
Octrooiraad



10 A Terinzagelegging 11 8001531

Nederland

19 NL

- 54 Nieuwe benzodiazepineverbindingen.**
- 51 Int.Cl³.: C07D487/04, A61K31/55.**
- 71 Aanvrager: The Green Cross Corporation te Osaka, Japan.**
- 74 Gem.: Ir. G.F. van der Beek c.s.
NEDERLANDSCH OCTROOIBUREAU
Joh. de Wittlaan 15
2517 JR 's-Gravenhage.**

-
- 21 Aanvraag Nr. 8001531.**
- 22 Ingediend 14 maart 1980.**
- 32 Voorrang vanaf 17 juli 1979.**
- 33 Land van voorrang: Japan (JP).**
- 31 Nummer van de voorrangsaanvraag: 89886/79 .**
- 23 --**
- 61 --**
- 62 --**

-
- 43 Ter inzage gelegd 20 januari 1981.**

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

N.O. 28.846

Nieuwe benzodiazepineverbindingen

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een nieuwe verbinding en, meer in het bijzonder, op een nieuwe 1H-pyrrolo-[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide verbinding met antitumor activiteit.

- 5 Het is reeds bekend, dat antibacteriële en antitumor activiteiten getoond worden door de drie verbindingen 5.10.11.11a-tetrahydro-9.11-dihydroxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]-benzodiazepin-2-acrylamide (hierna aangeduid als "PBA") voorgesteld door formule 4;
- 10 5.11.11a-trihydro-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo-[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide (hierna aangeduid als "P'B'A'") voorgesteld door formule 5, welke formule overeenkomt met die van een verbinding afgeleid van de eerder genoemde verbinding "PBA" door de verwijdering van substituenten op de 10- en 11-plaats door een dehydraterings-
- 15 reactie en een verbinding met een methylethergroep op de 11-plaats van PBA (hierna aangeduid als "P'B'A'").

- Beschreven is, dat PBA wordt voortgebracht als metaboliet bij het kweken van Streptomyces spadicogriseus
- 20 KOMATSU, FERM P-3275, ATCC 31179 of Streptomyces refuineus var. thermotolerans NRRL 3143, NRRL 3144 en dat P'B'A' en P'B'A' kunnen worden afgeleid van PBA (Japanse octrooiaanvraag 79.082/1977, Amerikaans octrooischrift 3.361.742, J. Amer. Chem. Soc., 87, (1965), 5791-5793.

- 25 Het is eveneens reeds bekend, dat verbindingen (PBA derivaten) voorgesteld door de formules 6 en 7, waarin R_1 gekozen is uit de groep bestaande uit waterstof, acyl, carbamoyl en alkoxycarbonyl; R_2 gekozen is uit de groep bestaande uit waterstof en acyl; en ten minste een van de
- 30 groepen R_1 en R_2 een substituent is anders dan waterstof; Y' gekozen is uit de groep bestaande uit alkyl, waterstof, fenylalkyl en acyl, R_2 en de groep OY' tezamen ook een chemische binding kunnen vormen, een activiteit als antitumor-middel vertonen (Amerikaanse octrooischriften
- 35 3.523.941 en 3.524.849).

Hoewel PBA, P'B'A' en P'B'A' en de andere PBA derivaten een zeer sterke antitumor-werking hebben, is bekend, dat zij een grote toxiciteit vertonen, in het bijzonder een

8001531

cardio-toxiciteit, tengevolge van nevenwerkingen. Dientengevolge zijn zij, niettegenstaande hun bruikbaarheid, onderworpen aan stricte beperking in hun gebruik als therapeutisch middel. Aanvraagsters hebben daarom uitgebreid
 5 onderzoek gedaan met het doel een verbinding te ontwikkelen, waarbij de nevenwerkingen van deze verbindingen geëlimineerd of verminderd zijn zonder een wezenlijke afname in antitumor-activiteit te veroorzaken. Derhalve werden verschillende verbindingen gesynthetiseerd uitgaande van
 10 PBA, P'B'A' en andere PBA derivaten en onderworpen aan proeven voor vergelijkend onderzoek met betrekking tot antitumor-activiteit en toxiciteit, om nieuwe verbindingen te ontdekken. Als resultaat is de onderhavige uitvinding tot stand gebracht.

15 Het oogmerk van de onderhavige uitvinding is het verschaffen van een nieuwe 1H-pyrrolo-[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide verbinding met antitumor-activiteit en lage toxiciteit.

Volgens de onderhavige uitvinding wordt een nieuwe
 20 1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide verbinding verschaft voorgesteld door formule 1, waarin R_1 een waterstofatoom, een acylgroep, een carbamylgroep of een alkoxycarbonylgroep, R_2 een waterstofatoom of een acylgroep en R_3 een sulfienzuurdeel (SO_2X) of sulfonzuurdeel (SO_3X) voorstellen, waarbij X waterstof of een farmaceutisch aanvaardbaar kation is.
 25

In de hiervoor genoemde verbinding is acyl benzoyl of alkanoyl met 1 tot 6 koolstofatomen; carbamyl kan aan het stikstofatoom gesubstitueerd zijn met een fenylgroep of
 30 een alkylgroep met 1 tot 6 koolstofatomen en alkoxycarbonyl bevat alkoxygroepen met 1 tot 6 koolstofatomen.

Voorbeelden van de verbindingen voorgesteld door formule 1 worden hierna gegeven.

5.10.11.11a-Tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-
 35 5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamine en alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-acetoxy-10-acetyl-8-methyl-
 40 5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamine en alkalimetaalzouten of aardalkalimetaal-

zouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-10-acetyl-9-carbamyloxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-acetoxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-carbamyloxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfin-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-acetoxy-10-acetyl-8-methyl-5-oxo-11-sulfin-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-10-acetyl-9-carbamyl-8-methyl-5-oxo-11-sulfin-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfin-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-acetoxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfin-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-carbamyloxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfin-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

5.10.11.11a-Tetrahydro-8-methyl-9-methoxycarbonyloxy-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-

8001531

crylamide en de alkalimetaalzouten of aardalkalimetaalzouten ervan.

Van de verbindingen van de onderhavige uitvinding worden de verbindingen met een sulfienzuurdeel of een zout
 5 daarvan als R_3 van de formule 1 verkregen door een reactieve zwavelverbinding te doen reageren in een inert oplosmiddel met PBA of derivaten daarvan voorgesteld door formule 2 of 3, waarin R_1 en R_2 de hiervoor vermelde betekenissen bezitten en Y een waterstofatoom, een alkylgroep
 10 of een fenylalkylgroep voorstelt.

Tot voorbeelden van inerte oplosmiddelen behoren een organisch oplosmiddel zoals methanol, ethanol, aceton, dimethylformamide, dimethylsulfoxide, diethylether, benzeen en hexaan, dat indien noodzakelijk water kan bevatten.
 15 Tot geschikte reactieve zwavelverbindingen behoren bijvoorbeeld bizwaveligzuur, trithionzuur, dithionzuur, bidithionzuur, zwaveligzuur, alkalimetaal- of aardalkalimetaalzouten daarvan en zwaveldioxide. Deze zwavelverbindingen worden direkt of in de vorm van een oplossing of
 20 suspensie in water of organische oplosmiddelen gebruikt. Het is eveneens geschikt een geschikt reductiemiddel (bijvoorbeeld zinkstof) en zwaveligzuur te laten reageren met een verbinding met formule 2 of 3. In elk geval verloopt de reactie voldoende bij een temperatuur van ongeveer om-
 25 gevingstemperatuur. Na voltooiing van de reactie, kan het beoogde produkt uit het reactiemengsel worden afgescheiden met gebruikelijke fysische en chemische middelen zoals concentratie, precipitatie en chromatografie, terwijl het produkt tegen oxydatie beschermd wordt onder een stikstof-
 30 stroom of met andere middelen.

De 11-sulfinoderivaten van de onderhavige uitvinding die volgens de hiervoor vermelde methoden verkregen ^{zijn} onder toepassing van de uitgangsverbindingen met formule 2 of 3, waarin R_1 , R_2 en Y eveneens alle of ten dele water-
 35 stof kunnen zijn, worden omgezet volgens gebruikelijke methoden tot 11-sulfinoderivaten van de onderhavige uitvinding, die de gedefinieerde substituenten anders dan waterstof voor R_1 respectievelijk R_2 in de formule 1 bevatten.

Van de verbindingen van de onderhavige uitvinding,
 40 worden die verbindingen met een sulfonzuurdeel of een zout

daarvan als R van formule 1 gemakkelijk verkregen uit de hiervoor vermelde 11-sulfinoderivaten door gebruikelijke oxydatietechnieken, zoals het doorleiden van zuurstof of een moleculaire zuurstof bevattend gas, zoals een luchtstroom door een oplossing van het sulfinoderivaat.

De resultaten van toxiciteitsproeven en antitumor-activiteitsproeven uitgevoerd om de geschiktheid van de verbindingen van de onderhavige uitvinding te bevestigen, zijn in tabel A opgenomen. De proeven werden op de volgende wijze uitgevoerd.

Toxiciteitsproef: De te onderzoeken verbinding wordt gesuspenderd in een fysiologische zoutoplossing in gevarieerde concentraties volgens de verdunningsreeksmethode (gebruikelijke verhouding, 1 : 1,5). Elke oplossing werd intraperitoneaal toegediend aan groepen van 8 tot 12 mannelijke muizen van de dd-stam, elk met een lichaamsgewicht van 18 tot 21 g. De muizen werden vervolgens grootgebracht op een gebruikelijk dieet en water. De LD₅₀-waarde werd bepaald volgens "Probit" analyse door het aantal dode en levende dieren waar te nemen 3 weken na de toediening.

Antitumor-activiteitsproef: Leukemie P388, 10⁶ cellen in aantal, werden geïnoculeerd in elk lid van de groep van 8 tot 12 mannelijke muizen van de CDF₁-stam met een lichaamsgewicht van 18 tot 20 g. De onderzochte verbinding werd intraperitoneaal toegediend aan de te behandelen groepen in vooraf bepaalde doseringen gedurende 6 opeenvolgende dagen na 24 uren vanaf de inoculatie. De dagen verstrekken tot de dood van het proefdier werden geteld voor elke muis voor het verkrijgen van de gemiddelde overlevingsdagen. De verlenging van de overlevingstijd, indicatief voor de doelmatigheid van een proefverbinding, werd berekend volgens de volgende vergelijking:

Verlenging van overlevingstijd, %

$$= \frac{\text{Gemiddelde overlevingsdagen van de behandelde groep}}{\text{Gemiddelde overlevingsdagen van de controle groep}} \times 100$$

Tabel A

Toxiciteit en antitumor-activiteit van de verbindingen voorgesteld door de algemene formule 1

R ₁ op 9-plaats	R ₂ op 10-plaats	R ₃ op 11-plaats	LD ₅₀ (mg/kg)	Dierproef	
				dagelijkse dosis* (mg/kg)	verlenging overle- vingstijd, %
H	H	SO ₂ H	2,18	0,12	212,0
COCH ₃	H	SO ₂ H	2,54	0,12	210,0
CONH ₂	H	SO ₂ H	2,37	0,12	200,3
COOCH ₃	H	SO ₂ H	2,56	0,12	198,7
H	COCH ₃	SO ₂ H	2,50	0,12	233,3
COCH ₃	COCH ₃	SO ₂ H	2,62	0,12	190,0
CONH ₂	COCH ₃	SO ₂ H	2,84	0,12	201,2
H	H	SO ₃ H	2,21	0,12	213,1
COCH ₃	H	SO ₃ H	2,68	0,12	213,3
CONH ₂	H	SO ₃ H	2,40	0,12	217,1
COOCH ₃	H	SO ₃ H	2,55	0,12	206,7
H	COCH ₃	SO ₃ H	2,43	0,12	198,6
COCH ₃	COCH ₃	SO ₃ H	2,81	0,12	193,3
CONH ₂	COCH ₃	SO ₃ H	2,80	0,12	197,2

Tabel A (vervolg)

R ₁ op 9-plaats	R ₂ op 10-plaats	R ₃ op 11-plaats	LD ₅₀ (mg/kg)	Dierproef	
				dagelijkse dosis* (mg/kg)	verlengde overle- vingstijd, %
H	H	SO ₂ Na	2,28	0,12	209,2
H	H	SO ₂ K	2,31	0,12	208,6
COCH ₃	H	SO ₂ Na	2,60	0,12	199,6
H	H	SO ₃ Na	2,31	0,12	209,9
H	COCH ₃	SO ₃ Na	2,51	0,12	216,4
COCH ₃	COCH ₃	SO ₂ Na	2,71	0,12	200,0
COCH ₃	COCH ₃	SO ₃ Na	3,04	0,12	201,0
PBA			0,73	0,12	216,7

Opmerking:

De dagelijkse dosis* werd uitgedrukt in PBA (5.10.11.11a-tetrahydro-5.11-dihydroxy-8-methyl-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide).

Voorbeeld I

In 200 ml methanol werden 2 g 5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-11-methoxy-5-oxo-1H-pyrrolo-[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide opgelost. De verkregen oplossing werd gemengd met een oplossing, die 20 g natriumdithionaat in 1800 ml water bevatte. Het mengsel werd bij 20 tot 25°C 1 uur geroerd en daarna gemengd met 2000 ml n-butanol onder krachtig roeren. De butanollaag werd afgescheiden, met watervrij natriumsulfaat gedroogd en tot droog ingedampt. Het residu werd opgelost in 200 ml methanol, vervolgens gemengd met 800 ml chloroform en toegevoerd boven aan een silicagelkolom van 40 x 1000 mm. De geadsorbeerde fase werd ontwikkeld met een mengsel van methanol en chloroform in de verhouding 1 : 4 en de fractie, die het beoogde produkt bevatte, werd bevestigd volgens het bioautogram (Staphylococcus aureus) onder toepassing van dunne-laag-chromatografie (ontwikkelingsoplosmiddel: een mengsel van ethylacetaat en methanol in de verhouding 4 : 1). De effectieve fractie werd met watervrij natriumsulfaat gedroogd, onder een verminderde druk geconcentreerd en het kristallijne produkt werd door filtratie onder een stikstofstroom verzameld. Dit produkt werd herkristalliseerd uit methanol, waarbij 1,75 g gele naaldvormige kristallen verkregen werden van 5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfino-1H-pyrrolo-[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide natriumzout, dat bij 253,7 - 256,7°C smelt, welke verbinding een verbinding met formule 1 was.

Elementaire analyse: berekend voor $C_{18}H_{18}N_3O_6S_1Na$:

30 C 50,58; H 4,24; N 9,83; S 7,50; Na 5,38
gevonden: C 51,24; H 4,29; N 9,59; S 7,61; Na 5,30.

Infrarood absorptie spectrum: 1670, 1410, 1220, 1040 cm^{-1} .

Voorbeeld II

35 In 100 ml methanol werd 1 g 5.10.11.11a-tetrahydro-9-acetoxy-10-acetyl-11-methoxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo-[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide opgelost. De verkregen oplossing werd gemengd met een oplossing, die 20 g natriumdithioniet in 1800 ml water bevatte. Het mengsel werd 30 minuten bij 30 tot 45°C geroerd en daarna gemengd

met 2000 ml n-butanol onder krachtig roeren. De butanol-
laag werd afgescheiden en geconcentreerd. Wanneer een vrij
groot deel van de butanol was verdampt, werd het residu op-
nieuw in water opgelost en toegevoegd boven aan een kolom
5 van Amberlite XAD-2 van 40 x 100 mm. De kolom werd daarna
geëlueerd met een mengsel van methanol en water in de ver-
houding 8 : 2. Na te zijn bevestigd door dunne-laag-chroma-
tografie zoals in voorbeeld I, werd de fractie, die het be-
oogde produkt bevatte, afgescheiden en onder een verminderde
10 druk tot droog ingedampt. Het residu werd herkristalliseerd
uit een mengsel van ethanol en benzeen, waarbij 0,8 g gele
naaldvormige kristallen verkregen werden van 5.10.11.11a-
tetrahydro-9-acetoxy-10-acetyl-8-methyl-5-oxo-11-sulfin-
1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide met een
15 smeltpunt van 241,3 - 245,1°C, welke verbinding een verbin-
ding was met formule 1.

Elementaire analyse: Berekend voor $C_{20}H_{21}N_3O_7S_1$:

C 53,68; H 4,73; N 9,39; S 7,16

gevonden: C 52,95; H 4,68; N 9,21; S 7,01.

20 Infrarood absorptie spectrum: 1690, 1400, 1210,
1035 cm^{-1} .

Voorbeeld III

In 200 ml methanol werden 2 g 5.10.11.11a-tetrahydro-
10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-11-methoxy-5-oxo-1H-pyrrolo-
25 [2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide opgelost. De verkre-
gen oplossing werd gemengd met een oplossing, die 20 g na-
triumdithionaat in 1800 ml water bevatte. Het mengsel werd
bij 20 tot 35°C 1 uur geroerd en daarna gemengd met 2000 ml
n-butanol onder krachtig roeren. De butanollaag werd afge-
30 scheiden, met watervrij natriumsulfaat gedroogd en tot droog
ingedampt. Het residu werd herkristalliseerd uit een mengsel
van methanol en benzeen, daarna opnieuw uit methanol, waar-
bij 0,7 g gele naaldvormige kristallen verkregen werden van
5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-
35 11-sulfin-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide,
dat bij 249,6 - 253,2°C smelt, welke verbinding een verbin-
ding was met formule 1.

Elementaire analyse: berekend voor $C_{18}H_{19}N_3O_6S_1$:

C 53,33; H 4,72; N 10,36; S 7,91

40 gevonden: C 52,95; H 4,68; N 10,62; S 8,00.

800 15 31

Infrarood absorptie spectrum: 1700, 1410, 1200, 1040 cm^{-1} .

Voorbeeld IV

Op een soortgelijke wijze als beschreven in voorbeeld II, werd 1 g 5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-carbamyloxy-11-methoxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide behandeld voor het verkrijgen van 0,65 g lichtgele naaldvormige kristallen van 5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-carbamyloxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfino-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide met een smeltpunt van 210,1 - 211,9°C, welke verbinding een verbinding was met formule 1.

Elementair analyse: Berekend voor $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_1$:

C 50,89; H 4,50; N 12,50; S 7,15

15 gevonden: C 50,70; H 4,33; N 12,45; S 7,08.

Infrarood absorptie spectrum: 1690, 1400, 1210, 1030 cm^{-1} .

Voorbeeld V

Op een soortgelijke wijze zoals beschreven in voorbeeld III werden 2 g 5.11.11a-trihydro-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide behandeld voor het verkrijgen van 1,82 g witte of lichtgele naaldvormige kristallen van 5.10.11.11a-tetrahydro-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfino-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide met een smeltpunt van 251,6 - 255,3°C, welke verbinding een verbinding was met formule 1.

Elementair analyse: Berekend voor $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_1$:

C 52,88; H 4,72; N 11,56; S 8,82

gevonden: C 52,70; H 4,69; N 11,80; S 8,79.

30 Infrarood absorptie spectrum: 1620, 1410, 1210, 1040 cm^{-1} .

Voorbeeld VI

Op een soortgelijke wijze zoals beschreven in voorbeeld I, werden 2 g 5.10.11.11a-tetrahydro-9-acetoxy-11-hydroxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide behandeld voor het verkrijgen van 1,65 g lichtgele naaldvormige kristallen van 5.10.11.11a-tetrahydro-9-acetoxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfino-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide natriumzout, met een smeltpunt van 211,2 - 213,5°C, welke verbinding een verbin-

ding was met formule 1.

Elementaire analyse: Berekend voor $C_{18}H_{18}N_3O_6S_1Na$:

C 50,60; H 4,25; N 9,83; S 7,50; Na 5,38

gevonden: C 50,30; H 4,31; N 9,84; S 7,70; Na 5,42.

5 Infrarood absorptie spectrum: 1640, 1410, 1200,
1090 cm^{-1} .

Voorbeeld VII

Op een soortgelijke wijze zoals in voorbeeld I beschreven werden 2 g 5.10.11.11a-tetrahydro-9-carbamoyloxy-11-methoxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide behandeld voor het verkrijgen van 1,28 g lichtgele naaldvormige kristallen van 5.10.11.11a-tetrahydro-9-carbamoyloxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfinyl-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide natriumzout, dat bij 15 216,3 - 219,2°C smelt, welke verbinding een verbinding is met formule 1.

Elementaire analyse: Berekend voor $C_{17}H_{17}N_4O_6S_1Na$:

C 47,66; H 4,00; N 13,08; S 7,48; Na 5,37

gevonden: C 47,78; H 3,99; N 13,13; S 7,43; Na 5,30.

20 Infrarood absorptie spectrum: 1640, 1400, 1200,
1090 cm^{-1} .

Voorbeeld VIII

5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-11-methoxy-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide werd behandeld op een soortgelijke wijze als in 25 voorbeeld I voor het verkrijgen van 5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfinyl-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide natriumzout. 2 g van dit zout werden opgelost in 250 ml water en geoxydeerd 30 door lucht door de oplossing te leiden. Na lyofilisering werd het oxydatiemengsel opgelost in methanol, vervolgens gemengd met het viervoudige volume chloroform en boven aan een silicagelkolom van 40 x 100 mm toegevoerd. De beladen kolom werd ontwikkeld met een methanol-chloroform-mengsel. 35 De fractie, die het beoogde produkt bevatte, werd onder een verminderde druk geconcentreerd en herkristalliseerd uit methanol, waarbij 1 g gele naaldvormige kristallen verkregen werden van 5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-hydroxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide natriumzout, met een smeltpunt van 261 - 40

800 15 31

262,5°C, welke verbinding een verbinding was met formule 1.

Elementaire analyse: Berekend voor $C_{18}H_{18}N_3O_7S_1Na$:

C 48,76; H 4,09; N 9,48; S 7,23; Na 5,18

gevonden: C 48,85; H 4,11; N 9,52; S 7,18; Na 5,10.

5 Infrarood absorptie spectrum: 1650, 1410, 1210, 1030 cm^{-1} .

Voorbeeld IX

In 200 ml methanol werden 2 g 5.10.11.11a-tetrahydro-9-acetoxy-11-methoxy-8-methyl-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]-
10 benzodiazepin-2-acrylamide opgelost. De verkregen oplossing werd 30 minuten geroerd, terwijl langzaam een gasvormige zwaveldioxidestroom werd doorgeleid. Nadat de reactie voltooid was, werd de oplossing gemengd met 2000 ml n-butanol onder krachtig roeren en de butanol laag werd afgescheiden,
15 met watervrij natriumsulfaat gedroogd en tot droog ingedampt. Het gedroogde residu werd herkristalliseerd uit een mengsel van methanol en benzeen en de kristallen werden opnieuw opgelost in 300 ml methanol. Een zuurstofstroom werd langzaam gedurende ongeveer 40 minuten door de oplossing
20 geleid. De oplossing werd vervolgens gefractioneerd door middel van een Amberlite XAD-2 kolom zoals in voorbeeld II. De fractie, die het beoogde produkt bevatte, werd geconcentreerd en herkristalliseerd, waarbij 1,62 g gele naaldvormige kristallen verkregen werden van 5.10.11.11a-tetrahydro-9-acetoxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c]-
25 [1.4]benzodiazepin-2-acrylamide met een smeltpunt van 231,4 - 235,4°C, welke verbinding een verbinding was met formule 1.

Elementaire analyse: Berekend voor $C_{18}H_{19}N_3O_7S_1$:

30 C 51,3; H 4,54; N 9,97; S 7,61

gevonden: C 50,9; H 4,62; N 9,83; S 7,55.

Infrarood absorptie spectrum: 1660, 1420, 1210, 1020 cm^{-1} .

Voorbeeld X

35 In 200 ml methanol werden 2 g 5.10.11.11a-tetrahydro-10-acetyl-9-acetoxy-8-methyl-11-methoxy-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide opgelost. De verkregen oplossing werd gemengd met een oplossing, die 18 g kaliumsulfaat in 1800 ml water bevatte. Na toevoeging van 2 g
40 zinkstof werd het mengsel bij omgevingstemperatuur ongeveer

800 15 31

4 uren geroerd. Vervolgens werd het mengsel gemengd met 2000 ml n-butanol en krachtig geroerd. De butanol laag werd afgescheiden, met watervrij natriumsulfaat gedroogd en tot droog ingedampt. Het gedroogde produkt werd opgelost in
 5 een mengsel van water en methanol in de verhouding 1 : 1. Een zuurstofstroom werd langzaam gedurende ongeveer 3 uren door de oplossing geleid. Op een soortgelijke wijze als in voorbeeld II werd de oplossing gefractioneerd door middel van een Amberlite XAD-2 kolom voor het afscheiden van een
 10 fractie, die het beoogde produkt bevatte. Deze fractie werd geconcentreerd en herkristalliseerd, waarbij 1,23 g gele naaldvormige kristallen verkregen werden van 5.10.11.11a-tetrahydro-9-acetoxy-10-acetyl-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide kalium-
 15 zout, met een smeltpunt van 221,3 - 223,7°C, welke verbinding een verbinding met formule was.

Elementaire analyse: Berekend voor $C_{20}H_{20}N_3O_8S_1K$:

C 47,90; H 4,02; N 8,38; S 6,39; K 7,80

gevonden: C 47,77; H 3,98; N 8,41; S 6,44; K 7,75.

20 Infrarood absorptie spectrum: 1680, 1410, 1210, 1035 cm^{-1} .

Voorbeeld XI

5.10.11.11a-Tetrahydro-9-carbamoyloxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acryl-
 25 amide natriumzout werd verkregen zoals in voorbeeld VII. 1 g van dit zout werd opgelost in 150 ml water en op soortgelijke wijze behandeld als in voorbeeld VIII. Na herkristallisatie uit methanol werd 0,72 g gele naaldvormige kristallen verkregen van 5.10.11.11a-tetrahydro-9-carbamoyl-
 30 oxy-8-methyl-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide natriumzout, met een smeltpunt van 241,6 - 243,2°C, welke verbinding een verbinding met formule 1 was.

Elementaire analyse: Berekend voor $C_{17}H_{17}N_4O_7S_1Na$:

35 C 45,95; H 3,86; N 12,61; S 7,21; Na 5,17

gevonden: C 46,20; H 4,05; N 13,10; S 7,17; Na 5,08.

Infrarood absorptie spectrum: 1680, 1400, 1220, 1040 cm^{-1} .

Voorbeeld XII

2 g 5.10.11.11a-tetrahydro-8-methyl-11-methoxy-9-methoxycarbonyloxy-5-oxo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide werd behandeld zoals in voorbeeld IX voor het
 5 verkrijgen van 1,37 g lichtgele naaldvormige kristallen van 5.10.11.11a-tetrahydro-8-methyl-9-methoxy-carbonyloxy-5-oxo-11-sulfo-1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-2-acrylamide met een smeltpunt van 232,7 - 236,8°C, welke verbinding een verbinding met formule 1 was.

10 Elementair analyse: Berekend voor $C_{18}H_{19}N_3O_8S_1$:

C 49,43; H 4,38; N 9,61; S 7,33

gevonden: C 50,10; H 4,40; N 9,65; S 7,28.

Infrarood absorptiespectrum: 1620, 1415, 1220, 1030 cm^{-1} .

C O N C L U S I E S

1. Een 1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]-benzodiazepin-2-acryl-
amide verbinding voorgesteld door formule 1, waarin R_1 een
waterstofatoom, acylgroep, carbamylgroep of alkoxy-carbonyl-
5 groep, R_2 een waterstofatoom of acylgroep en R_3 een sulfien-
zuurresidu, SO_2X , of sulfonzuurresidu, SO_3X voorstellen,
waarbij X waterstof of een farmaceutisch aanvaardbaar kation
is.
2. Verbinding volgens conclusie 1, m e t h e t
10 k e n m e r k, dat R_3 in formule 1 een sulfienzuurresidu is.
3. Verbinding volgens conclusie 1, m e t h e t
k e n m e r k, dat R_3 in formule 1 een sulfonzuurresidu is.
4. Verbinding volgens conclusies 1 tot 3, m e t
h e t k e n m e r k, dat het farmaceutisch aanvaardbare
15 kation een alkalimetaalkation of een aardalkalimetaalkaton
is.
5. Werkwijze ter bereiding van een benzodiazepine-deri-
vaat, m e t h e t k e n m e r k, dat men een verbinding
met formule 1, waarin de symbolen de bij conclusie 1 ver-
20 melde betekenissen bezitten, op een op zichzelf bekende
wijze hereidt.
6. Werkwijze ter bereiding van een benzodiazepine-deri-
vaat, m e t h e t k e n m e r k, dat men een verbinding
met formule 1, waarin de symbolen de bij conclusie 1 ver-
25 melde betekenissen bezitten bereidt, doordat men een reac-
tieve zwavelverbinding omzet met een verbinding met formule
2 of 3, waarin R_1 en R_2 de hiervoor vermelde betekenissen
bezitten en Y een waterstofatoom, een alkylgroep of een
fenylalkylgroep voorstelt.
- 30 7. Werkwijze volgens conclusie 6, m e t h e t
k e n m e r k, dat men de reactie uitvoert in een inert
oplosmiddel.
8. Werkwijze volgens conclusie 7, m e t h e t
k e n m e r k, dat men als inert oplosmiddel methanol, etha-
35 nol, aceton, dimethylformamide, dimethylsulfoxide, diethyl-
ether, benzeen, hexaan, een mengsel daarvan of een mengsel
met water daarvan toepast.
9. Werkwijze volgens conclusie 6, m e t h e t
k e n m e r k, dat men als reactieve zwavelverbinding
40 bizwaveligzuur, trithionzuur, dithionzuur, bidithionzuur,

zwaveligzuur, alkalimetaal- of aardalkalimetaalzouten daarvan of zwaveldioxide toepast.

10. Werkwijze ter bereiding van een 1H-pyrrolo[2.1-c]-[1.4]-benzodiazepin-2-acrylamide verbinding voorgesteld
5 door de algemene formule 1, waarin R_1 een waterstofatoom, acylgroep, carbamylgroep of alkoxycarbonylgroep, R_2 een waterstofatoom of acylgroep en R_3 een sulfonzuurgroep, SO_3X , voorstellen, waarin X waterstof of een farmaceutisch aanvaardbaar kation is, m e t h e t k e n m e r k, dat
10 men een verbinding of farmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan voorgesteld door formule 8, waarin R_1 en R_2 de hiervoor vermelde betekenissen bezitten, oxydeert.

11. Werkwijze volgens conclusie 10, m e t h e t k e n m e r k, dat men de oxydatie uitvoert door een moleculaire zuurstof bevattend gas door de oplossing van de
15 verbinding of het farmaceutisch aanvaardbare zout daarvan te leiden.

12. Werkwijze ter bereiding van een 1H-pyrrolo[2.1-c]-[1.4]benzodiazepin-2-acrylamide verbinding voorgesteld door
20 formule 8, waarin R_1 een waterstofatoom, acylgroep, carbamylgroep of alkoxycarbonylgroep voorstelt, en een farmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan, m e t h e t k e n m e r k, dat men een reactieve zwavelverbinding laat reageren met een verbinding met formule 7, waarin R_1 de
25 hiervoor vermelde betekenissen heeft.

13. Werkwijze volgens conclusie 12, m e t h e t k e n m e r k, dat men de reactie uitvoert in een inert oplosmiddel.

14. Werkwijze volgens conclusie 13, m e t h e t k e n m e r k, dat men als inert oplosmiddel methanol, ethanol, aceton, dimethylformamide, dimethylsulfoxide, diethylether, benzeen, hexaan, een mengsel daarvan of een mengsel
30 daarvan met water toepast.

15. Werkwijze volgens conclusie 12, m e t h e t k e n m e r k, dat men als reactieve zwavelverbinding
35 bizwaveligzuur, trithionzuur, dithionzuur, bidithionzuur, zwaveligzuur, alkalimetaal- of aardalkalimetaalzouten daarvan of zwaveldioxide toepast.

16. Farmaceutisch preparaat, g e k e n m e r k t
40 d o o r de aanwezigheid van een drager en een werkzame

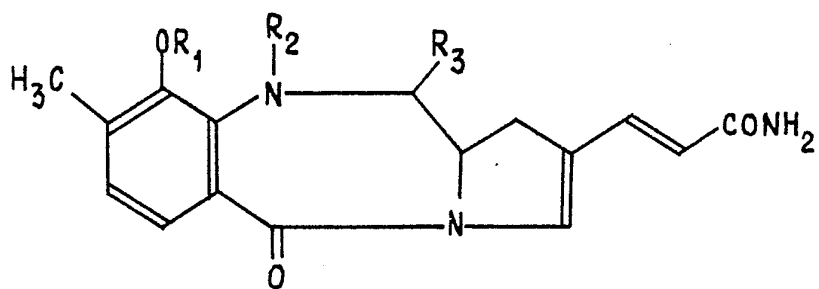
8001531

hoeveelheid van een 1H-pyrrolo[2.1-c][1.4]benzodiazepin-
2-acrylamide verbinding voorgesteld door formule 1, waarin
 R_1 een waterstofatoom, acylgroep, carbamylgroep of alkoxy-
carbonylgroep, R_2 een waterstofatoom of acylgroep en R_3
5 een sulfienzuurrest, SO_2X , of sulfonzuurrest, SO_3X , voor-
stellen, waarin X waterstof of een farmaceutisch aanvaard-
baar kation is.

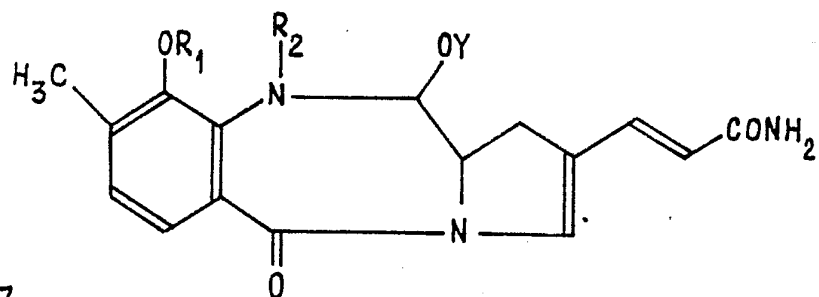
17. Werkwijze ter bereiding van een farmaceutisch pre-
paraat, m e t h e t k e n m e r k, dat men een verbin-
10 ding met formule 1, waarin de symbolen de bij conclusie 1
vermelde betekenissen bezitten, in een voor een dergelijke
toepassing geschikte vorm brengt.

* * * * *

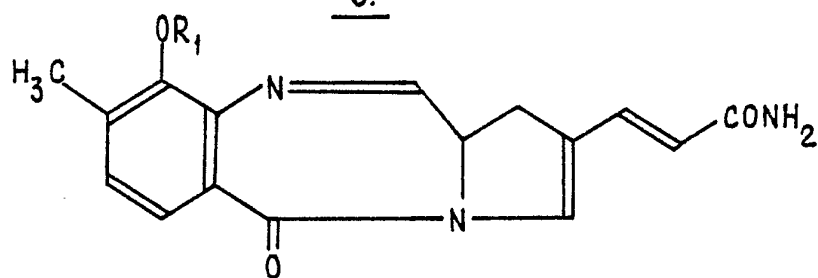
1.



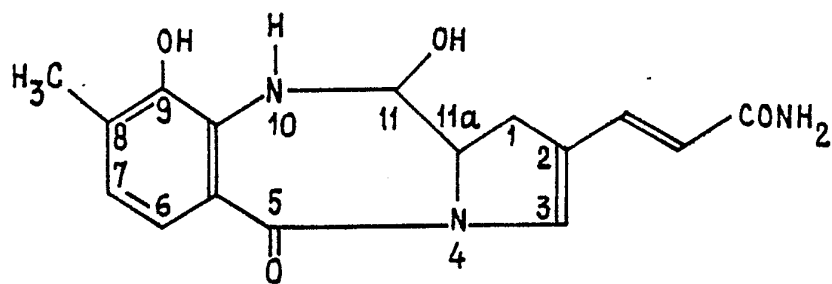
2.



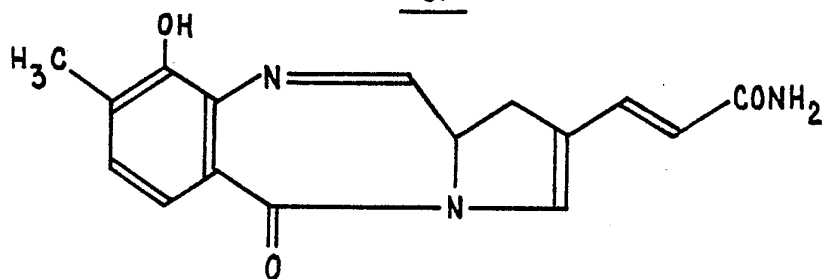
3.



4.

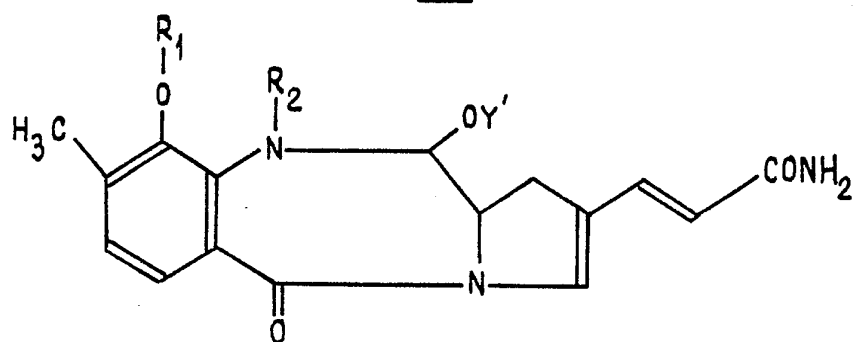


5.

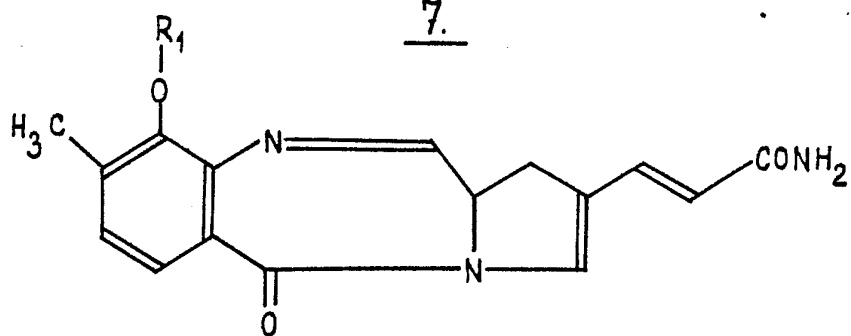


800 15 31

6.



7.



8.

