



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

214792
(11) (B2)

[51] Int. Cl.³
C 07 D 519/04
//A 61 K 31/475

[22] Přihlášeno 14 05 79
[21] (PV 3284-79)

[32] [31] [33] Právo přednosti od 15 05 78
(905667) Spojené státy americké

[40] Zveřejněno 10 09 81

[45] Vydáno 15 09 84

[72]
Autor vynálezu

CONRAD ROBERT ALLEN a GERZON KOERT, INDIANAPOLIS, INDIANA
(Sp. st. a.)

[73]
Majitel patentu

ELI LILLY AND COMPANY, INDIANAPOLIS, INDIANA (Sp. st. a.)

[54] Způsob výroby dimerních sloučenin indol-dihydroindolových derivátů z rodu Vinca, spojených můstkem

1

Bylo zjištěno, že některé přírodní alkaloidy získávané z rostlin druhu Vinca rosea [Catharanthus roseus don. — alkaloidy z rodu Catharanthus nebo Vinca] jsou účinné při léčbě experimentálních nádorových onemocnění živočichů. Mezi tyto sloučeniny náleží leurosine (viz americký patentový spis č. 3 370 057), vinkaleukoblastin (vinblastin) — dále označovaný jako VLB (viz americký patentový spis č. 3 097 137), leuroformin (viz belgický patentový spis č. 811 110), leurosidin (vinrosidin) a leurokristin (dále označovaný jako vinkristin (oba viz americký patentový spis č. 3 205 220), deoxy-VLB „A“ a „B“ [viz Tetrahedron Letters, 783 (1958)], 4-deacetoxyvinblastin (viz americký patentový spis č. 3 954 773), 4-deacetoxy-3'-hydroxyvinblastin (viz americký patentový spis č. 3 944 554), leurokolombin (viz americký patentový spis č. 3 890 325) a vinkadiolin (viz americký patentový spis č. 3 887 565). Dva z těchto alkaloidů, a to VLB a vinkristin, jsou v současné době na trhu jako prostředky k léčbě nádorových onemocnění, zejména leukémií a příbuzných chorob člověka. Tyto dva komerční alkaloidy se obvykle podávají intravenózně.

Chemické modifikace alkaloidů z rodu Vinca byly poněkud omezeny určitými okolnostmi. V první řadě je třeba vzít v úvahu,

2

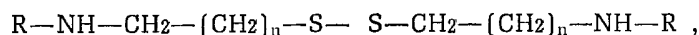
že struktura molekuly těchto látek je neobvykle složitá, a že je tedy velmi obtížné vyvinout chemické reakce, kterými by byla modifikována jedna konkrétní funkční skupina v molekule bez ovlivnění jiných skupin. V druhé řadě pak přichází v úvahu skutečnost, že z frakcí získaných z rostlin druhu Vinca rosea nebo z alkaloidů z těchto rostlin byly izolovány nebo vyrobeny dimerní alkaloidy postrádající žádané chemoterapeutické vlastnosti a stanovení jejich struktury vedlo k závěru, že tyto sloučeniny jsou úzce příbuzné s aktivními alkaloidy, od nichž se často liší jen stereochemií na jediném uhlíku. Anti-neoplastická účinnost se tedy zdála být omezena jen na velmi specifické základní struktury a v souladu s tím se naděje na získání účinnějších léčiv modifikací těchto struktur zdály jen velmi malé. Mezi úspěšné modifikace fyziologicky účinných alkaloidů náleží příprava 6,7-dihydro-VLB (viz americký patentový spis číslo 3 352 868) a náhrada acetylové skupiny na C₄ (uhlík v poloze 4 cyklického systému VLB — viz níže uvedené číslování) vyšší alkanoylovou skupinou nebo nepřibuznými acylovými skupinami (viz americký patentový spis č. 3 392 173). Některé z těchto C₄-derivátů jsou schopné prodloužit život myši inokulovaných leukémií P1534. Jeden z těchto

to C₄-derivátů, v němž je C₄-acetylová skupina VLB nahrazena chloracetylovou skupinou, je rovněž užitečným meziproduktem pro přípravu strukturně modifikovaných derivátů VLB, v nichž C₄-acetylovou skupinu VLB nahrazuje N,N-dialkylglycylová skupina [viz americký patentový spis č. 3 387 001].

Byly rovněž připraveny C₃-karboxamidové a -karboxyhydrazinové deriváty VLB, vinkristinu, vinkadiolinu apod., a bylo zjištěno, že jsou účinné proti nádorovým onemocněním [viz belgický patentový spis č. 858 451]. Tyto sloučeniny jsou neobyčejně zajímavé, protože například 3-karboxamidy VLB jsou účinnější proti Ridgewayově osteogennímu sarkomu a Gardnerovu lymfosarkomu než

samotný VLB, tedy než základní alkaloid, z něhož byly odvozeny. Určité z těchto amidoderivátů se co do účinnosti přibližují účinnosti vinkristinu proti stejným nádorům. Jeden z těchto amidů, a to C₃-karboxamid 4-deacetyl-VLB (vindesin), je v současné době v klinických zkouškách na lidech, a zdá se, že je méně neurotoxický než vinkristin a že je účinný proti leukémiím, včetně leukémií rezistentních na vinkristin.

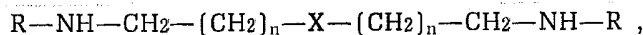
V belgickém patentovém spisu č. 858 451 jsou popsány a chráněny bis-deriváty dimerních sloučenin z rodu Vinca spojené můstkem, které je možno popsat obecným vzorcem



ve kterém R znamená zbytek dimerního alkaloidu z rodu Vinca, obsahujícího karboxylovou skupinu na C₃, a n má hodnotu 1 až 5. Bylo zjištěno, že sloučeniny této struktury jsou hlavními produkty reakce C₃-karboxamidu sloučeniny z rodu Vinca (R-N₃) a sloučeniny vzorce NH₂-CH₂-CH₂-SH, a předpokládá se, že vznikají oxidací karboxamidoethylmerkaptanové skupiny na C₃ vzduchem, jako je tomu u systému cystein-

-cistin. Tato oxidace je pochopitelně omezena na tvorbu disulfidické vazby z merkaptalkylamidu a není obecně použitelná k syntéze jiných bis-derivátů dimerních sloučenin z rodu Catharanthus, spojených můstkem.

Předmětem vynálezu je způsob výroby nových derivátů dimerních sloučenin z rodu Vinca spojených můstkem [tetramery sloučenin z rodu Vinca (dimery indol-dihydroindolů)] obecného vzorce I,

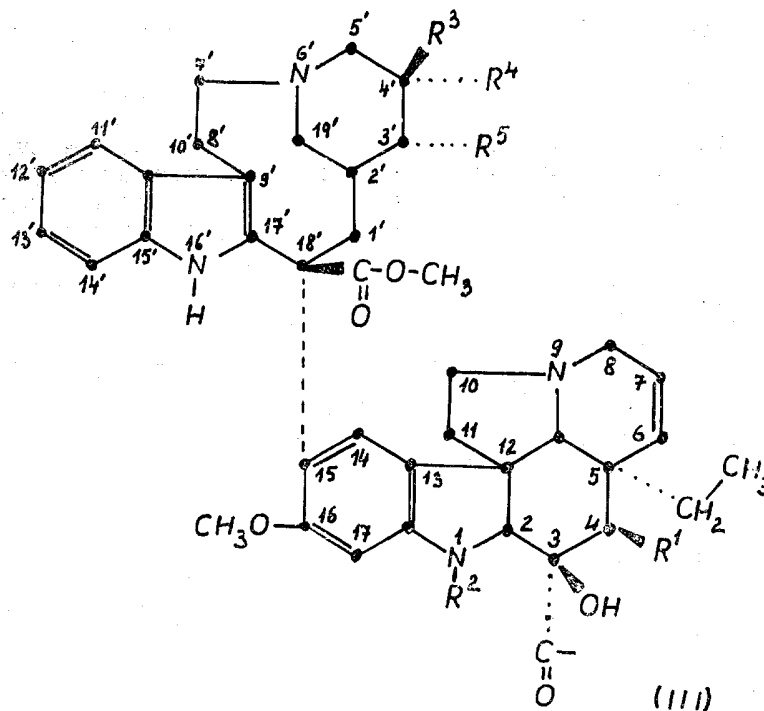


(I)

ve kterém

každý ze symbolů R, které mohou být stejné nebo rozdílné, představuje zbytek indol-

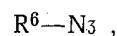
-dihydroindolového alkaloidu obecného vzorce III,



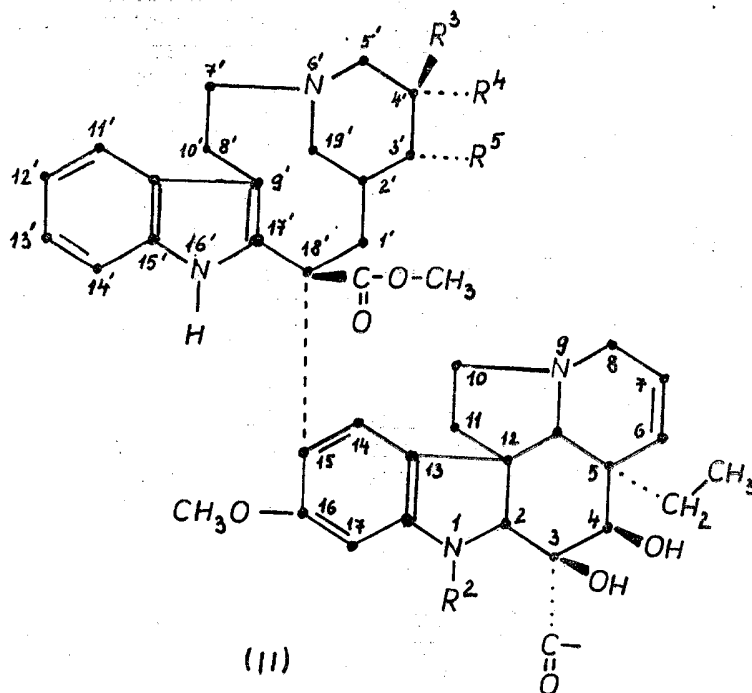
X představuje síru, kyslík skupinu Se-Se, NH, N-[(CH₂)_m-CH₂-NH-R] nebo (CH₂)_p,

6

a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se azid obecného vzorce



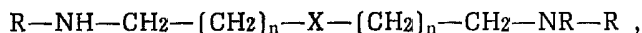
R⁶ znamená zbytek indol-dihydroindolového alkaloidu obecného vzorce II,



n má shora uvedený význam, v poměru 2 molů sloučeniny obecného vzorce R^6-N_3 na každý mol diaminu shora uvedeného obecného vzorce v případě, že X' znamená síru, skupinu Se-Se, kyslík, skupi-

kde p a m mají shora uvedený význam, oxiduje kyslíčnickem chromovým v kyselině octové a acetonu při teplotě okolo -60°C , nebo se získaná sloučenina, ve které R^2 znamená atom vodíku, popřípadě reformyluje za vzniku odpovídající sloučeniny, v níž R^2 znamená formylovou skupinu, a získaná sloučenina, ve které R^1 znamená hydroxylovou skupinu, se popřípadě acetyluje za vzniku odpovídající sloučeniny, ve které R^1 znamená acetoxyskupinu.

V produktu obecného vzorce



zbytek R odpovídající obecnému vzorci III v případě, že R^1 představuje acetoxyskupinu, R^2 znamená methylovou skupinu, R^3 představuje hydroxylovou skupinu, R^4 znamená ethylovou skupinu a R^5 atom vodíku, představuje VLB-amid,

v případě, že R^1 znamená acetoxyskupinu, R^2 představuje formylovou skupinu, R^3 znamená hydroxylovou skupinu, R^4 představuje ethylovou skupinu a R^5 znamená atom vodíku, představuje vinkristin-amid,

v případě, že R^1 znamená acetoxyskupinu, R^2 představuje methylovou skupinu, R^3 znamená ethylovou skupinu, R^4 představuje hydroxylovou skupinu a R^5 znamená atom vodíku, představuje leurosidin-amid,

v případě, že R^1 znamená acetoxyskupinu, R^2 představuje methylovou skupinu, R^3 a R^5 znamenají atomy vodíku a R^4 znamená ethylovou skupinu, představuje deoxy-VLB „A“-amid,

v případě, že R^1 , R^2 a R^5 mají stejný význam jako k deoxy-VLB „A“, ale R^3 představuje ethylovou skupinu a R^4 znamená atom vodíku, představuje deoxy-VLB „B“-amid,

v případě, že R^1 znamená acetoxyskupinu, R^2 představuje methylovou skupinu, R^3 znamená ethylovou skupinu a R^4 a R^5 společně tvoří α -epoxidový kruh, představuje leurosin-amid,

a v případě, že oba zbytky ve významu symbolu R jsou stejné, představuje příslušný bis-amid.

Sloučeniny, v nichž ve zbytku indol-dihydroindolového alkaloidu ve významu symbolu R znamená R^2 atom vodíku, jsou meziprodukty, které formylací poskytnou vždy příslušné onkolytické činidlo, v němž R^2 představuje formylovou skupinu.

Mezi netoxické kyseliny použitelné pro přípravu farmaceuticky upotřebitelných adičních solí sloučenin podle vynálezu s kyselinami náleží anorganické kyseliny, jako kyselina chlorovodíková, dusičná, fosforečná, sírová, bromovodíková, jodovodíková, dusitá a fosforečná, jakož i netoxické organické kyseliny, včetně alifatických mono- a dikarboxylových kyselin, fenylsubstituovaných alkanových kyselin, hydroxyalkanových a alkandiových kyselin, aromatických kyselin a alifatických a aromatických sulfonových kyselin. Mezi tyto farmaceuticky upotřebitelné soli náleží tedy například sulfáty, pyrosulfáty, bisulfáty, sulfity, bisulfity, nitráty, fosfáty, monohydrogenfosfáty, dihydrogenfosfáty, metafosfáty, pyrofosfáty, chloridy, bromidy, jodidy, acetáty, propionáty, dekanoáty, kapryláty, acyláty, formiáty, isobutyryáty, kapronáty, heptanoáty, propioláty, oxaláty, malonáty, sukcináty, suberáty, sebakáty, fumaráty, maleáty, benzoáty, chlorbenzoáty, methylbenzoáty, dinitrobenzoáty, hydroxybenzoáty, methoxybenzoáty, ftaláty, tereftaláty, benzensulfonáty, toluensul-

fonáty, chlorbenzensulfonáty, xylensulfonáty, fenylacetáty, fenylpropionáty, fenylbutyráty, citráty, laktáty, 2-hydroxybutyráty, glykoláty, soli s kyselinou jablečnou, tartráty, methansulfonáty, propansulfonáty, 1-naftalensulfonáty a 2-naftalensulfonáty.

Jako ilustrativní sloučeniny spadající do rozsahu látek podle vynálezu se uvádějí:

bis[β -(VLB-C₃-karboxamido)ethyl]sulfid-disulfát,

bis[γ -(4-deacetyl-4'-deoxy-VLB-C₃-karboxamido)propyl]ether,

1,5-bis(4-deacetylleurosidin-C₃-karboxamido)pentan,

1,2-bis(leurosin-C₃-karboxamido)ethan,

bis[γ -(4'-deoxyleurosidin-C₃-karboxamido)propyl]diselenid,

bis[β -(4'-deoxyvinkristin-C₃-karboxamido)ethyl]sulfid-disulfát,

bis[β -(4-deacetyl-4'-deoxy-1-demethyl-1-formylleurosidin-C₃-karboxamido)ethyl]ether-disulfát,

tris[β -(VLB-C₃-karboxamido)ethyl]amin,

N¹-(4-deacetyl-VLB-3-karbonyl)-N²-(VLB-3-karbonyl)oktamethylendiamin,

1,8-bis(4'-deoxy-VLB-C₃-karboxamido)oktan,

1,11-bis(4-deacetyl-vinkristin-C₃-karboxamido)undekan,

1,14-bis(4-deacetylleurosin-C₃-karboxamido)tetradekan,

N¹-(4'-deoxyleurosidin-3-karbonyl)-N²-(4'-deoxy-VLB-3-karbonyl)-bis[β -aminoethyl]sulfid,

N¹-(4-deacetyl-vinkristin-3-karbonyl)-N²-(4-deacetyl-VLB-3-karbonyl)bis[β -aminoethyl]ether,

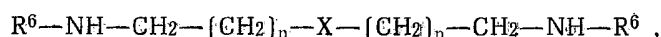
N¹-(4-deacetyl-VLB-3-karbonyl)-N²-(4-deacetylleurosidin-3-karbonyl)-bis(4-aminobutyl)diselenid.

Sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce I se připravují následujícím syntetickým postupem. Tak například při použití VLB jako základní výchozí látky při této syntéze se postupuje následovně:

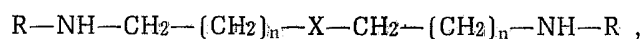
VLB se nechá reagovat s bezvodým hydrazinem v inertním rozpouštědle, rozpouštějícím obě tyto reakční složky, jako v nižším alkanolu, v uzavřené reakční nádobě. Reakční směs se obvykle zahřívá na teplotu v rozmezí od 40 do 100 °C po dobu od 12 do 48 hodin, během kteréžto doby je reakce prakticky ukončena. Produktem reakce je 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxhydrazid, protože reakce s hydrazinem vede nejen ke konverzi esterové skupiny na C₃ na hydrazinové seskupení, ale za zásaditých reakčních podmínek i k hydrolýze acetylové skupiny na C₄ na skupinu hydroxylovou. Jiné esterové skupiny v molekule nejsou za shora uvedených reakčních podmínek napadány, pouze s tím, že obvykle vzniká i určité množství 18'-demethoxykarbonylderivátu. Hlavním

produktem reakce je nicméně 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxhydrazid. Analogickým způsobem se připraví 4-deacetyl-C₃-karboxhydrazidy deoxy-VLB „A“ a „B“, leurosidinu a leurosinu. Takto vzniklé karboxhydrazidy se pak působením dusitanu sodného v kyselině převádějí na odpovídající azidy. Produkt této reakce se obvykle používá v tom stavu, v jakém byl izolován z reakční směsi, protože bylo zjištěno, že k dosažení přiměřeného výtěžku žádaného bisamidu není nutno azid čistit.

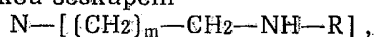
Reakcí 2 molů 4-deacetyl-C₃-karboxazidů VLB, leurosidinu, deoxy-VLB „A“ a „B“, leurosinu a jiných alkaloidů obecného vzorce



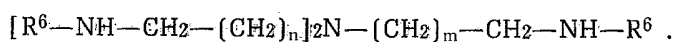
které zahrnují ty produkty podle vynálezu odpovídající obecnému vzorci



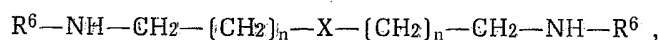
v němž R znamená zbytek shora uvedeného obecného vzorce I, kde R¹ představuje hydroxylovou skupinu, R² znamená methylovou skupinu a X má shora definovaný význam s výjimkou seskupení



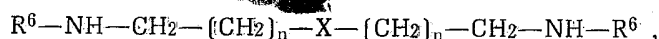
a ty produkty, v nichž R² znamená atom vodíku a zbývající symboly mají shora uvedený význam, kteréžto produkty je nutno formylovat (k zavedení formylové skupiny ve významu symbolu R²) za vzniku onkolytických činidel podle vynálezu.



Při reakci vinkristinu, leureforminu nebo jiných alkaloidů odpovídajících obecnému vzorci R⁶-OCH₃, kde R² znamená formylovou skupinu, s hydrazinem dochází nejen k hydrolýze C₄-acetoxyskupiny na C₄-hydroxylovou skupinu, ale rovněž k deformylaci na N₁. Produkt této reakce, například 1-deformyl-4-deacetyl-vinkristin-C₃-karbox-



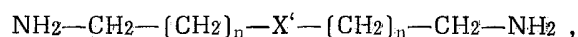
kde R⁶ má shora uvedený význam, s tím, že R² znamená pouze atom vodíku. Tuto sloučeninu je pak třeba standardním způsobem



kde R² ve zbytku R⁶ znamená formylovou skupinu.

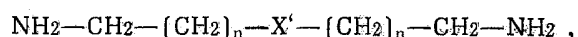
Alternativně je možno ty sloučeniny podle vynálezu, v nichž symbol R² ve zbytku R⁶ znamená formylovou skupinu, připravit oxidací odpovídající sloučeniny, v níž R² znamená methylovou skupinu, kyslíčným chromovým v kyselině octové a acetonu při nízké teplotě (-60 °C). Bisamidy obsahující oxidovatelné skupiny (například -S-, -Se-Se-) nejsou vhodnými substráty pro tento postup a je třeba je připravovat po-

R⁶-OCH₃, kde R⁶ představuje zbytek shora uvedeného obecného vzorce II (s tou výjimkou, že R² znamená pouze methylovou skupinu nebo atom vodíku), s diaminem obecného vzorce

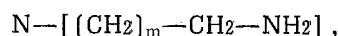


kde X' má shora definovaný význam, s výjimkou seskupení N-(CH₂)_m-CH₂-NH₂, za standardních reakčních podmínek reakce azidu a aminu, popsanych v belgickém patentovém spisu č. 858 451 pro přípravu monoamidů týchž alkaloidů z rodu Vinca, se získají žádané produkty obecného vzorce

Pokud se k reakci nasazuje tetramin obecného vzorce

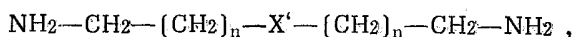


kde X' představuje zbytek



používají se 3 moly azidu na každý mol tetraminu a finálním produktem je tri-amid obecného vzorce

hydrazid, je možno převést na azid a 2 nebo 3 moly tohoto azidu pak podrobit reakci s 1 molem aminoderivátu obecného vzorce



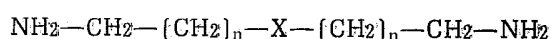
ve kterém X' a n mají shora uvedený význam, za vzniku sloučeniny obecného vzorce

reformylovat za vzniku produktu podle vynálezu, odpovídajícího obecnému vzorci

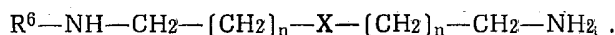
stupy popsány v předcházejícím odstavci.

Ty sloučeniny obecného vzorce I, v nichž symboly R představují dva odlišné zbytky, se připravují následujícím způsobem:

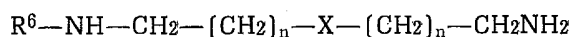
Jeden mol azidu obecného vzorce R⁶-N₃ se nechá reagovat s 1 molem diaminu obecného vzorce



za vzniku poloamidu obecného vzorce



V praxi obvykle vzniká poloamid jako vedlejší produkt vedle žádaného bisamidu i v těch případech, kdy se nechávají reagovat 2 moly azidu s 1 molem diaminu. 1 mol tohoto poloamidu se pak nechá reagovat s 1 molem druhého azidu obecného vzorce R^6-N_3 , v němž zbytek ve významu symbolu R^6 je odlišný od zbytku již přítomného v poloamidu obecného vzorce



za vzniku nesymetricky substituovaného bisamidu. Nesymetrické amidy obsahující dva odlišné zbytky ve významu symbolů R, které nelze přímo syntetizovat shora popsanými postupy, je možno připravit běžnou acetylací na C₄ nebo formylací na N₁ nesymetrického bisamidu připraveného shora popsaným způsobem, který ještě neobsahuje jednu nebo obě tyto skupiny v polohách C₄ a N₁. Zmíněné poloamidy mají hlavní využití jako meziprodukty.

Výchozí látky používané při shora popsaných syntézách se připravují následujícím způsobem.

Příprava výchozích látek

4-deacetyl-VLB-C₃-karboxhydrazid

VLB se v bezvodém ethanolu zahřívá s nadbytkem bezvodého hydrazinu cca 18 hodin v uzavřené reakční nádobě na teplotu zhruba 60 °C. Reakční nádoba se ochladí, otevře se, její obsah se vyjme a těkavé podíly se odpaří ve vakuu. Zbytek obsahující 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxhydrazid se vyjme methyldichloridem, methyldichloridový roztok se promyje vodou, oddělí se a po vysušení se methyldichlorid odpaří ve vakuu. Zbytek se rozpustí ve směsi stejných dílů chloroformu a benzenu a chromatografuje se na silikagelu. Jako eluční činidlo se používá směs benzenu, chloroformu a triethylaminu. Počáteční chromatografické frakce obsahují nezreagované výchozí materiály spolu s 4-deacetyl-VLB vzniklým při reakci jako vedlejší produkt. Další frakce obsahují 4-deacetyl-18'-demethoxykarbonyl-VLB-C₃-karboxhydrazid, který již dříve popsali Neuss a spol. v Tetrahedron Letters, 1968, 783. Následující frakce, které podle chromatografie na tenké vrstvě obsahují 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxhydrazid, se spojí a ve vakuu se z nich odpaří rozpouštědlo. Pevný zbytek taje za rozkladu zhruba při 219 až 220 °C.

Shora popsaným postupem je rovněž možno podrobit 4-deacetyl-VLB- reakci s hydrazinem za vzniku 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxhydrazidu a leurokristin nebo 4-deacetyl-leurokristin (který je možno připravit postupem podle amerického patentového spisu č. 3 392 173) je možno podrobit reakci s bez-

vodým hydrazinem v bezvodém ethanolu za vzniku 4-deacetyl-1-deformylleurokristin-C₃-karboxhydrazidu izolovaného ve formě amorfního prášku. Analogickým způsobem se připraví rovněž 4-deacetyl-C₃-karboxhydrazidy deoxy-VLB, leurosidinu a leurosínu.

4-Deacetyl-VLB-C₃-karboxazid

V 15 ml bezvodého methanolu se rozpustí 678 mg 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxhydrazidu, k roztoku se přidá cca 50 ml 1N vodné kyseliny chlorovodíkové, výsledný roztok se ochladí zhruba na 0 °C, přidá se k němu cca 140 mg dusitanu sodného a reakční směs se 10 minut míchá za udržování teploty zhruba na 0 °C. Po přidání dusitanu sodného se roztok tmavě červenohnědě zbarví. Výsledná směs se zalkalizuje přidávkem nadbytku studeného 5% vodného roztoku hydrogenuhlčitanu sodného a vodný roztok se třikrát extrahuje methyldichloridem. 4-Deacetyl-VLB-C₃-karboxazid vzniklý při shora popsané reakci přejde do methyldichloridu a tato organická vrstva se oddělí. Takto získaný methyldichloridový roztok 4-deacetylvinblastin-C₃-karboxazidu se obvykle používá bez dalšího čištění.

Analogickým způsobem se připraví 4-deacetyl-C₃-karboxazidoderiváty 1-deformylvin-kristinu, leurosidinu, 4'-deoxy-VLB „A“ a „B“ a leurosínu.

Vynález ilustrují následující příklady provedení, jimiž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

Příklad 1

Příprava 1,4-bis(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)butanu

Postupem popsaným v předchozí přípravě se vyrobí 15 g 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazidu.

K roztoku 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazidu v methyldichloridu se přidá butylendiamin (molární poměr 2:1). Po přidání 75 ml tetrahydrofuranu se reakční směs za vyloučení přístupu světla zhruba 16 hodin míchá při teplotě místnosti, pak se zfiltruje a filtrát se odpaří ve vakuu k suchu. Zbytek obsahující 1,4-bis-(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)butan se rozpustí v methyldichloridu, roztok se promyje vodou a vysuší se. Zbytek po odpaření methyldichloridu se podrobí chromatografii na silikagelu za použití shora zmíněného systému rozpouštědel jako elučního činidla. Frakce, které podle chromatografie na tenké vrstvě obsahují 1,4-bis-(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)butan, se spojí a odpaří se z nich rozpouštědlo. Získá se 1,3 g produktu s následujícími fyzikálními charakteristikami:

hmotnostní spektrum: m/e 808 (butylamid), 767 (methylamid);

titrace (66% dimethylformamid): pK_a' 6,6, 7,5;
 IČ (ν , $CHCl_3$): 1730, 1665 cm^{-1} ;
 molekulová hmotnost (osmometricky): 1195
 (vypočteno 1582).

Část A

Shora popsaným postupem se nechá 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazid reagovat s hexamethylenediaminem v molárním poměru 2:1 za vzniku 1,6-bis(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)hexanu s následujícími fyzikálními charakteristikami:

molekulární spektrum: m/e 768 (štěpením α, β -vazby hexamethylenového zbytku vzniká v podstatě N-methylvindesinový fragment);
 IČ (ν , $CHCl_3$): 1730 a 1660 cm^{-1} ;
 titrace (66% dimethylformamid): pK_a' 5,27, 7,27;
 molekulová hmotnost (osmometricky v 1,2-dichlorethanu): 1422 (vypočteno 1588);
 ^{13}C NMR: 173,4 ppm (sekundární amid);
 všechny ostatní signály odpovídají signálům zjištěným pro vindesin a dále jsou přítomny signály při 26,6, 29,3 a 39,0 ppm (hexamethylenový můstek).
 Výtěžek po chromatografii činí 10 — 20 %.

Část B

Za použití shora popsaného postupu se reakcí 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazidu s bis(2-aminoethyl)sulfidem v molárním poměru 2:1 získá bis[β -(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)ethyl]sulfid s následujícími fyzikálními charakteristikami:

molekulová hmotnost (osmometricky): 1646 (vypočteno 1592);
 IČ (ν , $CHCl_3$): 1730 a 1660 cm^{-1} ;
 hmotnostní spektrum: m/e 827 (-S-methylový fragment);

elementární analýza:
 vypočteno: 2,00 % S;
 nalezeno: 1,75 % S;

^{13}C NMR: spektrum je stejné jako pro vindesin s výjimkou signálu při 173,7 ppm (sekundární amid) a dalších signálů při 38,6 a 32,9 ppm.

Výtěžek po chromatografii činí 10 — 20 %.

Část C

Shora popsaným postupem se reakcí 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazidu s bis(β -aminoethyl)diselenidem v molárním poměru 2:1 získá bis[β -(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)ethyl]diselenid s následujícími fyzikálními charakteristikami:

^{13}C NMR: spektrum je stejné jako pro vindesin,

s tím, že obsahuje signál pro sekundární amid při 173,6 ppm a další signály při 39,6 a pravděpodobně při 38,2 ppm;
 titrace (66% dimethylformamid): pK_a' 5,10, 7,22;
 IČ (ν , $CHCl_3$): 1735 a 1670 cm^{-1} ;
 hmotnostní spektrum: signály při 873—875 a 815—817 (isotopy ^{78}Se a ^{80}Se).

Výtěžek po chromatografii činí 10 — 20 %.

Část D

Shora popsaným postupem se reakcí 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazidu s bis(β -aminoethyl)etherem v molárním poměru 2:1 získá bis[β -(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)ethyl]ether s následujícími fyzikálními charakteristikami:

IČ (ν , $CHCl_3$): 1730 a 1665 cm^{-1} ;
 titrace (66% dimethylformamid): pK_a' 5,13, 7,21;
 hmotnostní spektrum: m/e 796.

Výtěžek po chromatografii činí 10 — 20 %.

Část E

Shora popsaným postupem se reakcí 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazidu s bis(γ -amino-propyl)aminem v molárním poměru 2:1 získá bis[γ -(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)-propyl]amin s následujícími fyzikálními charakteristikami:

molekulová hmotnost (osmometricky): 1999 (vypočteno 1603);
 titrace (66% dimethylformamid): pK_a' 4,98, 7,17, 10,18;
 IČ (ν , $CHCl_3$): 1730 a 1660 cm^{-1} ;
 ^{13}C NMR: spektrum je stejné jako pro vindesin s tím, že obsahuje signál pro amid při 174,2 ppm a další signály při 39,3 a 37,0 ppm.

Výtěžek po chromatografii činí 10 — 20 %.

Část F

Shora popsaným postupem se reakcí 4-deacetyl-VLB-C₃-karboxazidu s tris(β -aminoethyl)aminem v molárním poměru 3:1 získá tris[β -(4-deacetyl-VLB-C₃-karboxamido)ethyl]amin s následujícími fyzikálními charakteristikami:

molekulová hmotnost (osmometricky): 2262 (vypočteno 2354);
 IČ (ν , $CHCl_3$): 1730 a 1660 cm^{-1} ;
 titrace (66% dimethylformamid): pK_a' 5,2 a 7,25.

Výtěžek po chromatografii činí 10 — 20 %.

Analogickým postupem jako výše se připraví rovněž další tetramery sloučenin z ro-

du Vinca, v nichž dva dimerní indol-dihydroindolové alkaloidy jsou spolu spojeny přes C3-karboxylovou skupinu za vzniku bisamidu a dvě amidové skupiny jsou spojeny alkylovým řetězcem, který může být přerušen sírou, selenem, kyslíkem nebo dusíkem.

Příklad 2

Příprava 1,4-bis(4-deacetylvinikristin-C3-karboxamido)butanu

1 g 1,4-bis(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)butanu se rozpustí v 10 ml methylenchloridu a 120 ml acetonu. Roztok se ochladí na -61°C , přidají se k němu nejprve 4 ml kyseliny octové a pak se k němu přikape roztok 2 g kysličníku chromového ve 2 ml vody a 10 ml kyseliny octové. Reakční směs se 1,5 hodiny míchá při teplotě cca -60°C , načež se reakce přeruší přidáním 14N vodného hydroxidu amonného. Výsledná směs se extrahuje methylenchloridem, methylenchloridové extrakty se oddělí a po vysušení se zbaví rozpouštědla odpařením ve vakuu. Zbytek obsahující 1,4-bis(4-deacetylvinikristin-C3-karboxamido)butan se vyčistí chromatografií na silikagelu za použití směsi methylenchloridu, ethylacetátu a methanolu (1:1:1) jako elučního činidla. Z příslušných frakcí se ve výtečku 10 až 20 % získá výše popsanou reakcí vzniklý 1,4-bis(4-deacetylvinikristin-C3-karboxamido)butan s následujícími fyzikálními charakteristikami:

molekulové spektrum: m/e 781 a 722, 371 a 355, 167, 154;
 $\text{IC} (\nu, \text{CHCl}_3)$: 1740 a 1685 cm^{-1} .

Další sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R^2 znamená formylovou skupinu, je možno připravit z odpovídajících sloučenin, v nichž R^2 představuje methylovou skupinu, oxidací kysličníkem chromovým při nízké teplotě. Alternativně je možno použít postupu podle příkladu 1, s tím, že se namísto příslušného derivátu VLB použije jako výchozí materiál 1-deformyl-4-deacetylvinikristin-C3-karboxazid a reakci je třeba doplnit reformylačním stupněm.

Sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce I, ve kterém R^1 znamená acetoxyskupinu, se připravují acetylací odpovídajících sloučenin, v nichž R^1 představuje hydroxylovou skupinu, postupem, který popsal Hargrove v Lloydia, 27, 340 [1964] nebo opatrnou acetylací 2 mol acetanhydridu na každý mol tetrameru s následující chromato-

grafií sloužící k odstranění popřípadě vzniklého produktu acetylovaného na C3-hydroxylové skupině.

Příklad 3

Příprava solí

Sulfáty uvedených amidů se připravují tak, že se příslušný amid rozpustí v absolutním ethanolu a pH vzniklého roztoku se 2% ethanolickou kyselinou sírovou nastaví na hodnotu zhruba od 3,0 do 3,5. Analogickým způsobem se připravují i další soli, včetně solí s anorganickými ionty, jako chloridů, bromidů, fosfátů, nitrátů apod., jakož i solí s organickými ionty, jako benzoátů, methansulfonátů, maleátů, tartrátů apod.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou účinné proti transplantovaným nádorům u myši in vivo. K prokázání této účinnosti sloučenin podle vynálezu se používá postup, při němž se testovaná látka aplikuje, obvykle intraperitoneálně, v různých předem určených dávkách, každý den po dobu 9 až 10 dnů nebo každý čtvrtý den, po inokulaci nádorem.

V následující tabulce I jsou uvedeny výsledky pokusů, při nichž byly myši s transplantovaným Gardnerovým lymfosarkomem (GLS), nádorem mléčné žlázy C3H, melanomem B16, leukémií P 1534 [J], leukémií P 388 nebo adenokarcinomem 755 ošetřovány sloučeninami obecného vzorce I. V prvním sloupci této tabulky je uveden název testované sloučeniny, v druhém sloupci polusumy nádor, v třetím sloupci dávkování a ve čtvrtém sloupci procentní hodnota inhibice růstu nádoru nebo prodloužení doby přežití.

Při používání nových sloučenin obecného vzorce I jako prostředků proti nádorovým onemocněním savců se účelně používá parenterálního způsobu podání, přičemž výhodná je intravenózní aplikace, i když u menších savců, jako u myši, je možno používat rovněž aplikaci intraperitoneální. K intravenózní aplikaci se používají isotonické roztoky obsahující 1 až 10 mg soli alkaloidové báze podle vynálezu v 1 ml. Účinné látky se aplikují v dávce od 0,01 do 1 mg/kg tělesné hmotnosti savce, s výhodou od 0,1 do 1 mg/kg, a to jednou nebo dvakrát týdně nebo každé dva týdny, v závislosti jak na účinnosti, tak na toxicitě účinné látky. Alternativní způsob, jak dospět k terapeutické dávce, je založen na ploše povrchu těla, přičemž se podává dávka od 6,1 do 10 mg/m^2 plochy povrchu těla savce, a to každých 7 nebo 17 dnů.

TABULKA I

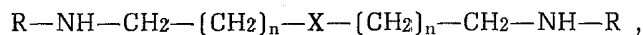
název sloučeniny	nádor	dávka v mg/ (kg × počet dnů	procentní hodnota inhibice nebo prodloužení doby přežití
1,6-bis(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)hexandisulfát	P 388	1,2 × 3 0,9 × 3	74 27
bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]-sulfididisulfát	P 388	1,2 × 3 0,9 × 3 0,6 × 3	33 49 34
bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]-diselenididisulfát	755	1,8 × 3 1,2 × 3 0,9 × 3 0,6 × 3	89 31–42 21–62 26–32
	P 1534 (J)	1,8 × 3 1,2 × 3	66 21
bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]-diselenididisulfát	C3H	2,5 × 3 2,0 × 3 1,5 × 3	toxická dávka 72 56
	GLS	2,5 × 3 2,0 × 3 1,5 × 3	72 57 29
1,4-bis(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)butandisulfát	GLS	0,4 × 9	40
bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]-etherdisulfát	P 388	1,8 × 3 1,2 × 3 0,9 × 3 0,6 × 3	toxická dávka 85 77 53
	GLS	0,4 × 9	62

Při klinickém použití sloučeniny obecného vzorce I bude ošetřující lékař podávat účinnou látku podle vynálezu zpočátku stejnou cestou, ve stejných nosných látkách a pravděpodobně i proti stejným typům nádorů, jako se používají vinkristin nebo VLB. Při odchylkách v dávkování by měl být brán zřetel na rozdíl ve výši dávek zjištěný při pokusech na experimentálních nádorech u myši, přičemž hladina dávek sloučenin obecného vzorce I je obecně srovnatelná s dáv-

kováním používaným při aplikaci vinkristinu a VLB proti nádorům citlivým na jednu nebo obě tyto sloučeniny. Při klinických testech, stejně jako v případě jiných prostředků působících proti nádorům, je třeba věnovat zvláštní pozornost účinku onkolytických sloučenin obecného vzorce I proti deseti „signálním“ nádorům uvedeným na straně 266 v publikaci „The Design of Clinical Trials in Cancer Therapy“ (ed. Staquet, Futura Publishing Company, 1973).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby dimerních sloučenin indol-dihydroindolových derivátů z rodu Vincetaxinu, spojených můstkem, obecného vzorce I,

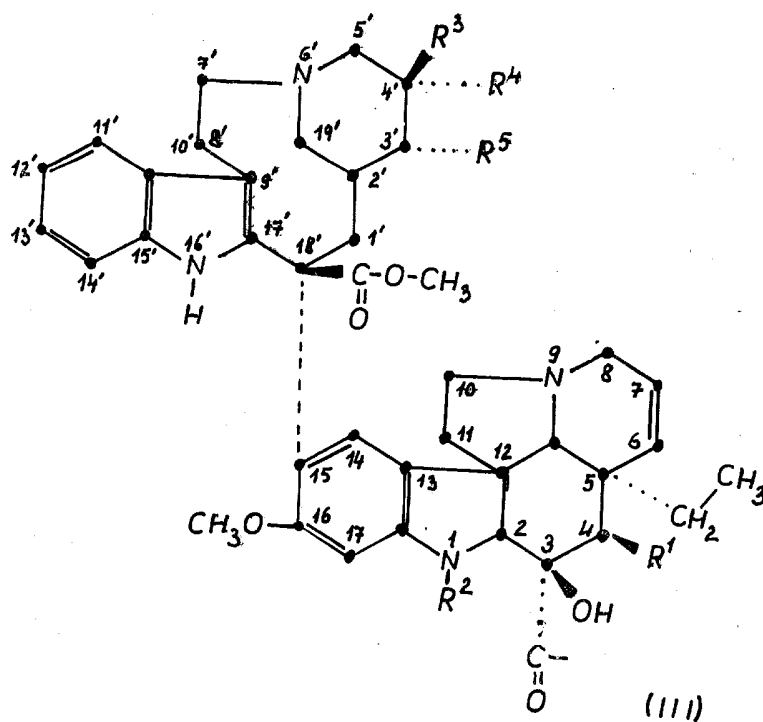


ve kterém

každý ze symbolů R, které mohou být stejné nebo rozdílné, znamená zbytek indol-di-

(I),

hydroindolového alkaloidu obecného vzorce III,



kde

R^1 znamená hydroxylovou skupinu nebo acetoxyskupinu,

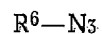
R^2 představuje methylovou skupinu, atom vodíku nebo formylovou skupinu,

jeden ze symbolů R^3 a R^4 znamená atom vodíku nebo hydroxyskupinu a druhý představuje ethylovou skupinu, a R^5 znamená atom vodíku, nebo R^4 a R^5 společně tvoří α -epoxidový kruh a R^3 znamená ethylovou skupinu,

X představuje síru, kyslík, skupinu Se-Se, NH, N-[(CH₂)_m-CH₂-NH-R] nebo (CH₂)_p,

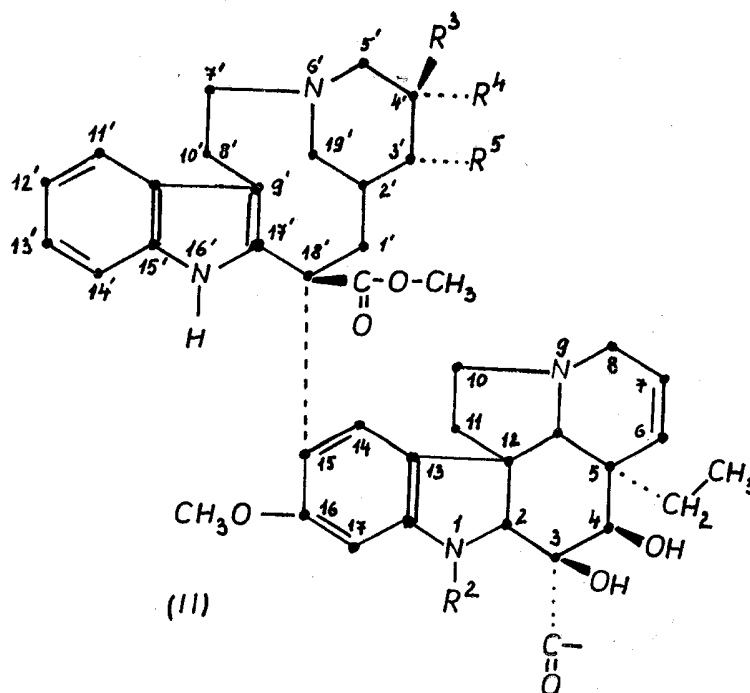
p a n nezávisle na sobě mají vždy hodnotu 0, 1, 2, 3 nebo 4 a

m má hodnotu 1 nebo 2, a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se azid obecného vzorce



ve kterém

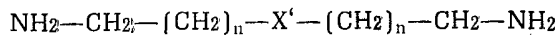
R^6 znamená zbytek indol-dihydroindolového alkaloidu obecného vzorce II,



kde

R^2 znamená methylovou skupinu nebo atom vodíku,

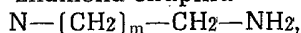
jeden ze symbolů R^3 a R^4 znamená hydroxylovou skupinu nebo atom vodíku a druhý představuje ethylovou skupinu, a R^5 znamená atom vodíku, nebo R^4 a R^5 společně tvoří α -epoxidový kruh a R^3 znamená ethylovou skupinu, nechá reagovat s diaminem nebo triaminem obecného vzorce



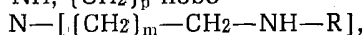
ve kterém

X' znamená kyslík, síru, skupinu Se-Se, NH, N-(CH_2) $_m$ —CH $_2$ —NH $_2$, kde m má shora uvedený význam, nebo (CH_2) $_p$, kde p má shora uvedený význam, a

n má shora uvedený význam, v poměru 2 mol sloučeniny obecného vzorce $R^6\text{—N}_3$ na každý mol diaminu shora uvedeného obecného vzorce v případě, že X' znamená síru, skupinu Se-Se, kyslík, skupinu NH nebo (CH_2) $_p$ a v poměru 3 mol sloučeniny obecného vzorce $R^6\text{—N}_3$ na každý mol triaminu shora uvedeného obecného vzorce v případě, že X' znamená skupinu



načež se popřípadě, k výrobě sloučenin, v nichž R^2 znamená formylovou skupinu, odpovídající sloučenina, ve které R^2 znamená methylovou skupinu a X představuje kyslík, skupinu NH, (CH_2) $_p$ nebo



kde p a m mají shora uvedený význam, oxiduje kysličníkem chromovým v kyselině octové a acetonu při teplotě okolo -60°C , nebo se získaná sloučenina, ve které R^2 zna-

mená atom vodíku, popřípadě reformyluje za vzniku odpovídající sloučeniny, v níž R^2 znamená formylovou skupinu, a získaná sloučenina, ve které R^1 znamená hydroxylovou skupinu, se popřípadě acetyluje za vzniku odpovídající sloučeniny, ve které R^1 znamená acetoxyskupinu, načež se získaná sloučenina popřípadě převede na svoji farmaceuticky upotřebitelnou adiční sůl s kyselinou.

2. Způsob podle bodu 1 k výrobě bis[β -(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]-diselenidu, vyznačující se tím, že se nechá reagovat 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazid s bis-(β -aminoethyl)diselenidem v molárním poměru 2:1.

3. Způsob podle bodu 1 k výrobě bis[β -(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]-etheru, vyznačující se tím, že se 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazid nechá reagovat s bis-(β -aminoethyl)etherem v molárním poměru 2:1.

4. Způsob podle bodu 1 k výrobě 1,6-bis-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)hexanu, vyznačující se tím, že se 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazid nechá reagovat s hexamethylen-diaminem v molárním poměru 2:1.

5. Způsob podle bodu 1 k výrobě 1,4-bis-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)butanu, vyznačující se tím, že se 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazid nechá reagovat s butylen-diaminem v molárním poměru 2:1.

6. Způsob podle bodu 1 k výrobě bis[β -(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]-sulfidu, vyznačující se tím, že se 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazid nechá reagovat s bis-(2-aminoethyl)sulfidem v molárním poměru 2:1.