

(19) HU

SZABADALMI LEÍRÁS

(11)

199446 B



MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

(22) Bejelentés napja: 1986.08.27. (21) 3711/86

(30) Bejelentés elsőbbsége:
P 35 30 718 85.08.28. DE

(51) Int.Cl.
C 07 D 317/70
C 07 D 317/68
A 61 K 31/335

(41) (42) Közzététel napja: 1988.04.28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma
a Szabadalmi Közlönyben: 1990.02.28.



(72) Feltalálók:
dr.GÖRLER Klaus, Bergisch Glädbach,
dr.KRUMBIEGEL Günter, Bergheim-
-Quadraz,
prof.dr.HANACK M. Tübingen,
dr.SUBRAMANIAN L. Gomaringen
(DE)

(73) Szabadalmaz:
dr.Madaus GmbH und Co., Köln (DE)

(54) ELJÁRÁS METILÉNDIOXI-FENANTRÉN ÉS SZTILBÉN- SZÁRMAZÉKOK ÉS EZEKET TARTALMAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

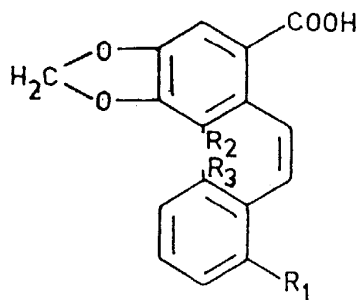
(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás metiléndioxi-fenantrén- és -sztilbén-származékok előállítására.

A találmány szerinti eljárással az (I) általános képletű vegyületeket állítják elő, a képletben

R₁ metoxi- vagy etoxicsoport és
R₂ és R₃ mindegyike hidrogénatom vagy R₁ jelentése etoxi- vagy hidroxicsoport, R₂ és R₃ együtt egy C-C kötést jelentenek.

A találmány tárgyát képezi továbbá a fenti vegyületeket hatóanyagként tartalmazó, fagocitózist fokozó és vírusellenes hatású gyógyszerkészítmények előállítása.



(1)

HU 199446 B

A leírás terjedelme: 8 oldal, 6 képlet

A találmány tárgya eljárás metiléndioxi-fenantrén- és sztilbenszármazékok, valamint a fenti vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására.

Fertőző betegségek megelőzésénél és kezelésénél mint immunstimuláló szerek ismertek a (II) általános képletű arisztolochiasavak (a képletben R_1 hidrogénatom vagy metoxicsoport), amelyek fagocitózist fokozó és vírusellenes hatást fejtenek ki, a gyógyhatást általános fertőzéseknel növelik és eredményesen alkalmazhatók gennyesedések és kelések kezelésére.

Nagyobb dózistartományokban végzett farmakológiai kísérleteknél azonban patkányok előgyomrán rövidesen sejtes elfajulás volt megállapítható úgy, hogy ennek, a kezeléshez önmagában igen értékes hatóanyagának az alkalmazásától úgy látszik tartózkodni kell.

Meglepő módon azt találtuk, hogy az (I) általános képletű vegyületek — a képletben R_1 metoxi- vagy etoxicsoport és R_2 és R_3 mindegyike hidrogénatom vagy együtt egy C-C kötetst jelentenek, ebben az esetben R_1 hidroxicsoport is lehet, de metoxicsoporttól eltérő — még igen nagy dózisokban (a humán terápiában szokásos 1–10 $\mu\text{g/kg}$ dózissal ellentétben) patkányoknál 10 mg/kg dózisonál sem makroszkóposan, sem szövettanilag nem mutatkozott jele a hámszövet-hiperpláziának (Plattenepithelhyperplasie). Hasonlóképpen nem észleltünk mutagén hatásokat sem.

A találmány szerinti vegyületek igen jól megfelelnek fertőző betegségek megelőzésére és kezelésére, mivel fagocitózist fokozó és vírusellenes hatásúak. Az 1-karboxi-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrén ismert [J.Nat. Products 46, 507 (1983)], amelyről azt közlik, hogy nyulaknál 90 mg/kg dózistól abortív és egereknél 60 mg/kg dózistól implantációgátló hatású. A vegyületek immunstimuláló hatására a fenti cikk alapján nem lehetett következtetni.

Az (I) általános képletű vegyületeket a találmány szerint úgy állítjuk elő, hogy a (III) képletű 6-brom-piperonil-bromidot trifénil-foszfínnal vízmentes oldószerben a (IV) képletű foszfóniumsóvá reagáltatjuk, az utóbbi vegyületet o-metoxi-benzaldehiddel vagy o-etoxi-benzaldehiddel erős bázis jelenlétében egy (V) általános képletű sztilbenné — a képletben R_1 metoxi- vagy etoxicsoport — reagáltatjuk, ezt a sztilbén-bromidot fém-cianiddal, elsősorban réz-cianiddal poláris aprotikus oldószerben, főképpen dimetil-formamidban a megfelelő nitrillé és a nitrilt hidrolízissel (I) általános képletű savvá alakítjuk vagy a fenti sztilbén-bromidot n-butil-lítiummal és széndioxiddal (I) általános képletű savvá alakítjuk vagy a fenti sztilbén-bromidot ultraibolya besugárzással egy (VI) általános képletű fenantrén-származékká alakítjuk és ezt a vegyületet fém-cianiddal vagy n-butil-lítiummal és szénsavval a fent említett módon (I) általános képletű savvá alakítjuk.

2

és kívánt esetben egy (I) általános képletű vegyületet, amelynek képletében R_1 etoxi- vagy metoxicsoportot jelent, éterhasítással olyan vegyületté alakítunk, amelynek képletében R_1 hidroxicsoport; vagy

egy (II) általános képletű nitrovegyületet — a képletben R_1 hidrogénatom vagy metoxicsoport — poliszulfiddal egy (I) általános képletű vegyületté denitrálunk és — ha R_1 etoxi- vagy metoxicsoport — az etoxi-, illetve metoxicsoportot kívánt esetben éterhasítással hidroxicsoporttá alakítjuk.

A piperonilalkohol brómozásánál a rövidszénláncú alkil-karbonsav előnyösen ecetsav.

A foszfóniumsó előállításánál vízmentes oldószerként például benzolt vagy egy alkil-benzolt, előnyösen toluolt vagy xilolt használunk.

A foszfóniumsó kondenzációjánál erős bázisként például alkálifém-alkoholátot, előnyösen lítium-metilátot használunk. Az így előállított sztilbén 85%-a Z-formájú és 15%-a E-formájú. A két izomer dietil-éterrel kezelve szétválasztható. A transzvegyület az éterben oldódik, az előállítani kívánt ciszvegyület oldhatatlan marad.

A sztilbén-bromid ultraibolya besugárzását például vízmentes tetrahidrofuránból és vízmentes ciklohexánból álló oldószerkeverékben (például 1:12 arányban) végezzük jó hozzáadásával és nitrogén bevezetésével.

A denitráláshoz poliszulfidként használunk gyengén lúgos vizes oldatban.

A 8-metoxi-, illetve 8-etoxi-fenantrén-vegyület (R_2 és R_3 együtt C-C kötetst képeznek és R_1 metoxi- vagy etoxicsoport) éterhasítással a megfelelő 8-hidroxi-vegyületté alakítható, például piridin-hidrokloriddal végzett hidrolízissel.

A találmány szerint előállított vegyületek a fertőzés leküzdésének fokozására szolgálnak. Így jelentősen aktiválják a leukociták fagocitózist. A találmány szerint előállított vegyületek így például a mikrobaktériumok vagy pneumococcusok által előidézett általános fertőzések kezelésére és lokális fertőzések kezelésére használhatók. A találmány szerint előállított vegyületek alkalmazhatók akkor is, ha a fagocitózis gyengülése áll fenn, például kortikoszteroidok vagy citosztatikumok alkalmazása után. A találmány szerint előállított vegyületek alkalmazásával a csökkenő fagocitózis ismét normalizálható.

A találmány szerint előállított vegyületek ezenkívül vírusellenes hatást mutatnak.

A találmány szerint előállított vegyületeket többek között makrofág-aktiváló hatásokra megvizsgáltuk. Paraméterként monociták és makrofágok stimulálását egerek hasüregében vettük igénybe.

A monociták fokozott kemotaktikus bevándorlását a hasüregbe és a monociták differenciálódását fagocitózissal fokozott képességű makrofágokká, célszerűen a kísérleti ve-

gyület intraperitoneális alkalmazásával mutatjuk be.

A stimulálás olyan folyamat, amely bizonyos időt vesz igénybe. A fagocitózis aktiválásának a vizsgálatát ezért mint szokásos farmakológiai modellt, egereknek a találmány szerinti vegyületekkel végzett háromnapos előkezelése után végezzük. Egyes kísérleti csoportoknál az intraperitoneális sejtpopulációt közvetlenül a vegyület beadása után el-távolítottuk, annak kimutatására, hogy megfigyelt stimulálás csak bizonyos inkubációs idő után lép fel.

Kísérleti vegyületek és anyagok

A vizsgálandó anyagokat 0,5 mg/ml töménységben vízben feloldottuk és ezt az oldatot szükség szerint hígítottuk.

NH₄Cl-trisz-puffer

NH₄ 8,3 g/liter
 trisz [tris (hidr- 4,119 g/200 ml (pH=7,65
 oxi-metil)-amino-
 -metán)]
 keverék 1 rész trisz+9 rész
 NH₄Cl, 2n sósavval 7,2
 pH-értékre beállítva

PBS/BSA

40,0 g NaCl
 1,0 g KCl vízzel 51 ml-re feltöltve,
 7,2 g Na₂HPO₄ × pH=7,4
 ×2H₂O
 1,0 g KH₂PO₄
 +0,2 g BSA (marha szérumbalbumin, Sig-
 ma, No. A-9647) 100 ml PBS-re (foszfát-
 tal pufferolt sóoldat).

DMEM

Dulbecco által módosított Eagle tápol-
 dat,
 L-glutamminal, fenolvörös nélkül (Gibco,
 kat.szám 041-1885)
 +5% FCS (magzati borjuszérum), illetve
 +5% FCS+0,2% heparin

FCS

fetális (magzati) borjuszérum (Gibco,
 kat.szám: 011-6290)

May-Grünwald-oldat

módosított (Merck, Art.1424)

Ürűvér

Nr.5, 30.08.84., MPL Freiburg

Antisérum

Anti-ürű-eritrocita szérum nyulakból, Nr.
 308, IKA 468/6-11 nap; 18.07.78, MPI
 Freiburg

Kísérleti állatok.

A kísérleteket 18 hetes nőstény F1 hibrid egerekkel (Balb/cxC57B16) végeztük. Az állatokat a kísérletek megkezdése előtt 5 napon át szoktattuk a laboratóriumi körülményekhez. Az állatok a patkányok és egerek részére szokásos szemcsés standard eledelt (Altromin Nr. 1324) kapták és csapvizet tetszés szerint. Az állatokat tioglikolát standarddal három makrofág-stimulálhatóságra megvizsgáltuk, ennél a vizsgálatnál jó pozitív reakciókat mutattak.

Adagolás és alkalmazás

A vegyületeket vizes oldatban (0,5 mg/ml) a következő dózisokban alkalmaztuk:

5

intraperitoneálisan: 20 µg/kg
 500 µg/kg
 5 mg/kg

10

A különböző dózisok alkalmazásához a törzs-
 oldat hígítása a következő volt:

20 µg/kg 1 µg/ml
 500 µg/kg 25 µg/ml
 5 mg/kg 250 µg/ml

és ezekből mindenkor 0,4 ml-t használtunk.

Alkalmazási séma

1 csoport=5 egér

15

Előkezelés: a) három beadás három egymást
 követő napon, a negyedik na-
 pon a makrofág kitermelése,
 b) egy beadás közvetlenül a mak-
 rofág kitermelése előtt.

20

A makrofág-sejtszuspenzió előállítása és a fagocitózis

A kísérlet elve.

Immunológiásan aktiváló anyagok beadá-
 sa után a kísérleti állatokban a makrofágok
 stimulálódnak és a monociták makrofágokká
 differenciálódnak. A kidifferenciálódott, stimu-
 lált makrofágok izolálás után is képesek a
 megfelelő antitestekkel opsonifikált antigén-
 struktúrákat, ebben az esetben az ürű-eritro-
 citákat in vitro fagocitálni. A fagocitált erit-
 rociták (vörösvérsejtek) mikroszkóposan fel-
 ismerhetők.

30

A kísérlet elvégzése.

Megfelelő előkezelés után az egereket nyak-
 csigolyájuk eltörésével megöljük. A hashár-
 tyát feltárjuk és 5% magzati borjuszérumot
 és 0,2% heparint tartalmazó 4 ml DMEM táp-
 oldatot intraperitoneálisan beadunk. Körül-
 belül 30 mp masszázis után fecskendővel 3 ml
 sejtszuspenziót leszívunk és 0°C-on hűtő-
 fűdőben lévő polipropilénscövecskébe ereszt-
 jük. Mindegyik csoportból 1 egeret arra hasz-
 nálunk, hogy az izzadmányban a sejtkoncent-
 rációt megállapítsuk, körülbelül 4×10⁵ sejt/
 /ml koncentrációt állítunk be.

45

Adherens makrofágok izolálása.

A makrofágokat és monocitákat az izo-
 lált sejtpopulációból úgy választjuk ki, hogy
 a sejtpopulációt fedőlemezekben inkubáljuk,
 ilyenkor a makrofágok és a monociták a le-
 mezhez tapadnak, a többi sejt nem. 24 tar-
 tállyal ellátott szövettenyésztő lemezekre
 (polisztirol, Costar) kerek fedőlemezeket he-
 lyezünk és ezekre 5% magzati borjuszérumot
 tartalmazó 0,25 ml DMEM tápoldatot réteg-
 zünk. A sejtek egyenletes eloszlása céljából
 a lemezeket rázógépre tesszük és rázás köz-
 ben (5 perc, körülbelül 200 ford./perc) min-
 degyik adaghoz 0,25 ml sejtszuspenziót pipet-
 tázunk. Ezután a szövettenyésztő lemezeket
 1 órán át 37°C hőmérsékletű, 8% CO₂-ot tar-
 talmazó tenyésztőszekrényben inkubáljuk. Az
 inkubálás után a nem tapadó sejteket leszi-
 vatjuk és a többi 5% magzati borjuszérumot
 tartalmazó 0,25 ml DMEM tápoldattal két-
 szer mossuk.

65

Az ürü-vörösvérsejtek opszonifikálása

Az 1 ml ürüvért kétszer 4 ml PBS/BSA oldattal mossuk (centrifugálás 10 perc, 500 xg) A mosott vért 1:50 arányban PBS/BSA oldattal hígítjuk. Az ürü-vörösvérsejtek elleni antiszérumot PBS/BSA oldattal 1:200 arányban hígítjuk. A hígított ürüvért és a hígított antiszérumot 1:1 arányban keverjük és 1,5 órán át kiméletesen rázva (körülbelül 80 ford/perc) inkubáljuk.

A szövettenyészto lemezek mindegyik tartályába, amely az adherenes makrofágokat a fedőlemezkeken tartalmazza. 0,5 ml opszonifikált vörösvérsejt-szuszpenziót pipettázunk. A lemezeket 20 percig 37°C-on, 8% CO₂ jelenlétében inkubáljuk. Ezután a feleslegben lévő vörösvérsejteket leszivatjuk és a fedőlemezkeket 0,5% magzati borjúsérumot tartalmazó DMEM tápoldattal kétszer mossuk.

A nem fagocitált vörösvérsejtek oldásához ezeket minden esetben 1 ml NH₄Cl-trisz-pufferral kezeljük, (úgy találtuk, hogy 3,75 perc behatási idő megfelel). A puffer leszivatása után a fedőlemezkeket PBS/BSA oldattal kétszer mossuk.

A fagocitózis kimutatása (festési technikák)

A fagocitózis után a makrofágokat Pappenheim szerint kombinált May-Grünwald-Giemsa eljárással megfestjük. A festést a szövettenyészto tálak tartályaiban végezzük. 5 perc Konc. May-Grünwald-oldat, leszivatva 3 perc kétszer desztillált H₂O, minimum 85%-os foszforsavval 7,0 pH-értékre beállítva, leszivatva,

9 perc Giemsa oldat 1:40 hígításban és használat előtt megsűrűve, leszivatva, desztillált vízzel palackból leöblítve.

A sejtmagok a festés után vörös-ibolya színűek, a citoplazma világoskék. A fagocitált vörösvérsejtek halvány rózsaszínűek. A mikroszkóp-preparátumokat levegőn szárítjuk, majd „Eukitt” ragasztóval tárgylemezre ragasztjuk (három preparátum/egér). Mikroszkópos kiértékelés

Egy egér három mikroszkóp-preparátumból kettőt számoltunk meg. Olajimmerziós, 1000-szeres nagyítású Zeiss mikroszkópot használtunk. A harmadik preparátumot csak akkor használtuk fel, ha két preparátumból az eredmény nem volt egyértelmű. Preparátumokként 300 sejtet számláltunk, és ezeket a fagocitózis aktivitástól függően vörösvérsejt/makrofán növekedő számával osztályokba soroltuk.

Osztály	Vörösvérsejt/makrofág
1.	0
2.	1
3.	2
4.	3
5.	4
6.	5
7.	6
8.	7
9.	8
10.	9

11.

10

12.

11—20⁺

- 5 +A számításokhoz feltételeztük, hogy >11 vörösvérsejt/makrofág esetében a 12. osztályban a megoszlás súlypontja 12 vörösvérsejt/makrofág. A 12. osztálybeli makrofágok viszonylag ritkán fordulnak elő.

10 Adatfeldolgozás és grafikus ábrázolás

A mikroszkóp-preparátumok számlálását speciálisan beprogramozott WANG LVP 2200 számítógépen végeztük, ami a számlált osztályok külön-külön való regisztrálását lehetővé tette. Az egyes adatok közepelését az „MA 1” programmal, a grafikus ábrázolásokat az „NPL” programmal végeztük.

A stimuláló hatást minden egyes kísérleti anyagra és dózisra kétféle módon mutatuk ki:

1) a makrofágok eloszlása az osztályokra (vörösvérsejt/makrofág) %-ban, a 300 sejtire mint 100%-ra. Ennek során azoknak a makrofágoknak a száma is a grafikus ábrázolásba kerül, amelyek vörösvérsejtet nem fagocitáltak;

2) a fagocitált vörösvérsejtek eloszlása (a makrofágok száma egy osztályban x a vörösvérsejt/makrofág szám) az osztályokra %-ban, a fagocitált vörösvérsejtek összes számára, mint 100%-ra. Ennek során azoknak a makrofágoknak a számát, amelyek vörösvérsejteket nem fagocitáltak, nem vesszük tekintetbe.

35 Paraméter

A makrofág-stimuláláshoz paraméternek a fagocitózis-aktivitás növekedését tekintetük, a fagocitált vörösvérsejtek pro makrofág (=osztály) számával kifejezve. A stimulálás megmutatkozik azon makrofágok számának a csökkenésében, amelyek vörösvérsejteket nem vagy csak kevés vörösvérsejtet fagocitáltak és azon makrofágok számának a növekedésében, amelyek több vörösvérsejtet fagocitáltak.

A találmány szerinti vegyületek előállítását az alábbi példák szemléltetik.

1. példa

50 1-Karboxi-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén előállítása

a) 6-Bróm-piperonil-bromid előállítása

Vegyszerek:

piperonil-alkohol (EGA-Chemie, illetve Aldrich) 120 g,
bróm 48 ml, 120 ml ecetsavban,
ecetsav 240 ml.

60 Csepegtető tölcsérrel, szárítócsővel és belső hőmérővel felszerelt 1 literes háromnyakú gömblombikba előkészítjük a piperonil-alkoholt az ecetsavban és jégfürdőben lehűtjük. Ehhez az oldathoz keverés közben lassan hozzácsepegtetjük az ecetsavban oldott brómot, úgy, hogy a hőmérséklet 15—25°C között maradjon. A reakciókeveréket éjszakán át állni hagyjuk, a kivált kristályokat leszivatjuk,

vízzel mossuk és metanolból átkristályosítjuk. Olvadáspontja: 92–93°C. A kitermelés 174 g (75%)

b) A trifenil-foszfóniumsó előállítása

Vegyszerek:

6-bróm-piperonil-bromid 294 g
trifenil-foszfin 262 g
toluol

Visszafolyatós hűtővel és keverővel felszerelt 3 liter háromnyakú gömblombikba vízmentes toluolban bekészítjük a 6-bróm-piperonil-bromidot és a trifenil-foszfin és ezeket keverés közben feloldjuk. A reakciókeveréket 2 órán át keverés közben melegítjük és 24 órán át szobahőmérsékleten keverjük. A képződött trifenil-foszfóniumsót leszivatjuk, kevés toluollal mossuk és exsikkátorban szárítjuk. A kitermelés 500 g (95%).

c) Az 1-bróm-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén előállítása

Vegyszerek:

lítium (drót)
metanol (vízmentes)
trifenil-foszfóniumsó
o-ánizsaldehid
dimetil-formamid (vízmentes)

30 ml, nitrogéngázban tartott vízmentes metanolhoz 0,98 g (0,14 g atom) apróra vágott lítiumot adunk. A reakció befejeződése után ezt az oldatot 76,96 g (0,14 mól) fenti trifenil-foszfóniumsó és 17,68 g (0,13 mól) o-ánizsaldehid 200 ml vízmentes dimetil-formamiddal készített 90°C-os oldatához adjuk keverés közben 2,5 óra alatt. A reakcióoldatot még 1 órán át 90°C-on keverjük, majd szobahőmérsékletre lehűtjük, 700 ml vízbe öntjük, a csapadékot kiszűrjük és megszáritjuk.

A megszáritott terméket Soxleth-készülékben petroléterrel (30–50°C) extraháljuk, amíg a hüvelyben lévő maradék sztilbént már nem tartalmaz (vékonyréteg-kromatográfia: szilikagél, metilén-diklorid). A petrolétert vákuumban lepároljuk, és a maradékot (64,82 g keverék) etanolból átkristályosítjuk (ekkor a szennyezés, illetve az át nem alakult anyag legnagyobb részét elkülönítjük). A kivált csapadékot (31,13 g) 300 ml éterben szuszpendáljuk és 2 órán át főzzük (elválasztjuk a cisz- és transzkeveréket), majd lehűtjük, a szilárd anyagot kiszűrjük és szárítjuk. Olvadáspont: 112°C. A kitermelés 23,87 g (52%) tiszta ciszvegyület, vékonyréteg-kromatográfiával és MMR-spektrum alapján vizsgálva.

d) 1-Ciano-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén előállítása

Vegyszerek: réz (II)-cianid

N,N-dimetil-formamid

3 g előre megszáritott 1-bróm-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén 4 g réz(II)-cianid és 30 ml dimetil-formamid keveréket 8–12 órán át visszafolyatással forraljuk, amíg vékonyréteg-kromatográfián (diklór-metán/petroléter 1:2) bromid már nem mutatható ki. A reakciókeveréket lehűtjük, 4 g vas(III)-klorid, 1 ml sósav és 10 ml víz oldatához ad-

juk, és a reakciókeveréket 20 percig 70°C-on tartjuk (fűlkében, mert hidrogén-cianid fejlődik). Ezután a lehűtött reakciókeveréket 5×40 ml kloroformmal extraháljuk, 2×20 ml vízzel mossuk és kalcium-kloridon szárítjuk. Az oldószert eltávolítjuk, és a maradékot etanolból átkristályosítjuk. A kitermelés 2,0 g (70%).

e) A nitril hidrolízise a végtermékké

Vegyszerek: 1-ciano-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén nátrium-hidroxid.

1 g 1-ciano-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbént lehetőleg kevés (30–50 ml) etanolban melegítés közben feloldunk, és az oldathoz 15 ml vízben oldott 10 g nátrium-hidroxidot adunk. A reakciókeveréket élénk visszafolyatás közben forraljuk, amíg a vékonyréteg-kromatogram (éterben) cianidot már nem mutat (18–20 óra). Az etanolt vákuumban lepároljuk, és a maradékhoz 50–100 ml vizet adunk. A vizes fázist 2×30 ml éterrel extraháljuk és 6n sósavval semlegesítjük. A kivált pelyhes csapadék legnagyobb részét mint kolloid van jelen az oldatban. Az oldatot rövid időre felmelegítjük és 24 órán át állni hagyjuk. A koagulált csapadékot leszivatjuk és etanolból átkristályosítjuk. A kitermelés 0,53 g (50%)-a. Olvadáspont: 199,5°.

2. példa

1-Karboxi-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén előállítása a sztilbén-bromidot sztilbén-savvá alakítva

Vegyszerek:

1-bróm-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén 17,44 g (0,05 mól)
n-butil-lítium (1,55 moláris) 40 ml

(0,061 mól)

180 ml

A fenti sztilbén-bromidot vízmentes éterben feloldjuk és nitrogénatmoszférában -72°C-ra lehűtjük. Ebbe a reakcióoldatba elővigyázatosan befecskendezzük az n-butil-lítiumot, és a beadagolás után az elegyet 1 órán át szobahőmérsékleten tartjuk. Ezután az oldatot azonnal szilárd széndioxidra öntjük és éjszaka át reagálni hagyjuk. A keverékhez ezután vizet adunk, a fázisokat szétválasztjuk és a vizes fázist 2×100 ml éterrel extraháljuk. Az egyesített vizes fázisokat jégfürdőben lehűtjük és tömény sósavval megsavanyítjuk. A kivált csapadékot leszivatjuk és sok vízzel semlegesre mossuk, vízzel kétszer-háromszor felfőzzük (az n-butil-lítiumból származó vajsav eltávolítása céljából), majd a nyers terméket etanol/víz keverékéből ótkristályosítjuk.

A kitermelés: 9,16 g (58,7%)

Olvadáspont: 199,5°C.

A megfelelő sztilbén-bromidot az 1. példa a)–c) fejezetei szerint állíthatjuk elő.

3. példa

1-Karboxi-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrén előállítása

a) A sztilbén-származék fotokémiai átalakítása a megfelelő fenantrén-származékká
Vegyszerek:

1-bróm-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén
(ciszvegyület)

1,2,3,4-tetrahidro-9-fluorenon
ciklohexán
jód

3,3 g (0,01 mól) cisz-1-bróm-3,4-metiléndioxi-2'-metoxi-sztilbén 100 ml vízmentes 1,2,3,4-tetrahidro-9-fluorenonban feloldunk. Ezt az oldatot 1200 ml vízmentes ciklohexánal hígítjuk és 1,7 g jódot adunk hozzá. Az oldatot nitrogénbevezetés mellett, hűtőcsővel ellátott laboratóriumi merülőlámpával (Typ TQ 150, Hanau) 12—14 napig megvilágítjuk. A reakciót vékonyréteg-kromatográfián (metilén-diklorid/petroléter (30—50°C), 1:2) ellenőrizzük.

A szerves fázist a feleslegben lévő jód eltávolítása céljából 3×300 ml vizes tioszulfát-oldattal kirázzuk. A szerves fázist vízmentes magnézium-szulfáton szárítjuk, majd rotációs bepárlóban bepároljuk. A nyerstermékét petroléterből (60—90°C) átkristályosítjuk.

A kitermelés 1,55 g (47%).

b) 1-Ciano-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrén előállítás az 1-bróm-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrénből

A fenantrén-bromid átalakítása nitrillé
Vegyszerek:

1-bróm-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrén

réz(II)-cianid

N,N-dimetil-formamid

3 g fenti előre megszáritott fenantrén-bromid, 4 g réz(II)-cianid és 30 ml dimetil-formamid keverékét 8—12 órán át visszafolyatással forraljuk, amíg bromid vékonyréteg-kromatográfián (diklór-metán/petroléter 1:2) már nem mutatható ki. A reakciókeveréket lehűtjük, majd 4 g vas(III)-klorid, 1 ml sósav és 10 ml víz oldatához adjuk, és a reakciókeveréket 20 percig 70°C-on tartjuk (fűlkében, mert hidrogén-cianid fejlődik). Ezután a lehűtött reakciókeveréket 5×40 ml kloroformmal extraháljuk, 2×20 ml vízzel mossuk és kalcium-kloridon szárítjuk. Az oldószert eltávolítjuk, és a maradékot etanolból átkristályosítjuk. A kitermelés 2,0 g (70%). Az olvadáspont 215°C.

c) A fenantrénsav-nitril hidrolízise fenantrénsavvá

Vegyszerek:

1-ciano-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrén

nátrium-hidroxid

1 g fenti fenantrénsav-nitrilt lehetőleg kevés (30—50 ml) etanolban melegítés közben feloldunk, és az oldathoz 15 ml vízben oldva 10 g nátrium-hidroxidot adunk. A reakciókeveréket élénk visszafolyatással forraljuk, amíg a vékonyréteg-kromatográfia (éterben) cianidot már nem mutat ki (18—20 óra). Az etanolt vákuumban eltávolítjuk, és a mara-

dékhoz 50—100 ml vizet adunk. A vizes fázist 2×30 ml éterrel extraháljuk és 6n sósavval semlegesítjük. A kivált pelyhes csapadék többnyire koloidként marad az oldatban. Az oldatot rövid időre felmelegítjük és 24 órán át állni hagyjuk. A koagulált csapadékot leszívátjuk és etanolból átkristályosítjuk. A kitermelés 0,53 g (50%)

Az azonosítási adatokat a 4. példában ismertetjük.

4. példa

1-Karboxi-3,4-metiléndioxi-8-hidroxi-fenantrén előállítása

1,0 g 1-karboxi-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrént 2,0 g piridin-hidrokloriddal 170°C-os olajfürdőben megolvastunk és nitrogéngáz bevezetése mellett 1 órán át ezen a hőmérsékleten tartjuk. Az elegyet lehűtjük, a megdermedt masszát 10 liter 5%-os sósavval felvesszük és 3×10 liter kloroformmal extraháljuk. Az extraktumokat egyesítjük, vízzel semlegesre mossuk és szilánózott szűrőpapíron (Whatman 1 PS) szárazra szűrjük. Az oldószert 30°C-on rotációs bepárlóban bepároljuk, a kiindulási anyag és a hidrolizátum keverékéből álló elegyet szétválasztás céljából észterezzük, úgy, hogy 2,5 liter metanol és 0,1 liter tömény kénsav keverékével 3 órán át visszafolyatással forraljuk. Ezután a reakcióelegyet 10 liter vízbe öntjük és a vizes-metanolos fázist 3×10 liter diizopropil-éterrel kirázzuk. A szerves oldatot ezután vízzel többször mossuk, 10 liter nátrium-hidroxid-oldattal extraháljuk, ekkor a 8-metoxi-vegyület metil-észtere a szerves fázisban marad és a 8-hidroxi-vegyület egyidejű észter-hidrolízis mellett a vizes fázisba jut. A lúgos fázist friss diizopropil-éterrel kimossuk, megsavanyítjuk, kloroformmal többször kirázzuk, Whatman 1 PS fázisszétválasztó papíron szárítjuk és az oldószert rotációs bepárlóban eltávolítjuk. Az 1-karboxi-3,4-metiléndioxi-8-hidroxi-fenantrén mint vékonyréteg-kromatográfián egységes vegyület szilárd alakban marad vissza.

Fluoreszcencia: (Metanol, λ_{max} , nm):

gerjesztés: 261, 302, 318, 329, 358, 377,

emisszió: 386, 402.

A kitermelés: 0,714 g (75%).

5. példa

1-Karboxi-3,4-metiléndioxi-8-hidroxi-fenantrén előállítása a nitrocsoport redukálásával

5 g arisztolochiasavat 1500 ml 1%-os vizes nátrium-karbonát-oldatban feloldunk, és az oldatot 5 literes lombikba szűrjük. Ehhez a tiszta sóoldathoz 1500 ml kereskedelmi ammónium-poliszulfid-oldatot adunk. A reakciókeveréket 2 órán át szobahőmérsékleten keverjük (fűlkében!) és éjszakán át elzárva tartjuk. Ezután 1500 ml ásványi anyagoktól mentesített vizet adunk az elegyhez és kb. 500 ml tömény sósavval cseppenként keverés közben megsavanyítjuk. Az így képződött

csapadékot kiszűrjük és vízzel mossuk. A vizes fázist 1500 ml etil-acetáttal extraháljuk és az etil-acetátos fázisból a csapadékot ki-keverjük, majd még 2×1500 ml etil-acetáttal ki-keverjük. A szerves fázisokat egyesítjük és 2×500 ml vízzel mossuk. Ezután az etil-acetátos oldatot 4×750 ml 2%-os vizes nátrium-hidroxid-oldattal extraháljuk. A szerves fázist eldobjuk, a lúgos-vizes oldat pH-értékét tömény sósavval 4–3-ra beállítjuk és 4×1000 ml etil-acetáttal ismét kirázzuk. Az egyesített szerves fázisokat 3×750 ml vízzel mossuk. A mosott szerves fázisokat vízmentes nátrium-szulfáton szárítjuk, szűrjük és vákuumban szárazra pároljuk (fürdőhőmérséklet kb. 30°C).

A 8-metoxi-vegyület kitermelés 3,1 g. Az olvadáspont bomlás közben 285°C.

Tisztítás céljából a terméket etil-acetátból átkristályosíthatjuk.

A kapott vegyületet a 4. példában leírt módon hidrolizáljuk. A cím szerinti vegyület azonos a 4. példában előállítottal.

6. példa

1-Karboxi-3,4-metiléndioxi-8-hidroxi-fenantrén

17,335 g (0,05 mól) 1-bróm-3,4-metiléndioxi-8-metoxi-fenantrént feloldunk 180 ml vízmentes éterben és nitrogéngáz alatt lehűtjük –72°C-ra. A reakcióelegybe óvatosan 40 ml, 1,55 mólos (0,061 mól) n-butil-lítiumot fecskendezünk, majd egy órán belül szobahőmérsékletre melegítjük. Az oldatot azonnal szilárd széndioxidra öntjük, és éjszakán át reagálni hagyjuk. Víz hozzáadása után az elválasztott vizes fázist 2×100 ml éterrel extraháljuk. Az egyesített vizes fázisokat jeges fürdőn és tömény sósavval megsavanyítjuk. A kivált csapadékot leszivatjuk és vízzel semlegesre mossuk.

Az n-butil-lítiumból származó vajsav eltávolítására a csapadékot 2–3-szor vízzel felforraljuk, majd vizes etanolból átkristályosítjuk. 9,0 g (58,0%) 8-metoxi-vegyületet kapunk, (olvadáspontja bomlás közben 285°C amelyet a 4. példában leírt módon alakítunk a cím szerinti vegyületté.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (I) általános képletű metiléndioxi-fenantrén- és sztilbén-származékok, valamint gyógyszerészetileg elfogadható sóik előállítására — a képletben

R_1 metoxi- vagy etoxicsoport,
 R_2 és R_3 mindegyike hidrogénatom vagy
 R_1 etoxi- vagy hidroxicsoport,
 R_2 és R_3 együtt egy szén-szén kötést jelentenek,
 azzal jellemezve, hogy

(III) képletű 6-bróm-piperonil-bromidot trifenil-foszfínnal vízmentes oldószerben reagáltatunk, a kapott (IV) képletű foszfónium-sót o-metoxi-benzaldehiddel vagy o-etoxi-benzaldehiddel erős bázis jelenlétében reagáltatjuk, a kapott (V) általános képletű sztilbén-bromidot — R_1 metoxi- vagy etoxicsoport —

a) — fémcianiddal, előnyösen réz-cianiddal poláris, aprotikus oldószerben, előnyösen dimetil-formamidban a megfelelő nitril-
 alakítjuk, és a nitrilt (I) általános képletű savvá — R_1 metoxi- vagy etoxicsoport, R_2 és R_3 hidrogénatom — hidrolizáljuk, vagy

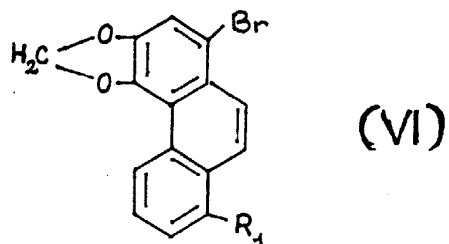
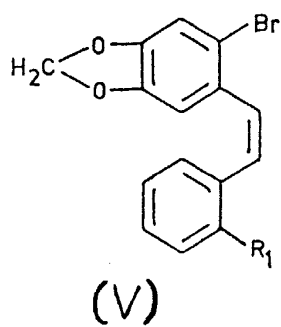
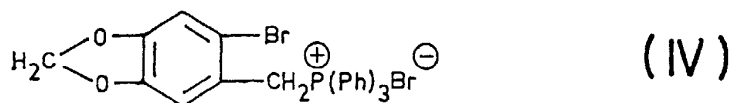
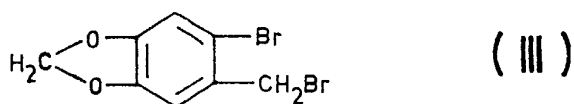
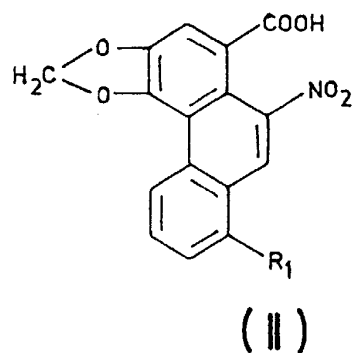
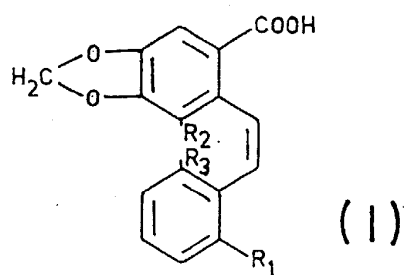
b) — n-butil-lítiummal és széndioxiddal (I) általános képletű savvá — R_1 metoxi- vagy etoxicsoport, R_2 és R_3 hidrogénatom — alakítjuk, vagy

c) — ultraibolya besugárzással egy (VI) általános képletű fenantrén-származékká — R_1 metoxi- vagy etoxicsoport —, majd fémcianiddal vagy n-butil-lítiummal és széndioxiddal (I) általános képletű savvá — R_1 metoxi- vagy etoxicsoport, R_2 és R_3 szén-szén kötés — alakítjuk, és a kapott vegyületet, ha R_1 metoxicsoport, illetve kívánt esetben ha R_1 etoxicsoport, éterhasítással olyan (I) általános képletű fenantrén-származékká alakítjuk, amelyben R_1 hidroxicsoport, vagy

d) olyan (I) általános képletű fenantrén-származék előállítására, amelynek képletében R_1 hidroxicsoport, egy (II) általános képletű nitrovegyületet — R_1 metoxi- vagy etoxicsoport — poliszulfiddal denitrálunk, majd a metoxicsoportot, illetve kívánt esetben az etoxicsoportot éterhasítással hidroxicsoporttá alakítjuk, kívánt esetben a kapott (I) általános képletű vegyületet gyógyszerészetileg elfogadható sójává alakítjuk.

2. Eljárás az (I) általános képletű vegyületet — R_1 , R_2 és R_3 a fenti — vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóját hatóanyagként tartalmazó, fagocitózist fokozó és vírusellenes hatású gyógyszerkészítmények előállítására, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerint előállított hatóanyagot a gyógyszerkészítmények szokásos hordozó-, hígító-, töltő- és/vagy egyéb segédanyagaival együtt gyógyszerkészítménnyé készítjük.

Int.Cl₅ C 07 D 317/70; C 07 D 317/68;
A 61 K 31/335



Kiadja: Országos Találmányi Hivatal, Budapest
A kiadásért felel: Himer Zoltán osztályvezető

№ 1006. Nyomdaipari vállalat, Ungvár