclina. Algunos ejemplos son 13-p-metilbencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina (I) y 13-p-F-bencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina (II):

35

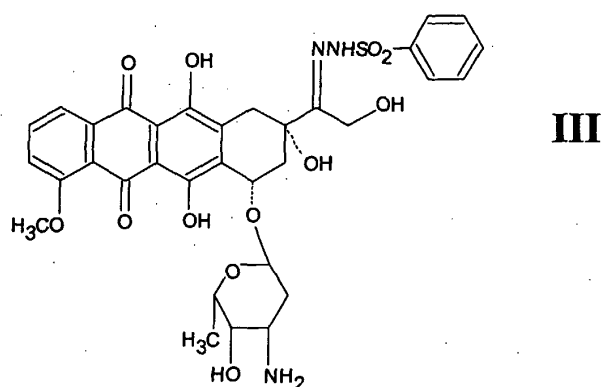




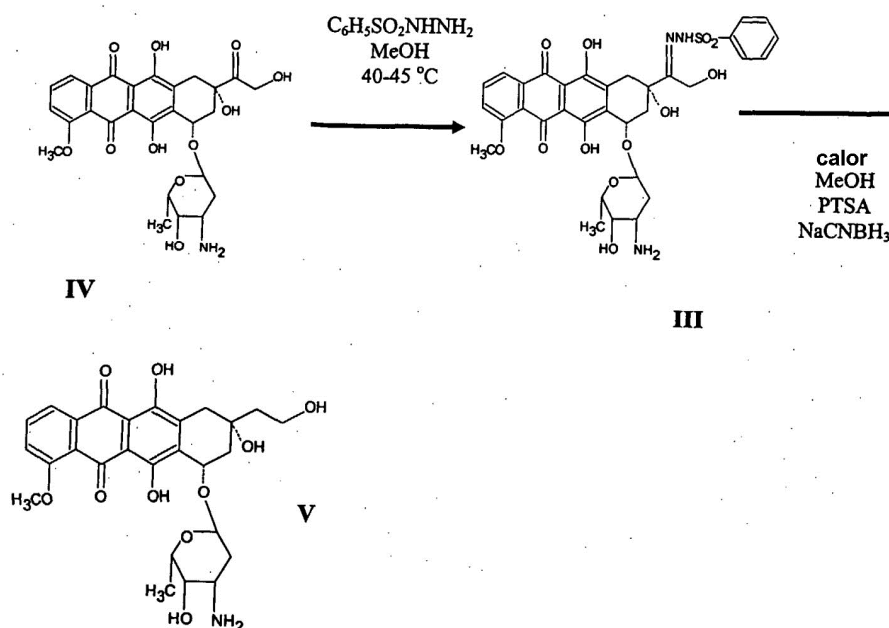
El compuesto I tiene un grupo donante de electrones en el anillo de benceno del resto 13-p-metilbencenosulfonilhidrazona y no se reduce completamente para dar el producto 13-desoxi-doxorrubicina en la reacción de reducción. El compuesto I es difícil de separar del producto 13-desoxi-doxorrubicina y se requieren tanto cromatografía en columna de sílice como HPLC preparativa para purificar el producto 13-desoxi-doxorrubicina producido a partir del compuesto I.

El compuesto II tiene un grupo receptor de electrones en el anillo de benceno del resto 13-p-metilbencenosulfonilhidrazona y se reduce completamente proporcionando el producto 13-desoxi-doxorrubicina en la reacción de reducción de la presente invención. No obstante, la síntesis del compuesto II a partir de doxorrubicina y p-F-bencenosulfonilhidrazina produce rendimientos más bajos en comparación con la síntesis del compuesto I. Además, la solubilidad del compuesto II en metanol es relativamente baja, y el compuesto II necesita varias horas para disolverse, en función de la temperatura y la concentración deseada. Este es también el caso con análogos p-Cl y p-nitro. A temperaturas inferiores a 20°C el compuesto II en metanol se vuelve gelatinoso, impidiendo el procesamiento de soluciones de reacción por debajo de 20°C. Los rendimientos del producto 13-desoxi-doxorrubicina a partir del compuesto II son, en consecuencia, reducidos. Otros ejemplos incluyen, por ejemplo, los análogos bencenosulfonilhidrazona sustituida en la posición 13-p de daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina, anamicina y carminomicina.

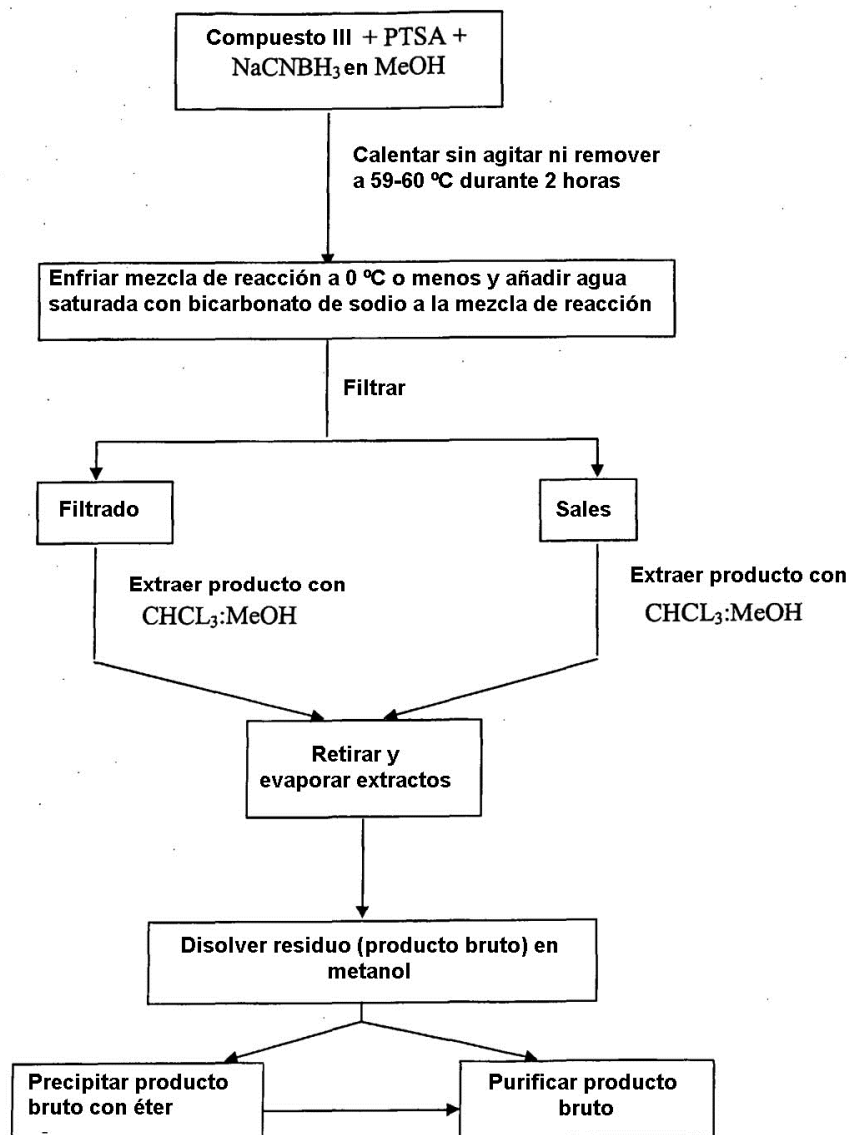
Las bencenosulfonilhidrazonaantraciclinas sustituidas en la posición 13-p se sintetizan combinando la bencenosulfonilhidrazina sustituida en la posición p con una 13-cetoantraciclina en alcohol y dejando la disolución en reposo a temperatura ambiente durante 5 días. En la búsqueda de un material de partida más eficaz para la síntesis de 13-desoxiantraciclinas



se descubre que la 13-bencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina (compuesto III) sin ninguna sustitución en la posición para del anillo de benceno carecía, sorprendentemente, de los problemas asociados con las bencenosulfonilhidrazonaantraciclinas sustituidas en la posición p tales como el compuesto I y el compuesto II. Además, se descubre que las 13-benceno-sulfonilhidrazonaantraciclinas (o 13-benceno-sulfonilhidrazonaantraciclinas sustituidas en la posición p) podrían sintetizarse en de 10 a 24 horas en metanol a aproximadamente 35-60°C, preferentemente aproximadamente 40-45°C, con rendimientos y pureza iguales a los obtenidos en la realización de la reacción a temperatura ambiente durante 5 días. La reacción de bencenosulfonilhidrazina con doxorrubicina (IV) para dar el compuesto III, seguida por la reducción del producto 13-desoxi-doxorrubicina (compuesto V) se muestra a continuación:



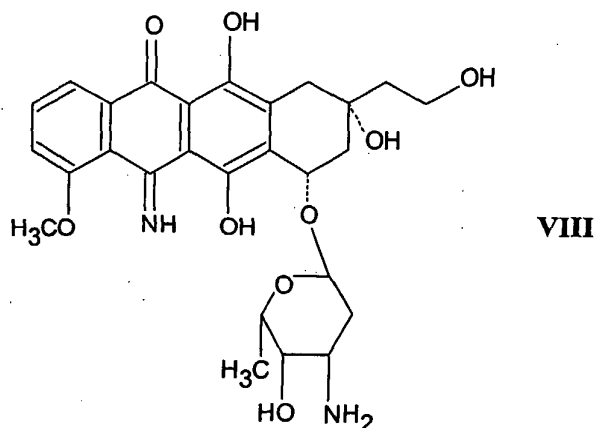
- Las bencenosulfonilhidrazonaantraciclinas sustituidas en la posición 13-p se convierten en 13-desoxiantraciclinas formando una mezcla de reacción de una bencenosulfonilhidrazonaantraciclina sustituida en la posición 13-p con un agente reductor y un ácido fuerte, en muchos casos cianoborohidruro y ácido p-toluenosulfónico (PTSA) en metanol. Presumiblemente, la hidrazona se reduce aceptando un hidrógeno del ácido y un hidrógeno del cianoborohidruro. No obstante, el ácido también puede neutralizar el cianoborohidruro, por lo que las concentraciones de los reactantes y la temperatura de la reacción parecen de algún modo importantes para la producción óptima del producto 13-desoxiantraciclina. Se acepta, en general, que la mezcla de reacción en metanol se calienta sometiendo a reflujo la mezcla y que se agita la mezcla de reacción. Al final de la reacción, la mezcla se neutraliza con la adición de base acuosa, que neutraliza el ácido fuerte y escinde la hidrazina reducida de la posición 13, dejando un grupo metileno en la posición 13.
- La adición de la base acuosa a la mezcla de reacción también produce la precipitación de sales que se unen al producto 13-desoxiantraciclina. La unión de producto a las sales precipitadas ha requerido procedimientos complejos para recuperar el producto, tales como extracción con ácido y separaciones múltiples con gel de sílice y cromatografía HPLC. Se aprecia que cualquier agitación de la mezcla de reacción durante el calentamiento promueve la neutralización excesiva del cianoborohidruro por medio del ácido (PTSA), seguida por la escisión excesiva del azúcar de la antraciclina, lo que reduce el rendimiento general del producto. Se observa también que combinando los reactivos sin agitar ni remover, y calentando la mezcla de reacción sin agitar ni remover, se produjeron rendimientos sustancialmente elevados. Se descubre que la temperatura óptima se encontraba entre 55 y 64°C, sin agitar ni remover. Se observa también que el producto 13-desoxiantraciclina puede retirarse fácilmente de las sales precipitadas filtrando la mezcla de reacción después de la adición de la base acuosa y lavando después el residuo salino con disolventes orgánicos tales como una mezcla de cloroformo y metanol. El procedimiento se describe a continuación. Se disuelve material de partida, tal como, por ejemplo, el compuesto III, y cianoborohidruro de sodio en metanol seco y la temperatura de la mezcla de reacción se reduce a de 0 a 4°C. El PTSA se disuelve en metanol seco y se añade a la mezcla de reacción fría. La mezcla de reacción se calienta después entre 55 y 64°C, preferentemente 59-60°C, durante 1 a 4 horas, preferentemente durante 2 horas, sin agitar ni remover. La mezcla de reacción se enfría después, preferentemente a 0°C o menos y después se añade agua saturada de bicarbonato fría (0 a 10°C) a la mezcla de reacción fría para neutralizar los ácidos y para formar el producto, compuesto V. Las sales precipitan en la mezcla de agua y metanol, y la mezcla de agua y



metanol se filtra al vacío utilizando un embudo Buchner y un matraz de vacío. Las sales presentes sobre el papel de filtro dispuesto en el embudo Buchner se lavan con CHCl₃:metanol aproximadamente 3,5:1 al vacío extrayendo de esta forma el producto, compuesto V, que se adhiere a las sales. Este extracto puede recogerse en el mismo matraz de vacío como la mezcla de bicarbonato acuoso/metanol, o puede recogerse por separado en un matraz de vacío aparte. Se añade suficiente CHCl₃ al matraz que contiene la mezcla de bicarbonato acuoso/metanol para crear aproximadamente una mezcla 3,5:1 de cloroformo y metanol. El producto, compuesto V, se extrae después del bicarbonato acuoso en el cloroformo/metanol. Los extractos orgánicos se separan del agua y se evaporan a sequedad. El residuo, que contiene el producto, compuesto V, se disuelve en metanol. El compuesto V puede purificarse mediante procedimientos de cromatografía conocidos en la técnica, o puede precipitarse mediante la adición de éter.

Es conocido, en general, que las 5-iminoantraciclina pueden formarse a partir de 5-cetoantraciclina haciendo reaccionar las 5-cetoantraciclina en amoníaco metanólico frío. Es conocido también que las 13-ceto-14-OH-antraciclina requieren protección del grupo amino en el azúcar. Los análogos 5-imino de 13-desoxiantraciclina también pueden formarse fácilmente mediante reacción con amoníaco metanólico frío, pero se observa que no se requiere la protección de la amina del azúcar. En la presente divulgación, el producto 13-desoxiantraciclina puede disolverse en amoníaco metanólico y mantenerse a menos de aproximadamente 20°C, preferentemente aproximadamente 0-4°C hasta que la reacción se complete, habitualmente en de 1 a 5 días. Los análogos 5-imino de las 13-desoxiantraciclina pueden formarse antes de la formación de la sal HCl del compuesto 1,3-desoxi o después de la misma, y antes o después de purificación o precipitación. Las 5-imino-13-desoxiantraciclina pueden

purificarse fácilmente mediante procedimientos cromatográficos bien conocidos en la técnica. Un ejemplo de una 5-imino-13-desoxiantraciclina, 5-imino-13-desoxi-doxorrubicina (VIII), se muestra a continuación.



5

Ejemplo 1

Preparación de 13-bencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina HCl (III)

La síntesis del compuesto III se comparó con la síntesis de los compuestos I y II y con 13-p-metoxibencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina (VI) y 13-p-nitrobencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina (VII). Se disolvieron 375 mg de la bencenosulfonilhidrazina o la bencenosulfonilhidrazina sustituida en la posición p y 500 mg de doxorrubicina HCl (IV) en 15 ml de metanol anhidro. Las soluciones se calentaron a 40-45°C durante aproximadamente 16-20 horas, o se mantuvieron a temperatura ambiente (aproximadamente 23-28°C) durante aproximadamente 5 días, o se enfriaron a aproximadamente 0-4°C durante aproximadamente 10 días. Al final de la reacción se añadieron 100 ml de dietiléter a las mezclas de reacción metanólicas para precipitar los productos. Los precipitados se lavaron con dietiléter para eliminar metanol y los precipitados se secaron después en un desecador al vacío. Los productos se recuperaron con una pureza del 90% o superior, medida por HPLC. Los rendimientos, basados en doxorrubicina HCl (IV), fueron los siguientes:

20

Compuesto	Rendimiento (%)
	<u>0 a 4 °C</u>
III	96
I	91
II	62
VI	96
	<u>22-27 °C</u>
III	96
I	98
II	86
VI	91
	<u>40-45 °C</u>
III	98
II	88
VII	94

El compuesto III proporciona rendimientos altos de forma uniforme independientemente de la temperatura de la reacción, en comparación con el compuesto II que proporciona rendimientos relativamente bajos de forma uniforme. El resultado muestra que la síntesis puede realizarse a 40-45°C durante un periodo de tiempo más corto con rendimientos igualmente buenos a los obtenidos a temperaturas más bajas durante un periodo de tiempo más largo.

25

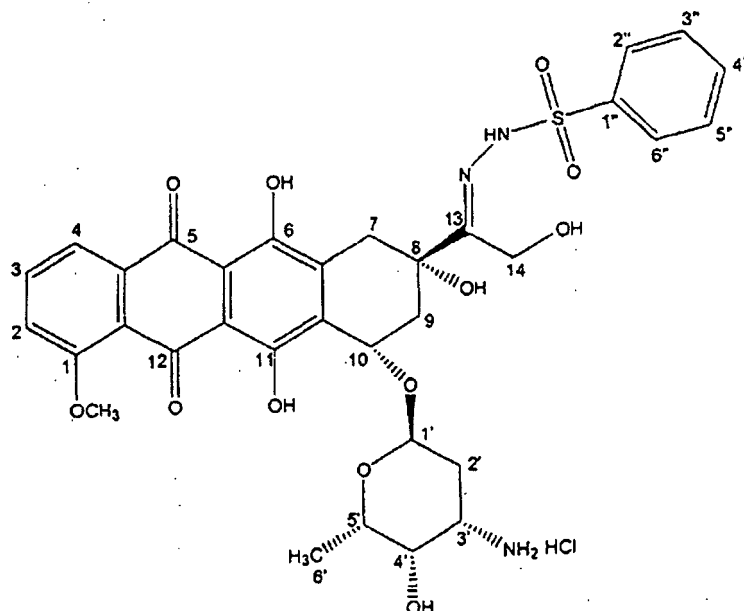
Compuesto III:

Espectro de masas:

30

Realizado en un espectrofotómetro de masas de trampa de iones de Agilent (EN 824) (ionización positiva ESI).

Estructura:



5 Fórmula: $C_{33}H_{36}N_3O_{12}S$

Peso molecular: 697,7 como base libre; 734,2 como sal HCl

UV:

10 Realizado en un espectrofotómetro Aligent Technologies 8453 UV/Vis (EN246). La muestra se preparó en metanol.

λ_{max}
$\lambda_{max} = 234nm (\epsilon = 31,737)$
$\lambda_{max} = 251nm (\epsilon = 22,394)$
$\lambda_{max} = 292nm (\epsilon = 4,492)$
$\lambda_{max} = 497 nm (\epsilon = 10,284)$

15 RMN de 1H (300 MHZ, DMSO- d_6 , δ):

Realizado en un Varian Mercury 300. Los desplazamiento son a campo bajo con respecto a TMS (tetrametilsilano).

δ , ppm	Asignación
1,15	d, 3H, J=6,3, 6'-CH ₃
1,68	dd, 1H, J=12,7, 3,2, 2'-CH ₂
1,90	dt, 1H, J=12,2, 3,7, 2'-CH ₂
2,05	m, 1H, 9-CH ₂
2,34	m, 1H, 9-CH ₂
2,68	d, 1H, J= 17,7, 7-CH ₂
3,14	d, 1H, J= 17,7, 7-CH ₂
3,32	m, 1H, 3'-H
3,53	m, 1H, 4'-H
4,01	s, 3H, 1-OCH ₃
4,03	m, 1H, 5'-H
4,29	s, 2H, 14-CH ₂
4,98	t, 1H, J=6,3, 10-H
5,30	m, 1H, 1'-H
5,38	s, 1H, 8-OH
5,45	d, 1H, J=6,3, 4'-OH
5,62	s ancho, 1H, 14-OH
7,48	m, 3H, 3''-H, 4''-H y 5''-H
7,69	t, 1H, J=4,8, 3-H
7,73	d, 2H, J=7,2, 2''-H y 6''-H
7,81	s ancho, 2H, 3'-NH ₂
7,94	d, 2H, J=5,1, 2-H y 4-H
10,51	s ancho, 2H, PhSO ₂ -HN-N=R
13,30	s, 1H, 6-OH o 11-OH
14,01	s, 1H, 6-OH o 11-OH

Ejemplo 2

5 Preparación de 13-desoxi-doxorrubicina HCl (V) a partir de 13-bencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina HCl (III)

El compuesto V se sintetizó a partir del compuesto III, habiéndose sintetizado el compuesto III a 23-27°C (TA), 0-4°C (frío) o 40-45°C (caliente). El compuesto V también se sintetizó a partir del compuesto II en condiciones similares con fines comparativos. Se disolvieron 100 mg del compuesto III (o el compuesto II) en 6 ml de metanol seco con 100 mg de NaCNBH₃. La mezcla de reacción se dispuso en un baño de hielo. Se disolvieron 275 mg de PTSA en 2 ml de metanol seco y después se añadieron a la mezcla de reacción fría sin agitar ni remover, proporcionando un total de 8 ml de metanol. La mezcla de reacción se calentó después a 59-60°C durante 2 horas sin agitar ni remover. Al final de dos horas la mezcla de reacción se dispuso en un congelador hasta que la temperatura de la mezcla de reacción fuera de 0°C o inferior. Se añadieron después 12 ml de agua saturada con bicarbonato de sodio y a una temperatura de 1-4°C a los 8 ml de mezcla de reacción metanólica. La mezcla de agua/metanol se filtró en un embudo Buchner a un matraz de vacío. Las sales presentes sobre el papel de filtro dispuesto en el embudo Buchner se lavaron al vacío con 20-40 ml de cloroformo:metanol 3,5:1 para extraer el producto de las sales al matraz de vacío que contenía el filtrado de la mezcla de agua/metanol. Si se desea, las sales podrían lavarse en un matraz de vacío aparte. Se añadieron 28 ml de cloroformo al filtrado de agua/metanol para crear una relación de cloroformo:metanol de 3,5:1. El filtrado de agua/metanol con el cloroformo añadido se dispuso en un embudo separador y el producto (compuesto V) se extrajo al cloroformo:metanol. Se dejó que el agua y los disolventes se separaran y la capa orgánica se retiró y se filtró. La capa orgánica se evaporó al vacío a 30°C o menos. El residuo que contenía el producto se disolvió en 2 ml de metanol y se dispuso en un baño de hielo. Se añadieron 0,2 ml de HCl etéreo 1 M a 1 ml de metanol seco y 1 ml de dietiléter, que se añadieron después a los 2 ml de metanol seco en el baño de hielo, formando de esta forma la sal HCl del compuesto V. Se añadieron 30 ml de dietiléter al metanol frío para precipitar el producto, 13-desoxi-doxorrubicina HCl (V). El precipitado se lavó con dietiléter para eliminar metanol y después se secó en un desecador al vacío. La pureza se midió por HPLC. Los rendimientos de producto a

partir de las reacciones, con respecto al doxorubicina HCl (IV), se muestran a continuación.

Recuperación, pureza y rendimiento de 13-desoxi-doxorrubicina HCl (V) sintetizada a partir del material de partida compuesto III o compuesto II que se sintetizaron a diversas temperaturas

5

Temperatura de síntesis de material de partida

Compuesto	Frío		Temperatura ambiente		Caliente	
	III	II	III	II	III	II
Recuperación (%)	84	53	61	51	63	49
Pureza (%)	57	69	83	66	69	69
Rendimiento (%)	48	37	51	34	43	34

El rendimiento del compuesto V fue más elevado de forma uniforme con compuesto III como material de partida en comparación con la utilización de compuesto II como material de partida, independientemente de la temperatura a la que se sintetizó el material de partida. El rendimiento medio del compuesto V a partir de los tres materiales de partida de compuesto III fue del $47,3\% \pm 2,3$ (SE), que fue el 35% superior al rendimiento medio de los tres materiales de partida de compuesto II, $35,0\% \pm 1,0$ (SE), $p < 0,05$. Experimentos similares con el compuesto VII sintetizado en condiciones calientes produjeron un rendimiento del 34% de compuesto V. Experimentos con compuestos I y VI confirmaron que una cantidad significativa de estos compuestos estaba presente aún en el producto compuesto V precipitado, proporcionando una pureza y un rendimiento reducidos.

Ejemplo 3

Preparación de 5-imino-13-desoxi-doxorrubicina HCl (VIII) a partir de 13-bencenosulfonilhidrazona-doxorrubicina HCl (III)

El compuesto V se sintetizó según el ejemplo 1, partiendo de 200 mg de compuesto III. La reacción proporcionó un rendimiento del 56,7% de producto compuesto V bruto, que tenía el 67,5% de pureza. Se disolvieron 100 mg de este material en 2 ml de metanol seco y se dispusieron en un baño de hielo. Se añadieron 6 ml de amoniaco metanólico 2 M. La mezcla de reacción se mantuvo a 0-4°C durante cuatro días. Después, el metanol se evaporó al vacío a 30°C o menos. Para eliminar trazas de amoniaco, el residuo se disolvió en 15 ml de cloroformo:metanol 4:1 y la disolución se evaporó. Esto se repitió dos veces. El residuo se disolvió en 4 ml de metanol seco y el producto, compuesto VIII, se precipitó mediante la adición de 60 ml de dietiléter. El precipitado se lavó con dietiléter y se secó al vacío en un desecador. Se produjo una recuperación del 81% con una pureza del 67%, proporcionando un rendimiento del 80%.

Es conocido en general en la técnica que se requiere un ácido fuerte en la reacción para reducir el material de partida 13-hidrazonaantraciclina, en presencia de cianoborohidruro. Esto es debido probablemente a que la reacción se realiza a temperaturas relativamente reducidas (inferiores a 100°C), que son necesarias para evitar la degradación del producto 13-desoxiantraciclina. El ácido fuerte debe desactivarse o neutralizarse al final de la reacción añadiendo base, o separarse del producto 13-desoxiantraciclina añadiendo, por ejemplo, disolvente de halocarburo con el fin de evitar la degradación del producto. La purificación del producto final se facilitaría enormemente si la mezcla de reacción pudiera secarse y después procesarse para la purificación en una HPLC preparativa, o aplicarse la mezcla de reacción directamente a HPLC preparativa. La presencia del ácido fuerte parece interferir con la separación del producto de las impurezas durante la HPLC preparativa, y produce un rendimiento relativamente bajo del producto puro. Cualquier intento de secar la mezcla de reacción al final de la reacción concentra el ácido fuerte y destruye el producto.

En nuestra búsqueda de un ácido débil que produzca una producción significativa de producto, pero que no requiera neutralización o separación, encontramos que la sal de piridinio del ácido p-toluenosulfónico era, sorprendentemente, eficaz a este respecto. La disolución de reacción al final de la reacción es estable a temperatura ambiente y el disolvente puede eliminarse para producir un residuo seco estable. El residuo puede almacenarse para un futuro procesamiento, o puede disolverse en disolventes adecuados para la aplicación directa a la purificación por HPLC preparativa. La reacción puede realizarse tal como se ha descrito anteriormente, excepto en que la reacción se realiza, preferentemente, a aproximadamente 65°C a 75°C durante aproximadamente 45 minutos, y el ácido p-toluenosulfónico se reemplaza por p-toluenosulfonato de piridinio, a aproximadamente 66 mg por 100 mg de material de partida hidrazona. Hasta ahora era desconocido que serían útiles sales de piridinio ácidas en la reacción de reducción de la presente invención y que proporcionan estas ventajas.

Ejemplo 4

Preparación de 13-desoxi-doxorrubicina HCl (V) a partir de 13-bencenosulfonil-hidrazona-doxorrubicina HCl (III) utilizando p-toluenosulfonato de piridinio en lugar de ácido p-toluenosulfónico

Se disolvieron 100 mg del compuesto III en 6 ml de metanol seco con 100 mg de NaCNBH₃. La mezcla de reacción se dispuso en un baño de hielo. Se disolvieron 66 mg de p-toluenosulfonato de piridinio en 2 ml de metanol seco y

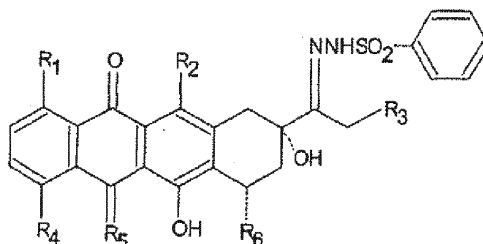
se añadieron después a la mezcla de reacción fría, proporcionando un total de 8 ml de metanol. La mezcla de reacción se calentó después a aproximadamente 72 °C durante 45 minutos. Al final de 45 minutos la mezcla de reacción se enfrió por debajo de 30 °C y se añadieron 0,05 ml de agua a la mezcla de reacción para promover la hidrólisis de la hidrazona reducida, produciendo el producto, 13-desoxi-doxorrubicina HCl (V). El análisis por HPLC mostró que había un rendimiento del 55% de 13-desoxi-doxorrubicina HCl (V), con respecto a la doxorrubicina HCl (IV). Esta mezcla de reacción puede purificarse directamente por HPLC preparativa, el metanol puede eliminarse y el residuo disolverse en medios adecuados para la cromatografía, la mezcla de reacción puede neutralizarse y extraerse tal como se ha descrito anteriormente, y la mezcla de reacción puede utilizarse para formar el derivado 5-imino-13-desoxiantraciclina añadiendo amoníaco tal como se ha descrito anteriormente.

La descripción anterior se ha limitado a unas formas de realización específicas. Resulta evidente, no obstante, que pueden introducirse variaciones y modificaciones a las formas de realización divulgadas por los expertos en la materia, con la obtención de algunas o de todas sus ventajas y sin apartarse del espíritu y el alcance de la presente divulgación. Por ejemplo, las extracciones de la mezcla de reacción en agua/metanol o las sales filtradas pueden utilizar mezclas de disolventes de halocarburo:alcohol que varían de 9:1 a 2:1. Pueden utilizarse diversos disolventes de halocarburo además de cloroformo, tales como, por ejemplo, diclorometano. Pueden utilizarse diversos alcoholes además de metanol, tales como, por ejemplo, etanol. Pueden utilizarse diversos éteres además de dietiléter, tales como, por ejemplo, metilbutiléter terciario. Pueden utilizarse diversos ácidos además de ácido para-toluenosulfónico, tales como, por ejemplo, HCl o ácido canforsulfónico. Puede utilizarse HCl metanólico además de HCl etéreo. Pueden utilizarse bencenosulfonilhidrazona-agliconas o bencenosulfonilhidrazona-agliconas sustituidas en la posición para para producir 13-desoxi-agliconas que pueden utilizarse para sintetizar 13-desoxiantraciclina mediante adición de un azúcar. Pueden formarse sales antes o después de la síntesis de 5-imino-13-desoxi antraciclina. Las 13-desoxi-, o 5-imino-13-desoxi antraciclina pueden purificarse por cromatografía antes o después de la formación de sal HCl. Las sustituciones en el anillo de benceno de la 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina pueden ser orto y meta, así como para. Pueden utilizarse otras sales de piridinio ácidas además del p-toluenosulfonato de piridinio.

Debe apreciarse que pueden introducirse diversos cambios en los detalles, materiales y disposiciones de las partes que se han descrito e ilustrado anteriormente a fin de explicar la naturaleza de la presente divulgación por los expertos en la materia sin apartarse del principio y el alcance tal como se expone en las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto representado por la fórmula:



en la que:

R₁, R₂ y R₃ son H u OH;
 R₄ es H, OH, alquilo u O-alquilo;
 R₅ es O o NH; y
 R₆ es H, OH o un resto de azúcar.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es un derivado de una antraciclina seleccionada de entre el grupo que consiste en doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina, anamicina y carminomicina.

3. Procedimiento para producir un compuesto según la reivindicación 1, que comprende hacer reaccionar una 13-cetoantraciclina o sal ácida de la misma con bencenosulfonilhidrazina en un disolvente alcohólico a de 35 a 50°C durante 10 a 24 horas.

4. Procedimiento para preparar 5-imino-13-desoxi antraciclina, en el que la 5-imino-13-desoxi antraciclina se selecciona de entre el grupo que consiste en las formas 13-desoxi de doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina, anamicina y carminomicina, comprendiendo dicho procedimiento:

A) preparar una 13-desoxi antraciclina según un procedimiento que comprende:

- 1) formar una disolución alcohólica de una 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina;
- 2) añadir un agente reductor y un ácido a dicha disolución;
- 3) calentar dicha disolución, sin agitar ni remover, para reducir dicha 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina; y
- 4) neutralizar dicha disolución con una base acuosa, formando así dicha 13-desoxi antraciclina y precipitados;

B) disolver dichas 13-desoxi antraciclina en un alcohol; y

C) convertir dichas 13-desoxi antraciclina en la 5-imino-13-desoxi antraciclina correspondiente con amoníaco a menos de 20°C.

5. Procedimiento según la reivindicación 4, que comprende además la etapa de filtrar dicho precipitado, produciendo así un filtrado y sales, extraer dichas 13-desoxi antraciclina de dichas sales precipitadas y extraer dicha 13-desoxi antraciclina de dicho filtrado.

6. Procedimiento según la reivindicación 4, en el que dicho calentamiento es a de 55°C a 64°C, dicho alcohol es metanol, dicho agente reductor es cianoborohidruro y dicho ácido es ácido p-toluenosulfónico.

7. Procedimiento según la reivindicación 6, en el que dicho calentamiento es a de 59°C a 60°C.

8. Procedimiento según la reivindicación 4, en el que la 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina es un derivado de una antraciclina seleccionada de entre el grupo que consiste en doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina, anamicina y carminomicina.

9. Procedimiento según la reivindicación 4, en el que la etapa de convertir dicha 13-desoxi antraciclina a las 5-imino-13-desoxi antraciclina correspondientes con amoníaco es a de 1°C a 4°C durante 1 a 4 días.

10. Procedimiento para preparar 13-desoxi antraciclinas, que comprende:

- 1) formar una disolución alcohólica de una 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina;
- 2) añadir un agente reductor y sal de piridinio de ácido p-toluenosulfónico a dicha disolución; y
- 3) calentar dicha disolución para reducir dicha 3-bencenosulfonilhidrazona antraciclina.

11. Procedimiento según la reivindicación 10, en el que dicho agente reductor es el cianoborohidruro.

12. Procedimiento según la reivindicación 10, que comprende además la etapa de hidrolizar dicha 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina reducida, formando así dicha 13-desoxi antraciclina.

13. Procedimiento según la reivindicación 10, en el que dicho calentamiento es a de 65°C a 75°C.

14. Procedimiento según la reivindicación 10, en el que dicha 13-bencenosulfonilhidrazona antraciclina es un derivado de una antraciclina seleccionada de entre el grupo que consiste en doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina, anamicina y carminomicina.

15. Procedimiento para preparar 5-imino-13-desoxi antraciclinas que comprende:

- 1) preparar una 13-desoxi antraciclina según la reivindicación 11; y
- 2) convertir dicha 13-desoxi antraciclina en la 5-imina-13-desoxi antraciclina correspondiente con amoniaco a menos de 20°C.

16. Procedimiento según la reivindicación 15, en el que la etapa de convertir dicha 13-desoxi antraciclina en la 5-imino-13-desoxi antraciclina correspondiente con amoniaco es a de 1°C a 4°C durante 1 a 4 días.

17. Procedimiento según la reivindicación 15, en el que dicha 13-desoxi antraciclina se selecciona de entre el grupo que consiste en las formas 13-desoxi de doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina, anamicina y carminomicina.