



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.³: C 07 D 407/10



Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTSCHRIFT** A5

(11)

633 289

(21) Gesuchsnummer: 3517/77

(22) Anmeldungsdatum: 21.03.1977

(30) Priorität(en): 23.03.1976 GB 11666/76

(24) Patent erteilt: 30.11.1982

(45) Patentschrift
veröffentlicht: 30.11.1982

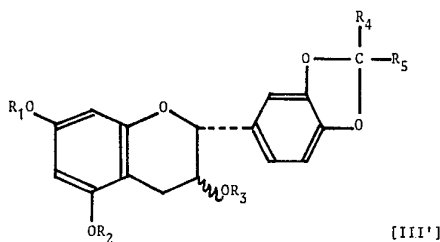
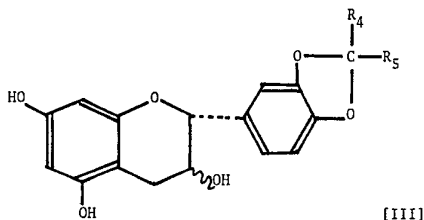
(73) Inhaber:
Inverni Della Beffa S.p.A., Milano (IT)

(72) Erfinder:
Attilio Bonati, Milano (IT)
Giuseppe Mustich, Milano (IT)

(74) Vertreter:
Fritz Isler, Patentanwaltsbureau, Zürich

(54) Verfahren zur Herstellung neuer Ketale von Catechin und Epicatechin.

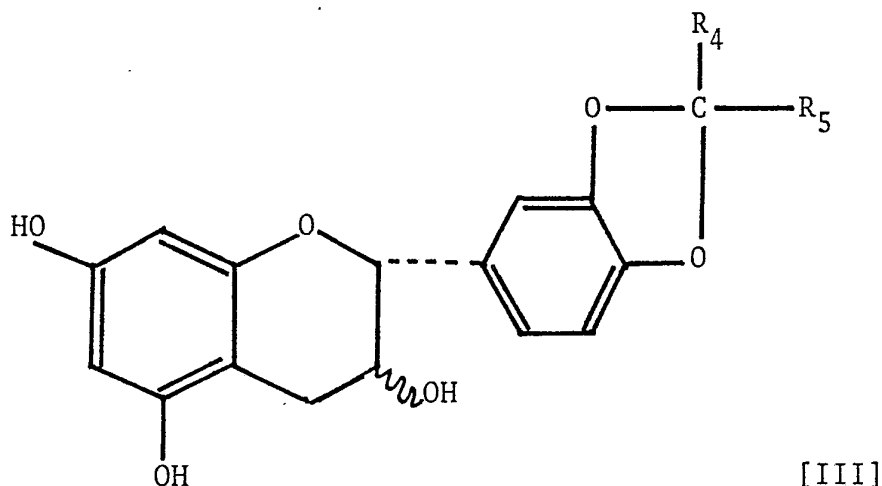
(57) Neue Ketale und Ester der Formel III bzw. III'



in welchen mindestens einer der Reste R_1 , R_2 und R_3 ein Acylrest ist, die anderen Wasserstoff oder einen Acylrest bedeuten, und R_4 und R_5 eine Alkylgruppe mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen bedeuten, wobei der Substituent in 3-Stellung in α - oder β -Konfiguration vorliegt, sind pharmazeutisch wirksam. Die Ketale werden aus Catechin oder Epicatechin durch Umsetzung mit einem entsprechenden Keton hergestellt. Sie können zu Estern der Formel III' verestert werden.

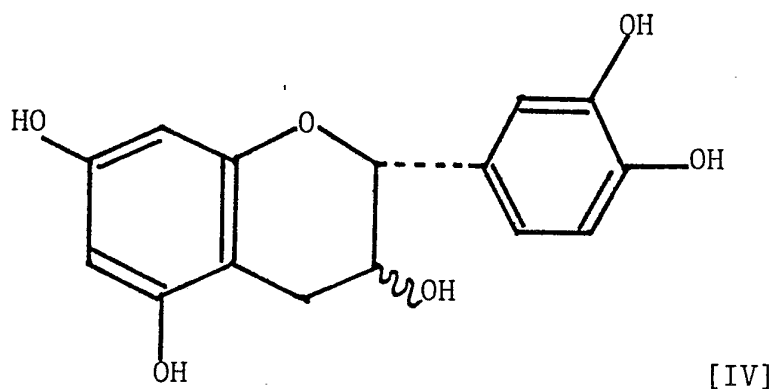
PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung neuer Verbindungen der allgemeinen Formel III



worin R₄ und R₅ eine Alkylgruppe mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen darstellen, wobei die Gruppe OH in 3-Stellung die α-

oder β-Konfiguration aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel IV

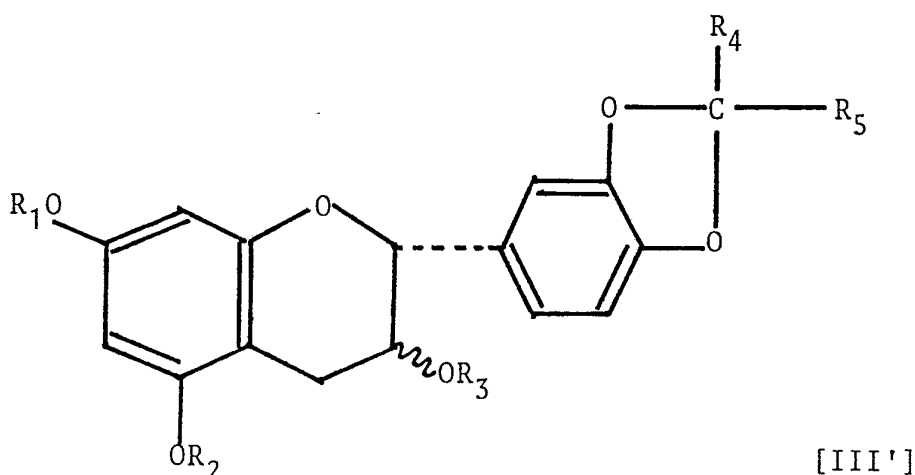


mit einem Di-(C₁-C₈-alkyl)-keton in Gegenwart einer Säure umsetzt.

40 zeichnet, dass man Catechinacetoneid herstellt.

2. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet,

3. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel III'



in welcher mindestens eine der Gruppen R₁, R₂ oder R₃ eine Acylgruppe und jedes der anderen eine Acylgruppe oder ein Wasserstoffatom bedeuten, R₄ und R₅ eine Alkylgruppe mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen darstellt und OR₃ sich in der α- oder der β-Konfiguration befindet, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Ketal der Formel III nach dem Ver-

fahren gemäss Patentanspruch 1 herstellt und das erhaltene Ketal verestert.

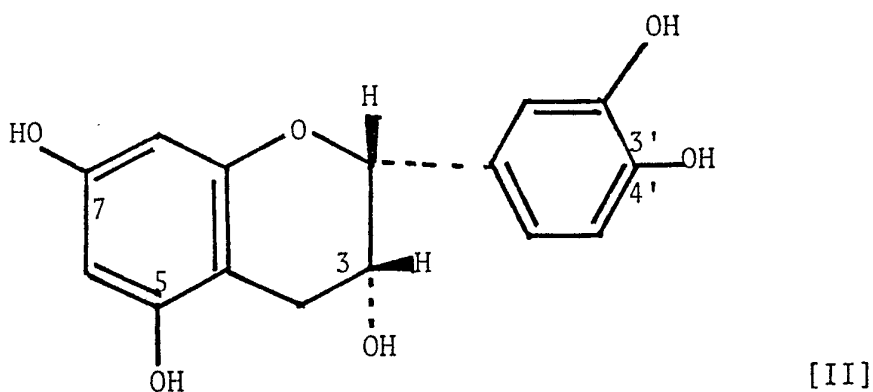
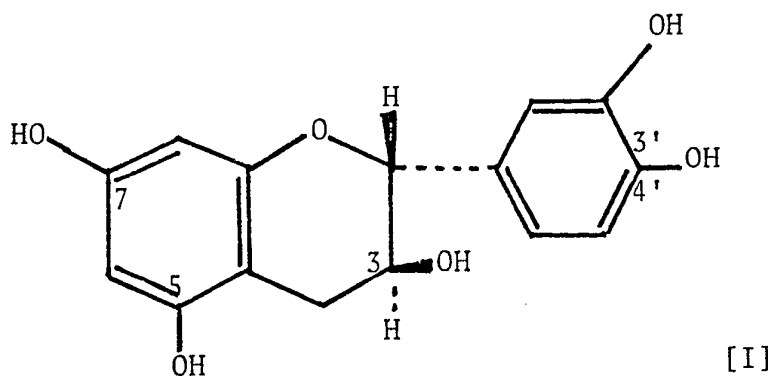
65 4. Verfahren nach Patentanspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass für die Veresterung als Acylierungsmittel ein Säurehalogenid oder Säureanhydrid einer Carbonsäure der Formel RCOOH verwendet wird, worin R eine gegebenen-

falls substituierte Alkylgruppe, eine gegebenenfalls substituierte Cycloalkylgruppe, eine gegebenenfalls substituierte Arylgruppe, eine gegebenenfalls substituierte Aralkylgruppe oder eine heterocyclische Gruppe bedeutet, wobei die Acylgruppe vorzugsweise bis zu 20 Kohlenstoffatome enthält und mit einer oder mehreren Halogen-, Hydroxy-, Alkoxy- oder

veresterten Hydroxygruppen substituiert sein kann.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer Ketale.

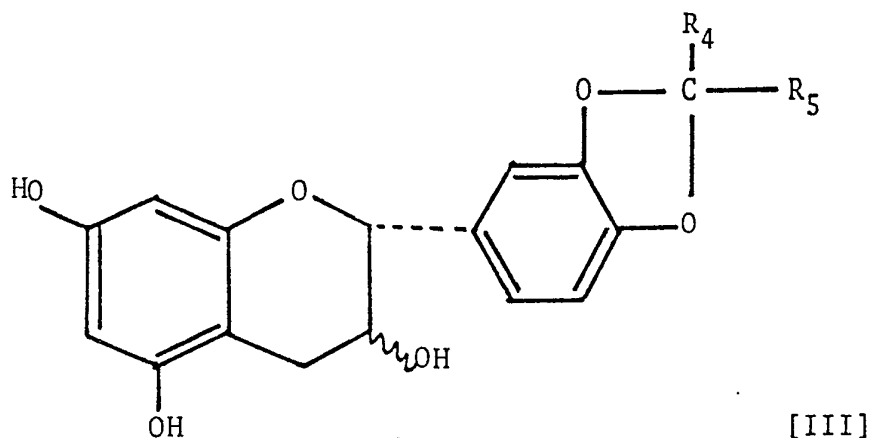
Catechin (I) und Epicatechin (II) sind in der Natur verbreitet vorkommende Polyphenole.

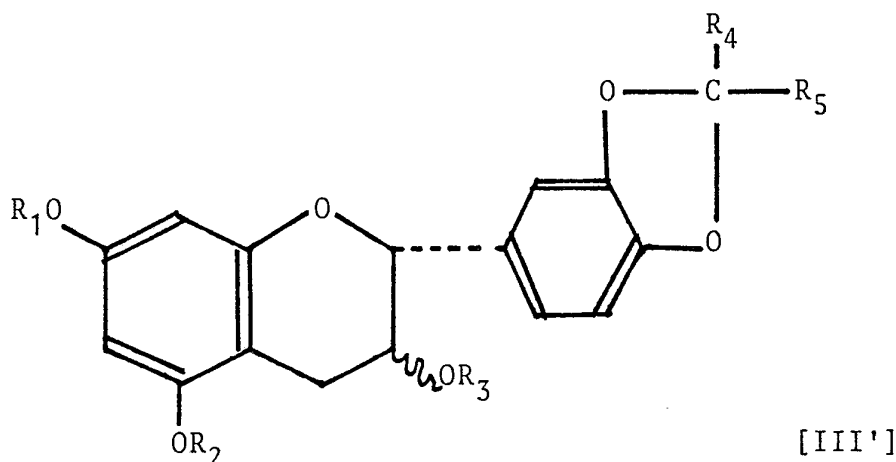


Es wurde gefunden, dass bestimmte neue Catechin- und Epicatechin-ketale und deren Ester eine bemerkenswerte choleretische, hypocholesterinämische, hypolipidämische und leberschützende Wirkung besitzen und eine relativ geringe

Toxizität haben.

Die Ketale des Catechins und Epicatechins und deren Ester weisen die allgemeine Formel III oder III' auf.





In der Formel III' bedeutet mindestens eines von R₁, R₂, R₃ eine Acylgruppe, die anderen bedeuten jeweils eine Acylgruppe oder Wasserstoff.

Ist eine Verbindung der Formel III oder III' ein Catechinderivat, dann befindet sich die Gruppe -OH bzw. -OR₃ in der β-Konfiguration; ist die Verbindung ein Epicatechinderivat, befindet sich diese Gruppe in der α-Konfiguration.

Die durch R₁, R₂ und R₃ dargestellten Acylradikale können von Säuren der Formel RCOOH abgeleitet werden, worin R eine Alkyl- oder substituierte Alkylgruppe, eine gegebenenfalls substituierte Cycloalkylgruppe, eine Aryl- oder substituierte Arylgruppe, eine Aralkyl- oder substituierte Aralkylgruppe oder eine heterocyclische Gruppe bedeutet.

Obwohl die Begrenzung des Molekulargewichtes der Säure RCOOH nach oben kaum kritisch ist, sollte die Säure im allgemeinen nicht mehr als 20, vorzugsweise nicht mehr als 15 Kohlenstoffatome enthalten. Vorzugsweise sollten die durch R dargestellten substituierten oder nicht-substituierten Alkylgruppen substituierte oder nicht-substituierte Alkylgruppen mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen sein, z.B. Methyl, Äthyl, Propyl, Butyl, Pentyl, Hexyl, Heptyl, oder Octyl; diese Gruppen können gerade Ketten, wie n-Butyl oder verzweigte Ketten, wie Isopropyl haben. R kann eine Cycloalkylgruppe sein, wie z.B. Cyclohexyl. Ferner werden die Alkyl- und Alkenylbestandteile der substituierten und nicht-substituierten

Aralkyl- und Aralkenylgruppen vorzugsweise von C₁-C₈-Alkyl- und C₁-C₈-Alkenylgruppen abgeleitet.

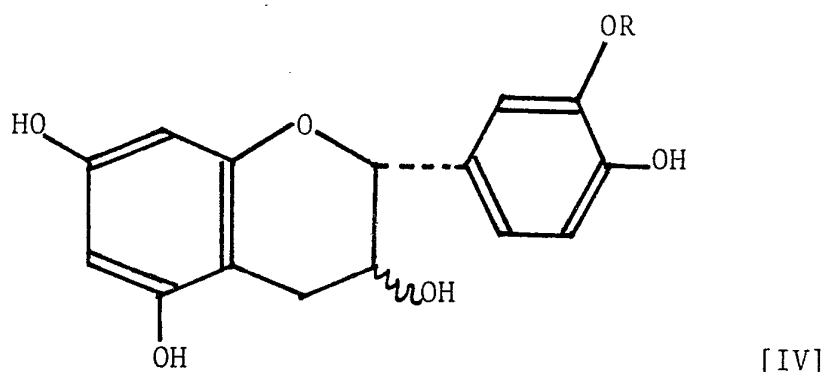
Die durch R dargestellten Arylgruppen, sowie die Arylbestandteile der Aralkyl- und Aralkenylgruppen sind vorzugsweise Phenyl. Diese Arylgruppen können, wie oben beschrieben, selbst mit einer oder mehreren Alkylgruppen substituiert sein.

Durch R dargestellte heterocyclische Gruppen können z.B. stickstoffhaltige heterocyclische Gruppen, wie Pyridil, sein.

Mögliche Substituenten an der R-Gruppe der Carbonsäuren RCOOH sind beispielsweise Halogen, Hydroxy, Alkoxy (vorzugsweise Alkoxygruppen, die von den oben beschriebenen Alkylgruppen abgeleitet sind), veresterte Hydroxy, insbesondere mit einer Säure R^{1''}COOH verestertes Hydroxy, worin R^{1''} ein wie oben beschriebenes C₁-C₈-Alkyl bedeutet.

Besonders bevorzugt wird die Gruppe erfindungsgemäss hergestellter Verbindungen, bei denen eines oder mehrere der durch R₁, R₂ oder R₃ dargestellten Acylradikale von Säuren abgeleitet werden, die in ihrer freien oder veresterten Form choleretische, hypocholesterinämische oder hypolipidämische Wirkung haben. Solche Säuren sind z.B. Nikotinsäure, Kaffeesäure, Acetylferulasäure und 2-(p-Chlorphenoxy)-2-methylpropionsäure.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung eines neuen Ketals der Formel III, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass man eine Verbindung der Formel IV



in welcher R₆ und R₇ Wasserstoff darstellen, mit einem Di-(C₁-C₈-alkyl)-keton in Gegenwart einer Säure umgesetzt. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Herstellung von Verbindungen der Formel III' durch Veresterung von erhaltenen Verbindungen der Formel III.

Erhaltene Verbindungen der Formel III können durch Umsetzung mit einem Acylierungsmittel, z.B. einem Säureanhydrid oder Acylchlorid, vorzugsweise in Gegenwart eines polaren aprotischen Lösungsmittels, wie beispielsweise Pyridin oder Dioxyn, zu Verbindungen der Formel III' ver-

estert werden. Die Reaktion kann, je nach der Reaktionsfähigkeit des Acylierungsmittels, bei Zimmer- oder höherer Temperatur durchgeführt werden.

Die Verbindungen der Formeln III und III' können zu pharmazeutischen Zubereitungen verarbeitet werden, welche die aktive Komponente sowie einen pharmazeutisch verträglichen Träger enthalten.

Die besondere galenische Form solcher Zubereitungen hängt von der vorgesehenen Anwendungsweise ab; die Zubereitung kann in amorpher Form oder in Form von Einheitsdosen angeboten werden. Beispiele hierfür sind für die parenterale Verabreichung geeignete sterile Flüssigkeiten oder für die orale Verabreichung geeignete Formen, wie z.B. Tablette, Kapseln, Dragées, Lösungen oder Suspensionen.

Bei der Herstellung solcher Zubereitungen kann eine Vielzahl von Trägern verwendet werden, deren Art jedoch von der vorgesehenen Anwendungsweise der Zubereitung abhängt. Es gehören dazu Konservierungsmittel, Puffer, Verdickungs-, Suspendierungs-, Stabilisierungs-, Benetzungs- und Emulgierungsmittel, Farb- und Geschmacksstoffe. Besondere Beispiele geeigneter Träger sind Carboxyvinylpolymere, Propylenglykol, Äthylalkohol, Wasser, Cetylalkohol, gesättigte Pflanzentriglyceride, Fettsäureester oder Propylenglykol, Triäthanolamin, Glycerin, Stärke, Lactose, Saccharose, Cellulosesorbitol, Bentonit, Cellulose, Methylcellulose, Carboxymethylcellulose, Laurysulfat, Dicalciumphosphat, Siliciumdioxidpulver, Titandioxid, Lecithin, Magnesiumcarbonat, Magnesiumstearat, usw.

Beispiel 1

A) Isolierung von Epicatechin

35 kg Rinde von *Aesculus hippocastanum* L. wurde mehrmals mit 80 Liter 50%igem Alkohol in Wasser extrahiert. Aus den vereinigten Wasser-Alkohol-Extrakten wurde das organische Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Das Konzentrat wurde dann wiederholt mit Äthylacetat extrahiert und die kombinierten organischen Phasen wurden unter reduziertem Druck auf etwa 20 Liter konzentriert. Das Konzentrat wurde dann unter kräftigem Rühren in 100 Liter Hexan gegeben.

Nach dem Abfiltrieren und Trocknen wurden 1,2 kg rohes Catechin erhalten, das durch wiederholte Kristallisation aus Alkohol 130 g reines Epicatechin ergab.

Schmelzpunkt: 236 bis 238°C, Zersetzung $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -69^\circ$ (7% in Äthanol).

B) Epicatechinacetone

6 g Epicatechin wurden unter Rühren bei 0°C in 50 ml Aceton gelöst. Salzsäuregas wurde 1 Minute lang durch die Lösung geblasen, das Reaktionsgemisch wurde schliesslich in 500 ml einer 5%igen Natriumbicarbonatlösung gegeben und wiederholt mit 100 ml Äthylacetat extrahiert.

Die kombinierten organischen Phasen wurden zu 50 ml konzentriert und in 5 Volumen Chloroform gegeben. Nach dem Abfiltrieren und Trocknen des Niederschlages wurden 3,8 g Acetonide in Form eines weissen amorphen Pulvers erhalten.

Gefunden: C 65,50, H 5,32,

für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$ wird benötigt:
C 65,45, H 5,45.

Beispiel 2

Catechinacetoneidtriacetat

5 g Catechinacetoneid wurden in 25 ml Pyridin gelöst und der Lösung 25 ml Essigsäureanhydrid zugegeben. Diese

Lösung blieb dann über Nacht bei Zimmertemperatur zur Reaktion stehen. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend unter Rühren bei 4 bis 5°C in 500 ml Wasser gegossen. Der erhaltene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser zur Neutralität gewaschen. Nach der Auskristallisierung aus einem Isopropanol-Wasser-Gemisch wurden 5 g Catechinacetoneidtriacetat erhalten.

Schmelzpunkt des Produktes: 120 bis 122°C.

Gefunden:
C 63,12, H 5,30,

für $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_9$ wird benötigt:
C 63,16, H 5,26.

Die pharmakologische Wirksamkeit der neuen Verbindungen wird durch die folgenden Versuche beschrieben:

A) Choleretische Wirkung

Die choleretische Wirkung wurde mit den von R. Lambert in «Surgery of the Digestive System in the Rat» 1965, beschriebenen Verfahren bestimmt. Es wurden Sprague Dawley Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 230 g verwendet. Die Produkte wurden intraperitoneal in Dosen von 100 mg/kg injiziert, das Gallevolumen und der entsprechende trockene Rückstand wurden innerhalb von 1 bis 4 Stunden nach der Verabreichung gemessen. Es wurde gefunden, dass z.B. Catechinpentaacetylferulat das Gallevolumen um 64% und den trockenen Gallenrückstand um 36%, verglichen mit den Grundwerten, erhöhen. Diese Zunahmen sind signifikant.

B) Wirkung auf den Lipidstoffwechsel

1. Hypolipidämische Wirkung nach Gabe von Olivenöl
Die hypolipidämische Wirkung wurde bei Sprague Dawley Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 160 g bestimmt, bei denen Hyperlipidämie durch orale Verabreichung von 20 ml/kg Olivenöl an Tiere, die 16 Stunden ohne Futter gewesen waren, induziert wurde. Es wurden zwei Behandlungen mit den zu prüfenden Produkten durchgeführt (bei Gruppen von 18 Tieren), die erste Behandlung 2 Stunden vor der Olivenölgabe, die zweite 2 Stunden nach der Verabreichung. Die Dosen wurden oral gegeben und entsprachen 100 mg/kg. Die Ratten wurden 2 Stunden nach der letzten Behandlung geschlachtet und die Triglyceride im Plasma wurden mit der colorimetrischen Methode der SIGMA CHEM Co. gemessen. Es wurden gefunden, dass z.B. Penta-nicotinylcatechin die Konzentration der Triglyceride im Plasma signifikant um 27% verglichen mit den Kontrollwerten verringern.

2. Triton-Hyperlipidämie

Hyperlipidämie wurde durch intravenöse Verabreichung von 225 mg/kg Triton WR 1339 in physiologischer Lösung an Sprague Dawley Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 200 g, die 24 Stunden ohne Futter gewesen waren, induziert. Die zu prüfenden Produkte wurden intraperitoneal in Dosen von 100 mg/kg injiziert, und zwar 50 mg/kg unmittelbar nach der Tritongabe und 50 mg/kg nach 4 Stunden. Nach weiteren 4 Stunden wurden die Tiere geschlachtet und das Cholesterin und die Triglyceride im Plasma gemessen.

Es wurde gefunden, dass, verglichen mit den Kontrollwerten, Penta-nicotinylcatechin und Penta-acetylcatechin signifikant die Konzentration von Cholesterin um 21,1% bzw. 16,3% und die Konzentration der Triglyceride um 28,7% bzw. 23,1% verringern.

3. Lipidstoffwechsel in der normal gefütterten Ratte

Die Versuche wurden mit Sprague Dawley Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 200 g durchgeführt, die normale Lipidwerte hatten und denen die Produkte intraperitoneal in einer einzelnen Dosis von 100 mg/kg verabreicht worden waren. Nach 2 Stunden wurden die Tiere geschlachtet und die freien Fettsäuren im Plasma wurden gemessen. Es wurde gefunden, dass Catechinacetonid und

Pentanicotiny catechin die Konzentration der freien Fettsäuren signifikant um 25,8% bzw. 13,1%, verglichen mit den Kontrollwerten, verringern.

C) Toxizität

Catechinpentaacetylferulat
 $LD_{50} > 1000 \text{ mg/kg i.p.}$