



H U 0 0 0 2 1 7 9 7 0 B

(19) Országkód

HU

MAGYAR
KÖZTÁRSASÁGMAGYAR
SZABADALMI
HIVATALSZABADALMI
LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

217 970 B

(21) A bejelentés ügyszáma: P 92 03384

(22) A bejelentés napja: 1992. 10. 28.

(30) Elsőbbségi adatok:

07/784,275 1991. 10. 29. US

07/826,729 1992. 01. 28. US

(51) Int. Cl.⁷

C 07 D 491/22

A 61 K 31/437

A 61 P 35/00

(40) A közzététel napja: 1994. 07. 28.

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2000. 05. 29.

(72) Feltalálók:

Besterman, Jeffrey M., Durham, North Carolina
(US)

Evans, Michael G., Pittsboro, North Carolina (US)

Luzzio, Michael Joseph, Durham, North Carolina
(US)Myers, Peter Leslie, Chapel Hill, North Carolina
(US)

(73) Szabadalmaz:

Glaxo Inc., Research Triangle Park, North
Carolina (US)

(74) Képvisező:

Kerény Judit, DANUBIA Szabadalmi és Védjegy
Iroda Kft., Budapest(54) Eljárás vízben oldódó kamptotecinszármazékok és a vegyületeket
tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására

KIVONAT

A találmány tárgya eljárás vízzoldékony, (I) általános képletű kamptotecinszármazékok és gyógyászatilag elfogadható sóik és az ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására. Az (I) általános képletben

n értéke 1 vagy 2, és

i) R^1 és R^2 egymástól függetlenül lehet hidrogénatom, 1–6 szénatomos alkil- vagy hidroxi-(1–6 szénatomos alkil)-csoport,

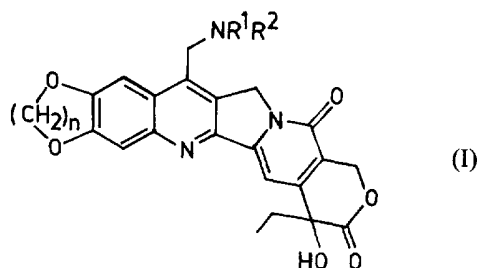
ii) R^1 jelentése hidrogénatom, és

R^2 jelentése $-\text{COR}^3$ általános képletű csoport, ahol

R^3 jelentése perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)-csoport,

vagy

iii) R^1 és R^2 együtt a nitrogénatommal azetidin-, piperidin-, morfolin-, tiomorfolin- vagy piperazinyűrűt képez, amely adott esetben N-szubsztituált 1–6 szénatomos alkil- vagy fenilcsoporttal vagy egy vagy több perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)- vagy 1–6 szénatomos alkoxicsoporttal szubsztituált fenilcsoporttal, vagy $-\text{COR}^5$ általános képletű csoporttal, ahol R^5 jelentése 1–6 szénatomos alkoxicsoport.



A találmány tárgya eljárás a 7-helyzetben szubsztituált, vízben oldódó kamptotecinszármazékok és a vegyületeket tartalmazó, tumor kezelésére alkalmas gyógyászati készítmények előállítására.

A kamptotecin természetes citotoxikus alkaloid, amely topizomeráz I inhibitor és hatásos tumorellenes szer. Először a kínai növény, a *Camptotheca accuminate* leveleiből és kérgéből izolálták Wall és munkatársai [J. Am. Chem. Soc., 88., 388. (1966)].

A kamptotecint az A képlettel ábrázolhatjuk, és ebből látható, hogy ez egy kondenzált gyűrűrendszer, amelyben A és B kinolin a C pirrolidingyűrűhöz kapcsolódik, továbbá ez a D alfa-piridongyűrűhöz kondenzált, mely viszont az E laktongyűrűhöz kapcsolódik. A 20-helyzetben egy aszimmetrikus szénatom van, ezáltal két enantiomerforma válik lehetségessé. A természetesen előforduló vegyület S-konfigurációjú.

Gyakran használnak citotoxikus szereket tumorok szabályozására vagy elpusztítására, azaz kemoterapikumokként alkalmazzák ezeket. A kamptotecin citotoxikus hatása közvetlenül összefügg a kamptotecin topozimeráz inhibitor hatásával. A topoizomeráz működése részletes magyarázatát illetően lásd A. Lehninger, Principles of Biochemistry, 813., Worth Publishers, New York (1982); L. F. Liu, „DNA Topoisomereses”, CRC Critical Review in Biochemistry, 1–24., 15. (1983) és H. Vosberg, „DNA Topoisomereses: Enzymes that Control DNA Conformation”, Current Topics in Microbiology and Immunology, 19, Springer-Verlag, Berlin (1985). A kamptotecin különösen hatásosnak mutatkozott leukémia L–1210 kezelésében és bizonyos szilárd tumorok kezelésében, melyek laboratóriumi állatoknál lépnek fel [lásd például Chem. Rev., 23., 385. (1973) és Cancer Treat. Rep., 60., 1007. (1967)].

A kamptotecin mint ígéretes, klinikailag hatásos tumorellenes szer azonban nem vált teljesen be. Lényegében a kamptotecin nem oldódik fiziológiailag kompatibilis vizes közegekben, és úgy kell módosítani, hogy eléggé oldékonnyá tegyük parenterális adagolásra, amely a tumorellenes kezelés egy előnyös módja. Oldékonnyá tehető úgy, hogy nátriumsóját képezzük, azaz a laktont felnyitjuk nátrium-hidroxid segítségével [lásd F. M. Muggia és munkatársai, Cancer Chemotherapy Reports, pt 1., 56., No. 4, 515. (1972)]. Azonban M. C. Wani és munkatársai, J. Med. Chem., 23., 554. (1980) arról számoltak be, hogy az E-gyűrű alfa-hidroxi-lakton-csoportja abszolút követelmény a tumorellenes hatáshoz.

Az irodalomban a kamptotecin származékainak módosításaira sok példát találunk, melyeket azért állítottak elő, hogy a vízzoldékonyságát javítsák. Bár sok származék ezek közül hatásosnak mutatkozott in vitro és leukémia L–1210 modelleken végzett állatkísérletekben, csatlódást keltettek krónikus áttételes szilárd tumorokban szenvedő állati modelleken.

Miyasaka és munkatársai a 4 399 282 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésben olyan kamptotecinszármazékokat írnak le, amelyek többek között hidroxi-metil és alkoxi-metil-csoporttal

szubsztituáltak a 7-helyzetben. Továbbá Miyasaka és munkatársai a 4 392 276 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban kamptotecin–7 aldehidet és hasonló aldehidszármazékokat, például acetálokat, oximokat és hidrazonokat írnak le. Nemrégén Vishnuvajjala és munkatársai a 4 943 579 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban az A gyűrűben lévő szubsztituenseket tartalmazó vízzoldékony kamptotecinszármazékokat írtak le, és Böhm és munkatársai a 0 321 122 A2 számú európai szabadalmi bejelentésben hasonló származékokat írnak le. További kamptotecinszármazékok találhatók például Miyasaka és munkatársai 4 473 692 és 4 545 880 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban és W. Kingsbury és munkatársai, J. Med. Chem., 34., 98. (1991) szakirodalmi helyen. Egyik irodalomban sem számolnak be azonban olyan vegyületekről, melyeknek tumorellenes hatása meghaladta volna a kamptotecin hatását.

Wani és munkatársai arról számoltak be, hogy a 10,11-metilén-dioxi-kamptotecin hatásosabb, mint a szubsztituátlan kamptotecin [M. C. Wani és munkatársai, J. Med. Chem., 29., 2358. (1986) és 30., 2317. (1987)]. Vízzoldékonysága azonban ugyanolyan gyenge, mint a kamptoteciné, és ez komolyan korlátozza klinikai hasznosíthatóságát.

Új vízzoldékony kamptotecinanalógokat találtunk, melyek jó topoizomeráz I-gátló hatással rendelkeznek in vitro, és hatásos tumorellenes szerek in vivo.

A találmány szerint I általános képletű vízzoldékony kamptotecinanalógokat állítottunk elő, ahol

n értéke 1 vagy 2, és

i) R¹ és R² egymástól függetlenül lehet hidrogénatom, 1–6 szénatomos alkil-, hidroxi-(1–6 szénatomos alkil)-csoport,

ii) R¹ jelentése hidrogénatom, és R² jelentése –COR³, ahol

R³ jelentése perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)-csoport, vagy

iii) R¹ és R² az összekötő nitrogénnel együtt azetidín-, pirrolidín-, piperidín-, morfolín-, tiomorfolín- vagy piperazingyűrűt képez, amely adott esetben N-szubsztituált, 1–6 szénatomos alkil- vagy fenilcsoporttal vagy egy vagy több perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)- vagy 1–6 szénatomos alkoxicsoporttal szubsztituált fenilcsoporttal, vagy –COR⁵ általános képletű csoporttal, ahol R⁵ jelentése 1–6 szénatomos alkoxicsoport,

valamint előállítottuk ezen vegyületek gyógyászatilag elfogadható sóit is.

Gyógyászatilag elfogadható sók közé tartoznak többek között a szerves savakkal képezett sók, például hidroklorid, szulfát, foszfát, difoszfát, hidrobromid és nitrát, vagy szerves savakkal képezett sók, például acetát, maleát, malát, fumarát, tartarát, szukcinát, citrát, laktát, metánszulfonát, para-toluolszulfonát, palmoát, szalicilát és sztearát. További savak, például az oxálsav, gyógyászatilag ugyan nem elfogadható, de alkalmazható intermediereként a vegyületek és gyógyászatilag elfogadható sóik előállításához.

Az E laktongyűrűt felnyithatjuk alkálifém- vagy alkáliföldfém-bizásokkal, például nátrium-hidroxiddal vagy kalcium-hidroxiddal, így alkálifém- vagy alkáliföldfém-sókat képezünk a megfelelő E gyűrű felnyitására. Mivel jobb a vízdékonysága, a nyitott E gyűrűt előnyösen átkristályosítási technológiával lehet tisztítani. Ennek megfelelően a nyitott E gyűrűt használhatjuk azután az I általános képletű vegyületek előállításához intermediereként például savas kezeléssel, például sósavval kezelve, és így az I általános képletű vegyületek tisztított formáját kapjuk.

Mint említettük, a kamptotecincsoport a 20-helyzetben tartalmaz aszimmetrikus szénatomot, és ezáltal két enantiomerforma válik lehetővé, az R- és S-konfiguráció. A találmány kiterjed mindkét enantiomerformára, és ezen formák valamennyi kombinációjára. Egyszerűség kedvéért, ahol a 20-helyzetben a szerkezeti képletben nem adjuk meg a specifikus konfigurációt, akkor mind a két enantiomerformát és ezek elegyét értjük rajta. Amennyiben másképp nem jelezzük, az R,S-nómenklátúra a racém elegyet jelzi, azaz az R- és S-enantiomerek közel ekvivalens arányú elegyét, míg az R és az S lényegében optikailag tiszta R- és S-enantiomereket jelöl. Az I általános képletű vegyület más formáit, például szolvátjait, hidrátjait, polimorf formáit is beleértjük a találmányba.

A találmány szerint az I típusú topoizomerázt gátoljuk emlősök sejtjeiben oly módon, hogy a páciensnek I általános képletű vegyületet adagolunk megfelelő mennyiségben, továbbá kiterjed a találmány tumor kezelésére is oly módon, hogy az emlősnek hatásos mennyiségű I általános képletű tumorelles vegyületet adagolunk. A találmány szerint előállítunk gyógyászati készítményeket is, melyek az I általános képletű vegyületet hatóanyagként tartalmazzák. Az I általános képletű vegyületek és új intermedierei előállítása is a találmány tárgyát képezi.

A „perhalogén” kifejezés azt jelenti, hogy valamennyi hidrogént halogén helyettesít, így a perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)-csoport például trifluor-metil-csoport lehet.

Előnyös I általános képletű vegyületek azok, ahol R¹ és R² jelentése

- egymástól függetlenül hidrogénatom, 1–4 szénatomos alkil-, hidroxil-(1–4 szénatomos alkil)-csoport, vagy
- a nitrogénnel együtt azetidin-, pirrolidin-, piperidin-, piperazin-, N-metil-piperazin-, morfolin- vagy tiomorfolincsoportot képeznek.

Előnyösek azok az I általános képletű vegyületek, ahol

n értéke 1 vagy 2, és

- R¹ és R² jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, 1–4 szénatomos alkil-, például metil- vagy etilcsoport, vagy hidroxil-(1–4 szénatomos alkil)-, például hidroxil-etil-csoport,
- R¹ jelentése hidrogénatom, és R² jelentése –COR³, ahol R³ jelentése perhalogén-(1–4 szénatomos alkil)-, például trifluor-metil-csoport, vagy
- R¹ és R² az összekötő nitrogénnel együtt azetidin-, pirrolidin-, piperidin-, morfolin-, tiomorfolin- vagy

piperazingyűrűt képez, mely utóbbi adott esetben N-szubsztituált lehet 1–4 szénatomos alkil-, például metilcsoporttal vagy fenilcsoporttal, vagy egy vagy több perhalogén-(1–4 szénatomos alkil)- (például trifluor-metil-) vagy 1–4 szénatomos alkoxi-, például metoxycsoporttal szubsztituált fenilcsoporttal vagy –COR⁵ csoporttal, ahol R⁵ jelentése 1–4 szénatomos alkoxi-, például butoxycsoport, és előnyösek továbbá ezen vegyületek gyógyászati lag elfogadható sói.

Az I általános képletű vegyületek közül a következőket említjük meg:

Példa száma	Vegyületnév
1.	7-dimetil-amino-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
2.	7-dimetil-amino-metil-10,11-metiléndioxi-20(S)-kamptotecin
3.	7-dimetil-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
4.	7-dimetil-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecin
5.	7-morfolino-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
6.	7-morfolino-metil-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecin
7.	7-pirrolidino-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
8.	7-piperidino-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
9.	7-piperidino-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
10.	7-(4-metil-piperazino-metil)-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
11.	7-(4-metil-piperazino-metil)-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecin
12.	7-dietil-amino-metil-10,11-metiléndioxi-20(S)-kamptotecin
13.	7-dietil-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
14.	7-dietil-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecin
15.	7-(N-metil-N-etanol-amino-metil)-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
16.	7-(N-metil-N-etanol-amino-metil)-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
17.	7-dietanol-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
18.	7-dietanol-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecin
19.	7-azetidino-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin
20.	7-azetidino-metil-10,11-metiléndioxi-20(S)-kamptotecin

Táblázat (folytatás)

Példa száma	Vegyületnév
21.	7-tiomorfolino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
22.	7-azetidino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
23.	7-(4-metil-piperazino-metil)-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
24.	7-trifluor-acetamido-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
25.	7-trifluor-acetamido-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
26.	7-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin-dihidroklorid
27.	7-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin-dihidroklorid
28.	7-(terc-butoxi-karbonil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
29.	7-piperazino-metil-10,11-etilén-dioxi-(S)-kamptotecin-trifluor-ecetsavsó
30.	7-[4-(α,α,α -trifluor-m-tolil)-piperazino-metil]-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
31.	7-[4-(2-metoxi-fenil)-piperazino-metil]-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin
32.	7-(4-fenil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin

Előnyösek továbbá az I' általános képletű vegyületek, ahol

n értéke 1 vagy 2, és

R^{1a} és R^{2a} jelentése

- egymástól függetlenül hidrogénatom, 1–4 szénatomos alkil-, hidroxi-(1–4 szénatomos alkil)-csoport, vagy
- az összekötő nitrogénatommal együtt azetidin-, pirrolidin-, piperidin-, morfolin-, tiomorfolin- vagy piperazingyűrűt képez, amely adott esetben N-szubsztituált, 1–6 szénatomos alkil- vagy fenilcsoporttal vagy egy vagy több perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)- vagy 1–6 szénatomos alkoxicsoporttal szubsztituált fenilcsoporttal, vagy COR⁵ általános képletű csoporttal, ahol R⁵ jelentése 1–6 szénatomos alkoxi-csoport,

és ezen vegyületek gyógyászatilag elfogadható sói.

A vegyületek előállítása

Az A módszer szerint az I általános képletű vegyületet előállíthatjuk az 1. reakcióvázlat 2. lépése szerint.

Az 1. reakcióvázlat 1. lépésében egy II általános képletű vegyületet – ahol X jelentése kilépőcsoport [lásd J. March, Advanced Organic Chemistry, 3. kiadás, 179. oldal, John Wiley & Sons, New York (1985)], például halogénatom, például klóratom, III képletű vegyülettel reagáltathatunk a 4 894 456 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás

szerint, és így IV általános képletű vegyületeket kapunk.

Az 1. reakcióvázlat 2. lépésében a IV általános képletű vegyületeket I általános képletű vegyületekké alakíthatjuk úgy, hogy a kilépőcsoportot, azaz X csoportot V általános képletű vegyülettel helyettesítjük, ahol R¹ és R² jelentése a fenti. Ez a helyettesítési reakció végrehajtható oldószerben, például vízben, 1–4 szénatomos alkanolban, 2–4 szénatomos alkilén-diolban, 1-hidroxi-2-metoxi-etánban, dimetil-acetamidban, N-metil-pirrolidinonban, dimetil-formamidban, tetrahidrofuranban, dimetil-szulfoxidban, toluolban vagy ezen oldószerek elegyében aminfelesleg jelenlétében, azaz V általános képletű vegyület feleslegében, bázissal vagy anélkül, például kálium-karbonátban.

Ezt a módszert különösen akkor használjuk, ha az I általános képletű vegyületek, melyeket előállítunk, olyanok, hogy sem R¹, sem R² nem jelent hidrogénatomot.

Egy másik, B általános módszer szerint az I általános képletű vegyületeket az 1.A) reakcióvázlat 2.a) lépése szerint állítjuk elő.

Az 1.a) lépésben egy V általános képletű vegyületet II általános képletű vegyülettel reagáltatjuk, így IIa képletű vegyületet kapunk, ahol R¹ és R² jelentése a fenti. Ezt a reakciót hasonló körülmények között hajtjuk végre, mint az A eljárást (1. reakcióvázlat, 2. lépés).

A 2.a) lépésben a B eljárásnál egy IIa képletű vegyületet III képletű vegyülettel reagáltatunk, hasonlóképpen, mint az 1. reakcióvázlat 1. lépésénél, és így kapjuk az I általános képletű vegyületet.

A B eljárás egyik változata szerint az I általános képletű vegyületeket előállíthatjuk az 1.B) reakcióvázlat szerint is. Itt az 1.b) lépésben egy Va általános képletű vegyületet, ahol „Hal” jelentése halogénatom, azaz fluor-, klór-, bróm- vagy jódatom, például trifluor-acetamidot reagáltatunk egy II általános képletű vegyülettel poláros aprotikus oldószerben, például acetonitrilben egy bázis jelenlétében, amely oldódik a poláros aprotikus oldószerben, például cézium-karbonát jelenlétében, ha az oldószer acetonitril, és így IIb képletű vegyületet kapunk.

A 2.b) lépésben egy IIb képletű vegyületet reagáltatunk III képletű vegyülettel az 1. reakcióvázlat 1. lépése szerint, és így IVb képletű vegyületet kapunk.

A 3.b) lépésben egy IVb képletű vegyületet H+B-képletű savval, például ásványi savval, például sósavval kezelünk, egy Ib képletű vegyületet, azaz az I általános képletű vegyület sóját kapjuk. Az Ib képletű vegyületet bázissal kezelhetjük ismert módon, és így kapjuk a megfelelő szabad bázist. A szabad bázist ezután ismert módon gyógyászatilag elfogadható sóvá alakíthatjuk kívánt esetben.

Ez a változat különösen akkor alkalmas, ha az R¹ és R² helyén vagy csak R² helyén hidrogénatomot tartalmazó, I általános képletű vegyületet kívánunk előállítani.

A II általános képletű vegyületeket előállíthatjuk a 2. reakcióvázlat szerint.

A 2. reakcióvázlat 1. lépésében egy VI általános képletű vegyületet reagáltatunk acilezőszerrel, például

2–5 szénatomos alkánsav-halogeniddel vagy 2–5 szénatomos alkánsavanhidriddel, például acetil-kloriddal vagy acetanhidriddel gyenge bázis, például kálium-karbonát jelenlétében poláros aprotikus oldószerben, például kloroformban, és így VII általános képletű vegyületet kapunk, ahol Ac jelentése 2–5 szénatomos acilcsoport.

A 2. lépésben egy VII általános képletű vegyületet VIII általános képletű vegyülettel reagáltatunk, ahol X jelentése kilépőcsoport, melynek definíciója a fenti, és Hal jelentése halogénatom, fém-halogenid, például cink-klorid jelenlétében, poláros aprotikus oldószerben, például nitro-metánban, és így IX általános képletű vegyületeket kapunk. A VIII általános képletű vegyület lehet például egy halogén-acetil-halogenid, például klór-acetil-klorid vagy halogén-acetonitril, például klór-acetonitril.

A 3. lépésben egy II általános képletű vegyületet képezünk az acilcsoport IX képletű vegyületről történő eltávolításával, azaz dezacilezéssel ismert módon [lásd például T. Green, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Chap. 7, John Wiley, New York (1981)]. Egy IX általános képletű vegyületet visszafolyató hűtő alatt melegíthetünk koncentrált sósavban, és a kapott sót bázissal, például nátrium-hidroxiddal semlegesítve II általános képletű vegyületet kapunk.

A 2. reakcióvázlat 2a. lépése szerint ha egy VI általános képletű vegyületként etilén-dioxi-vegyületet használunk, azaz $n=2$, akkor ezt közvetlenül reagáltathatjuk a VIII általános képletű vegyülettel anélkül, hogy először az aminocsoportot acilezéssel védenénk, és így II általános képletű vegyületet kapunk.

A II általános képletű vegyületeket [T. Sugawara és munkatársai, *J. Org. Chem.*, **44**, 578. (1979)] módszere szerint is előállíthatjuk.

A III képletű vegyületeket előállíthatjuk a 4 894 456 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás 11. oszlopa 30. sora szerint. Az 1. reakcióvázlatból kitűnik, hogy a III képletű vegyület aszimmetrikus szénatomjának konfigurációja fogja megadni az I általános képletű vegyületek konfigurációját. A III képletű racém vegyületet valamelyik enantiomerjévé rezolválhatjuk Wani és munkatársai, 5 053 512 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírása szerint.

A II, IIA és IV általános képletű intermedierek is újak.

Egy I általános képletű vegyületet másik I általános képletű vegyületté alakíthatunk ismert módszerekkel. (Nem tartozik a találmány tárgyához.)

Így például egy olyan I általános képletű vegyületet, ahol egy vagy több R^1 és R^2 jelentése hidrogénatom, ismert módon alkilezhetünk. A reakciót megfelelő alkilezőszer, például alkil-halogenid, alkil-tozilát vagy dialkil-szulfát alkalmazásával hajthatjuk végre. Az alkilezési reakciót szerves oldószerben, például amidban, például dimetil-formamidban vagy éterben, például tetrahidrofuranban, előnyösen bázis jelenlétében hajtjuk végre. Bázisként használhatunk például alkálifém-hidrideket, például nátrium-hidridet, alkálifém-karbonátot, például nátrium-karbonátot vagy alkálifém-alkoxidokat,

például nátrium- vagy kálium-metoxidot, -etoxidot vagy t-butoxidot. Az alkilezést 25–100 °C hőmérsékleten hajthatjuk végre.

Egy I általános képletű vegyületet, ahol egy vagy több R^1 és R^2 jelentése hidrogénatom, redukzív alkilezéssel is átalakíthatunk másik, I általános képletű vegyületté. A redukzív alkilezést végezhetjük megfelelő aldehiddel vagy ketonnal, alkáliföldfém-bórhidrid vagy ciano-bórhidrid segítségével. A reakciót vizes vagy vízmentes reakcióközegben, előnyösen alkoholban, például metanolban vagy etanolban, vagy éterben, például dioxánban vagy tetrahidrofuranban, adott esetben víz jelenlétében hajthatjuk végre. A reakciót 0–100 °C, előnyösen 5–50 °C közötti hőmérsékleten végezzük.

Egy másik módszer szerint egy I általános képletű vegyületet, ahol R^1 és/vagy R^2 jelentése 1–6 szénatomos alkenilcsoport, egy olyan I általános képletű vegyületté alakíthatunk, ahol R^1 vagy R^2 jelentése 1–6 szénatomos alkilcsoport. A redukciót hidrogén jelenlétében és fémkatalizátorral, például Raney-nikkelrel vagy nemesfém-katalizátorral, például palládium, platina, platina-oxid vagy ródium segítségével hajthatjuk végre, mely katalizátor hordozón, például csontszénen is lehet. A reakciót oldószerben, például alkoholban, például etanolban végezhetjük –10 °C és +50 °C, előnyösen 20–30 °C-os hőmérsékleten.

Olyan I általános képletű vegyületeket, ahol R^2 jelentése hidroxil-alkil-csoport, előállíthatjuk egy I általános képletű vegyület redukciójával, ahol R^2 jelentése COR^3 , ahol R^3 jelentése 1–6 szénatomos alkoxycsoport. A redukciót végezhetjük megfelelő hidrid redukálószerrel, például lítium-alumínium-hidridrel vagy lítium-trietil-bórhidridrel megfelelő oldószerben, például éterben, például dietil-éterben, tetrahidrofuranban vagy dioxánban, vagy szénhidrogénben, például toluolban.

A reakciót –78 °C és 100 °C, előnyösen 0 °C hőmérsékleten végezzük.

Egy I általános képletű vegyületet vagy sóját előállíthatjuk úgy, hogy egy I általános képletű védett származékát vagy sóját reagáltatjuk a védőcsoportok vagy -csoport eltávolítása céljából.

Így az I általános képletű vegyületek előállításának egy korábbi fázisában szükséges és/vagy kívánatos lehet egy vagy több érzékeny csoportot megvédeni a molekulában nemkívánatos mellékreakcióktól.

Az I általános képletű vegyületek előállításánál használt védőcsoportokat ismert módon alkalmazzuk. Lásd például „*Protective Groups in Organic Chemistry*”, Ed. J. F. W. McOmie (Plenum Press, 1973) vagy „*Protective Groups in Organic Synthesis*”, by Theodora W. Greene (John Wiley and Sons, 1981).

Ismert amino-védőcsoportok lehetnek például az aralkilcsoportok, például benzil-, difenil-metil- vagy trifenil-metil-csoport és acilcsoportok, például N-benzil-oxi-karbonil- vagy terc-butoxi-karbonil-csoport. Az I általános képletű vegyületeket, ahol R^1 és R^2 jelentése hidrogénatom, előállíthatjuk a megfelelő védett vegyületből a védőcsoport eltávolításával.

A hidroxicsoportok védve lehetnek például aralkil-csoporttal, benzil-, difenil-metil- vagy trifenil-metil-csoporttal, acilcsoporttal, például acetilcsoporttal vagy szilikon-védőcsoporttal, például trimetil-szilil- vagy terc-butil-dimetil-szilil-csoporttal vagy tetrahidropirán-szarmazékkal.

A védőcsoportok eltávolítását ismert módon végezhetjük, így például egy aralkil-, például benzilcsoportot lehasíthatunk hidrogenolízissel, katalizátor, például paládium csontszen jelenlétében vagy acilcsoport, például N-benzil-oxi-karbonil-csoportot eltávolíthatunk hidrolízissel, például hidrogén-bromiddal ecetsavban, vagy redukcióval, például katalitikus hidrogénezéssel; a szilikon-védőcsoportokat eltávolíthatjuk például fluoridionos kezeléssel vagy savas körülmények között hidrolízissel, és a tetrahidrofuráncsoportokat lehasíthatjuk savas körülmények között hidrolízissel.

Az A–B eljárásoknál szükséges vagy kívánatos lehet a védőcsoportokat a molekulában a fent leírt módon védeni. Az I általános képletű vegyületekből vagy sóikból a védőcsoport eltávolítását az A–B eljárásokat követően hajthatjuk végre.

A találmány szerint bármilyen sorrendben az A–B eljárások után adott és/vagy kívánt esetben

- i) eltávolíthatjuk bármelyik védőcsoportot, és
- ii) az I általános képletű vegyületet vagy sóját gyógyszerként elfogadható savaddíciós sóvá alakíthatjuk.

Kívánt esetben az I általános képletű vegyületet só, például savaddíciós só formájában úgy állíthatjuk elő, hogy a szabad bázist megfelelő savval, előnyösen ekvivalens mennyiségű savval vagy kreatinin-szulfáttal kezeljük megfelelő oldószerben, például vizes etanolban.

A szintézis utolsó lépésében, valamint a szintézis egy megfelelő közbenső lépésében is bevezethetjük a kívánt csoportokat. Az ilyen többfázisú eljárások esetében a reakció sorrendjét úgy választhatjuk meg, hogy a reakciókörülmények nem befolyásolják a molekulában lévő és a végtermékben kívánatos csoportokat.

Az I általános képletű vegyületek biológiai hatása úgy tűnik, hogy az S-enantiomerben testesül meg, az R-enantiomer kevés vagy egyáltalán nem rendelkezik hatással. Így az I általános képletű vegyület S-enantiomerje előnyös az R és S elegyéhez, például a racém elegyhez képest. Azonban, ha az R-enantiomer kívánatos, például kontrollvizsgálatokra vagy más vegyületek előállítására, ezek is előállíthatók a III képletű vegyület R-enantiomerjének alkalmazásával az 5 053 512 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás segítségével.

Az 1., 1.A) vagy 1.B) reakcióvázlát segítségével előállított vegyületet ismert módon, például kromatográfiásan desztilláció vagy kristályosítás útján tisztíthatjuk.

Hasítható komplex in vitro kísérlet

Az alábbi A táblázatban lévő adatok az I általános képletű vegyületek relatív topoizomeráz I típusú gátló hatását mutatják. Ezt a kísérletet Hsiang, Y. és munkatársai, J. Biol. Chem., 260: 14 873–14 878. (1985) módszere szerint végeztük. A kísérlet jól mutatja az összefüggést a rák állati modelljében, a topoizomeráz inhibitorok in vivo antitumorhatásával, például kamptotecin és

analógjai esetében [Hsang és munkatársai, Cancer Research, 49: 4385–4389. (1989) és Jaxel és munkatársai, Cancer Research, 49: 1465–1469. (1989)].

Azok a vegyületek, amelyek megfigyelhető hatást mutatnak 2000 nm-nél nagyobb koncentrációknál (az A táblázatban „+”-ként jelölve) gyengén, illetve mérsékelten hatásosnak tekinthetők, míg az 500 nm-nél alacsonyabb koncentrációknál mutatott hatások (az A táblázatban „++++”-al jelölve) igen hatásosnak nevezhetők. Az „IC₅₀” az I általános képletű vegyületnek az a koncentrációja, amelynél a DNS-szubsztrát 50%-át a topoizomeráz I fogja.

A táblázat

I általános képletű vegyületek topoizomerázgátló hatása a hasíthatókomplex-kísérletben

Példa száma	Izomerforma	Relatív IC ₅₀ ⁺
2.	(S)	++++
6.	(S)	++++
11.	(S)	++++
1.	(R,S)	++++
17.	(R,S)	++++
5.	(R,S)	++++
4.	(S)	+++
9.	(R,S)	+++
10.	(R,S)	+++
13.	(R,S)	+++
16.	(R,S)	++
7.	(R,S)	++
15.	(R,S)	++
16.	(R,S)	++
19.	(R,S)	++
8.	(R,S)	+

*IC₅₀ tartomány

Szimbólum	nM
++++	<≈500
+++	<≈1000>≈500
++	<≈2000>≈1000
+	>≈2000

A IV általános képletű vegyületeket is jó topoizomeráz I-gátló hatásúnak találtuk.

Humán tumor-xenotranszplantátumok

Az utóbbi években humán tumor-xenotranszplantátumokat heterotranszplantáltak meztelen egerekbe a rákellenes kemoterapeutikumok vizsgálatára. [Lásd Giovanella, B. C., Stehlin, Jr., J. S., Separd, R. C. és Williams, Jr., L. J., „Correlation between response to chemotherapy of human tumors in patients and in nude mice”, Cancer 52.: 1146–1152. (1983); Boven, E. és Winorad, B. Eds., The Nude Mouse in Oncology

Research CRC Press, Inc., Boca Raton, FL (1991); és Fiebig, H. H., „Comparison of tumor response in nude mice and in patients”, Human Tumour Xenografts in Anticancer Drug Development, Winograd, B., Peckham, M. J. és Pinedo, H. M. Eds., E.S.O. Monographs, Springer, Heidelberg, 25. (1988).]

Általában a humán tumor-xenotranszplantátumok nemcsak a hisztológiai, biokémiai és antigénjellemzőket tartják meg, hanem az eredeti tumorszövet kémiai érzékenységét is (lásd Boven és munkatársai, supra). Hosszadalmas vizsgálatok bizonyítékot szolgáltatnak arra, hogy a humán tumor-xenotranszplantátumok ezeket a fontos biológiai tulajdonságait az eredeti tumor-nak, beleértve a biológiai instabilitást, amely mint ismeretes, a páciensek tumorjában fellép (lásd Boven és munkatársai, supra). Legfontosabb, hogy számos kutató beszámolt azokról a jó összefüggésekről, amelyek a humán tumor-xenotranszplantátumok gyógyszerhatásai és a humán páciensek klinikai eredményei között fellépnek (Giovenella és munkatársai és Fiebig, supra).

Humán kolorektális adenokarcinoma HT-29 xenotranszplantátum in vivo kísérlet

21 ± 2 g súlyú nőstény NU/NU egereket használtunk a B. C. Giovanella és munkatársai, Science, 2246., 1046. (1989) szakirodalmi helyen megtalálható teszt módosított verziójában. A kontroll- és a tesztállatokat szubkután beoltottuk a lapockacsont alatti területen 10⁶ életképes HT-29 humán végbéltumorsejtek szuszpenziójával a 0. napon. A tumorokat 2 héttel a gyógyszer adagolása előtti ideig hagyjuk növekedni. A topoizomeráz I elleni in vitro hatásra alapozva különböző dózisokat választunk. Minden dózisszintcsoport 8 állatot tartalmaz. A tesztvegyületeket vagy 0,1 mólos acetátpufferben (pH 5, „a” közeg) vagy 87,5%-os foszfátpufferezett fiziológiás sóoldatot, 12,375% dimetil-szulfoxidot és 0,125% Tween 80-at [ICI termék, poli(oxi-etilén)-szorbitán-monooleát] („b” közeg) állítjuk elő és szubkután adagoljuk hetente kétszer 5 héten keresztül a 14. naptól kezdődően. A dózisokat mg/kg alapa számítjuk minden ketrecben az átlagos testtömeg szerint. A tumor tömegét két mérőleges tolmérceméréssel számítjuk ki a következő képlet alapján:

$$\text{tumor tömeg} = \text{hossz} \times \text{szélesség}^2 : 2 \text{ mm.}$$

Minden állatnál a tumor tömeget a kísérlet folyamán nyomon követjük. Minden csoportban az eredményeket úgy fejezzük ki, hogy 5 héttel a kezelés után közvetlenül az 50. napon megállapítjuk az átlagos tumortömeget, és elosztjuk közvetlenül a kezelés kezdete előtti átlagos tumortömeggel (14. nap). Az eredményeket a B táblázatban fejezzük ki. A közegkontrollok mindegyikénél az arány körülbelül 20, ez azt jelzi, hogy a gyógyszeres kezelés hiányában a tumor tömege körülbelül 20-szorosára növekedett a kísérlet folyamán. Ezzel szemben az 1 arány azt jelenti, hogy a tumor megállt, és az 1-nél kisebb arány pedig a tumor regresszióját jelzi. Így a 4. és 6. vegyületek tumormegállást okoztak, míg a 11. és 23. pedig tumorregressziót. A tumorelles hatás kritériuma a tumor növekedésének legalább 50%-os gátlása az adagolás után 5 héttel (az 50. napon), és ez az arány 10-nél kisebb vagy azzal egyenlő.

B táblázat

Optimális dózis in vivo tumorelles hatás

Vegyület	mg/kg	(tumortömeg _{50. nap} / tumortömeg _{14. nap})
kontroll (közeg egyedül)	–	20,0 ^a /21,8 ^b
2.	0,8	1,8 ^b
4.	7,0	1,3 ^a /1,0 ^b
6.	1,0	1,0 ^b
11.	9,0	0,6 ^a
14.	2,0	2,0 ^a
20.	1,5	1,5 ^a
22.	12,0	1,6 ^a
23.	3,0	0,5 ^a

^a 0,1 M acetátpuffer-közeg, pH=5

^b 87,5% foszfátpufferezett fiziológiás sóoldat-közeg, 12,375 dimetil-szulfoxid és 0,125 Tween 80

Hasznosság

Az I általános képletű vegyületek hatásának következtében emlősök, beleértve a humán tumorok és rákos növekedések, széles spektruma ellen hatásosak, például a szájüreg-garat (nyelv, ajak, száj, garat), továbbá nyelőcső, gyomor, vékonybél, vastagbél, végbél, máj és epeutak, hasnyálmirigy, gége, beleértve a nagy sejtűdó-karcinómát, csont, kötőszövet, bőr, vastag- és végbél, mell, méhnyak, corpus méhbelhártya, petefészek, prosztata, here, hólyag, vese és más húgyúti szövetek, szem, agy és központi idegrendszer, pajzsmirigy és más belső elválasztású mirigyek, leukémiák (limfocita, leukocita, monociták), Hodgkin-féle betegség vagy nem Hodgkin-féle limfómák, többszörös mielóma stb. daganatai. A „daganat”, a „rák” és a „ráknövekedés” kifejezéseket szinonimákként használjuk.

Az I általános képletű vegyületek antitumorális szerként hatásos mennyiségben szükségesek. Ez a mennyiség a kezelendő emlőstől függően változik, és az orvos vagy az állatgyógyász megítélésétől függ. Tényezőként figyelembe kell venni a kezelendő állapotot, az alkalmazás módját, a készítmény természetét, az emlős testsúlyát, a felületi területet, a kort, az általános állapotot és az adagolandó vegyületet. A tumorelles dózis hatásos körülbelül 0,1–200 mg/testtömeg-kg/nap, előnyösen 1–100 mg/kg/nap tartományban. Az 5 napi dózis adagolható egyszeri dózis vagy többszöri dózis formájában, például naponta 2–6-szor, vagy intravénás infúzióval egy kiválasztott időtartamig. Az alábbi dózisok és a fenti tartomány adagolható az egyes pácienseknek kívánt esetben.

Így például egy 75 kg-os emlősnek a dózistartomány 75–7500 mg/nap közötti, és a tipikus dózis 800 mg/nap. Ha többszöri dózisokat írunk elő, akkor a kezelés rendszerint 200 mg vegyület napi négyszer adagolva.

Készítmények

A gyógyászati alkalmazásra az I általános képletű vegyületet megfelelő hordozókkal és adott esetben más hatóanyagokkal együtt adagoljuk. A hordozónak gyógyászatiilag elfogadhatónak kell lenni olyan értelemben, hogy a többi komponenssel kompatibilis, és a páciensre nézve nem káros.

A készítmények lehetnek orális, rektális, vaginális, transzdermális vagy parenterális adagolásra, azaz szubkután, intramuszkuláris és intravénás adagolásra alkalmasak. Előnyös az orális vagy parenterális adagolásra alkalmas készítmény.

A készítményeket egységdózisformában állíthatjuk elő, bármilyen ismert módszerrel. A módszerek közé tartozik az, hogy a hatóanyagot összekeverjük a hordozóval, ami egy vagy több további komponenst jelenthet. Általában a készítményeket úgy állítjuk elő, hogy egységesek legyenek, és a hatóanyagot alaposan elkeverjük a folyékony hordozóval vagy a finom eloszlású szilárd hordozóval, majd szükség esetén a kívánt egységdózisformává alakítjuk.

Az orális adagolásra alkalmas készítmény lehet kapszula, pirula, tablettá vagy pasztilla, mindegyik előre meghatározott mennyiségben tartalmazza a hatóanyagot, továbbá lehet por vagy granulátum, vagy nemvizes folyadékkal képezett szuszpenzió vagy oldat, például szirup, elixír, emulzió vagy egyszerre beveendő nagy adag gyógyszer.

A tablettát előállíthatjuk sajtolással vagy olvasztással, adott esetben egy vagy több segédanyaggal együtt. A tablettákat úgy állítjuk elő, hogy megfelelő gépen a hatóanyagot szabadon folyó formában, például por vagy granulátum formájában, adott esetben segédanyagokkal együtt, például kötőanyaggal, csúszást elősegítő szerrel, inert hígítóval, felületaktív anyaggal vagy diszpergálószerezrel együtt sajtoljuk. Az olvasztott tablettákat úgy állítjuk elő, hogy megfelelő gépben megolvasztjuk, és a porított hatóanyagot összekeverjük megfelelő hordozóval.

A szirupot vagy szuszpenziót úgy állítjuk elő, hogy a hatóanyagot hozzáadjuk koncentrált vizes cukoroldathoz, például szacharózoldathoz, melyhez még egyéb segédanyagokat is adhatunk, például ízesítőt vagy a cukor kristályosítását késleltető anyagot, vagy az egyéb komponensek oldékonyságát növelő szert, például többértékű alkoholt, például glicerint vagy szorbitot.

A rektális vagy vaginális adagolásra szolgáló készítményeket kúp formájában állíthatjuk elő megfelelő hordozóval, például kakaóvajjal vagy Witepsol S55-tel (Dynamite Nobel Chemical védjegy, Németország).

Transzdermális adagolásra a vegyületeket kikészíthetjük krémek, gélek, kenőcsök vagy oldatok formájában, vagy transzdermális tapasz formájában. Az ilyen készítményeket kikészíthetjük vizes vagy olajos bázissal megfelelő sűrítőszer, gélező-, emulgeáló-, stabilizáló-, diszpergáló-, szuszpendáló- és/vagy színezőanyag hozzáadásával.

A parenterális adagolásra szolgáló készítmények steril vizes készítmények, amelyeket a hatóanyagból állítunk elő, és ez előnyösen izotóniás a páciens vérével.

Ezek a készítmények az I általános képletű vegyület gyógyászatiilag elfogadható savaddíciós sójának oldatát vagy szuszpenzióját tartalmazzák, amely a páciens vérével izotóniás. Ezek a készítmények desztillált vizet, például 5% dextrózt tartalmazó desztillált vizet, például fiziológiás só és az I általános képletű vegyület gyógyászatiilag elfogadható savaddíciós sóját tartalmazzák, mely utóbbi ezen oldószerekben megfelelően oldódik, ilyen lehet például a hidroklorid. Ezek a készítmények az I általános képletű vegyületet szilárd formában vagy koncentrált oldat formájában tartalmazzák, és hígításra megfelelő oldószerrel kapjuk a parenterális adagolásra alkalmas oldatot.

A fenti komponenseken kívül a készítmények egy vagy több további segédanyagot is tartalmazhatnak, például hígítókat, puffereket, ízesítőket, kötőanyagokat, felületaktív anyagokat, sűrítőket, csúszást elősegítő szereket, szuszpendálószereket, konzerválószereket, beleértve az antioxidánsokat is.

A találmány további részleteit az alábbi példákkal szemléltetjük. A példákban használt szimbólumok meg egyeznek a szakirodalomban használtakkal, például a Journal of the American Chemical Societyben használtakkal. A szobahőmérséklet körülbelül 25 °C-ot jelent.

1. példa

7-Dimetil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (1. számú vegyület)

A) 3,4-Metilén-dioxi-acetanilid

17 g, 124 mmol, kereskedelmi forgalomban lévő 3,4-metilén-dioxi-anilin és 15,5 g, 136 mmol nátrium-karbonát 90 ml kloroformmal készített elegyéhez 5 °C-on 8,8 g, 124 mmol acetyl-kloridot csepegtetünk keverés közben. Az elegyet szobahőmérsékletre melegítjük és 18 óra hosszat keverjük. A reakcióelegyet 50 ml 1 n sósavval kétszer mossuk, és a szerves fázist magnézium-szulfát felett szárítjuk, és az oldószert eltávolítva barna, szilárd anyagot kapunk. Vízből átkristályosítva aktív szénnel kezelve 3,4-metilén-dioxi-acetanilidet kapunk 9,34 g mennyiségben, 42,1%-os kitermeléssel halványbarna, szilárd anyag formájában.

Elemenálízis a $C_9H_9NO_3$ képletre számítva:

számított: C%=60,34, H%=5,04, N%=7,79;

talált: C%=60,33, H%=5,06, N%=7,82.

B) 2'-Acetil-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenon

24,3 g, 178,3 mmol cink-klorid és 16,1 ml, 202,1 mmol klór-acetyl-klorid 85 ml nitro-metánnal készített elegyéhez nitrogénáramban szobahőmérsékleten hozzácsepegtetünk 8,96 g, 50,0 mmol 3,4-metilén-dioxi-acetanilidet 15 ml nitro-metánban. Ezt az elegyet visszafolyatós hűtő alatt 1,5 óra hosszat melegítjük, hagyjuk szobahőmérsékletre lehűlni, jégre öntjük és metilén-kloriddal extraháljuk, melyet bepárlással eltávolítunk, és így barna, szilárd anyagot kapunk. Ezt etil-acetát és hexán elegyből átkristályosítjuk, miközben aktív szénnel kezeljük, és így 2'-acetyl-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenont kapunk sárga kristályok formájában 831,3 mg mennyiségben, 6,5%-os kitermeléssel.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta=8,45$ (s, 1H), 7,2 (s, 1H), 6,09 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 2,25 (s, 3H).

C) 3,4-Metilén-dioxi-pivaloil-anilid

Ezt a vegyületet az 1.A) példa szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy acetyl-klorid helyett ekvivalens mennyiségű 2,2-dimetil-propanoil-kloridot használunk.

D) 2'-Pivaloil-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenon

Ezt a vegyületet az 1.B) példa szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy 3,4-metilén-dioxi-acetanilid helyett 3,4-metilén-dioxi-pivaloil-anilidet használunk ekvivalens mennyiségben.

E) 2'-Amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenon

0,9 g, 3,53 mmol 2'-acetyl-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenon ekvivalens mennyiségű 2'-pivaloil-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenon 60 ml etanollal készített elegyéhez 5 °C hőmérsékleten hozzásepegtetünk 12,5 ml, 149,7 mmol koncentrált sósavat. A reakcióelegyet ezután egy óra hosszat melegítjük visszafolyató hűtő alatt, majd 80 ml/60 g 2 n nátrium-hidroxid/jég elegyére öntjük és 3 × 70 ml etil-acetáttal mossuk. A szerves fázisokat egyesítjük és 50 ml telített sóoldattal mossuk, vízmentes nátrium-szulfát fellett szárítjuk és vákuumban bepárolva zöldessárga, szilárd anyagot kapunk. Ezt a szilárd anyagot etil-acetát, izopropanol és hexán elegyből átkristályosítjuk, aktív szénnel kezeljük, és így 0,39 g, 52% 2'-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenont kapunk.

Elemanalízis a $\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}_3\text{Cl}$ képletre számítva:

számított: C%=50,66, H%=3,80, N%=6,47;

talált: C%=50,60, H%=3,77, N%=6,56.

F) 5'(R,S)-1,5-Dioxo-(5'-etil-5'-hidroxil-2'H,5'H,6'H-6-oxo-pirano)[3',4'-f]6,8-tetrahydro-indolizin és 5'(S)-1,5-dioxo-(5'-etil-5'-hidroxil-2'H,5'H,6'H-6-oxo-pirano)[3',4'-f]6,8-tetrahydro-indolizin (III képletű vegyületek)

Ezeket a vegyületeket az alábbiakban „triciklusos keton (R,S)” és „triciklusos keton (S)” néven említjük, vagy közösen „III általános képletű vegyületek” alatt, ezeket Wani és munkatársai módszere szerint állítjuk elő, mely megtalálható az 5 052 512 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban. A megfelelő R-enantiomert is az itt leírt módon állíthatjuk elő.

G) 7-Klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin

A kamptotecin előállításának módszere szerint, amely megtalálható a fenti amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban, 256 mg, 0,97 mmol triciklusos ketonnal keverjük 50 ml toluolban visszafolyató hűtő alatt a 2'-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenont Dean-Stark-csapda alatt fél óra hosszat. Az elegyet lehűtjük, a szilárd anyagot leszűrjük és toluollal és etanollal mossuk. 408,5 mg, 68,8% 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecint kapunk.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): $\delta=7,72$ (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,2 (s, 1H), 6,34 (s, 2H), 5,42 (s, 2H), 5,32 (s, 2H), 5,24 (s, 2H), 1,85 (m, 2H), 0,88 (t, 3H).

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 441;

talált: 441.

H) 7-Dimetil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin

0,11 g, 0,25 mmol 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-(R,S)-kamptotecin és 346 mg, 0,5 mmol kálium-karbonát 1 ml dimetil-formamiddal készített kevert elegyéhez 6,1 ml, 0,5 mmol dimetil-amint adagolunk 5 °C hőmérsékleten 3,73 mg/ml tetrahydrofurános oldat formájában. A reakcióelegyet biztonságosan bedugaszoljuk, majd hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni, 15 óra hosszat keverjük, leszűrjük, hogy a szilárd anyagot eltávolítsuk. A szűrletet vákuumban bepároljuk, és a kapott szilárd anyagot acetonitrillel eldörzsöljük, majd leszűrjük. A szűrletet vákuumban bepároljuk sűrű maradékká. A kapott maradékot feloldjuk minimális mennyiségű kloroformban és 30 g szilikagélén gyorskromatografáljuk, és egymást követően 250 ml etil-acetáttal, majd 250 ml etil-acetát és izopropanol 9:1 arányú elegyével, majd 250 ml etil-acetát és izopropanol 4:1 arányú elegyével eluáljuk. A frakciókat elkülönítjük, vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (5% metanol/etil-acetát), és ultraibolya lámpával kezeljük. A megfelelő frakciókat egyesítjük, bepároljuk, vákuumban szárítjuk, és így 6 mg, 4,7% 7-dimetil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecint kapunk. A vegyületet ecetsavas só formájában jellemezzük.

Olvadáspont: >250 °C.

Elemanalízis a $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot \text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ képletre számítva:

számított: C%=61,64, H%=5,17, N%=8,73;

talált: C%=61,29, H%=5,34, N%=8,25.

I) Nyílt E gyűrűforma

A (H) pont szerinti vegyületet ekvivalens mennyiségű nátrium-hidroxiddal kezeljük, és így az E gyűrű felnyílt E gyűrű formáját tartalmazó 7-szubsztituált kamptotecint kapjuk. Ez utóbbit ekvivalens mennyiségű sósavval kezelve az E gyűrű bezárul, és ezáltal ismét visszakapjuk a (H) pont szerinti vegyületet.

2. példa

7-Dimetil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (2. számú vegyület)

A) 7-Klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin

A vegyületet az 1. példa szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy a (G) pont szerinti rész ekvivalens mennyiségű triciklusos keton (S), melyet a triciklusos keton (R,S) helyett használunk.

Olvadáspont: >250 °C.

B) 7-Dimetil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin

Ezt a vegyületet az 1. példa H) része szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy ekvivalens mennyiségű 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecint használunk, melyet a 2. példa A) része szerint állítunk elő, és ezt a vegyületet használjuk a 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett.

Olvadáspont: >250 °C.

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 450;

talált: 450.

3. példa

7-Dimetil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (3. számú vegyület)

A) 7-Klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin

Ezt a vegyületet az 1. példa szerint állítjuk elő, azaz az eltéréssel, hogy az A) és C) részben 3,4-metilén-dioxi-anilin helyett ekvivalens mennyiségű 3,4-etilén-dioxi-anilint használunk.

Nagy felbontású tömegspektrum M+1:

számított: 455,1009;

talált: 455,1005.

B) 7-Dimetil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin

Ezt a vegyületet az 1. példa H) pontja szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecint használunk.

Nagy felbontású tömegspektrum M+1:

számított: 464,1821;

talált: 464,1833.

4. példa

7-Dimetil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (4. számú vegyület)

A) 7-Klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin

Ezt a vegyületet az 1. példa szerint állítjuk elő, azaz az eltéréssel, hogy az A) és C) részben 3,4-metilén-dioxi-anilin helyett ekvivalens mennyiségű 3,4-etilén-dioxi-anilint használunk, és a G) részben pedig triciklusos keton (R,S) helyett triciklusos keton (S)-t használunk.

Nagy felbontású tömegspektrum M+1:

számított: 455,1009;

talált: 455,1000.

B) 7-Dimetil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin

Ezt a vegyületet az 1. példa H) része szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecint használunk.

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 464,1821;

talált: 464,1811.

5. példa

7-Morfolino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (5. számú vegyület)

Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett morfolint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 3. példa B) részében előállított 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecint használunk.

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 506,1942;

talált: 506,1925.

6. példa

7-Morfolino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (6. számú vegyület)

5 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű morfolint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 4. példa B) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecint használunk.

10 Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 506,1942;

talált: 506,1929.

7. példa

7-Pirrolidino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (7. számú vegyület)

15 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű pirrolidint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 3. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecint használunk.

20 Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 490,1978;

25 talált: 490,1988.

8. példa

7-Piperidino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (8. számú vegyület)

30 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett piperidint használunk. Tömegspektrum M+1:

számított: 490;

talált: 490.

35 ¹H-300 NMR (DMSO-d₆): δ=7,95 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 6,35 (s, 2H), 5,49 (s, 2H), 5,41 (s, 2H), 4,85 (széles s, 2H), 1,9-0,7 (m, 11H).

9. példa

7-Piperidino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (9. számú vegyület)

40 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett piperidint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 3. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecint használunk.

45 Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 504,2127;

50 talált: 504,2129.

10. példa

7-(4-Metil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (10. számú vegyület)

55 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű 4-metil-piperazint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 3. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecint alkalmazzuk.

60

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 519,2236;

talált: 519,2246.

11. példa

7-(4-metil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (11. számú vegyület)

Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű 4-metil-piperazint és 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 4. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecint alkalmazunk.

Olvadáspont: 261–264 °C.

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 519;

talált: 519.

12. példa

7-Dietil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (12. számú vegyület)

Ezt a vegyületet az 1. példa H) része szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett dietil-amint használunk ekvivalens mennyiségben, és 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 2. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(S)-kamptotecin ekvivalens mennyiségét alkalmazzuk.

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 478,1978;

talált: 478,1963.

13. példa

7-Dietil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin (13. számú vegyület)

Az 1. példa H) része szerinti eljárást alkalmazzuk, de dimetil-amin helyett dietil-amint reagáltatunk, és 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett ekvivalens mennyiségű 7-klór-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecint alkalmazunk.

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 492,2134;

talált: 492,2140.

14. példa

7-Dietil-amin-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (14. számú vegyület)

Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett dietil-amint használunk ekvivalens mennyiségben, és 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 4. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecin ekvivalens mennyiségét alkalmazzuk.

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 492,2134;

talált: 492,2122.

15. példa

7-(N-Metil-N-etanol-amino-metil)-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin (15. számú vegyület)

Az 1. példa H) része szerint járunk el, de dimetil-amin helyett N-metil-etanol-amin ekvivalens mennyiségét alkalmazzuk.

Nagy felbontású tömegspektrum:

5 számított: 480,1771;

talált: 480,1776.

16. példa

7-(N-Metil-N-etanol-amino-metil)-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin (16. számú vegyület)

10 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű N-metil-etanol-amint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 3. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin ekvivalens mennyiségét alkalmazzuk.

15 Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 494,1927;

20 talált: 494,1929.

17. példa

7-Dietanol-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin (17. számú vegyület)

25 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű dietanol-amint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 3. példa A) része szerint előállított ekvivalens mennyiségű 7-klór-metil-10,11-etiléndioxi-20(R,S)-kamptotecint alkalmazunk.

30 Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 524,2024;

35 talált: 524,2026.

18. példa

7-Dietanol-amino-metil-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecin (18. számú vegyület)

40 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű dietanol-amint használunk, és 7-klór-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 4. példa A) része szerint előállított ekvivalens mennyiségű 7-klór-metil-10,11-etiléndioxi-20(S)-kamptotecint alkalmazunk.

45 Olvadáspont: 230-233 °C.

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 524;

talált: 524.

19. példa

7-Azetidino-metil-10,11-metiléndioxi-20(R,S)-kamptotecin (19. számú vegyület)

55 Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű azetidint használunk.

Olvadáspont: >250 °C.

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 462;

60 talált: 462.

20. példa

7-Azetidino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (20. számú vegyület)

Az 1. példa szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy a (G) részben triciklusos keton (R,S) helyett ekvivalens mennyiségű triciklusos keton (S)-t használunk, és dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű azetidint használunk a (H) részben.

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 462,1665;

talált: 462,1667.

21. példa

7-Tiomorfolino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (21. számú vegyület)

Az 1. példa H) része szerint járunk el, de dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű tiomorfolint, és 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett a 4. példa A) része szerint előállított ekvivalens mennyiségű 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecint alkalmazunk.

Olvadáspont: 249–252 °C.

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 522;

talált: 522.

22. példa

7-Azetidino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (22. számú vegyület)

Az 1. példa H) része szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy dimetil-amin helyett ekvivalens mennyiségű azetidint és 7-klór-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin helyett ekvivalens mennyiségű, 4. példa A) része szerint előállított 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecint használunk.

Olvadáspont: 208–210 °C (bomlik).

Alacsony felbontású tömegspektrum: 476,2 (elektron-spray).

23. példa

7-(4-Metil-piperazino-metil)-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (23. számú vegyület)

Ezt a vegyületet az 1. példa szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy a (G) részben triciklusos keton (R,S) helyett ekvivalens mennyiségű triciklusos keton (S)-t használunk, és dimetil-amin helyett a (H) részben ekvivalens mennyiségű 4-metil-piperazint alkalmazunk.

Nagy felbontású tömegspektrum:

számított: 505,2083;

talált: 505,2087.

24. példa

7-Trifluor-acetamido-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (24. számú vegyület)

A) 2'-Amino-4',5'-metilén-dioxi-2-trifluor-acetamido-acetofenon

227 mg, 2 mmol trifluor-acetamidot hozzáadunk 1,63 g, 5 mmol cézium-karbonát 15 ml vízmentes acetonitrilrel készített oldatához nitrogénáramban szobahőmérsékleten. Ezután hozzáadunk 2'-amino-4',5'-meti-

lén-dioxi-2-klór-acetofenont, és az elegyet 90 °C-os, előre melegített olajfürdőbe helyezzük 30 percre. A reakcióelegyet szobahőmérsékletre lehűtjük, és közvetlenül 15 g szilícium-dioxid-rétegre öntjük egy zsugorított üvegtölcsérben. A szilícium-dioxidot kétszer mos-

5 suk etil-acetáttal, és az illékony anyagokat az egyesített mosófolyadékokról vákuumban eltávolítjuk. A maradékot dietil-éterrel eldörzsölve világosnarancs színű, szilárd anyagot kapunk, melyet leszűrünk és vákuumban szárítunk (498 mg, 86%).

Olvadáspont: 219–220 °C.

¹H–300 NMR (DMSO–d₆): δ=4,44 (d, 2H), 5,96 (s, 2H), 5,96 (s, 2H), 6,35 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,40 (bs, 2H), 9,59 (t, 1H).

15 Nominális tömegspektrum MH+:

számított: 291 m/z;

talált: 291 m/z.

B) 2'-Amino-4',5'-etilén-dioxi-2-trifluor-acetamido-1-acetofenon

20 Ezt a vegyületet a fenti módon állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy 2'-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenon helyett 2'-amino-4',5'-etilén-dioxi-2-klór-acetofenont használunk. 74%-os kitermeléssel zöld, szilárd anyagot izolálunk, amely 154–155 °C hőmérsékleten olvad.

¹H–NMR (300 MHz, CDCl₃): δ=4,08 (m, 2H), 4,13 (m, 2H), 4,60 (d, 2H), 6,0 (széles s, 2H), 6,08 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,60 (t, 1H).

Nominális tömegspektrum MH+:

30 számított: 305 m/z;

talált: 305 m/z.

C) 10,11-Etilén-dioxi-7-trifluor-acetamido-metilén-20(S)-kamptotecin

35 71 mg, 0,234 mmol 2'-amino-4',5'-etilén-dioxi-2-trifluor-acetamido-acetofenont, 61 mg, 0,234 mmol III képletű triciklusos (S) ketont és 2 ml vízmentes toluolt 60 °C hőmérsékleten nitrogénáramban egyesítünk. Katalitikus mennyiségű jégecetet és para-toluolszulfonsav-monohidrátot adunk hozzá, mielőtt a reakcióelegyet refluxig melegítenénk. A reakcióelegyet 16 óra hosszat melegítjük visszafolyató hűtő alatt, majd szobahőmérsékletre lehűtjük. Zöldessárga, szilárd anyagot kapunk, melyet leszűrünk és etanollal és dietil-éterrel mosunk, vákuumban szárítunk. 101 mg, 84% cím szerinti vegyületet kapunk, amely 249 °C hőmérsékleten olvad.

¹H–NMR (300 MHz, DMSO–d₆): δ=0,91 (t, 3H), 1,91 (m, 2H), 4,40 (s, 4H), 4,83 (d, 2H), 5,39 (s, 2H), 5,41 (s, 2H), 6,48 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 10,20 (t, 1H).

50 Nominális tömegspektrum MH+:

számított: 532 m/z;

talált: 532 m/z.

55 25. példa

7-Trifluor-acetamido-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (25. számú vegyület)

60 Ezt a vegyületet a 24. példa szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy 2'-amino-4',5'-etilén-dioxi-2-trifluor-acetamido-acetofenon helyett 2'-amino-4',5'-me-

tilén-dioxi-2-trifluor-acetamido-acetofenon ekvivalens mennyiségét használjuk. Zöldessárga, szilárd anyagot izolálunk 15%-os termeléssel, amely 238 °C hőmérsékleten bomlás közben olvad.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ=0,91 (t, 3H), 1,95 (m, 2H), 4,92 (s, 2H), 5,38 (s, 2H), 5,40 (s, 2H), 6,28 (s, 2H), 6,49 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 10,21 (t, 1H).

Nominális tömegspektrum MH+ :

számított: 518 m/z;

talált: 518 m/z.

26. példa

7-Amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin-dihidroklorid (26. számú vegyület)

65 mg, 0,12 mmol 7-trifluor-acetamido-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecint 105 °C-ra melegítünk 1,2 ml vizes 2 n sósavban 20 percig nyitott lombikban. Az illékony anyagokat vákuumban eltávolítjuk, és a maradékot etil-acetáttal eldörzsöljük és szűréssel elkülönítjük. A világossárga, szilárd anyagot 3 ml etil-acetáttal, 2 ml etanollal és 2 ml dietil-éterrel mossuk, vákuumban szárítjuk és 62 mg, 100% terméket kapunk, amely 300 °C felett olvad.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ=0,90 (t, 3H), 1,95 (m, 2H), 4,41 (s, 4H), 4,61 (d, 2H), 5,40 (s, 2H), 5,45 (s, 2H), 7,24 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 8,40 (széles s, 2H).

Nominális tömegspektrum MH+ :

számított: 436 m/z;

talált: 436 m/z.

27. példa

7-Amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin-dihidroklorid (27. számú vegyület)

A vegyületet a 26. példa szerint állítjuk elő, azzal az eltéréssel, hogy 7-trifluor-acetamido-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin helyett ekvivalens mennyiségű 7-trifluor-acetamido-metilén-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecint használunk. Kvantitatív termeléssel aranysárga, szilárd anyagot izolálunk, amely bomlás közben 270 °C hőmérsékleten olvad.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ=0,90 (t, 3H), 1,9 (m, 2H), 4,6 (m, 2H), 5,4 (s, 2H), 5,5 (s, 2H), 6,3 (s, 2H), 7,2 (s, 1H), 7,6 (s, 1H), 7,9 (s, 1H), 8,4 (széles s, 2H).

Nominális tömegspektrum MH+ :

számított: 422 m/z;

talált: 422 m/z.

28. példa

7-(4-terc-Butil-oxi-karbonil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (28. számú vegyület)

35,8 mg, 78,7 × 10⁻³ (S)-(-)-10,11-etilén-dioxi-7-klór-metil-kamptotecin -50 °C-os oldatához hozzácssepegtetünk 34,6 mg, 18,6 × 10⁻³ mmol terc-butil-1-piperazin-karboxilátot 0,45 ml N,N-dimetil-formamidban. A sötétbarna elegyet -5 °C hőmérsékleten 10 percig keverjük, majd hagyjuk 0 °C hőmérsékletre melegedni.

További 8 mg, 43 × 10⁻³ mmol terc-butil-1-piperazin-karboxilát 0,2 ml dimetil-formamidos elegyét adjuk hozzá, és az elegyet szobahőmérsékletre hagyjuk felmelegedni. Az elegyet még 90 percig keverjük, majd az oldószert rotációs bepárlón eltávolítjuk, így barna maradék formájában kapjuk a nyerstermékét. Szilikagél-kromatografálással tisztítjuk, 10% etil-acetáttal eluálva 20,7 mg, 58% terméket kapunk halványsárga, szilárd anyag formájában.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ=1,04 (t, 3H, J=7), 1,45 (s, 9H), 1,87 (m, 2H), 2,46 (s, 4H), 3,41 (s, 4H), 3,94 (s, 2H), 4,43 (s, 4H), 5,29 (s, 2H), 5,30 (d, 1H, J=16), 5,75 (d, 1H, J=16), 7,59 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,7 (s, 1H).

Nominális tömegspektrum M+1: 605.

29. példa

7-Piperazino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin-trifluor-ecetsav-só (29. számú vegyület)

16,7 mg, 27,6 × 10⁻³ mmol 7-(4-terc-butil-oxi-karbonil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin 5 ml vízmentes diklór-metánnal készített, 0 °C-os oldatához 0,5 ml trifluor-ecetsavat adunk. A mélysárga oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni, és 14 óra hosszat keverjük. Az elegyet rotációs bepárlón bepároljuk, a maradékot reverz fázisú kromatográfiával tisztítjuk (Rainin Dynamax 60A oszlop és 49:10:2,5:1 arányú víz/acetonnitril/tetrahidrofurán/trifluor-ecetsav eleggyel eluáljuk. Bepárlás és liofilizálás után a fő ultraibolya aktív csúcsot 254 nm-nél kapjuk. 21,7 mg sárga pelyhes porterméket állítunk elő.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ=0,88 (t, 3H, J=7), 1,87 (m, 2H), 2,60–2,80 (m, 4H), 3,00–3,20 (széles s, 4H), 5,29 (s, 2H), 5,41 (s, 2H), 6,5 (széles s, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 8,50 (széles s, 2H).

Nominális tömegspektrum M+1: 505.

Olvadáspont: 315 °C (bomlik).

30. példa

7-[4-(α,α,α-Trifluor-m-tolil)-piperazino-metil]-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (30. számú vegyület)

5,2 mg, 11,4 × 10⁻³ mmol 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin 200 μl vízmentes dimetilszulfoxiddal készített oldatát hozzácssepegtetjük 10 μl, 53 × 10⁻³ mmol 1-(α,α,α-trifluor-m-tolil)-piperazin 500 μl vízmentes toluollal készített oldatához. A sötétbarna elegyet 0 °C hőmérsékleten 90 percig keverjük, majd hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni. Az oldószert rotációs bepárlón eltávolítjuk, és tovább szivattyúzzuk magasvákuumban, hogy nyerstermék maradjon vissza, melyet szilikagél-kromatográfiásan tisztítunk. 100%-os etil-acetáttal eluáljuk, majd 6:5:1 arányú etil-acetát/kloroform és metanol eleggyel is eluáljuk. 3,7 mg (50%) terméket kapunk halványsárga, szilárd maradék formájában.

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ=0,90 (t, 3H, J=7), 1,95 (q, 2H, J=7), 2,60–2,70 (m, 4H), 3,20–3,30 (m, 4H), 4,10 (s, 2H), 4,50 (s, 4H), 5,30 (s,

2H), 5,45 (s, 2H), 6,55 (s, 1H), 7,40 (t, 1H, J=7), 7,60 (s, 1H), 7,85 (s, 1H).

Nominális tömegspektrum M+1: 649.

31. példa

7-[4-(2-Metoxi-fenil)-piperazino-metil]-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (31. számú vegyület)

17,9 µl, 102×10^{-3} mmol 1-(2-metoxi-fenil)-piperazin 1 ml vízmentes toluollal készített, 0 °C-os oldatához 10 mg, 22×10^{-3} mmol 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin 200 ml dimetil-szulfoxidos oldatát adjuk. A sötét elegyet 0 °C hőmérsékleten 10 percig keverjük, majd hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni, és 3 óra hosszat keverjük. A reakcióelegyet rotációs bepárlón bepároljuk, és a maradék oldószert magasvákuumban leszívattyúzzuk, és így nyerstermékét kapunk, melyet szilikagél oszlopon kromatografálással tisztítunk hexán és etil-acetát 1:1, majd etil-acetát, kloroform és metanol 6:5:1 arányú elegyével eluálva 3,4 mg, 25% terméket kapunk sárga, szilárd anyag formájában.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ=1,05 (t, 3H, J=7), 1,90 (m, 2H), 2,75 (széles s, 4H), 3,10 (széles s, 4H), 3,75 (s, 1H), 3,85 (s, 3H), 4,01 (széles s, 2H), 5,35 (s, 1H), 5,30 (d, 1H, J=18), 5,35 (s, 1H), 5,75 (d, 1H, J=18), 6,80–7,00 (m, 4H), 7,60 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,75 (s, 1H).

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 611;

talált: 611.

32. példa

7-(4-Fenil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin (32. számú vegyület)

15,6 µl, 102×10^{-3} mmol 1-fenil-piperazin 1 ml vízmentes toluollal készített 0 °C-os oldatához hozzáadjuk 10,6 mg, 22×10^{-3} mmol 7-klór-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin 300 µl dimetil-szulfoxiddal készített oldatát. A sötét elegyet 0 °C hőmérsékleten 10 percig keverjük, hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni, és 3 óra hosszat keverjük. Az elegyet rotációs bepárlón bepároljuk, a visszamaradó oldószert tovább ledesztilláljuk nagynyomású vákuumszivattyúval, így nyerstermékét kapunk sötét maradék formájában. Szilikagélén kromatografálással tisztítjuk és hexán és etil-acetát 1:1 arányú, majd etil-acetát/kloroform/metanol 6:5:1 arányú elegyével eluáljuk. 3,6 mg, 30% terméket kapunk sárga, szilárd maradék formájában.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ=1,00 (t, 3H, J=7), 1,90 (m, 2H), 2,75 (széles s, 4H), 3,20 (széles s, 4H), 3,75 (s, 1H), 4,05 (s, 2H), 4,45 (széles s, 4H), 5,35 (s, 2H), 5,30 (d, 1H, J=18), 5,35 (s, 2H), 5,75 (d, 1H), 6,80–7,00 (m, 3H), 7,20–7,35 (m, 2H), 7,60 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,80 (s, 1H).

Nominális tömegspektrum M+1: 581.

33. referenciapélda

2'-Amino-4',5'-metilén-dioxi-2-dimetil-amino-acetofenon

Az 1. példa B) része szerint előállított 2'-acetil-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-klór-acetofenont dimetil-amin feleslegével reagáltatjuk az 1. példa H) része szerinti körülmények között, és így 2-acetil-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-dimetil-amino-acetofenont kapunk, melyről a védőcsoportot az 1. példa E) része szerint eltávolítva 2'-amino-4',5'-metilén-dioxi-2-dimetil-amino-acetofenont kapunk.

Nominális tömegspektrum M+1:

számított: 223;

talált: 223.

39. példa

Gyógyászati készítmények

A) Transzdermális rendszer

Komponensek	Mennyiség
Hatóanyag	600,0 mg
Szilícium-dioxid-folyadék	450,0 mg
Kolloid szilícium-dioxid	25,0 mg

A szilícium-dioxid-folyadékot és a hatóanyagot összekeverjük, és a kolloidális szilícium-dioxidot reagáltatjuk vele, hogy a viszkozitást növeljük. Az anyagot ezután a következő komponensekből álló, ezt követően hővel lezárt polimer laminátba adagoljuk: poliészter-felszabadító bélés, bőr kontakt ragasztó, melynek komponensei szilícium-dioxid vagy akrilpolimerek, egy poli-olefin, például polietilén kontrollmembrán, poli(vinil-acetát) vagy poliuretán, és egy áthatolhatatlan hátlapú membrán, mely poliészter többrétegű anyagból készül.

30 A rendszert egy 10 cm²-es tapaszként írják le.

B) Orális tabletta

Komponensek	Mennyiség
Hatóanyag	200,0 mg
Keményítő	20,0 mg
Magnézium-sztearát	1,0 mg

A hatóanyagot és a keményítőt vízzel granuláljuk és szárítjuk. A szárított granulátumhoz magnézium-sztearátot adunk, és az elegyet alaposan összekeverjük. Az összekevert elegyet tablettáká préseljük.

C) Kúp

Komponensek	Mennyiség
Hatóanyag	150,0 mg
Theobromin nátrium-szalicilát	250,0 mg
Witepsol S55	1725,0 mg

A nem hatékony komponenseket összekeverjük és megolvasztjuk. A hatóanyagot ezután az olvasztott elegy között elosztjuk és formába öntjük, és hagyjuk lehűlni.

D) Injekció

Komponensek	Mennyiség
Hatóanyag	20,0 mg
Pufferszerek	tetszés szerint
Propilén-glikol	0,4 mg
Injekciós víz	0,6 ml

A hatóanyagot és a puffereket feloldjuk propilén-glikolban 50 °C hőmérsékleten, az injekciós vizet ezután keverés közben hozzáadjuk, a kapott oldatot leszűrjük, ampullába töltjük, lezárjuk és autoklávban sterilizáljuk.

E) Kapszula

Komponensek	Mennyiség
Hatóanyag	200,0 mg

Komponensek
 Laktóz 450,0 mg
 Magnézium-sztearát 5,0 mg
 A finom eloszlású hatóanyagot összekeverjük a laktózzal és a sztearáttal, és zselatinkapszulába töltjük.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (I) általános képletű vegyületek és sóik előállítására, ahol

n értéke 1 vagy 2,

i) R^1 és R^2 egymástól függetlenül hidrogénatom, 1–6 szénatomos alkil- vagy hidroxi-(1–6 szénatomos alkil)-csoport,

ii) R^1 jelentése hidrogénatom, és R^2 jelentése –COR³ általános képletű csoport, ahol R^3 jelentése perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)-csoport, vagy

iii) R^1 és R^2 együtt a nitrogénatommal azetidin-, pirrolidin-, piperidin-, morfolin-, tiomorfolin- vagy piperazinyűrűt képez, amely adott esetben N-szubsztituált, 1–6 szénatomos alkil- vagy fenilcsoporttal vagy egy vagy több perhalogén-(1–6 szénatomos alkil)- vagy 1–6 szénatomos alkoxicsoporttal szubsztituált fenilcsoporttal, vagy –COR⁵ általános képletű csoporttal, ahol R^5 jelentése 1–6 szénatomos alkoxicsoport,

azzal jellemezve, hogy

a) egy (IV) általános képletű vegyületet – ahol X jelentése halogénatom – egy (V) általános képletű vegyülettel – ahol R^1 és R^2 jelentése a fenti – reagáltatunk, vagy

b) egy (IIa) általános képletű vegyületet – ahol R^1 és R^2 jelentése a fenti – egy (III) képletű vegyülettel reagáltatunk, és az eljárás során adott esetben védőcsoportot vagy védőcsoportokat alkalmazunk, ezeket adott esetben ismert módon eltávolítjuk, és/vagy kívánt esetben a kapott (I) általános képletű vegyületet vagy sóját fiziológiailag elfogadható sóvá alakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás

7-dimetil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-dimetil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-dimetil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-dimetil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-morfolino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-morfolino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-pirrolidino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-piperidino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-piperidino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-(4-metil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-(4-metil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

5 7-dietil-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-dietil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-dietil-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-

10 kamptotecin,

7-(N-metil-N-etanol-amino-metil)-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-(N-metil-N-etanol-amino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

15 7-dietanol-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-dietanol-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

20 7-azetidino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(R,S)-kamptotecin,

7-azetidino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-tiomorfolino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

25 7-azetidino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-(4-metil-piperazino-metil)-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

30 7-trifluor-acetamido-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-trifluor-acetamido-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-amino-metil-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin-dihidroklorid,

35 7-amino-metil-10,11-metilén-dioxi-20(S)-kamptotecin-dihidroklorid,

7-(4-terc-butoxi-karbonil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

7-piperazino-metil-10,11-etilén-dioxi-(S)-kamptotecin-trifluor-ecetsav-só,

40 7-[4-(α,α,α -trifluor-m-tolil)-piperazino-metil]-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

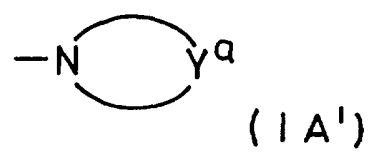
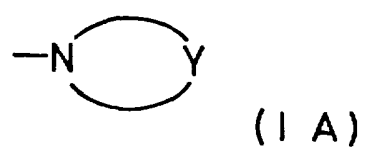
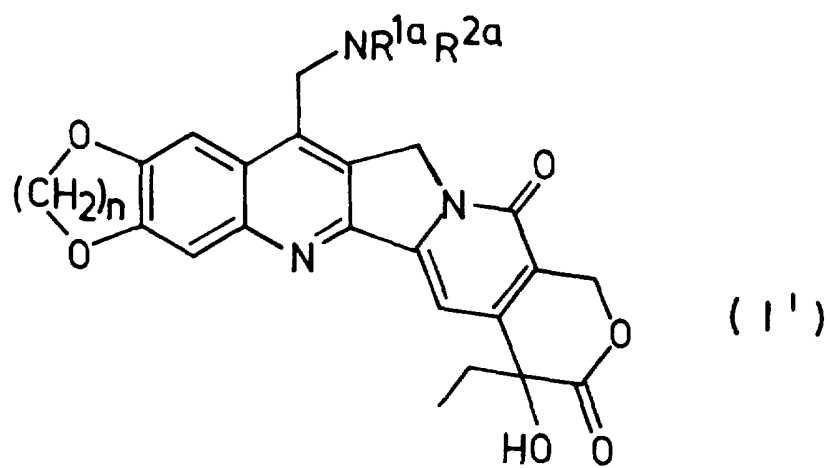
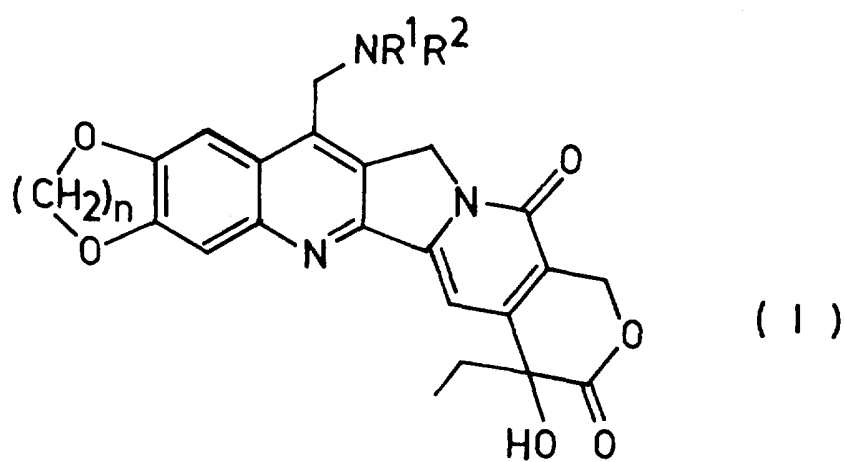
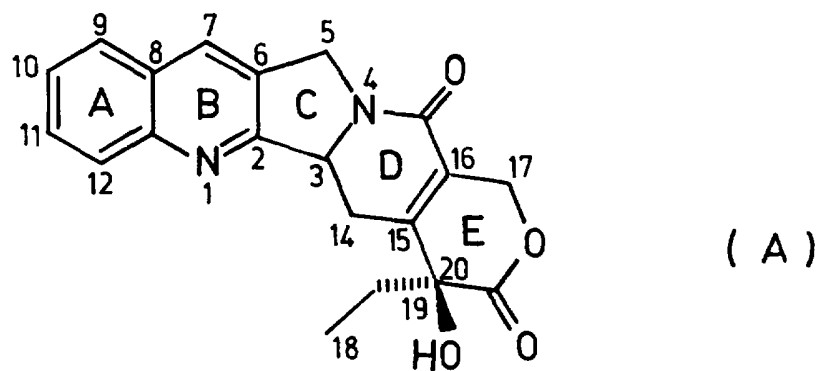
7-[4-(2-metoxi-fenil)-piperazino-metil]-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin, és

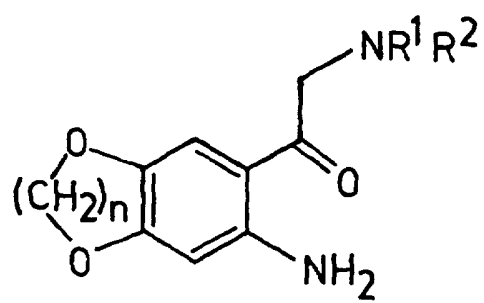
45 7-(4-fenil-piperazino-metil)-10,11-etilén-dioxi-20(S)-kamptotecin,

és gyógyászatilag elfogadható sóik előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat reagáltatjuk.

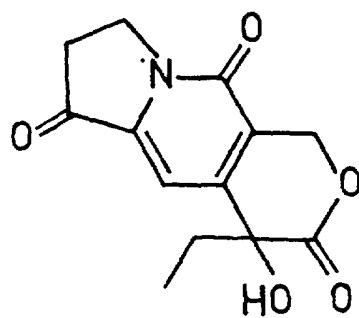
50 3. Az 1–2. igénypontok bármelyike szerinti a) eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a reakciót oldószerrendszerben, (V) általános képletű vegyület feleslegének jelenlétében hajtjuk végre.

4. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy, az 1. igénypont szerint előállított (I) általános képletű vegyületet vagy gyógyászatiilag elfogadható sóját – ahol R^1 , R^2 és n jelentése az 1. igénypontban megadott – gyógyászatilag elfogadható hordozóval összekeverjük, és gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

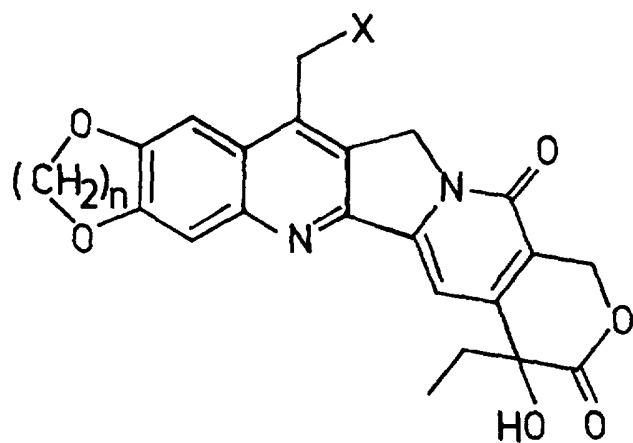




(II a)

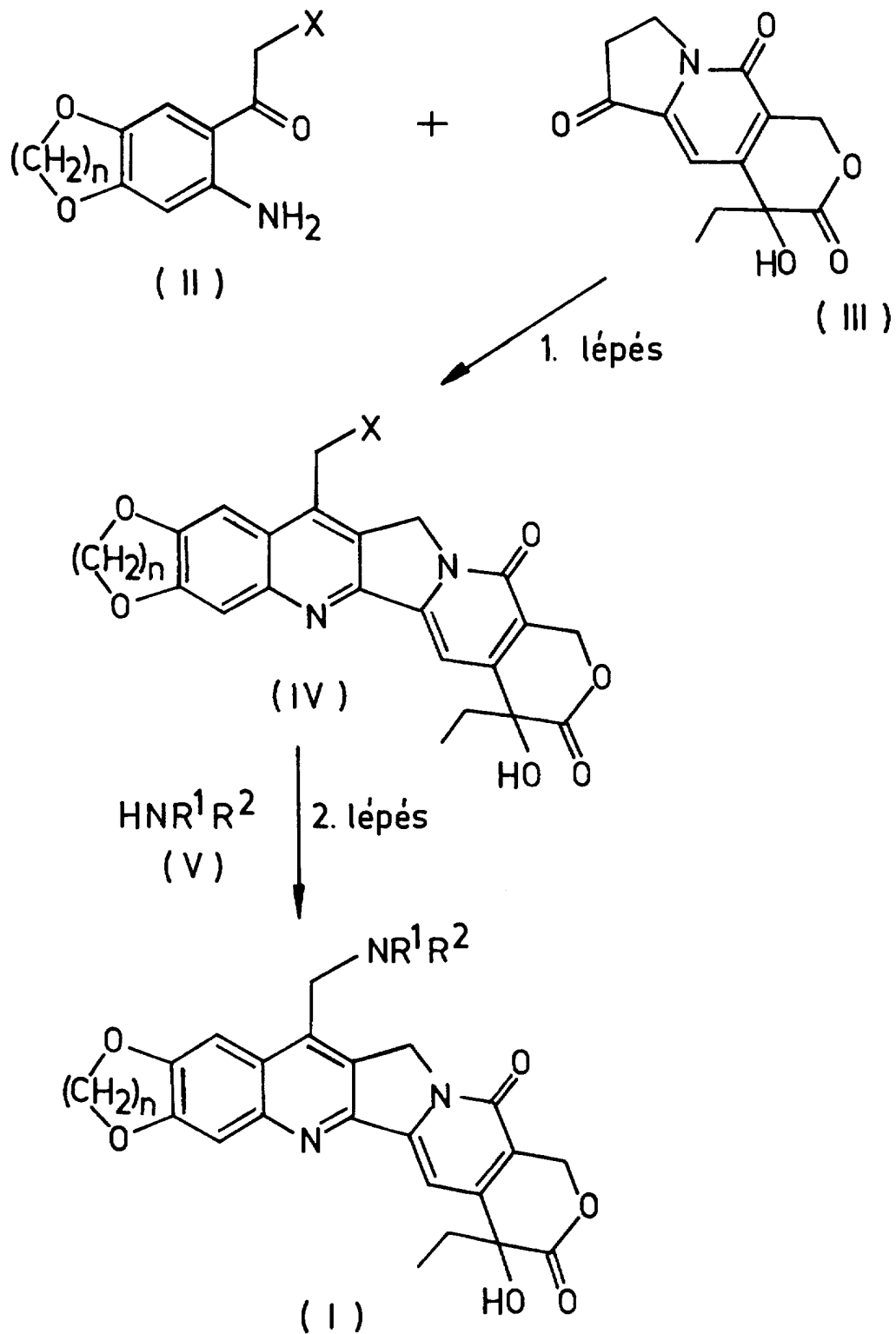


(III)

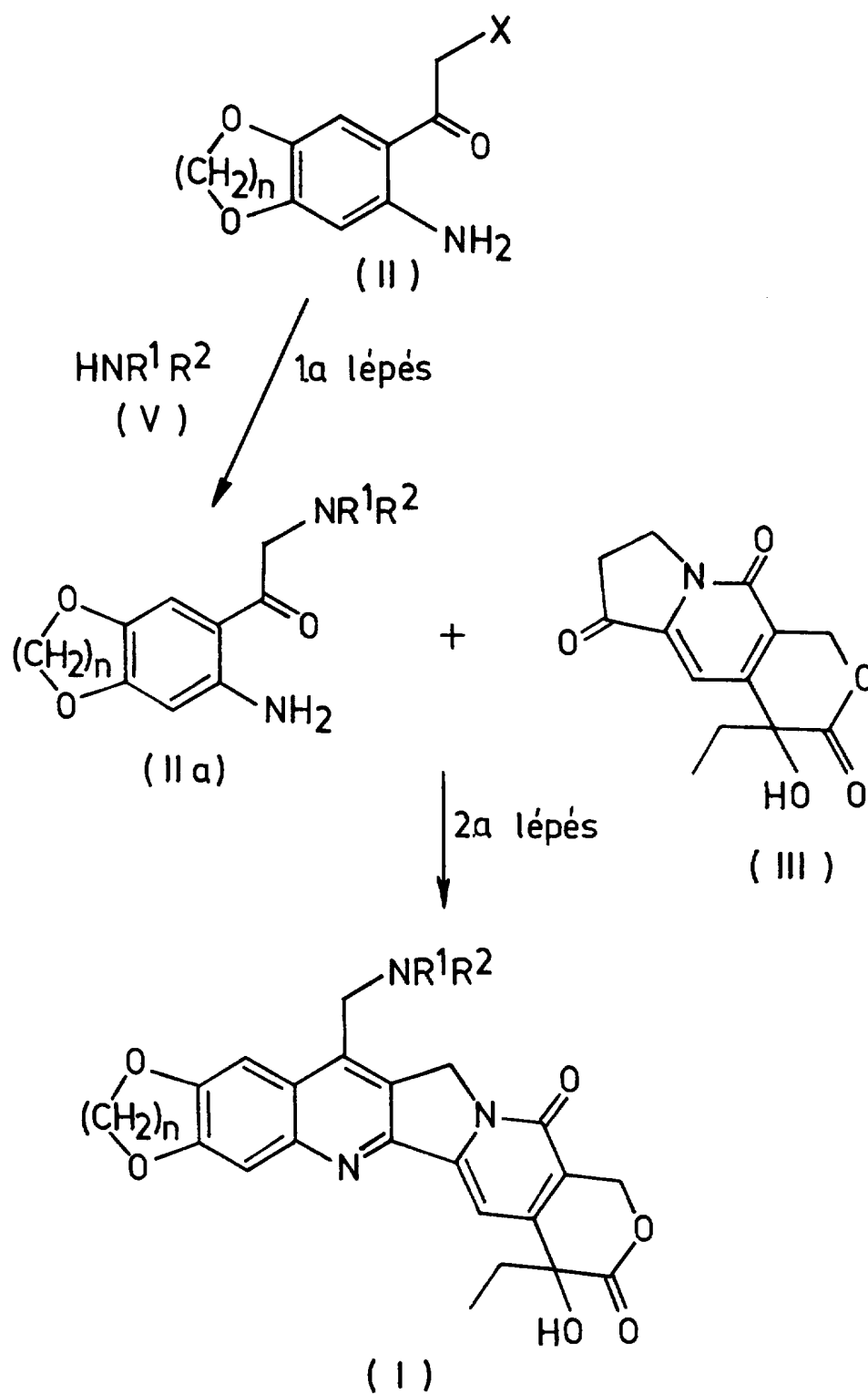


(IV)

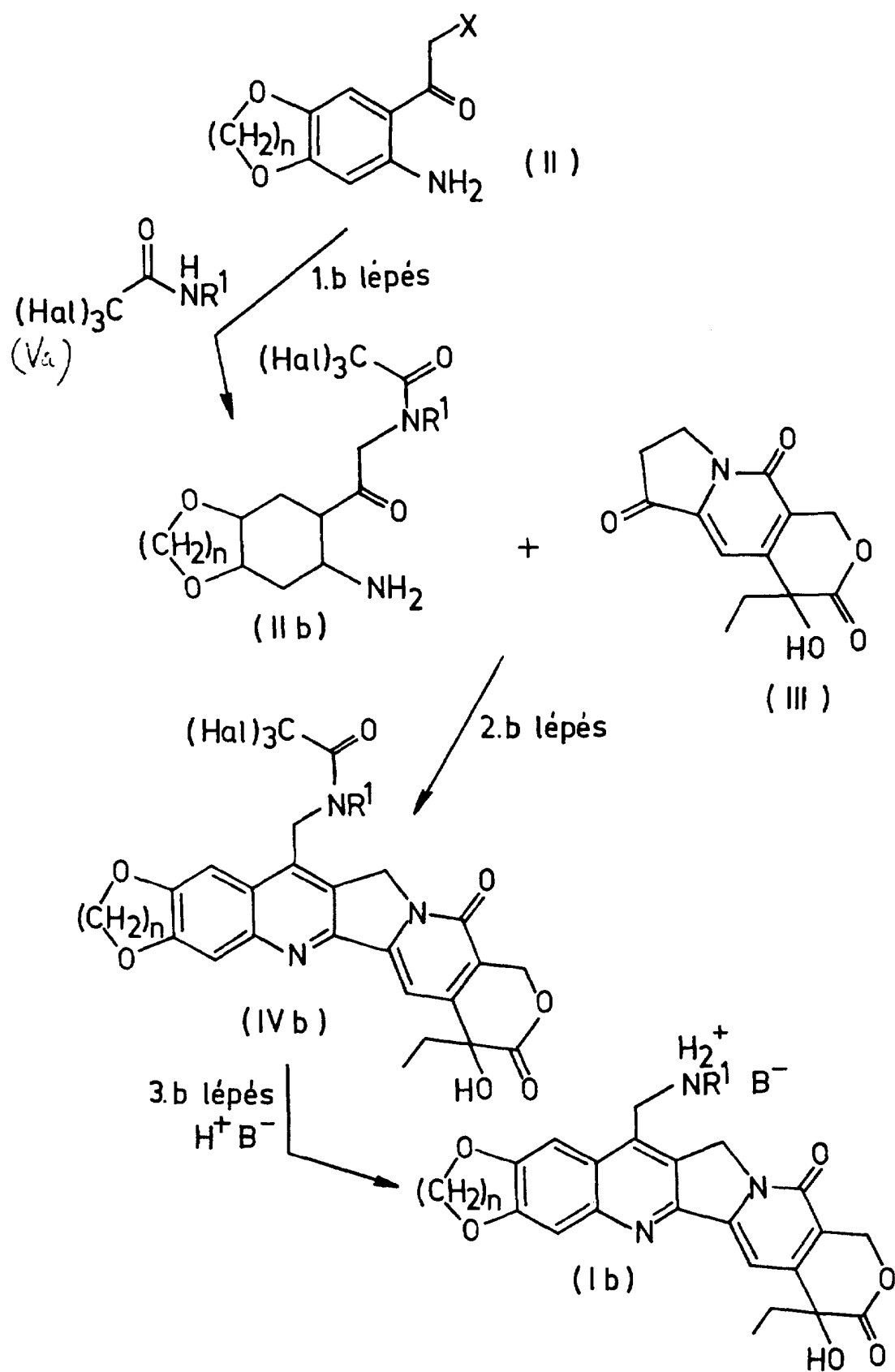
1. reakcióvázlat



1. A reakcióvázlat



1.B reakcióvázlat



2. reakcióvázlat

