

PG4038 11

Közzététel

1058

59.961/DE

ANTRACIKLIN POLIMERKÖTÉS ELŐLLÍTÉSÜKRE ÉS EZEKET TARTALMAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK

~~BIOLÓGIAILAG AKTÍV VEGYÜLETEK~~

70509

FARMITALIA CARLO ERBA S.r.l.

Milánó, Olaszország

A bejelentés napja: 1994. 04. 08.

Az elsőbbség napja: 1993. 05. 11.

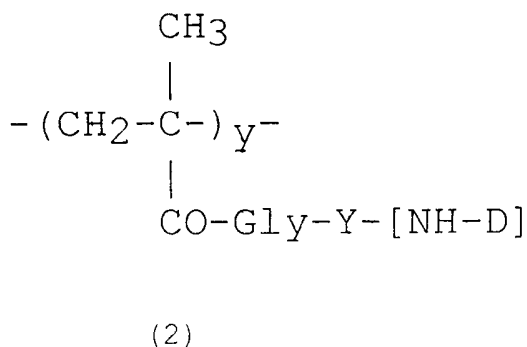
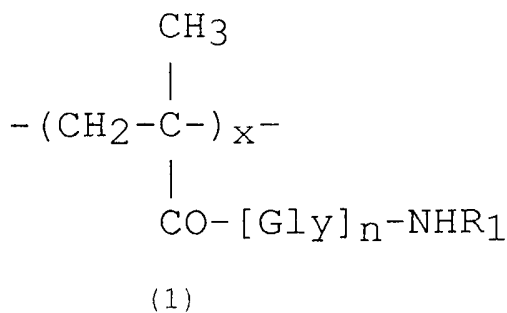
(9309663.4 GB)

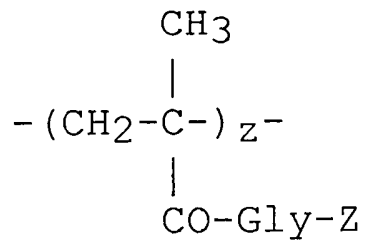
A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP94/01100

A nemzetközi közzététel száma: Wo 94/203.1.1

KIVONAT

A találmány olyan ~~tal~~ polimerkötéses antraciklin-  
nekre vonatkozik, amelyek alapvetően három, az (1), (2) és  
(3) általános képletű csoportnak megfelelő egységből állnak:





(3)

amelyekben

Gly jelentése glicin;

n értéke 0 vagy 1;

x értéke 70-98 mol%;

y értéke 1-29 mol%;

z értéke 1-29 mol%;

R<sub>1</sub> jelentése egy vagy több hidroxicsoporttal helyettesített 1-6 szénatomos alkilcsoport;

Y jelentése aminosavcsoport vagy egy peptid híd molekula (spacer);

[NH-D] jelentése egy [NH<sub>2</sub>-D] általános képletű aminoglikozid-antraciklinből származó csoport; valamint

Z jelentése hidroxicsoport vagy egy -NHR<sub>1</sub> általános képletű csoport, amelyben

R<sub>1</sub> jelentése a fentiekben meghatározott.

A találmány kiterjed a vegyületek előállítására, valamint a vegyületeket hatóanyagként tartalmazó gyógyászati készítményekre is.

P94 03811 Készítve  
Aldady



59.961/DE

S.B.G. & K.  
Hírdetési Munkaszolgálati  
Közvetítői Iroda  
1051 Budapest, Dohány utca 19.  
Tel: 153-3753, Fax: 153-2644

ANTHACIKLIN KOMBINÁTUMOK, ~~É~~ ELŐ  
ELJÁRÁS ELŐÁLLÍTÁSUKRA ÉS EZEKET  
TARTALMAZÓ GYÓGYSZERKOMBINÁCIÓKAT  
BIOLOGIAILAG AKTÍV VEGYÜLETEK

FARMITALIA CARLO ERBA S.r.l.

Milánó, Olaszország

Feltalálók:

ANGELUCCI, Francesco

Milánó, Olaszország

GRANDI, Maria

Reggio Emilia, Olaszország

SUARATO, Antonio

Milánó, Olaszország

A bejelentés napja: 1994. 04. 08.

Az elsőbbség napja: 1993. 05. 11.

(9309663.4 GB)

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP94/01100

A nemzetközi közzététel száma: W0 94/26311

A találmány tárgya oldható, szintetikus, polimerkötéses antraciklinek, eljárás a vegyületek előállítására, valamint a vegyületeket hatóanyagként tartalmazó gyógyászati készítmények.

A doxorubicin, a 4'-epidoxorubicin és a 4-demetoxi-doxorubicin az antraciklinek azon példái, amelyek a technika állásából ismertek, valamint amelyeket jelenleg is alkalmaznak a rosszindulatú daganatok klinikai kezelése során. Lásd például: F. Arcamone, "Doxorubicin" Medicinal Chemistry monograph, vol. 17, Academic Press, 1981.

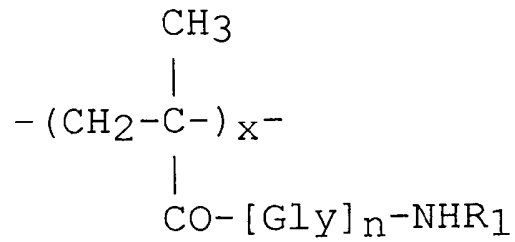
A korábbiakban a doxorubicinnek már számos, tumorellenes aktivitással rendelkező polimerszármazékát előállították. Az ismert vegyületek közül a klinikai fejlesztés szempontjából különösen ígéretesnek tűnik az oldható, polimerkötéses doxorubicin, amely hidrofil csoportokból és olyan peptidláncokból áll, amelyekhez doxorubicin és 2-hidroxi-propil-amin kapcsolódik. Ezeket a polimerkötéses doxorubicinszármazékokat úgy állítják elő, hogy doxorubicin-hidrokloridot és p-nitro-fenil-észterként aktivált, peptidil-láncokat tartalmazó akril-polimer prekuzort dimetil-szulfoxidban, trietil-amin jelenlétében kondenzáltatnak, majd ezt követően a visszamaradó észtercsoportokat 1-amino-2-hidroxi-propán segítségével aminolízisnek vetik alá. Ennek az anyagnak a patkány lizoszomális enzimekkel (tritoszomákkal) végzett inkubációja felnyitja a terminális aminosav és a doxorubicin közötti amidkötést [J. Kopecek et al., Biomaterials, 10, 335 (1989); R. Duncan et al., Biochem. Pharmacol.,

39, 1125 (1990); R. Duncan et al., J. Controlled Release, 10, 51 (1989); R. Duncan et al., J. Controlled Release, 18, 123 (1992); valamint R. Duncan et al., J. Controlled Release, 19, 331 (1992)].

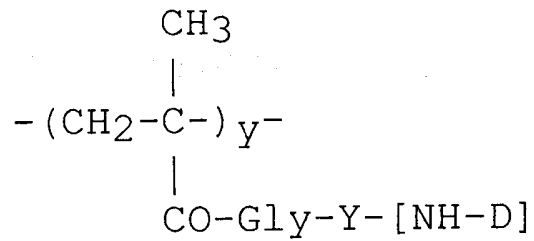
A hagyományos eljárásokkal, például a fentiekben vázolt eljárással kapcsolatban komoly problémát jelent, hogy a doxorubicinnek a doxorubicin polimer konjugátumból történő eltávolítása meglehetősen bonyolult. Ennek a magyarázata abban rejlik, hogy a kötött és a szabad doxorubicin között  $\pi$ -komplexek alakulnak ki; erről az anyagról a korábbiakban már kimutatták, hogy a dialízisben, a molekulaszűrésben és a gélkromatográfiában egyetlen, egységes anyagként viselkedik [J. Feijen et al., J. Controlled Release, 1, 301 (1985)].

A jelen találmány szerinti polimerkötéses antraciklin-rendszerek olyan metakril-polimereken alapulnak, amely metakril-polimerek hidrofil csoportokat, csak az antraciklin aminocsoportjához kapcsolódó peptidil toldaléklán-cokat, valamint szabad sav formájában vagy amidszármazék formájában lévő glicincsoportokat hordoznak. Ezek a rendszerek azért előnyösebbek a technika állásából ismerteknél, mert az antraciklin könnyen szabaddá tehető attól a polimertől, amelyhez eredetileg kötődik. Ezen túlmenően, a találmány szerinti polimerkötéses antraciklinek szélesebb spektrumú tumorellenes aktivitással és kisebb általános toxicitással rendelkeznek, mint a megfelelő szabad antraciklinek.

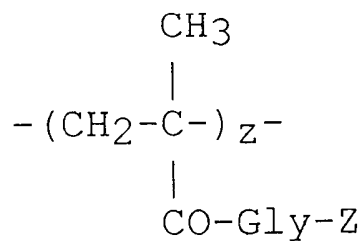
Ennek megfelelően a jelen találmány egy olyan (A) polimerkötéses antraciklint biztosít, amely alapvetően három, az (1), (2) és (3) általános képletű csoportnak megfelelő egységből áll:



(1)



(2)



(3)

amelyekben

Gly jelentése glicin;

n értéke 0 vagy 1;

x értéke 70-98 mol%;

y értéke 1-29 mol%;

z értéke 1-29 mol%;

R<sub>1</sub> jelentése egy vagy több hidroxicsoporttal helyettesített 1-6 szénatomos alkilcsoport;

Y jelentése aminosavcsoport vagy egy peptid híd molekula (spacer);

[NH-D] jelentése egy [NH<sub>2</sub>-D] általános képletű aminoglikozid-antraciklinből származó csoport; valamint

Z jelentése hidroxicsoport vagy egy -NHR<sub>1</sub> általános képletű csoport, amelyben

R<sub>1</sub> jelentése a fentiekben meghatározott.

Az [NH-D] általános képletű aminoglikozid-antraciklin-csoport egy olyan, [NH<sub>2</sub>-D] általános képletű aminoglikozid-antraciklinből származik, amelynek képletében D azt az aminoglikozis struktúrát jelenti, amelyből hiányzik szénhidrát rész aminocsoportja.

A polimerkötéses antraciklin előnyösen 90-98 mol% mennyiségben tartalmazza az (1) általános képletű egységet, 1-10 mol% mennyiségben tartalmazza a (2) általános képletű egységet és 1-10 mol% mennyiségben tartalmazza a (3) általános képletű egységet.

A peptidil-láncok enzimatis in vivo hidrolízise csak a D-NH<sub>2</sub> aktív hatóanyag felszabadulását eredményezi, miközben a 3 egység változatlan formában marad vissza.

Az R<sub>1</sub> jelentésében szereplő alkalmas alkilcsoportok például egy vagy több hidroxicsoporttal helyettesített 1-4 szénatomos alkilcsoportok; ezek példái közé tartoznak — egyebek mellett — a következők: hidroxietil-csoport, 2-hidroxipropil-csoport, valamint 3-hidroxipropil-csoport.

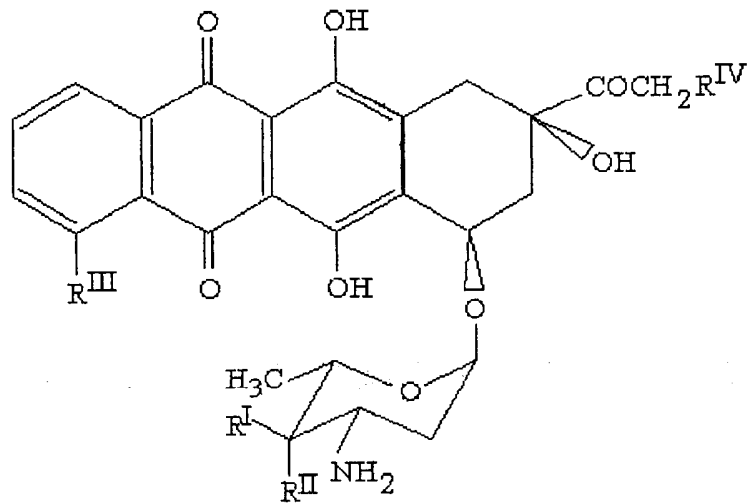
Az Y jelentésében szereplő peptid hídmolekulának érzékenynek kell lennie az intracelluláris hidrolízisre. A hídmolekula azonban rezisztens lehet az extracelluláris hidrolízissel szemben. A peptid hídmolekula 1-10, előnyösen például 2-4 aminosavcsoportnak megfelelő hosszúságú lehet. Jellegzetesen a peptid hídmolekula egy tripeptid vagy egy tetrapeptid.

Az Y peptid hídmolekulát felépítő aminosavak közül azok, amelyek királisak, a D vagy az L optikai izomerként, illetve a D- és az L-izomerek keverékének formájában lehetnek jelen. A leírásban és az igénypontokban a hagyományos, hárombetűs jelölési rendszert alkalmazzuk az aminosavak megkülönböztetésére. Egyéb megjegyzés hiányában a jelölések a királis aminosavak L konfigurációjára utalnak. Az Y peptid hídmolekula racém keverékként vagy valamelyik optikailag tiszta izomer formájában lehet jelen.

Az Y peptid hídmolekulát előnyösen a következők közül választjuk ki: Gly-Phe-Gly, Gly-Leu-Gly, Phe-Leu-Gly, Gly-Phe-Leu-Gly vagy Leu-Leu-Gly, azzal a megkötéssel, hogy

az aminoglikozid-antraciklinhez minden esetben a glicilcsoport kapcsolódik.

Az [NH-D] általános képletű aminoglikozid-antraciklin előnyösen a (Q) általános képlettel jellemezhető [NH<sub>2</sub>-D] általános képletű antraciklin-aminoglikozidból származó csoport:



(Q)

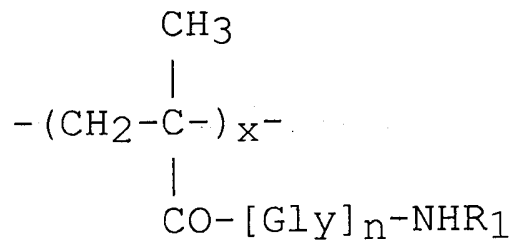
amelyben

R<sup>I</sup> és R<sup>II</sup> egyikének jelentése hidrogénatom és a másik jelentése hidroxicsoport vagy jódatom;  
 R<sup>III</sup> jelentése hidrogénatom vagy metoxicsoport;  
 valamint  
 R<sup>IV</sup> jelentése hidrogénatom vagy hidroxicsoport.

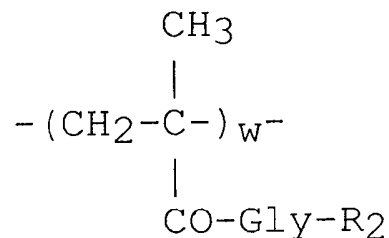
Az  $[\text{NH}_2\text{-D}]$  általános képletű antraciklin-aminoglikozid előnyös példái közé tartoznak — egyebek mellett — a következők: doxorubicin, 4'-epidoxorubicin, 4-demetoxi-daunorubicin, idarubicin, 4'-jód-doxorubicin, valamint 4-dezoxi-doxorubicin.

A találmány kiterjed az alapvetően az (1), (2) és (3) általános képletű egységekből felépülő (A) polimerkötéses antraciklinek előállítására is. Az eljárás a következő lépéseket foglalja magában:

i) egy (B) polimer intermediert — amely alapvetően az (1) és (4) általános képletű egységekből épül fel:



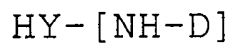
(1)



(4)

amelyekben

x és n értéke, valamint  $R_1$  jelentése a fentiekben meghatározott;  
 $w$  értéke 30-2 mol%; és  
 $R_2$  jelentése hidroxicsoport vagy egy távozócsoport —  
 egy (5) általános képletű

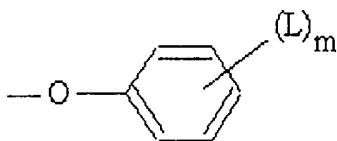


(5)

antraciklin-származékkal — amelyben  
 $[NH-D]$  és Y jelentése a fentiekben meghatározott —  
 reagáltatunk; és

ii) az olyan polimerkötéses antraciklin előállításához, amelyben a (3) általános képletű egységben Z jelentése  $NHR_1$  általános képletű csoport, az i) lépés egy olyan termékét, amelyben  $R_2$  jelentése távozócsoport, egy olyan,  $NH_2R_1$  általános képletű vegyülettel reagáltatjuk, amelyben  $R_1$  jelentése a fentiekben meghatározott.

Az  $R_2$  jelentésében szereplő távozócsoport előnyösen egy olyan fenoxicsoport, amelynek a fenilcsoportját egy vagy több elektronvonzó csoport helyettesíti. Az előnyös elektronvonzó csoportok közé tartozik a nitrocsoport ( $-NO_2$ ) és a halogénatom. Az  $R_2$  előnyösen egy olyan,



általános képletű távozócsoport, amelyben

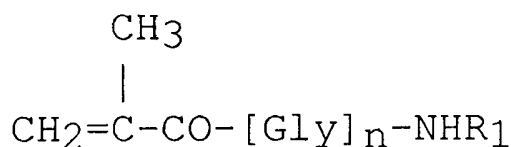
L jelentése egy elektronvonzó csoport, például nitrocsoport vagy halogénatom, így fluoratom vagy klóratom, és

m értéke 1, 2, 3, 4 vagy 5, jellegzetesen 1, 2 vagy 3, előnyösen 1 vagy 2.

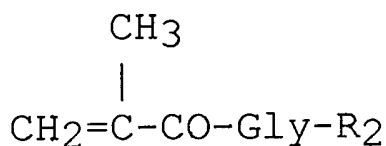
Előnyösen  $R_2$  jelentése *p*-nitro-fenoxi-csoport vagy 2,4-diklór-fenoxi-csoport.

Az (5) általános képletű vegyületek — erősen lipofil jellegüknek köszönhetően — könnyen elkülöníthetők az (A) polimer konjugátumtól. Így a polimerkötéses antraciklinek fentiekben ismertetett, találmány szerinti előállítási eljárása megoldja az antraciklinek polimerekkel végzett hagyományos kondenzálásának legnagyobb problémáját, nevezetesen a szabad antraciklin és a polimerkonjugátum elkülönítésének kérdését.

Az alapvetően az (1) és (4) általános képletű egységekből felépülő, fentiekben ismertetett (B) polimer intermediereket a következő, (6) és (7) általános képletű metakrilóil-vegyületek gyökös kopolimerizálásával állítjuk elő:



(6)



(7)

amelyek képletében  $n$  értéke, valamint  $R_1$  és  $R_2$  jelentése a fentiekben meghatározott.

Néhány, alapvetően az (1) és (4) általános képletű egységekből felépülő polimer a szakirodalomból ismert. Például az olyan (1) általános képletű egységből, amelyben  $R_1$  jelentése  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ ,  $n$  értéke 0, és az olyan (4) általános képletű egységből, amelyben  $R_2$  jelentése  $p$ -nitro-fenoxi-csoport, felépülő (B1) polimert az  $N$ -(2-hidroxi-propil)-metakrilamid [(6a):  $R_1$  jelentése  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ ,  $n$  értéke 0]  $N$ -metakriloil-glicil- $p$ -nitro-fenil-észterrel [(7a):  $R_2$  jelentése  $p$ -nitro-fenoxi-csoport] végzett gyökös precipitációs kopolimerizálásával állítják elő, annak megfelelően, ahogyan azt a következő szakirodalmi helyen a korábbiakban már részletesen ismertették: J. Kopecek, Makromol. Chem., 178, 2159 (1977). Az (1) általános képletű egységekből és az olyan (4) általános képletű egységekből felépülő polimer intermediereket, amely (4) általános képletű egységekben  $R_2$  jelentése hidroxicsoport, gyökös homogén polimerizálással állíthatjuk elő.

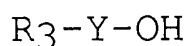
A (6) és (7) általános képletű monomerek közül néhány ismert. Az olyan (6) általános képletű vegyületeket, amelyekben  $n$  értéke 0 és  $R_1$  jelentése egy szekunder hidroxii-

csoportot hordozó alkilcsoport, általában úgy állítják elő, hogy metakriloil-kloridot egy szekunder hidroxicsoportokat hordozó alifás aminnal reagáltatnak. Ezzel szemben az olyan (6) általános képletű vegyületek előállítását, amelyekben  $n$  értéke 0 és  $R_1$  jelentése egy primer hidroxicsoportot hordozó alkilcsoport, metakrilsavból és aminovegyületekből egy kondenzálószer, például 1-etoxi-karbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolin jelenlétében végzik.

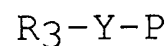
Az (5) általános képletű peptidil-antraciklin-származékok a találmány további tárgyát képezik. Ezeknek a vegyületeknek az előállítási módszerei ismertek. Mivel egy alkalmasan  $N$ -védett peptid antraciklinnel történő reakciója szempontjából lényeges a megfelelő védőcsoport alkalmazása, a peptidil csoport  $N$ -védőcsoportját azok közül a védőcsoportok közül kell kiválasztani, amelyek olyan körülmények között távolíthatók el, amely körülmények képesek az antraciklin stabilitásának biztosítására. Ilyen védőcsoport például a trifenil-metil-csoport.

Az (5) általános képletű peptidil-antraciklin-származékokat egy olyan eljárással állíthatjuk elő, amely eljárás a következő lépésekből áll:

(i) egy (8) vagy egy (9) általános képletű,  $N$ -védett peptidet



(8)



(9)

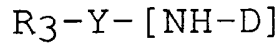
— amelyek képletében

$R_3$  jelentése egy savérzékeny aminovédő csoport;

$P$  jelentése távozócsoport; és

$Y$  jelentése aminosavcsoport vagy egy fentiekben meghatározott peptid hídmolekula —

egy  $[NH_2-D]$  általános képletű, fentiekben meghatározott antraciklin-aminoglikoziddal reagáltatunk, s így egy (10) általános képletű intermediert állítunk elő



(10)

— amelyben  $[NH-D]$ ,  $Y$  és  $R_3$  jelentése a fentiekben meghatározott —, és

(ii) az  $R_3$  védőcsoport eltávolításával egy szabad bázis formájában lévő, (5) általános képletű peptidil-antraciklin-származékot állítunk elő.

A  $P$  távozócsoport azonos lehet az  $R_2$  jelentése során meghatározott és példaszerűen megadott csoportokkal. Ezen túlmenően  $P$  jelentése lehet még pentafluor-fenoxi-csoport vagy  $N$ -hidroxiszukcinimido-csoport is. Az  $R_3$  jelentésében megadott savérzékeny védőcsoportok példái közé tartozik — egyebek mellett — a tritilcsoport és a difenil-amino-csoport.

A (8) és a (9) általános képletű peptidil-származékokat a peptidekre vonatkozó szakirodalomból ismert, stan-

dard szintetikus módszerek segítségével állítjuk elő. Az aminocsoportoknak savérzékeny csoportokkal, például trifenil-metil-csoporttal történő védését általában a következő szakirodalmi helyen ismertetteknek megfelelően valósítjuk meg: Theodoropoulos et al., J. Org. Chem., 47, 1324 (1982). A racemizálódás elkerülése érdekében a (8), (9) és (10) általános képletű vegyületek előállításánál alkalmazott reakciókörülményeket előre, gondosan meg kell tervezni; ebben az esetben az előállított peptidil-származékokat a kiindulási aminosavakéval azonos konfigurációban nyerjük.

Az (5) általános képletű antraciklin-származékok előállítása érdekében egy (9) általános képletű vegyületet egy antraciklin-hidrokloriddal vízmentes poláros oldószerben, például *N,N*-dimetil-formamidban és egy szerves bázis, például trietil-amin ekvivalens mennyiségének jelenlétében, például szobahőmérsékleten 15 órán keresztül reagáltatunk, majd az így nyert (10) általános képletű intermediert kromatográfiás úton tisztítjuk és ezt követően a védőcsoportoknak például 75 %-os vizes ecetsavban szobahőmérsékleten végzett eltávolításával egy (5) általános képletű származékot nyerünk.

Meg kell jegyeznünk, hogy a C-14 helyzetben hidroxicsoporthoz hordozó antraciklinek, így a doxorubicin és a 4'-epidoxorubicin hidrokloridsó formájának és a (9) általános képletű aktivált peptidil-származékoknak az antraciklinek 3'-amino-csoportjának deblokkolásához szükséges szerves bázis jelenlétében végzett reakciója egy (10) általános kép-

letű származéknak és olyan antraciklineknek a keverékét eredményezi, amely antraciklineknek a cukorrész aminocsoportja és a C-14 helyzete egyaránt helyettesített. A bisz-(3'-N,14-O-peptidil)-származékokat kromatográfiás úton távolítjuk el a keverékből.

A (10) általános képletű vegyületeket úgy is előállíthatjuk, hogy egy (8) általános képletű N-védett peptidet egy hidrokloridsó formájában lévő antraciklinnel száraz, poláros oldószerben, például dimetil-szulfoxidban, egy kondenzálószer, például 1-etoxi-karbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolin ekvivalens mennyiségének a jelenlétében kondenzáltunk. Ez az eljárás nem eredményezi a a C-14 helyzetben hidroxicsoportot hordozó antraciklinek bisz(peptidil)-származékait.

A (B) intermediernek (5) általános képletű peptidil-antraciklin-származékokkal végzett kondenzációja, majd adott esetben a visszamaradó távozócsoportok eltávolítása az alapvetően (1), (2) és (3) általános képletű egységekből felépülő, polimerkötéses antraciklineket eredményezi. Nyomatékosan hangsúlyozni kívánjuk, hogy ez az eljárás kiküszöböli a primer hidroxicsoportok és az aktivált glicil-észterek közötti észterképződést.

Az olyan, polimerkötéses (A) hatóanyagokat, amelyekben a (3) általános képletű egység Z csoportja egy a fentiekben meghatározott  $-NHR_1$  általános képletű csoport, előnyösen úgy állítjuk elő, hogy egy olyan (B) intermediert,

amelyben  $R_2$  jelentése egy a fentiekben meghatározott távozócsoport, egy (5) általános képletű antraciklin-származékkal reagáltatunk vízmentes, poláros, szerves oldószerben, például *N,N*-dimetil-formamidban vagy dimetil-szulfoxidban. A reakciót jellegzetesen 8-24 óra alatt tehetjük teljessé. A reakciót jellegzetesen 15 °C és 30 °C közötti hőmérséklet-tartományban, előnyösen szobahőmérsékleten 15 órán keresztül végezzük, majd a visszamaradó távozócsoportokat úgy távolítjuk el, hogy a konjugátumot egy a fentiekben meghatározott  $NH_2R_1$  általános képletű vegyülettel reagáltatjuk 0,5-3 órán keresztül szobahőmérsékleten.

Az olyan, polimerkötéses (A) hatóanyagokat, amelyekben a (2) általános képletű egység Z csoportja hidroxicsoport, előnyösen úgy állítjuk elő, hogy egy olyan (B) intermediert, amelyben  $R_2$  jelentése hidroxicsoport, egy (5) általános képletű antraciklin-származékkal reagáltatunk vízmentes, poláros, szerves oldószerben, például *N,N*-dimetil-formamidban vagy dimetil-szulfoxidban. A reakciót jellegzetesen 8-24 óra alatt tehetjük teljessé. A reakciót jellegzetesen 15 °C és 30 °C közötti hőmérséklet-tartományban, előnyösen szobahőmérsékleten 15 órán keresztül végezzük.

Például egy olyan, polimerkötéses antraciklin előállítására érdekelünk, amelyben Z jelentése egy a fentiekben meghatározott  $-NHR_1$  általános képletű csoport, egy olyan (B) intermediert, amelyben  $R_2$  jelentése távozócsoport, például *p*-nitro-fenoxi-csoport, szobahőmérsékleten, 15 órán keresztül egy (5) általános képletű peptidil-antraciklinnel rea-

gáltatunk. A (B) intermediert alkalmasan 14 tömeg/térfogat% koncentrációban, míg az (5) általános képletű peptidil-antraciklint alkalmasan 2,3 tömeg/térfogat% koncentrációban alkalmazzuk. Ezt követően jellegzetesen 0,1 tömeg/térfogat% koncentrációban egy a fentiekben meghatározott  $\text{NH}_2\text{R}_1$  általános képletű vegyületet adunk az előbbi keverékhez, és az így nyert reakciókeveréket 3 órán keresztül szobahőmérsékleten tartjuk. A konjugátumot acetonnal precipitáljuk, jellegzetesen 8 tömeg% koncentrációban alkalmazott abszolút etanollal feloldjuk, majd acetonnal ismét kicsapjuk, s így a kívánt, polimerkötéses antraciklint nyerjük.

A fentiekben ismertetett eljárás során azért kerülhető el a C-14 hidroxicsoportot hordozó antraciklin és a függő, aktivált glicil-észter közötti észterképződés, mivel a kondenzálási eljárásban semmiféle szerves bázist nem alkalmazunk.

Egy másik példa szerint, az olyan (A) polimerkötéses antraciklinek előállítását, amelyekben Z jelentése hidroxicsoport, úgy végezhetjük, hogy egy olyan, a fentiekben meghatározott (B) intermediert, amelyben  $\text{R}_2$  jelentése hidroxicsoport, vízmentes dimetil-szulfoxidban szobahőmérsékleten és 15 órán keresztül egy (5) általános képletű peptidil-antraciklinnel reagáltatunk. A (B) intermediert alkalmasan 14 tömeg/térfogat% koncentrációban, míg az (5) általános képletű peptidil-antraciklint alkalmasan 2,3 tömeg/térfogat% koncentrációban alkalmazzuk. A konjugátumot acetonnal precipitáljuk, jellegzetesen 8 tömeg% koncentrációban alkalmazott

abszolút etanollal feloldjuk, majd acetonnal ismét kicsapjuk, s így a fentiekben meghatározott (A) polimerkötéses antraciklint nyerjük.

Az (A) konjugátumok antraciklin-tartalmát a kötött antraciklinből savas hidrolízis útján felszabadított aglikon analízisének segítségével határozzuk meg. Ennek megfelelően az adriamycinon a doxorubicin és a 4'-epirubicin aglikonrésze, míg a 4-demetoxi-daunorubicin esetén a 4-demetoxi-daunomycinon jelenti az aglikoncsoportot.

A találmány szerinti polimerkötéses antraciklinek rendkívül jó vízoldékonysággal, biokompatibilitással, valamint fiziológiás pH stabilitással rendelkeznek, és a lizoszomális enzimekkel végzett inkubálás után a [D-NH<sub>2</sub>] általános képletű szabad, aktív hatóanyag igen eredményesen felszabadul.

A szabad antraciklinnel összehasonlítva a találmány szerinti (A) vegyületek a kísérleti modellekben fokozott tumorellenes aktivitást mutatnak, illetve csökkentett általános toxicitással bírnak.

Az (A) polimerkötéses antraciklinek tumorellenes aktivitással rendelkeznek. Ennek eredményeképpen kezelni lehet egy humán vagy egy állati szervezetet egy olyan eljárás segítségével, amelynek során a kezelendő szervezetbe egy (A) polimerkötéses antraciklin terápiás szempontból hatásos mennyiségét juttatjuk be. Ezáltal a humán személy vagy az állat állapota javítható.

Az alkalmazott dózistartomány a beadási módtól, valamint a kezelendő személy, illetve állat korától, testtömegétől és állapotától függ. Az (A) polimerkötéses antraciklineket jellegzetesen parenterális úton, például intramuszkulárisan, intravénásan vagy bolus infúzió útján adjuk be. Az egyik alkalmas dózistartomány  $5-800 \text{ mg/m}^2$  antraciklin ekvivalensnek felel meg, például  $20-50 \text{ mg/m}^2$  közötti értékű. Az alkalmas előírások szerint egy  $25 \text{ mg}$  antraciklin ekvivalens/ $\text{m}^2$  oldatot kéthetes időtartományban az 5., 9., valamint a 15. napon  $10 \text{ ml}/(\text{testömeg kg})$  térfogatban intravénásan adunk be.

A találmány szerinti (A) polimerkötéses antraciklineket egy gyógyszerészeti szempontból elfogadható hordozóanyaggal vagy hígítószerrel együttesen gyógyászati készítményekké formálhatjuk. Jellegzetesen a polimerkötéses antraciklineneket parenterális beadásra alkalmas készítményekké formáljuk, például steril vízben vagy injekciós vízben történő oldással.

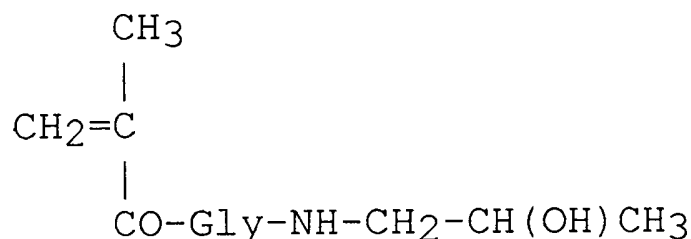
A következő példák további részletekkel illusztrálják a találmányt.

Az 1-6. Példa a (6) és (7) általános képletű monomerek, valamint a (B) polimer intermedierek előállítására szolgáló szintetikus eljárásokra vonatkozik.

1. Példa

[N-(metakriloil-glicil)]-2-hidroxi-propil-amid

(6b)



(6b)

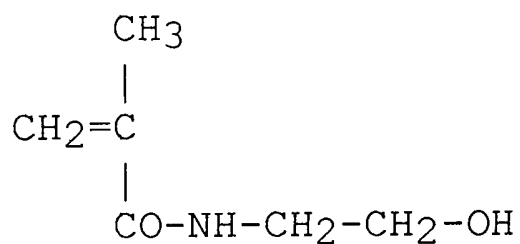
A Makromol. Chem., 178, 2159 (1977) szakirodalmi helyen ismertetett módon előállított metakriloil-glicil-p-nitro-fenil-észtert [(7a): 5,28 g; 20 mmol] feloldottuk vízmentes tetrahidrofuránban (20 ml), majd 1-amino-2-hidroxi-propánnal (3,2 ml; 40 mmol) reagáltattuk. Húsz perces, szobahőmérsékleten végzett reakciót követően az oldószert csökkentett nyomás alatt eltávolítottuk, és a (6b) címvegyületet aceton/dietil-éter oldószerkelegetből végzett kristályosítás után 3,3 g mennyiségben (82,5 %-os kitermeléssel) nyertük.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 90:10 térfogatarányú metilén-klorid/aceton oldószerkeleget alkalmaztunk:

R<sub>f</sub> = 0,47.

2. Példa[N-(metakriloil-glicil)]-hidroxi-etil-amid

(6c)



(6c)

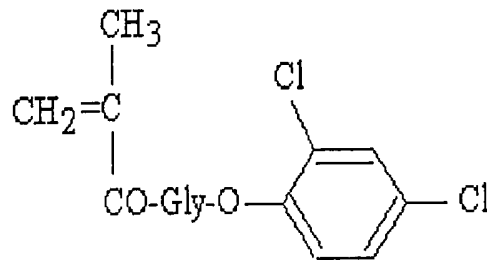
1-Etoxi-karbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolin (37 g; 0,15 mol) és amino-etanol (9,75 g; 0,15 mol) vízmentes toluollal (150 ml) készült, kevertetett oldatához cseppenként, 15 perc alatt vízmentes toluolban (300 ml) oldott metakrilsavat (14 ml; 0,165 mol) adagoltunk. A reakciókeveréket 24 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük. A (6c) címvegyületet *n*-hexánnal végzett kicsapást követően nyertük ki.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 90:10 térfogatarányú metilén-klorid/aceton oldószerkeletet alkalmaztunk:

$R_f = 0,35$ .

3. Példa[N-(metakriloil-glicil)]-2,3-diklór-fenil-észter

(7b)



(7b)

A (7b) címvegyületet a Makromol. Chem., 178, 2159 (1977) szakirodalmi helyen ismertetteknek megfelelően előállított metakriloil-glicinből (2,66 g; 20 mmol) és 2,4-diklór-fenolból (3,26 g; 20 mmol) állítottuk elő, vízmentes tetrahydrofuranban (50 ml), és 1,3-diciklohexil-karbodiimid (DCC) (4,2 g; 21 mmol) jelenlétében végzett reakcióval.

A 4,7 g mennyiségben (82 %-os kitermeléssel) előállított (7b) vegyületet etil-acetát és *n*-hexán elegyből kristályosítottuk.

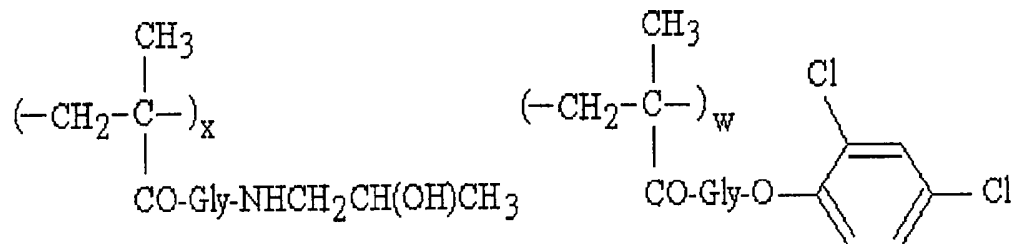
A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként dietil-étert alkalmaztunk:

R<sub>f</sub> = 0,47.

5. Példa

Az [N-(metakriloil-glicil)]-2-hidroxi-propanol-amid és az N-(metakriloil-glicil)-2,4-diklór-fenil-észter kopolimere

(B3)



(B3)

A (6b) vegyületet (14,4 g; 72 mmol) és a (7b) vegyületet (5,19 g; 18 mmol) vízmentes acetonban (300 ml) és  $\alpha,\alpha'$ -azo-izobutironitril (1 g; 6 mmol) jelenlétében a Makromol. Chem., 178, 2159 (1977) szakirodalmi helyen ismertetteknek megfelelően a (B3) címvegyületté polimerizáltunk.

A polimer anyagot kiszűrtük a reakciókeverékből, feloldottuk abszolút etanolban, majd acetonnal precipitáltuk.

Klórtartalom (tömeg):

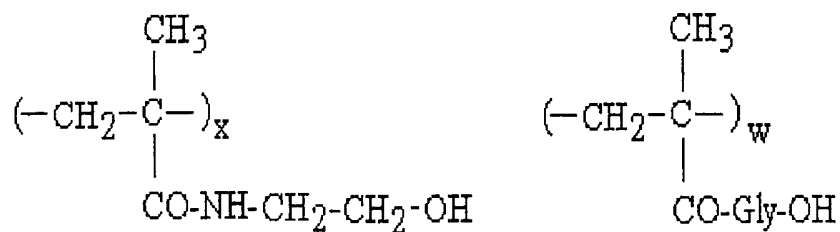
számított = 6,89 mol%;

talált = 2,84 mol%.

6. Példa

Az [N-(metakriloil-glicil)]-hidroxi-etil-amid és  
az N-metakriloil-glicin kopolimere

(B4)



(B4)

A címben szereplő (B4) polimer intermediert a 2. Példában ismertetetteknek megfelelő eljárás segítségével N-metakriloil-amid-2-hidroxi-etánból [(6c): 23,2 g; 0,18 mol], metakriloil-glicinből (2,86 g; 20 mmol) és  $\alpha, \alpha'$ -azo-izobutironitrilből (5,9 g) vízmentes metanolban (164 ml) állítottuk elő.

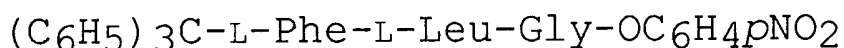
Karboxicsoport-tartalom (tömeg): 10 %.

A 7-12. Példa az (5) általános képletű peptidil-antraciklinek előállításai eljárásaira vonatkozik.

7. Példa

N-Tritil-L-fenil-alanil-L-leucil-glicil-  
-4-nitro-fenil-észter

(9a)



(9a)

A J. Org. Chem., 47, 1324 (1982) szakirodalmi helyen ismertetteknek megfelelően előállított N-tritil-L-fenil-alanint (20,3 g; 50 mmol) feloldottuk vízmentes tetrahidrofuránban (150 ml), majd vízmentes N-hidroxi-benztriazolt (8 g) adtunk az oldathoz. A keveréket 0 °C hőmérsékletre hűtöttük, majd 10 perc elteltével cseppenként hozzáadtuk L-leucil-glicin-etil-észter-p-toluolszulfonát-só (20 g; 50 mmol) vízmentes tetrahidrofurán (100 ml) és N-metil-morfolin (7 ml) elegyével készült oldatát. A reakciókeveréket egy órán keresztül 0 °C hőmérsékleten, majd egy éjszakán át szobahőmérsékleten tartottuk, ezt követően szűrtük és az oldószert csökkentett nyomás alatt eltávolítottuk. A nyers reakcióterméket feloldottuk etil-acetátban, sorrendben mostuk hideg, 5 tömeg%-os vizes citromsavoldattal (3 × 100 ml), hideg, 5 tömeg%-os vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és vízzel, majd betöményítettük és 99:1 térfogatarányú metilén-

-klorid/metanol oldószerkeleg eluensként történő alkalmazása mellett a maradékot szilikagélen kromaotografáltuk. Ennek eredményeképpen az *N*-tritol-*L*-fenil-alanil-*L*-leucil-glicin-*-etil-észtert* 18 g (30 mmol) mennyiségben nyertük, amelyet 95 térfogat%-os etanolban (400 ml) 1 N nátrium-hidroxid-oldattal (30 ml) 2 órán keresztül szobahőmérsékleten reagáltatva a megfelelő (8a) savvá alakítottunk át.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 80:20 térfogatarányú metilén-klorid/metanol oldószerkelegyet alkalmaztunk:

$R_f = 0,53$ .

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

0,88 (d,  $J = 5,9$  Hz, 6H,  $\delta + \delta'$ Leu); 1,2-1,6 (m, 3H,  $\beta + \text{Leu}$ ); 2,00 (dd,  $J = 5,7$  Hz,  $J = 13,4$  Hz, 1H,  $\beta$ Phe); 2,83 (dd,  $J = 5,2$  Hz,  $J = 13,4$  Hz, 1H,  $\beta'$ Phe); 3,51 (t,  $J = 5,4$  Hz, 1H,  $\alpha$ Phe), 3,99 (d,  $J = 4,4$  Hz, 2H,  $\alpha + \alpha'$ Gly); 4,55 (m, 1H,  $\alpha$ Leu); 6,8-7,4 (m, 22H, NHGly, NHLeu, 4-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

A (8a) vegyületet feloldottuk vízmentes tetrahidrofuránban (450 ml), majd *p*-nitro-fenolt (5,5 g; 40 mmol) adtunk hozzá. A keveréket 0 °C hőmérsékletre hűtöttük, s ezt követően 1,3-diciklohexil-karbodiimid (DCC) (8,24 g; 40 mmol) oldatát csepegtettük hozzá, majd a reakciókeveréket egy éjszakán keresztül 4 °C hőmérsékleten tartottuk. A reak-

ciókeveréket szűrtük és az oldószert csökkentett nyomás alatt eltávolítottuk.

A maradékot feloldottuk etil-acetátban, majd 0 °C hőmérsékletre hűtöttük. Egy óra elteltével a keveréket szűrtük, majd az oldószert eltávolítottuk. Dietil-éterből végzett kristályosítást követően a (9a) címvegyületet 20 g mennyiségben (97 %-os kitermeléssel) nyertük.

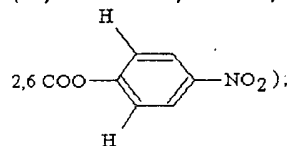
A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként dietil-étert alkalmaztunk:

R<sub>f</sub> = 0,80.

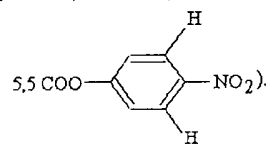
FD-MS: m/z 699 [M+H]<sup>+</sup>

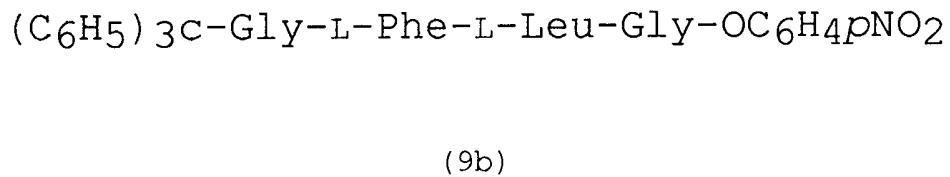
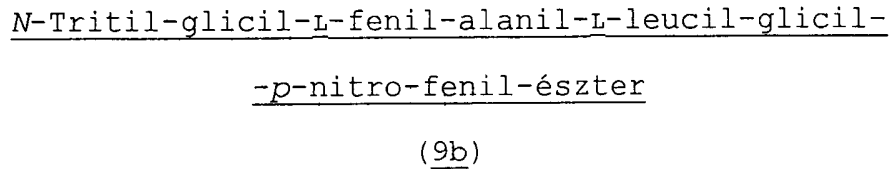
<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

0,86 (d, J = 6,2 Hz, 3H, δLeu); 0,88 (d, J = 6,4 Hz, 3H, δ'Leu); 1,2-1,8 (m, 3H, β+Leu); 1,90 (dd, J = 5,9 Hz, J = 13,5 Hz, 1H, βPhe); 2,89 (dd, J = 4,6 Hz, J = 13,5 Hz, 1H, β'Phe); 3,52 (dd, J = 4,6 Hz, J = 5,9 Hz, 1H, αPhe); 4,0-4,4 (m, 3H, αLeu, α+α'Gly); 6,78 (t, J = 5,7 Hz, 1H, NHGly); 7,04 (d, J = 7,7 Hz, 1H, NHLeu); 6,8-7,4 (m, 22Hz, 4-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> és



8,25 (m, 2H,



8. Példa

A 7. Példában ismertetetteknek megfelelően előál-  
lított *N*-tritol-L-fenil-alanil-L-leucil-glicil-4-nitro-fenil-  
-észter intermediert (6 g; 10 mmol) szobahőmérsékleten egy  
órán keresztül vizes, 75 %-os ecetsavoldattal reagáltattuk,  
s így az L-fenil-alanil-L-leucil-glicil-etil-észtert nyertük,  
amelyet *N*-hidroxibenzotriazol és 1,3-diciklohexil-karbodi-  
imid jelenlétében *N*-tritol-glicinnel (3 g; 10 mmol) reagál-  
tattunk. Az etilészter hidrolízise és *p*-nitro-fenollal vég-  
zett, a 7. Példában ismertetett aktiválása után a (9b) cím-  
vegyületet 3,8 g mennyiségben (50 %-os kitermeléssel) nyer-  
tük.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vé-  
konyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként dietil-  
-étert alkalmaztunk:

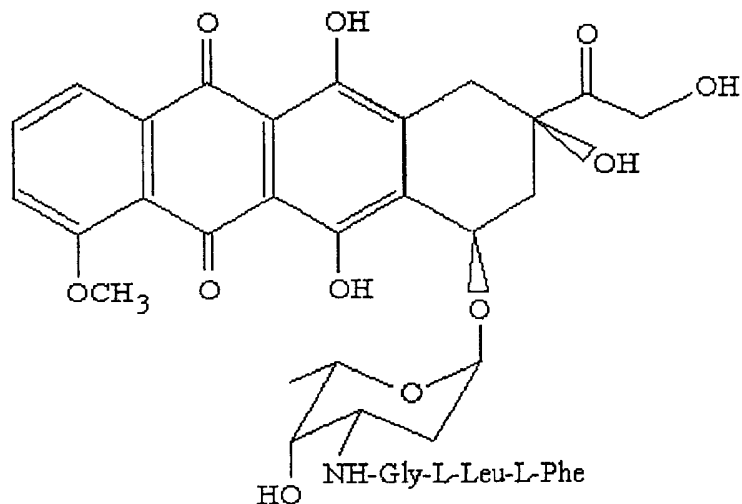
$$R_f = 0,63.$$

FD-MS:  $m/z$  755  $[M+H]^+$ .

## 9. Példa

3'-N-(Glicil-L-leucil-L-fenil-alanil)-doxorubicin

(5a)



(5a)

Doxorubicin-hidrokloridot (2,9 g; 5 mmol) vízmentes *N,N*-dimetil-formamid (50 ml) és trietil-amin (0,5 ml) elegyében oldottunk, majd az oldathoz a 7. Példa szerinti eljárással előállított *N*-tritol-fenil-alanil-leucil-glicil-*p*-nitro-fenil-észtert [(9a): 3,5 g; 5 mmol] adtunk. A reakciókeveréket egy éjszakán keresztül szobahőmérsékleten tartottuk, majd dietil-éter és *n*-hexán 1:1 térfogatarányú elegyével kicsapást végeztünk. A szilárd anyagot — eluensként metilén-klorid/metanol 98:2 térfogatarányú oldószerkeletet alkalmazva — szilikagél oszlopon tisztítva a (10a) *N*-védett peptidil-doxorubicint 4,6 g mennyiségben nyertük.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 95:5 térfogatarányú metilén-klorid/metanol oldószerkeletet alkalmaztunk:

$R_f = 0,35$ .

FD-MS:  $m/z$  1103  $[M+H]^+$ .

A (10a) vegyületet 75 %-os, vizes ecetsavoldattal (250 ml) egy órán keresztül szobahőmérsékleten oldottuk, majd az oldatot víz és metilén-klorid 1:1 térfogatarányú keverékével (2500 ml) meghígítottuk, és a pH-t szilárd nátrium-hidrogén-karbonáttal 7-es értékre állítottuk be. A szerves fázist elválasztottuk, és az oldószer csökkentett nyomás alatt eltávolítottuk. Az (5a) címvegyületet 3,45 g mennyiségben (80 %-os kitermeléssel) állítottuk elő.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 80:20:7:3 térfogatarányú metilén-klorid/metanol/ecetsav/víz oldószerkeletet alkalmaztunk:

$R_f = 0,5$ .

FD-MS:  $m/z$  861  $[M+H]^+$ .

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO):

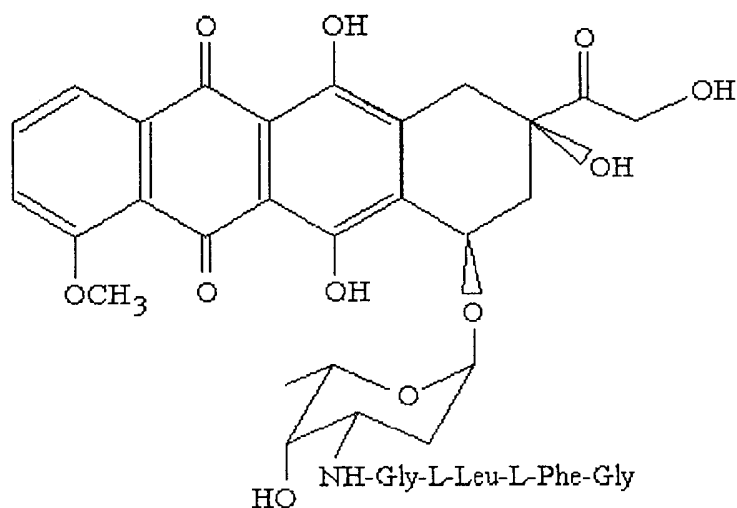
0,80 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H,  $\delta_{Leu}$ ); 0,83 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H,  $\delta'_{Leu}$ ); 1,10 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H, 6'CH<sub>3</sub>); 1,3-1,6 (m, 4H,  $\beta+_{Leu}$  és 2'ekvH); 1,83 (ddd,  $J = 2,8$  Hz,  $J = 13,2$  Hz,  $J = 13,2$  Hz, 1H, 2'axH); 2,09 (dd,  $J = 6,0$  Hz,  $J = 14,5$  Hz, 1H, 8axH); 2,18 (d,  $J = 14,5$  Hz, 1H, 8ekvH); 2,8-3,2 (m, 4H, 10CH<sub>2</sub> és

$\beta$ Phe); 3,36 (m, 1H, 4'H); 3,64 (m, 2H,  $\alpha$ Gly); 3,95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,9-4,1 (m, 2H, 3'H és  $\alpha$ Phe); 4,15 (q, J = 6,4 Hz, 1H, 5'H); 4,29 (q, J = 7,7 Hz, 1H,  $\alpha$ Leu); 4,55 (s, 2H, 14CH<sub>2</sub>); 4,7-5,0 (m, 3H, 7H, 4'OH és 14OH); 5,20 (d, J = 3,4 Hz, 1H, 1'H); 5,46 (s, 1H, 9OH); 7,1-7,3 (m, 5H, Ar-Phe); 7,54 (d, J = 8,5 Hz, 1H, 3'NH); 7,63 (m, 1H, 3H); 7,88 (m, 2H, 1H és 2H); 8,17 (m, 4H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup> és NHGly); 8,70 (d, J = 8,1 Hz, 1H, NHLeu); 13,23 (s, 1H, 11OH); 14,00 (s, 1H, 6OH).

### 10. Példa

#### 3'-N-(Glicil-L-leucil-L-fenil-alanil-glicil)-doxorubicin

(5b)



(5b)

Doxorubicin-hidrokloridot (2,9 g; 5 mmol) a 8. Példa szerinti eljárással előállított *N*-tritol-glicil-L-fenil-alanin-L-leucil-glicil-p-nitro-fenil-észterrel [(9b):

3,8 g; 5 mmol] reagáltattunk, majd ezt követően a 9. Példa szerinti eljárásnak megfelelően 75 %-os vizes ecetsavoldattal kezeltük. Ennek eredményeképpen az (5b) címvegyületet 4 g mennyiségben (90 %-os kitermeléssel) nyertük.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 80:20:7:3 térfogatarányú metilén-klorid/metanol/ecetsav/víz oldószerkeletet alkalmaztunk:

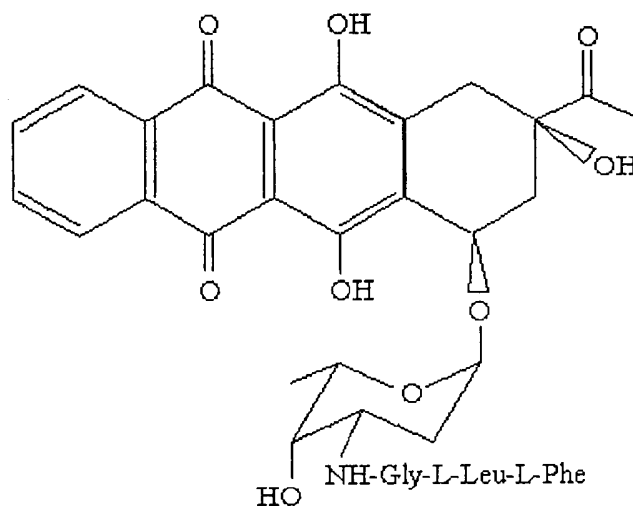
R<sub>f</sub> = 0,44.

FD-MS: m/z 938 [M+H]<sup>+</sup>.

### 11. Példa

#### 4-Demetoxi-3'-N-(glicil-L-leucil-L-fenil-alanil)- -daunorubicin

(5c)



(5c)

Az (5c) címvegyületet 3 gramm mennyiségben (75 %-os kitermeléssel) 4-demetoxi-daunorubicin-hidrokloridból (2,9 g; 5 mmol) és N-tritil-fenil-alanil-leucil-glicil-p-

-nitro-fenil-észterből [(9a): 3,5 g; 5 mmol] ugyanazzal az eljárással állítottuk elő, mint amelyet a 9. Példában ismertettünk.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 80:20:7:3 térfogatarányú metilén-klorid/metanol/ecetsav/víz oldószerkeletet alkalmaztunk:

R<sub>f</sub> = 0,51.

FD-MS: m/z 815 [M+H]<sup>+</sup>.

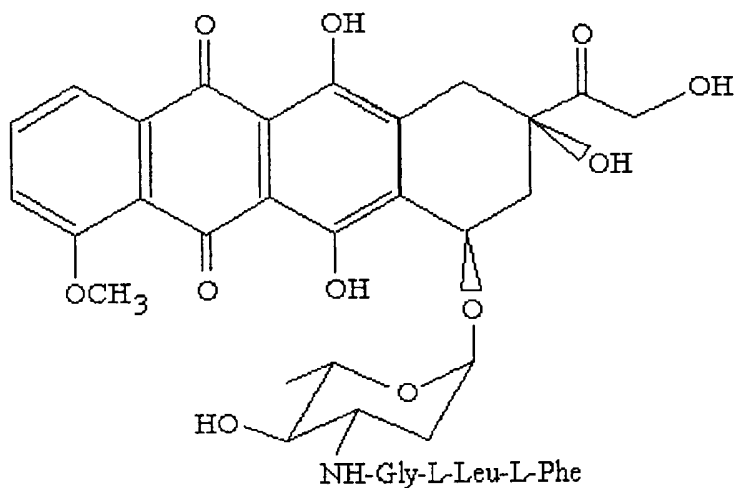
<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

0,84 (d, J = 6,0 Hz, 3H, δLeu); 0,88 (d, J = 6,0 Hz, 3H, δ'Leu); 1,27 (d, J = 6,4 Hz, 3H, 6'CH<sub>3</sub>); 1,4-1,7 (m, 3H, β+Leu); 1,7-2,0 (m, 2H, 2'CH<sub>2</sub>); 2,06 (dd, J = 4,2 Hz, J = 14,9 Hz, 1H, 8axH); 2,32 (d, J = 14,9 Hz, 1H, 8ekvH); 2,40 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>); 2,70 (dd, J = 8,6 Hz, J = 13 Hz, 1H, βPhe); 3,12 (dd, J = 4,2 Hz, J = 13,7 Hz, 1H, β'Phe); 2,94, 3,23 (két d, J = 19,2 Hz, 2H, 10CH<sub>2</sub>); 3,5-3,8 (m, 3H, 4'H, αPhe és αGly); 3,9-4,3 (m, 4H, α'Gly, αLeu, 5'H, 3'H); 5,19 (m, 1H, 7H); 5,45 (d, J = 2,7 Hz, 1H, 1'H); 6,9-8,4 (m, 12H, 1H, 2H, 3H, 4H, ArPhe, 3'NH, NHGly, NHLeu).

12. Példa

4'-Epi-3'-N-(glicil-L-Leucil-L-fenil-alanil)-doxorubicin

(5d)



(5d)

Az (5d) címvegyületet 3,25 gramm mennyiségben (86 %-os kitermeléssel) 4-epidoxorubicin-hidrokloridból (2,9 g; 5 mmol) és *N*-tritol-fenil-alanil-leucil-glicil-*p*-nitro-fenil-észterből [(9a): 3,5 g; 5 mmol] ugyanazzal az eljárással állítottuk elő, mint amelyet a 9. Példában ismertettünk.

A Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck) lemezen végrehajtott vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat során eluensként 80:20:7:3 térfogatarányú metilén-klorid/metanol/ecetsav/víz oldószerkeletet alkalmaztunk:

R<sub>f</sub> = 0,46.

FD-MS: m/z 861 [M+H]<sup>+</sup>.

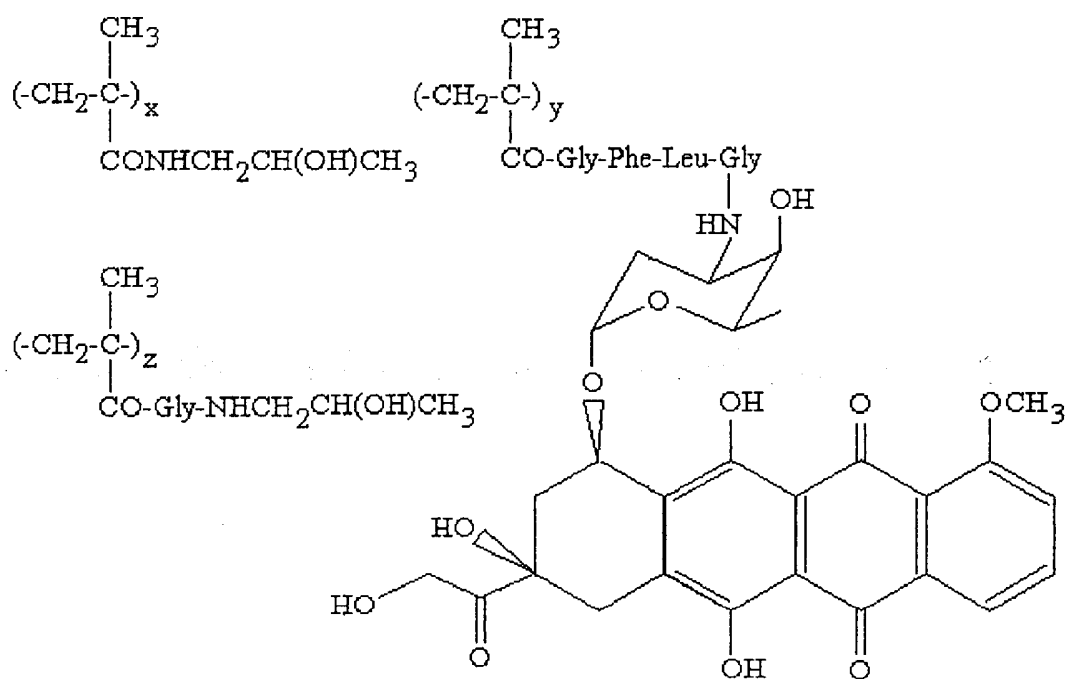
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO):

0,79 (d, J = 6,3 Hz, 3H, δLeu); 0,81 (d, J = 6,3 Hz, 3H, δ'Leu); 1,19 (d, J = 5,9 Hz, 3H, 6'CH<sub>3</sub>); 1,3-1,6 (m, 4H, 2'axH, β,β'Leu, Leu); 1,82 (dd, J = 4,7 Hz, J = 12,5 Hz, 1H, 2'ekvH); 2,1-2,3 (m, 2H, 8-CH<sub>2</sub>); 2,59 (dd, J = 8,2 Hz, J = 13,7 Hz, 1H, βPhe); 2,9-3,1 (m, 4H, β'Phe, 10-CH<sub>2</sub>, h'H); 3,41 (dd, 4,7 Hz, J = 8,2 Hz, αPhe); 3,54 (dd, J = 5,5 Hz, J = 16,4 Hz, 1H, αGly); 3,67 (dd, J = 6,2 Hz, J = 16,4 Hz, 1H, α'Gly); 3,80 (m, 1H, 3'H); 3,90 (m, 1H, 5'H); 3,95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,18 (m, 1H, αLeu); 4,55 (m, 2H, 14-CH<sub>2</sub>); 4,3-5,0 (m, 3H, 14-OH, 7H, 4'-OH); 5,17 (d, J = 3,1 Hz, 1H, 1'H); 5,46 (s, 1H, 9-OH); 7,1-7,3 (m, 5H, Ar-Phe); 7,53 (d, J = 8,2 Hz, 1H, NH-Gly); 7,60 (m, 1H, 3H); 7,86 (m, 2H, 1H, 2H); 8,05 (d, J = 6,4 Hz, 1H, NH-Leu); 8,11 (t, J = 5,9 Hz, 1H, NH-Gly).

14. Példa

A 3-metakriloil-amino-2-hidroxi-propán,  
a 3'-N-(metakriloil-glicil-L-fenil-alanil-leucil-glicil)-  
-doxorubicin és  
az (N-metakriloil-glicil)-2-hidroxi-propanol-amid kopolimere

(A2)



(A2)

A Makromol. Chem., 178, 2159 (1977) szakirodalmi helyen ismertetett eljárással előállított (B1) polimer prekurzort (10 g; a *p*-nitro-fenil-észter  $2,7 \times 10^{-3}$  ekvivalen-se) feloldottuk száraz *N,N*-dimetil-formamidban (60 ml), majd 3'-*N*-(glicil-leucil-L-fenil-alanil)-doxorubicint [(5a): 1,53 g; 1,72 mmol] adtunk az oldathoz. A keveréket 24 órán ke-

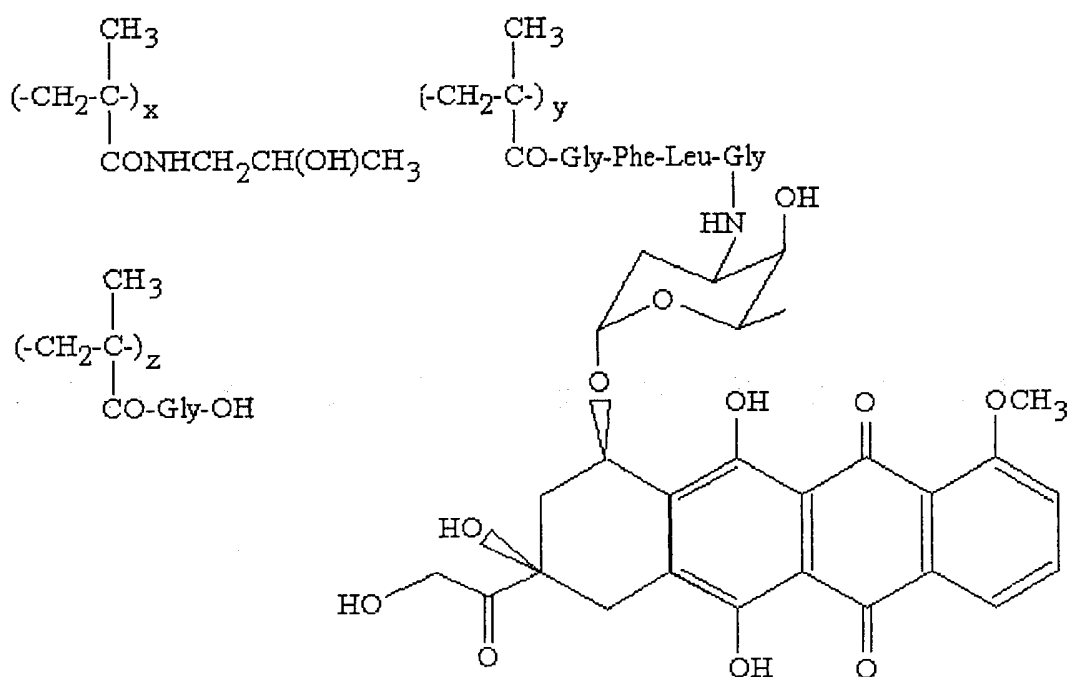
resztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd 1-amino-propa-  
nolt (0,13 ml) adtunk hozzá. Egy óra elteltével a reakcióke-  
veréket hozzáadtuk aceton és dietil-éter 3:1 térfogatarányú  
kevertetett elegyéhez (1,2 liter), majd az egész keveréket  
szűrtük. A csapadékot feloldottuk etanolban (150 ml), majd  
aceton és dietil-éter 1:4 térfogatarányú elegyével (1,2 li-  
ter) kicsapást végeztünk. Ennek eredményeképpen az (A2) kép-  
letű polimer vegyületet 10 gramm mennyiségben nyertük.  
Doxorubicin-hidroklorid-tartalom: 9 tömeg%.

A 13-18. Példa az (A) általános képletű polimerkö-  
téses antraciklinek előállítására szolgáló eljárásokat il-  
lusztrálja.

13. Példa

A 3-metakriloil-amino-2-hidroxi-propán,  
a 3'-N-(metakriloil-glicil-L-fenil-alanil-L-leucil-glicil)-  
doxorubicin és  
az N-metakriloil-glicin kopolimere

(A1)



(A1)

A 4. Példa szerinti eljárással előállított (B2) polimer prekuzort (7,15 g; a  $-\text{COOH}$  5 mmol-ja) és a 3'-N-(glicil-leucil-L-fenil-alanil)-doxorubicint [(5a): 2,36 g; 2,5 mmol) feloldottuk vízmentes *N,N*-dimetil-formamidban (100 ml), majd *N*-etoxi-karbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolint (0,7 g; 2,5 mmol) adtunk az oldathoz. A keveréket 24 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, s ezt követően dietil-

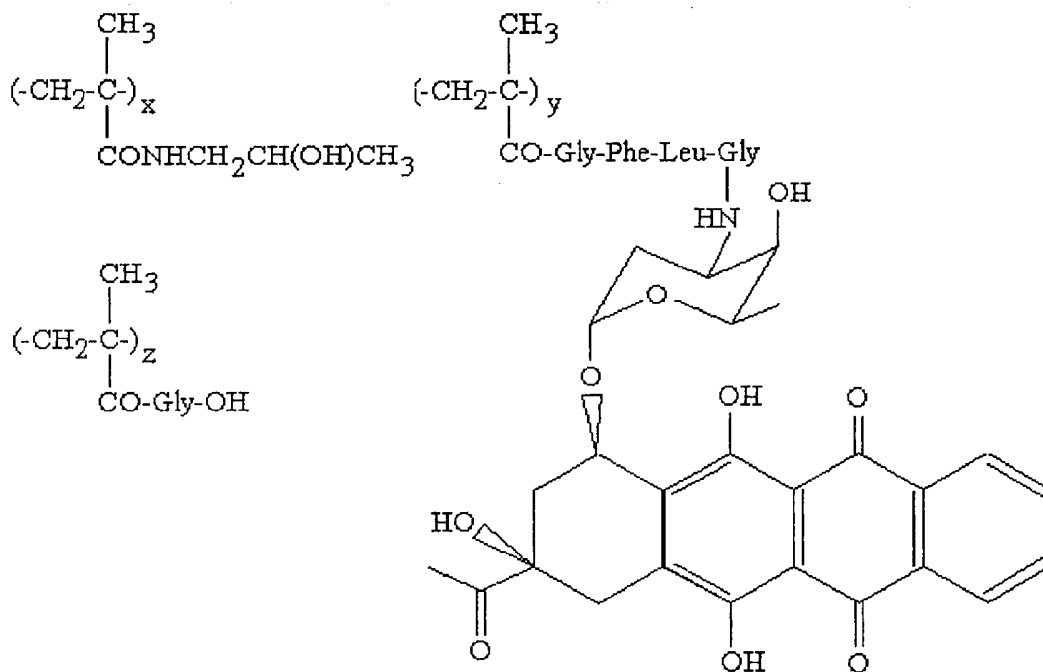
-éterbe (800 ml) öntöttük. A csapadékot feloldottuk etanolban (100 ml), acetonnal (800 ml) precipitáltuk, és tömegállandóságig szárítottuk. Ennek eredményeképpen az (A1) címvegyületet 7 gramm mennyiségben nyertük.

Doxorubicin-hidroklorid-tartalom: 9 tömeg%.

15. Példa

A 3-metakriloil-amino-2-hidroxi-propán,  
a 4-demetoxi-3'-N-(metakriloil-glicil-L-fenil-  
-alanil-L-leucil-glicil)-daunorubicin és  
az N-metakriloil-glicin kopolimere

(A3)



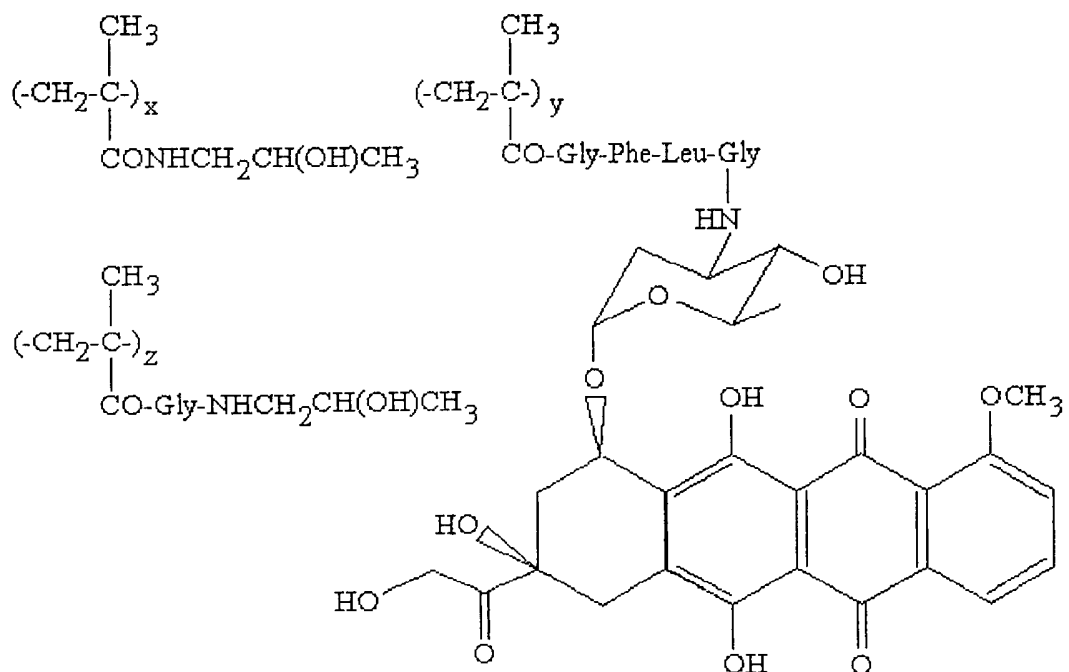
(A3)

A 13. Példában ismertetett eljárás szerint 4-demetoxi-3'-N-(glicil-L-leucil-L-fenil-alanil)-daunorubicint [(5d): 1,48 g; 1,72 mmol] N-etoxi-karbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolin (0,48 g) jelenlétében vízmentes N,N-dimetil-formamidban a (B2) polimer prekuzorral reagáltattunk. Ennek eredményeképpen az (A3) címvegyületet nyertük.  
4-Demetoxi-daunorubicin-hidroklorid-tartalom: 9 tömeg%.

16. Példa

A 3-metakriloil-amino-2-hidroxi-propán,  
a 4'-epi-3'-N-(metakriloil-glicil-  
-L-fenil-alanil-L-leucil-glicil)-doxorubicin és  
az 1-N-(metakriloil-glicil)-2-hidroxi-propán kopolimere

(A4)



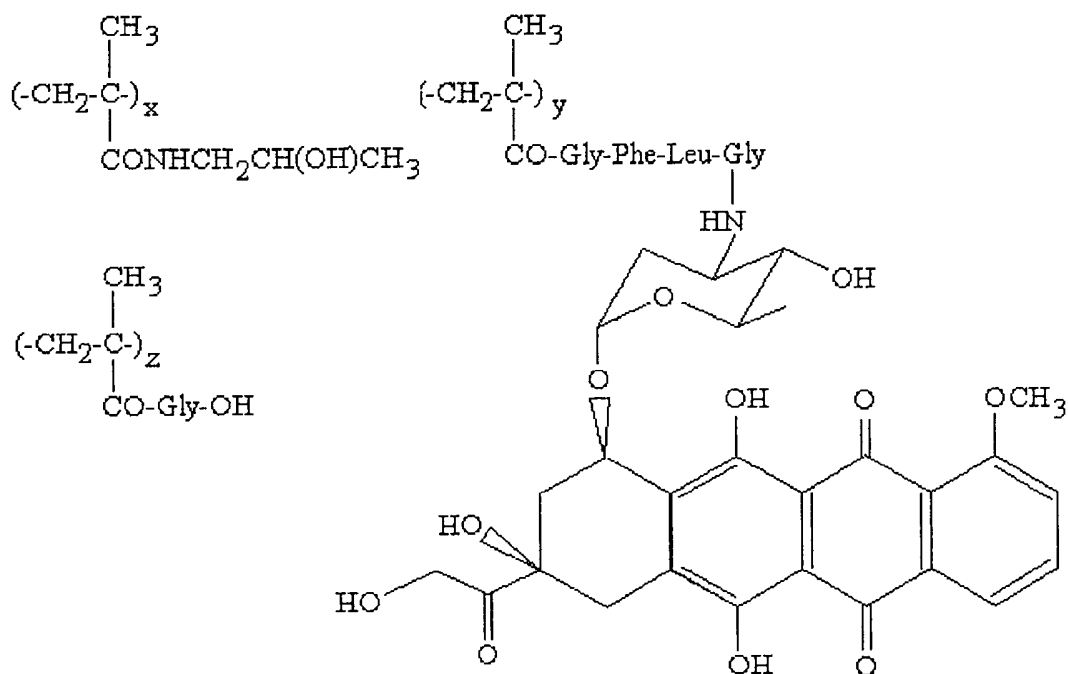
(A4)

4'-Epi-3'-N-(glicil-L-leucil-L-fenil-alanil)-doxorubicint [(5e): 1,48 g; 1,72 mmol] a 14. Példában ismertett eljárásnak megfelelően a (B1) polimer prekuzorral, majd 1-amino-propanollal (0,13 ml) reagáltattunk. Ennek eredményeképpen 10 gramm mennyiségben nyertük az (A4) általános képletű 4'-epidoxorubicin polimer konjugátumot.  
4'-Epidoxorubicin-hidroklorid-tartalom: 9 tömeg%.

17. Példa

A 3-metakriloil-amino-2-hidroxi-propán,  
a 4'-epi-3'-N-(metakriloil-glicil-L-fenil-alanil-L-  
-leucil--glicil)-doxorubicin és az N-metakriloil-glicin  
kopolimere

(A5)



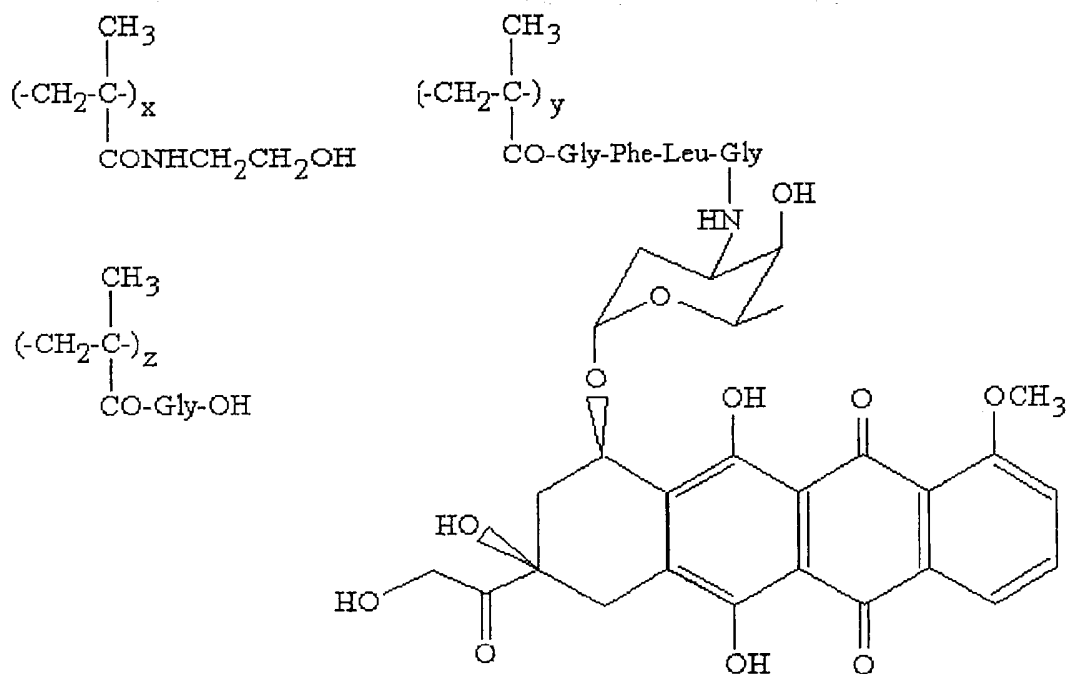
(A5)

A címvegyületet a 13. Példa szerinti eljárás segítségével, vízmentes *N,N*-dimetil-formamidban a (B2) polimer intermedierből, az (5e) 4'-epi-3'-*N*-(glicil-leucil-L-fenil-alanil)-doxorubicinből és *N*-etoxi-karbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolinból állítottuk elő.

18. Példa

Az [*N*-(metakriloil-glicil)]-hidroxi-etil-amid,  
a 3'-*N*-(metakriloil-glicil-L-fenil-alanil-  
-L-leucil-glicil)-doxorubicin és  
az *N*-metakriloil-glicin kopolimere

(A6)



(A6)

A címben szereplő (A6) doxorubicin polimer pro-drugot a 13. Példában ismertetett eljárás szerint, a (B4) polimer intermedier, az (5e) 3'-N-(glicil-leucil-L-fenil-alanil)-doxorubicin, valamint az N-etoxi-karbonil-2-etoxi-1,2-dihidrokinolin vízmentes N,N-dimetil-formamidban végzett kondenzálásával állítottuk elő.

### 19. Példa

#### Az (A1) vegyület tumorellenes aktivitása

##### M5076 reticulosarcomán

A 13. Példa szerinti eljárással előállított (A1) vegyületet a következőkben ismertetettek alapján teszteltük:

#### Anyagok és módszerek

##### 1. A hatóanyag alkalmazása

Valamennyi hatóanyagoldatot közvetlenül a felhasználást megelőzően állítottuk elő. A kezelést intravénás úton végeztük, mégpedig az 5., a 9. és a 15. napon, 10 ml/(testtömeg kg) mennyiségekkel.

Az antraciklineket steril vízben oldottuk, és az oldatok koncentrációját spektrofotometriás úton ellenőriztük.

A liofilizált polimereket vízben oldottuk, s így egy olyan törzsoldatot (kiindulási oldatot) állítottunk elő,

amely az említett koncentrációnak megfelelően 25 mg antraciklin-ekvivalens/ml töménységnek felelt meg. A törzsoldat további hígítását vízzel végeztük.

## 2. Szolid tumor

A szilárd tumoron jelentkező aktivitás értékeléséhez alkalmazott M5076 murin (egér/patkány) reticulosarcomát intramuscularis passzázsok segítségével és szubkután transplantáció ( $5 \times 10^5$  sejt/egér) útján hoztuk létre C75 B1/6 egerekben.

## 3. A tumorelleses aktivitás és a toxicitás értékelése

A tumornövekedést kaliberkörzővel végzett méréssel állapítottuk meg, míg a tumor tömegét Geran és munkatársainak módszere szerint mértük [Geran et al., Cancer Chemother. Rep., 3, 1 (1972)].

A tumorelleses aktivitást az egy grammos tumortömeg eléréséig mért idő (napok száma) alapján határoztuk meg. A tumorelleses aktivitást a tumornövekedés-késleltetés (tumor growth delay; TGD) formájában fejeztük ki.

A túlélési idő közepes növekedését (T/C%) a következő egyenlet alkalmazásával számítottuk:

$$T/C\% = \frac{\text{A kezelt csoport közepes túlélési ideje}}{\text{A kontrollcsoport közepes túlélési ideje}} \times 100$$

A toxicitást a testtömegcsökkenés, valamint a lép- és a májfunckió csökkenésének nagysága alapján értékeltük.

A neurotoxicitást azon egerek számának az alapján határoztuk meg, amelyek esetében nem tapasztaltunk mozgási funckiót.

Az eredményeket az 1. Táblázatban mutatjuk be:

1. Táblázat

Vegyület	Dózis <sup>1</sup> mg/kg	TGD <sup>2</sup> (1 g)	A.U.C. (gátlás %)	T/C <sup>3</sup> %	Tox. <sup>4</sup>	LTS <sup>5</sup>	Tumor- mentes <sup>6</sup>
Kontroll	--	15				0/10	0/10
Doxo- rubicin	7,5	35	90	148	0/26	0/26	0/26
	10,0	39	100	153	3/26	0/26	0/26
A1	30,0	80	100	378	0/10	4/10	3/10
	40,0	nm	100	>369	0/10	6/10	5/10
	50,0	nm	100	>369	2/10*	7/10	7/10

$5 \times 10^5$  sejt/egér mennyiséget injektáltunk szubkután

nm: nincs meghatározás

\*: neurotoxicitás

1: beadás az 5., 9. és a 15. napon

2: TGD = tumornövekedés-késleltetés

3: (A kezelt csoport közepes túlélési ideje/A kontrollcsoport közepes túlélési ideje)  $\times$  100

4: A toxikus elhullások száma/Az egerek teljes száma

5: hosszú időtartamú túlélők

6: A tumormentes egerek száma a kísérletek végén

20. PéldaAz (A3) vegyület tumorellenes aktivitásaM5076 reticulosarcomán

A 15. Példa szerinti eljárással előállított (A3) vegyület tumorellenes aktivitását a 19. Példa szerinti módszer alkalmazásával, illetve az ott leírt anyagok felhasználásával vizsgáltuk.

Az eredményeket a 2. Táblázatban mutatjuk be.

2. Táblázat

Vegyület	Dózis <sup>1</sup> mg/kg	TGD <sup>2</sup> (1 g)	A.U.C. (gátlás %)	T/C <sup>3</sup> %	Tox. <sup>4</sup>	LTS <sup>5</sup>	Tumor- mentes <sup>6</sup>
Kontroll	--	15				0/10	0/10
4-De- metoxi- -dauno- rubicin	1,0	19	47	142	0/9	0/9	0/9
	1,5	28	80	160	0/9	0/9	0/9
A3	4,0	49	100	198	0/10	0/10	0/10
	5,0	50	100	205	0/10	0/10	0/10
	6,0	55	100	212	0/9	0/9	0/9

$5 \times 10^5$  sejt/egér mennyiséget injektáltunk szubkután

nm: nincs meghatározás

\*: neurotoxicitás

1: beadás az 5., 9. és a 15. napon

2: TGD = tumornövekedés-késleltetés

- 3: (A kezelt csoport közepes túlélési ideje/A kontrollcsoport közepes túlélési ideje) × 100
- 4: A toxikus elhullások száma/Az egerek teljes száma
- 5: hosszú időtartamú túlélők
- 6: A tumormentes egerek száma a kísérletek végén

Az (A4) vegyület (a 3-metakriloil-amino-2-hidroxi-propán, a 4'-epi-3'-N-(metakriloil-glicil-L-fenil-alanil-L-leucil-glicil)-doxorubicin és az 1-N-(metakriloil-glicil)-2-hidroxi-propán kopolimere) tumorellenes aktivitásának összehasonlítása a 4'-epidoxorubicin-hidroklorid tumorellenes aktivitásával

A 4'-epidoxorubicin-hidroklorid és az (A4) vegyület tumorellenes aktivitásának vizsgálatát ugyanolyan kezelési körülmények között végeztük.

A korai M5076 murin reticulosarcomával szemben az (A4) vegyület valamennyi vizsgált dózis mellett hatékonyabbnak bizonyult, mint a szabad hatóanyag. Az eredményeket a 3. Táblázatban mutatjuk be.

3. Táblázat

Az (A4) vegyület és a 4'-epidoxorubicin-hidroklorid M5076 murin reticulosarcomával szembeni tumorelleses hatásának összehasonlítása

Vegyület	Dózis <sup>1</sup> mg/kg	TGD <sup>2</sup> (1 g)	A.U.C. (gátlás %)	T/C <sup>3</sup> %	Tox. <sup>4</sup>
4'-Epidoxorubicin- -hidroklorid	5	22	51	105	0/9
	7,5	34	90	124	0/9
	10	40	99	125	0/9
A4	10	62	100	190	0/9
	20	62	100	219	0/9
	30	71	100	229	0/9

5 × 10<sup>5</sup> sejt/egér mennyiséget injektáltunk szubkután

nm: nincs meghatározás

\*: neurotoxicitás

1: beadás az 5., 9. és a 15. napon

2: TGD = tumornövekedés-késleltetés

3: (A kezelt csoport közepes túlélési ideje/A kontrollcsoport közepes túlélési ideje) × 100

4: A toxikus elhullások száma/Az egerek teljes száma

Az (A4) vegyület (a 3-metakriloil-amino-2-hidroxi-propán, a 4'-epi-3'-N-(metakriloil-glicil-L-fenil-alanil-L-leucil-glicil)-doxorubicin és az 1-N-(metakriloil-glicil)-2-hidroxi-propán kopolimere) toxicitásának összehasonlítása a 4'-epidoxorubicin-hidroklorid toxicitásával

A 4'-epidoxorubicin-hidroklorid és az (A4) vegyület toxicitásának vizsgálatát egészséges C57B1F egerekben, a vizsgált hatóanyag egyetlen dózisának intravénás beadása útján vizsgáltuk.

A 4'-epidoxorubicin-hidroklorid dózisa:

13,2 - 16,15 - 19 - 20,6 - 25,2 és 33,2 mg/kg.

Az (A4) vegyület dózisa:

50 - 63 - 79 - 100 - 120 - 140 mg/kg.

Az egészséges C57B1F egerekben mért LD<sub>10</sub> és LD<sub>50</sub> meghatározásához háromhetes felépülés után a Probit analízist alkalmaztuk.

A terápiás index értékét a következő egyenlet alkalmazásával számítottuk ki:

$$\text{Terápiás index} = \frac{\text{DE}_{50}}{\text{LD}_{50}}$$

DE<sub>50</sub> = Hatásos dózis 50

LD<sub>50</sub> = Halálos dózis 50

A Hatásos dózis 50 az a dózis, amely a tumornövekedés 50 %-os csökkenését eredményezi. Az állatok épségét 90 napon keresztül figyeltük.

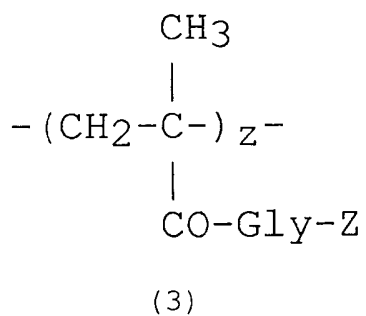
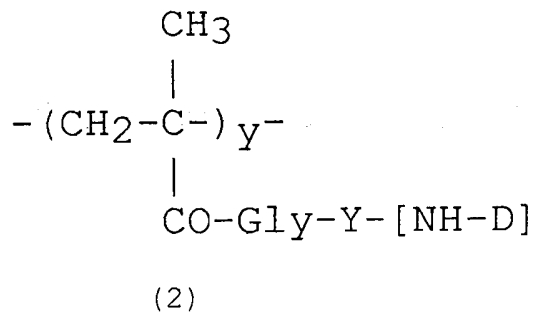
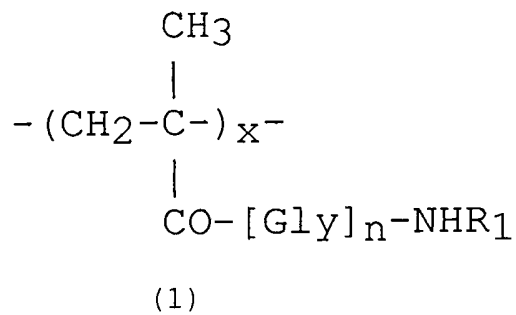
Az LD<sub>10</sub> és az LD<sub>50</sub> C57 B1F egerekben talált értékei a következők:

Vegyület	LD <sub>10</sub> (mg/kg)	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
4'-epidoxorubicin-hidroklorid	16,4	21,4
(A4)	128,0	389 (extrapolált érték)

Az (A4) vegyület csekély toxicitása lehetőség nyújt arra, hogy a terméket magasabb dózisokban is alkalmazhassuk, és a 4'-epidoxorubicin-hidrokloriddal ekvivalens vagy annál jobb eredményeket, illetve jobb terápiás indexet érhessünk el. A 4'-epidoxorubicin-hidroklorid és az (A4) vegyület esetén a terápiás index értéke — az előbbi sorrendnek megfelelően — 3 és 40.

## SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Egy (A) polimerkötéses antraciklin, amely alapvetően három, az (1), (2) és (3) általános képletű csoportnak megfelelő egységből áll:



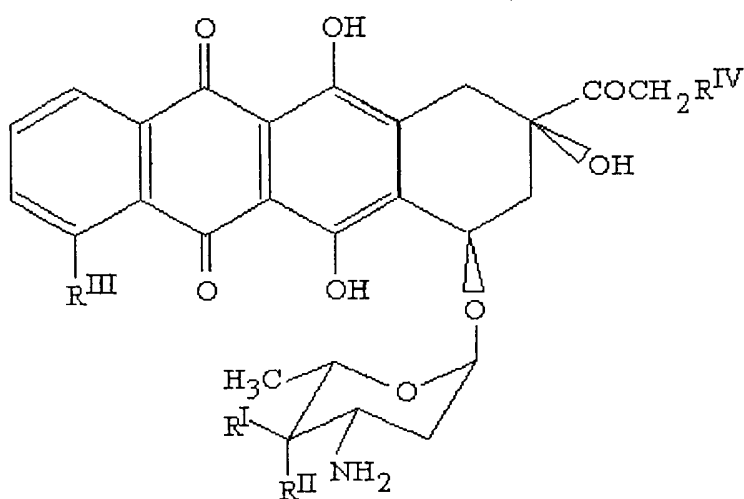
amelyekben

Gly jelentése glicin;

n értéke 0 vagy 1;

- x értéke 70-98 mol%;
- y értéke 1-29 mol%;
- z értéke 1-29 mol%;
- R<sub>1</sub> jelentése egy vagy több hidroxicsoporttal helyettesített 1-6 szénatomos alkilcsoport;
- Y jelentése aminosavcsoport vagy egy peptid híd molekula (spacer);
- [NH-D] jelentése egy [NH<sub>2</sub>-D] általános képletű aminoglikozid-antraciklinből származó csoport; valamint
- Z jelentése hidroxicsoport vagy egy -NHR<sub>1</sub> általános képletű csoport, amelyben R<sub>1</sub> jelentése a fentiekben meghatározott.

2. Egy 1. igénypont szerinti polimerkötéses antraciklin, amelyben az [NH-D] általános képletű csoport egy (Q) általános képlettel jellemezhető antraciklin-aminoglikozidból származó csoport:



(Q)

amelyben

$R^I$  és  $R^{II}$  egyikének jelentése hidrogénatom és a  
másik jelentése hidroxicsoport vagy jódatom;  
 $R^{III}$  jelentése hidrogénatom vagy metoxicsoport;  
valamint  
 $R^{IV}$  jelentése hidrogénatom vagy hidroxicsoport.

3. Egy az 1. vagy 2. igénypont szerinti polimerkötéses antraciklin, amelyben

x értéke 90-98 mol%;  
y értéke 1-10 mol%; valamint  
z értéke 1-10 mol%.

4. Egy az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti polimerkötéses antraciklin, amelyben

$R_1$  jelentése hidroxil-etil-, 2-hidroxil-propil-  
vagy 3-hidroxil-propil-csoport.

5. Egy az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti polimerkötéses antraciklin, amelyben

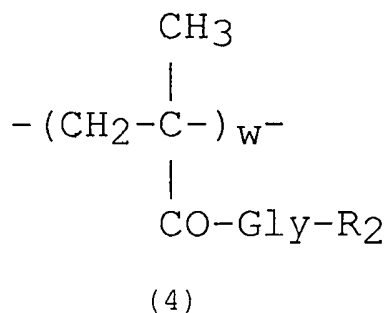
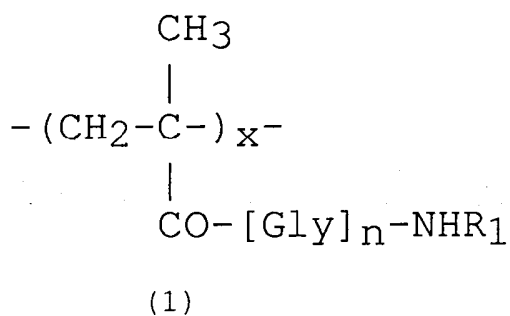
Y jelentése Gly-Phe-Gly, Gly-Leu-Gly,  
Phe-Leu-Gly, Gly-Phe-Leu-Gly vagy  
Leu-Leu-Gly.

6. Egy az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti polimerkötéses antraciklin, amelyben

[NH-D] jelentése doxorubicin, 4'-epidoxorubicin,  
4-demetoxi-daunorubicin, idarubicin,  
4'-jód-doxorubicin, valamint  
4-dezoxi-doxorubicin.

7. Eljárás egy az 1. igénypontban meghatározott  
(A) polimerkötéses antraciklin előállítására, **azzal  
jellemezve**, hogy

i) egy (B) polimer intermediert — amely alapve-  
tően az (1) és (4) általános képletű egységekből épül fel:



amelyekben

x és n értéke, valamint R<sub>1</sub> jelentése  
az 1. igénypontban meghatározott;  
w értéke 30-2 mol%; és

$R_2$  jelentése hidroxicsoport vagy egy távozócsoport —  
egy (5) általános képletű



(5)

antraciklin-származékkal — amelyben

[NH-D] és Y jelentése az 1. igénypontban meghatározott —

reagáltatunk; és

ii) kívánt esetben az olyan polimerkötéses antraciklin előállításához, amelyben a (3) általános képletű egységben Z jelentése  $NHR_1$  általános képletű csoport, az i) lépés egy olyan termékét, amelyben  $R_2$  jelentése távozócsoport, egy olyan,  $NH_2R_1$  általános képletű vegyülettel reagáltatjuk, amelyben  $R_1$  jelentése a fentiekben meghatározott.

8. Egy (5) általános képletű antraciklin-származék,



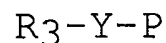
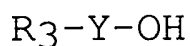
(5)

amelyben

[NH-D] és Y jelentése az 1. vagy 2. igénypontban meghatározott.

9. Eljárás egy a 8. igénypontban meghatározott (5) általános képletű antraciklin-származék előállítására, **azzal jellemezve**, hogy

(i) egy (8) vagy egy (9) általános képletű, N-védett peptidet



(8)

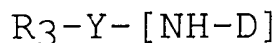
(9)

— amelyek képletében

$R_3$  jelentése egy savérzékeny aminovédő csoport;

$P$  jelentése távozócsoport; és

$Y$  jelentése a 7. igénypontban meghatározott — egy  $[NH_2-D]$  általános képletű, fentiekben meghatározott antraciklin-aminoglikoziddal reagáltatunk, s így egy (10) általános képletű intermediert állítunk elő



(10)

— amelyben  $[NH-D]$  jelentése az 1. vagy 2. igénypontban meghatározott, valamint  $Y$  és  $R_3$  jelentése a fentiekben meghatározott —, és

(ii) az  $R_3$  védőcsoport eltávolításával egy szabad bázis formájában lévő, (5) általános képletű peptidil-antraciklin-származékot állítunk elő.