PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 :
C07H 17/00, A61K 31/70

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: **WO 98/14459**

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 9. April 1998 (09.04.98)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/05088

(22) Internationales Anmeldedatum: 17. September 1997 (17.09.97)

(30) Prioritätsdaten:
196 40 206.9 30. September 1996 (30.09.96) DE
196 43 764.4 23. Oktober 1996 (23.10.96) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: BAYER AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D–51368 Leverkusen (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: LERCHEN, Hans–Georg [DE/DE]; Sürderstrasse 3, D–51375 Leverkusen (DE). VON DEM BRUCH, Karsten [DE/DE]; Bonifatiusstrasse 2, D–51375 Leverkusen (DE). BAUMGARTEN, Jörg [DE/DE]; Henselweg 13, D–42115 Wuppertal (DE). SPERZEL, Michael [DE/DE]; Normannenstrasse 31, D–42275 Wuppertal (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER AKTIENGESELLSCHAFT; D–51368 Leverkusen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: GLYCOCONJUGATES FROM MODIFIED CAMPTOTHECIN DERIVATES (20–O–LINKAGE)

(54) Bezeichnung: GLYCOKONJUGATE VON MODIFIZIERTEN CAMPTOTHECIN–DERIVATEN (20–O–VERKNÜPFUNG)

(57) Abstract

Disclosed are glycoconjugates from modified camptothecin derivates, where at least a glucidic component is linked to the 20–hydroxyl group of a camptothecin derivate. Also disclosed are their preparation and their use as pharmaceutical products, especially against cancer diseases.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft Glycokonjugate von Camptothecin–Derivaten, in denen mindestens eine Kohlenhydrat–Komponente über geeignete Spacer und Abstandshalter mit der 20–Hydroxylgruppe eines Camptothecin–Derivats verknüpft ist. Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen sowie deren Verwendung als Arzneimittel, insbesonder im Zusammenhang mit Krebserkrankungen.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

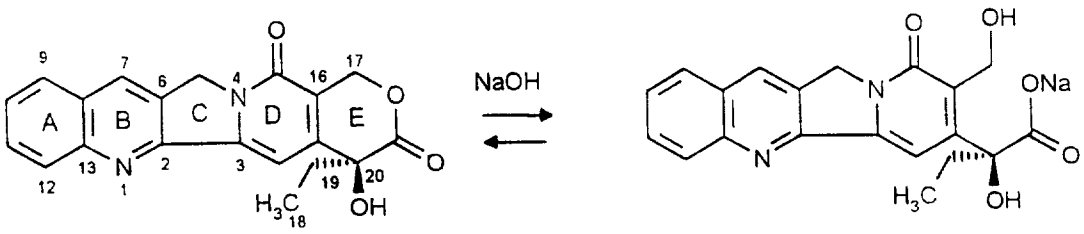
AL	Albanien	**ES**	Spanien	**LS**	Lesotho	**SI**	Slowenien
AM	Armenien	**FI**	Finnland	**LT**	Litauen	**SK**	Slowakei
AT	Österreich	**FR**	Frankreich	**LU**	Luxemburg	**SN**	Senegal
AU	Australien	**GA**	Gabun	**LV**	Lettland	**SZ**	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	**GB**	Vereinigtes Königreich	**MC**	Monaco	**TD**	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	**GE**	Georgien	**MD**	Republik Moldau	**TG**	Togo
BB	Barbados	**GH**	Ghana	**MG**	Madagaskar	**TJ**	Tadschikistan
BE	Belgien	**GN**	Guinea	**MK**	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	**TM**	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	**GR**	Griechenland			**TR**	Türkei
BG	Bulgarien	**HU**	Ungarn	**ML**	Mali	**TT**	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	**IE**	Irland	**MN**	Mongolei	**UA**	Ukraine
BR	Brasilien	**IL**	Israel	**MR**	Mauretanien	**UG**	Uganda
BY	Belarus	**IS**	Island	**MW**	Malawi	**US**	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	**IT**	Italien	**MX**	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	**JP**	Japan	**NE**	Niger	**UZ**	Usbekistan
CG	Kongo	**KE**	Kenia	**NL**	Niederlande	**VN**	Vietnam
CH	Schweiz	**KG**	Kirgisistan	**NO**	Norwegen	**YU**	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	**KP**	Demokratische Volksrepublik Korea	**NZ**	Neuseeland	**ZW**	Zimbabwe
CM	Kamerun			**PL**	Polen		
CN	China	**KR**	Republik Korea	**PT**	Portugal		
CU	Kuba	**KZ**	Kasachstan	**RO**	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	**LC**	St. Lucia	**RU**	Russische Föderation		
DE	Deutschland	**LI**	Liechtenstein	**SD**	Sudan		
DK	Dänemark	**LK**	Sri Lanka	**SE**	Schweden		
EE	Estland	**LR**	Liberia	**SG**	Singapur		

Glycokonjugate von modifizierten Camptothecin-Derivaten (20-O-Verknüpfung)

Die vorliegende Erfindung betrifft Glycokonjugate von Camptothecin-Derivaten, in denen mindestens eine Kohlenhydrat-Komponente über geeignete Spacer und Abstandshalter mit der 20-Hydroxylgruppe eines Camptothecin-Derivats verknüpft ist. Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen sowie deren Verwendung als Arzneimittel, insbesondere im Zusammenhang mit Krebserkrankungen.

20(S)-Camptothecin ist ein pentacyclisches Alkaloid, das 1966 von Wall et al. isoliert wurde (J.Am.Chem.Soc. 88, 3888 (1966)). Es besitzt ein hohes Antitumor-Wirkpotential in zahlreichen In-vitro- und In-vivo-Tests. Leider scheiterte jedoch die Realisierung des vielversprechenden Potentials in der Klinik an Toxizitäts- und Löslichkeitsproblemen.

Durch Öffnung des E-Ring-Lactons und Bildung des Natriumsalzes wurde eine wasserlösliche Verbindung erhalten, die in einem pH-abhängigen Gleichgewicht mit der ringgeschlossenen Form steht. Klinische Studien führten auch hier bisher nicht zum Erfolg.



Etwa 20 Jahre später wurde gefunden, daß die biologische Aktivität auf eine Enzyminhibition der Topoisomerase I zurückzuführen ist. Seither wurden die Forschungsaktivitäten wieder verstärkt, um verträglichere und in-vivo wirksame Camptothecin-Derivate zu finden.

Zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit wurden Salze von A-Ring- und B-Ring-modifizierten Camptothecin-Derivaten sowie von 20-O-Acyl-Derivaten mit ionisierbaren Gruppen beschrieben (Vishnuvajjala et al. US 4943579). Letzteres Prodrug-Konzept wurde später auch auf modifizierte Camptothecin-Derivate übertragen (Wani et al. WO 9602546). Die beschriebenen 20-O-Acyl-Prodrugs

haben allerdings in-vivo eine sehr kurze Halbwertszeit und werden sehr schnell zum Grundkörper gespalten.

Wir fanden nun überraschend, daß die Anknüpfung von Kohlenhydratderivaten beispielsweise über Peptid-Spacer an die 20-Hydroxyl-Gruppe von A- und/oder B-Ring-modifizierten Camptothecin-Derivaten zu einer Verbindungsklasse mit hochinteressanten Eigenschaften führt:

- Durch die esterartige Anknüpfung der Carrier-Reste an die 20-Hydroxylgruppe wird der für die Wirkung wichtige Lactonring der Camptothecin-Derivate stabilisiert.

- Die so erhaltenen Konjugate zeigen in-vitro eine hohe Aktivität gegenüber Tumorzellinien und Tumorxenografts.

- Sie weisen gegenüber den zugrundeliegenden Toxophoren eine deutlich höhere Verträglichkeit und Tumorselektivität sowie eine verbesserte Löslichkeit, insbesondere in wäßrigen Medien auf.

- In-vivo zeigen sie exzellente therapeutische Wirksamkeit über mehrere Dosisstufen.

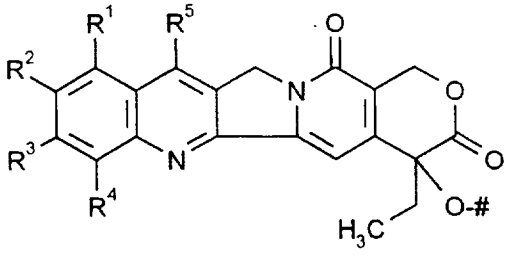
- Sie sind in extrazellulärem Medium und in Blut wesentlich stabiler als die zuvor beschriebenen 20-O-Acyl-Prodrugs von Camptothecin.

Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

A-Cp-B (I)

worin

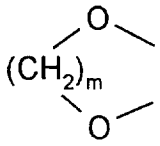
Cp für eine Gruppe der Formeln

[A] 

worin

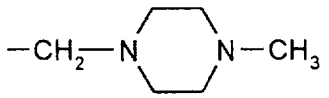
R^1, R^2, R^3 und R^4 unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen, Halogen, Amino, Hydroxy oder Nitro bedeuten können oder

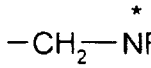
R^2 und R^3 zusammen eine Gruppe der Formel

 bedeuten, wobei

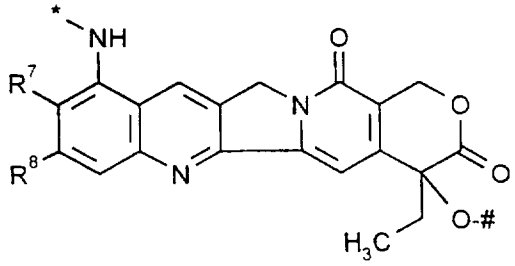
m die Werte 1 oder 2 annehmen kann, und

R^5 für H, $-CH_2CH_3$, $-CH_2-O-*$, $-CH_2-NH*$,

 steht,

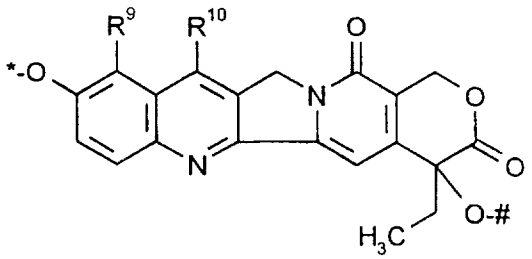
oder für $-CH_2-N(CH_2CH_3)R^6$ oder  steht,

worin R^6 Arylmethyl oder Hetarylmethyl bedeutet,

[B] 

worin

R^7 und R^8 wie R^2 und R^3 definiert sind und mit diesen gleich oder verschieden sein können,

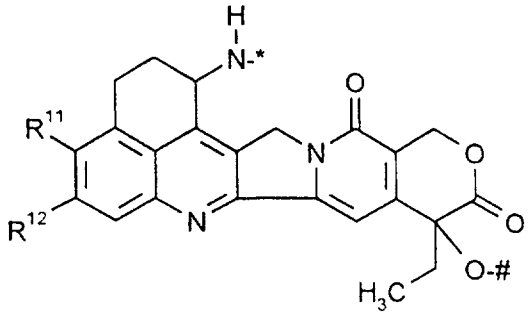
[C] 

worin

R^9 für Wasserstoff oder $-CH_2-N(CH_3)_2$ steht und

R^{10} für Wasserstoff oder Ethyl steht,

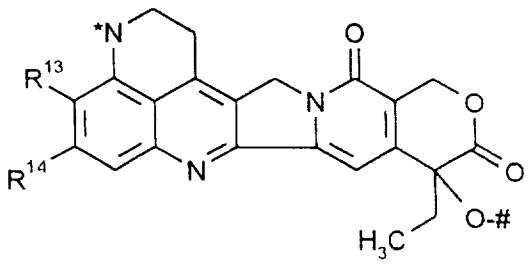
oder

[D] 

worin

R^{11} und R^{12} wie R^2 und R^3 definiert sind und mit diesen gleich oder verschieden sein können,

oder

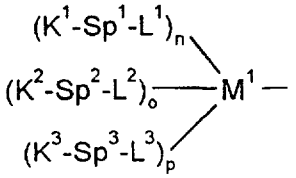
[E] 

worin

R^{13} und R^{14} wie R^2 und R^3 definiert sind und mit diesen gleich oder verschieden sein können,

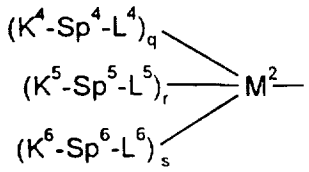
steht, wobei Cp an den mit # markierten Positionen mit A und an den mit * markierten Positionen mit B verknüpft ist,

A einen Rest der Formel



bedeutet, wobei gilt $1 \leq (n + o + p) \leq 3$,

B Wasserstoff oder einen Rest der Formel



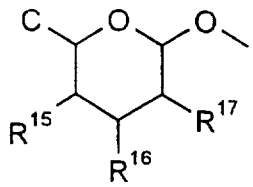
bedeutet, wobei gilt $0 \leq (q + r + s) \leq 3$, worin

M^1 und M^2 unabhängig voneinander für eine Brücken-Gruppierung stehen, deren Hauptkette bis zu 21 Atome in linearer Abfolge umfaßt,

L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 und L^6 unabhängig voneinander für Linker-Gruppierungen stehen, wie sie in der Glycokonjugatchemie gängigerweise eingesetzt werden (siehe Übersichtsartikel Lee Y.C. und Lee R. in Lectins and Cancer 1991, 53-69, ed. by Gabius H.J. and Gabius S., Springer-Verlag),

Sp^1, Sp^2, Sp^3, Sp^4, Sp^5 und Sp^6 unabhängig voneinander für Arylen mit bis zu 10 Kohlenstoffatomen oder für Alkylen mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen stehen, die jeweils gegebenenfalls substituiert sind, und

K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 und K^6 unabhängig voneinander für einen Rest der Formel (II)



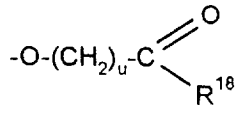
(II)

stehen, worin

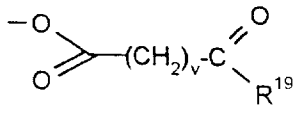
C Methyl, Hydroxymethyl, Alkoxymethyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Acyloxymethyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder einen Rest der Formel $-CH_2$-D bedeutet, worin

D für einen Rest der Formel (II) steht,

R^{15}, R^{16} und R^{17} unabhängig voneinander Wasserstoff, Hydroxy, gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiertes Alkoxy mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, gegebenenfalls durch Alkyl oder Acyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen substituiertes Amino, Halogen, Sulfat oder eine Gruppe der Formeln



oder



bedeuten, worin

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxyl oder Alkoxy mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen stehen oder für Amino, das gegebenenfalls durch Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen substituiert ist, stehen und

u und v unabhängig voneinander die Werte 0, 1, 2, 3 oder 4, insbesondere die Werte 1, 2, 3 oder 4, annehmen können

oder

R^{15}, R^{16} und R^{17} unabhängig voneinander für einen Rest der Formel (II) stehen

oder

zwei der Reste R^{15}, R^{16}, R^{17} zusammen für eine Epoxygruppe stehen,

sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

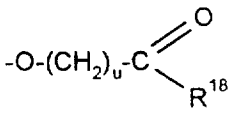
Der Begriff "Alkylgruppen" soll, sofern nicht anders angegeben im Sinne der Erfindung geradkettige, verzweigte, cyclische und Cycloalkylreste enthaltende Alkylreste umfassen. Diese Definition soll sinngemäß auch für alle anderen Alkylgruppen enthaltenden Reste gelten, wie beispielsweise Alkoxy, Acyl usw..

Die bei der Definition von R^6 angegebenen Begriffe Arylmethyl und Hetarylmethyl können beispielsweise Phenylmethyl bzw. Pyridylmethyl bedeuten.

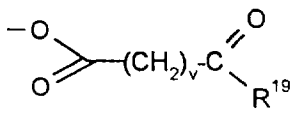
Bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I), worin K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 und K^6 unabhängig voneinander für einen Rest der Formel (II) stehen können, wobei

C Methyl, Hydroxymethyl, Methoxymethyl oder Acetoxymethyl bedeutet,

R^{15} Wasserstoff, Hydroxyl, Methoxy oder eine Gruppe der Formeln



oder



bedeutet, worin

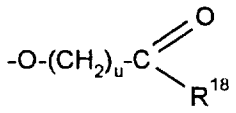
u und v unabhängig voneinander die Werte 1 oder 2 annehmen können und

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxyl oder Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen,

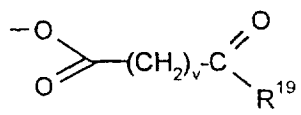
oder

R^{15} für einen Rest der Formel (II) steht,

R^{16} Wasserstoff, Hydroxyl, Halogen, Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, Sulfat oder eine Gruppe der Formeln



oder

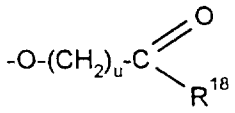


bedeutet, worin

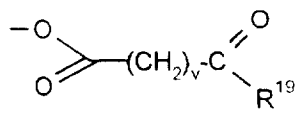
u und v unabhängig voneinander die Werte 1 oder 2 annehmen können und

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxy oder Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen oder für Amino, das gegebenenfalls durch Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist, stehen,

R^{17} Hydroxyl, Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, das gegebenenfalls durch Hydroxy substituiert ist, gegebenenfalls durch Alkyl oder Acyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen substituiertes Amino, oder eine Gruppe der Formeln



oder



bedeutet, worin

u und v unabhängig voneinander die Werte 1 oder 2 annehmen können und

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxyl oder Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen,

oder worin

R^{15} und R^{16} gemeinsam für eine Epoxygruppe stehen,

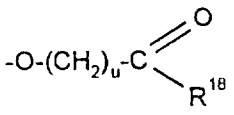
sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

Ganz besonders bevorzugt stehen K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 und/oder K^6 für einen Rest der Formel (II), wobei

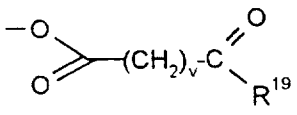
C Methyl, Hydroxymethyl, Methoxymethyl oder Acetoxymethyl bedeutet

R^{15} und R^{17} jeweils ein Hydroxylgruppe bedeuten und

R^{16} Wasserstoff, Hydroxyl, Halogen, Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, Sulfat oder eine Gruppe der Formeln



oder



bedeutet, worin

u und v unabhängig voneinander die Werte 1 oder 2 annehmen können und

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxy oder Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen oder für Amino, das gegebenenfalls durch Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist, stehen.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfassen die Kohlenhydrat-Bausteine K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 und/oder K^6 jeweils maximal zwei Monosaccharid-Bausteine.

Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I), worin Sp^1, Sp^2, Sp^3, Sp^4, Sp^5 und/oder Sp^6 unabhängig voneinander für Arylen mit bis zu 10 Kohlenstoffatomen stehen können, das mit je einer Gruppe K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 oder K^6 und L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 oder L^6 verknüpft ist und das gegebenenfalls noch ein- oder mehrfach durch Hydroxy, Carboxy, Carboxyalkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, Nitro, Cyano, Halogen, Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, Halogenalkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen oder durch Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist, sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

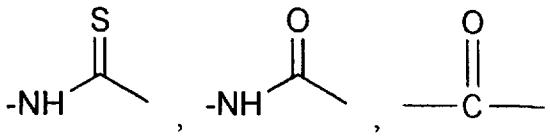
Besonders bevorzugt sind Sp^1, Sp^2, Sp^3, Sp^4, Sp^5 und/oder Sp^6 abgesehen von K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 oder K^6 und L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 oder L^6 unsubstituiert oder gegebenenfalls substituiert durch Halogen, Nitro, Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Alkoxy mit bis zu 2 Kohlenstoffatomen, $-OCF_3$ und/oder CF_3.

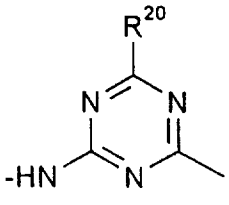
Ganz besonders bevorzugt sind Sp^1, Sp^2, Sp^3, Sp^4, Sp^5 und/oder Sp^6 paraständig mit je einer Gruppe K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 oder K^6 und L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 oder L^6 verknüpft und tragen keine weiteren Substituenten.

Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

worin

L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 und L^6 unabhängig voneinander

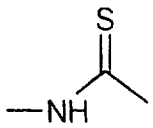




oder bedeuten, wobei

R^{20} für Chlor oder für Hydroxyalkylamino mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht.

Besonders bevorzugt stehen L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 und L^6 für



Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I), worin M^1 und M^2 unabhängig voneinander für ein Peptid stehen können, das über eine Aminofunktion mit L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 und/oder L^6 verknüpft ist, über eine Acylfunktion mit Cp verknüpft ist und dessen Aminosäurebausteine gegebenenfalls Schutzgruppen tragen können. Besonders bevorzugt sind Mono-, Di- und Tripeptide, insbesondere Mono- und Dipeptide.

Die Aminosäurebausteine werden bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe Glycyl, Alanyl, Valyl, Leucyl, Lysyl, Seryl, Glutamyl, Threonyl, Asparagyl, Isoleucyl, Diaminopropionyl, Diaminobutyryl, Arginyl, Histidyl und/oder Ornithyl.

Besonders bevorzugt sind die Aminosäurebausteine Glycyl, Alanyl, Valyl, Leucyl, Lysyl, Seryl, Asparagyl, Histidyl und/oder Glutamyl.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in stereoisomeren Formen, beispielsweise als Enantiomere oder Diastereomere, oder als deren Gemische, beispielsweise als Racemat, vorliegen. Die Erfindung betrifft sowohl die reinen Stereoisomere als auch deren Gemische.

Stereoisomerengemische können, falls erforderlich, in bekannter Weise in die stereoisomer einheitlichen Bestandteile getrennt werden, beispielsweise durch Chromatographie oder durch Kristallisationsverfahren.

Die Stereochemie am anomeren Zentrum der Kohlenhydratbausteine K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 und/oder K^6 kann α oder β sein. Weiterhin können sie in der D- oder L-Form vorliegen. Durch die Stereochemie an den anderen Zentren kann sich die gluco-, manno-, galacto-, gulo-, rhamno- oder fuco-Konfiguration ergeben.

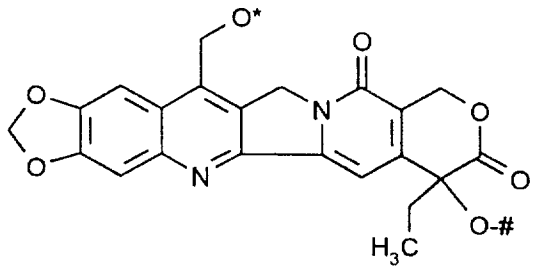
Die Aminosäurebausteine können jeweils in der D- oder in der L-Form vorliegen.

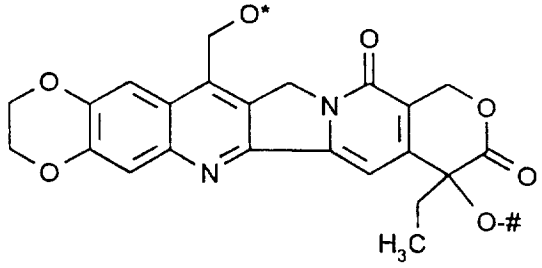
Der Camptothecin-Baustein Cp kann in der 20(R)- oder in der 20(S)-Konfiguration oder als Gemisch dieser beiden steroisomeren Formen vorliegen. Bevorzugt ist die 20(S)-Konfiguration.

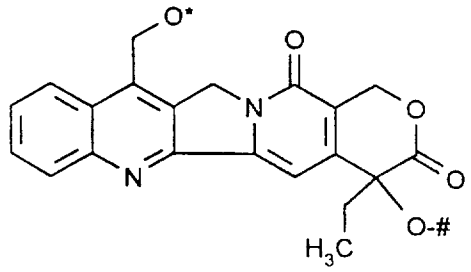
Weiterhin können bedingt durch eine Rotationshinderung die erfindungsgemäßen Verbindungen in rotationsisomeren Formen oder als deren Gemisch auftreten. Die Erfindung betrifft sowohl die reinen Rotationsisomere als auch deren Gemische.

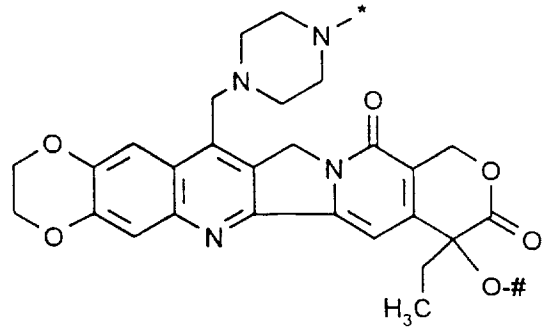
Rotationsisomerengemische können gegebenenfalls, falls erforderlich mittels bekannten Methoden in die einheitlichen Bestandteile getrennt werden beispielsweise durch Chromatographie (z.B. HPLC) oder durch Kristallationsverfahren. Möglich ist dies auf der Endstufe und gegebenenfalls auch auf Zwischenstufen. Aus den rotamerenreinen Zwischenstufen können gegebenenfalls durch geeignete Syntheseführung die rotamerenreinen Endstufen hergestellt werden.

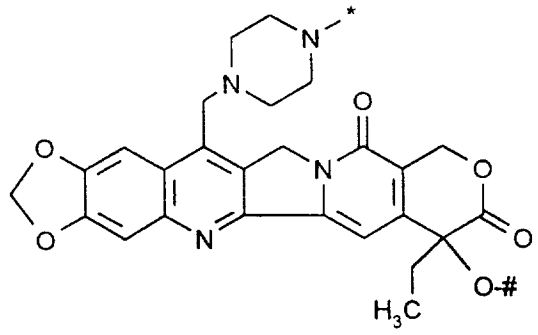
Bevorzugte Beispiele für den Camptothecin-Baustein sind:

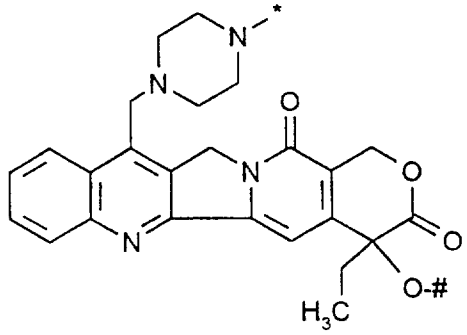
[A1] 

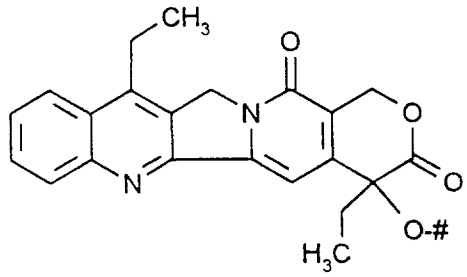
[A2] 

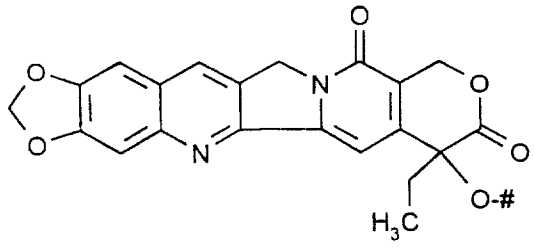
[A3] 

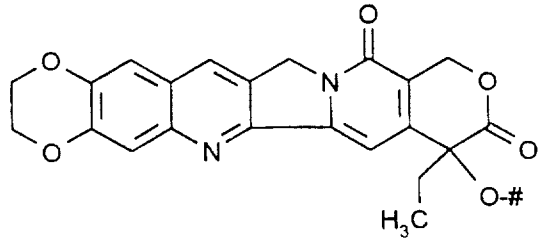
[A4] 

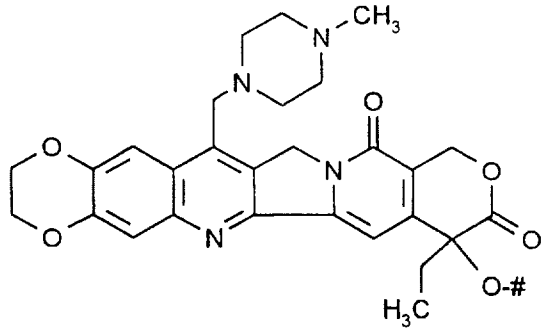
[A5] 

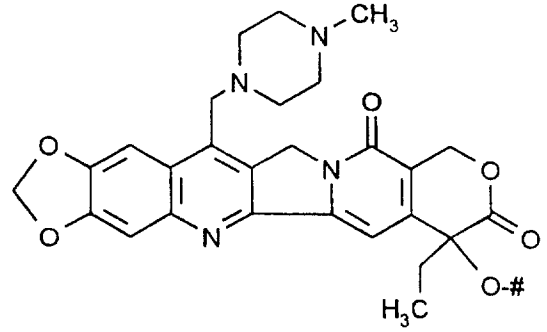
[A6] 

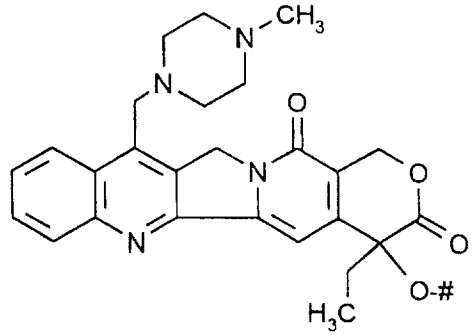
[A7] 

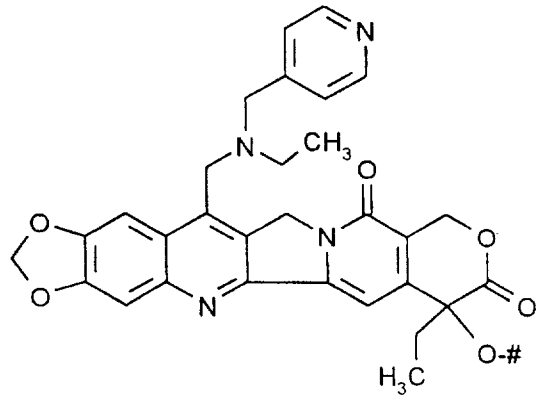
[A8] 

[A9] 

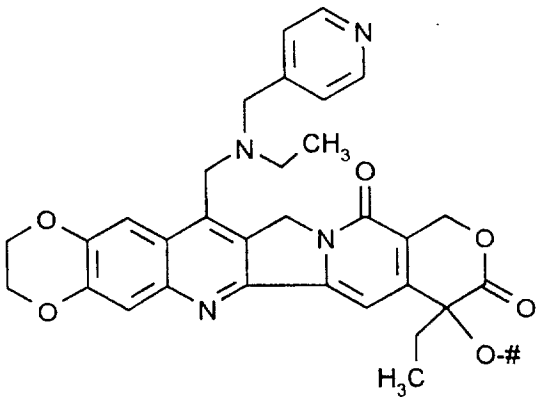
[A10] 

[A11] 

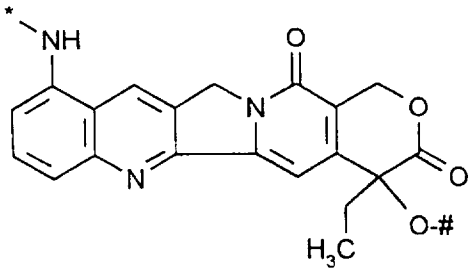
[A12] 

[A13] 

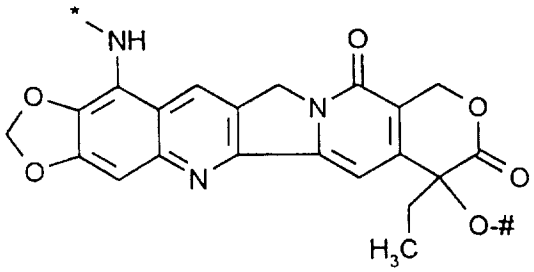
[A14]



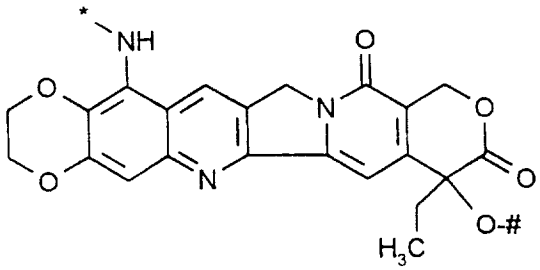
[B1]



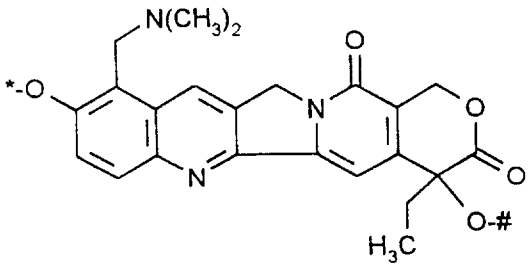
[B2]

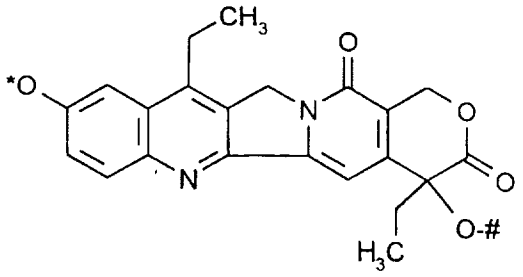


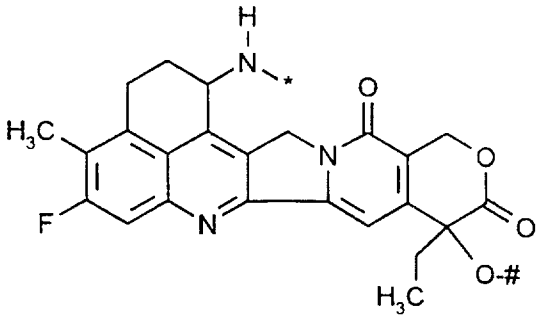
[B3]

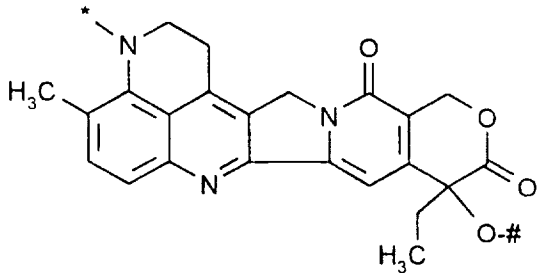


[C1]



[C2] 

[D1] 

[D2] 

Von diesen Beispielen besonders bevorzugt sind [A3], [A7], [A8], [A9], [A10], [A11], [A14], [B1], [B2], [C2] und [D1].

Durch Kombination der für die einzelnen Reste angegebenen bevorzugten oder besonders bevorzugten Bedeutungen ergeben sich entsprechend ganz besonders bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (I).

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch in Form ihrer Salze vorliegen. Im allgemeinen seien hier Salze mit organischen oder anorganischen Basen oder Säuren sowie innere Salze genannt.

Zu den Säuren, die addiert werden können, gehören vorzugsweise Halogenwasserstoffsäuren, wie z.B. die Chlorwasserstoffsäure und die Bromwasserstoffsäure, insbesondere die Chlorwasserstoffsäure, ferner Phosphorsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, mono- und bifunktionelle Carbonsäuren und Hydroxycarbonsäuren, wie z.B. Essigsäure, Trifluoressigsäure, Maleinsäure, Malonsäure, Oxalsäure, Glucon-

säure, Bernsteinsäure, Fumarsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Salizylsäure, Sorbinsäure und Milchsäure sowie Sulfonsäuren, wie z.B. p-Toluolsulfonsäure, 1,5-Naphthalindisulfonsäure oder Camphersulfonsäure.

Physiologisch unbedenkliche Salze können ebenso Metall- oder Ammoniumsalze der erfindungsgemäßen Verbindungen sein, welche eine freie Carboxylgruppe besitzen. Besonders bevorzugt sind z.B. Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Calciumsalze, sowie Ammoniumsalze, die abgeleitet sind von Ammoniak oder organischen Aminen wie beispielsweise Ethylamin, Di- bzw. Triethylamin, Di- bzw. Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Arginin, Lysin, Ethylendiamin oder Phenethylamin.

Die erfindungsgemäßen Glycokonjugate können beispielsweise hergestellt werden durch Verknüpfung von modifizierten Camptothecin-Derivaten mit aktivierten Carboxylkomponenten, die ihrerseits Teile von geschützten Aminosäuren, Peptiden oder kohlenhydratmodifizierten Peptiden darstellen können.

Die Erfindung betrifft daher weiterhin ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I), dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der allgemeinen Formel (III)

$$H_B\text{-}Cp\text{-}H_A \qquad (III)$$

worin Cp die oben angegebene Bedeutung hat und das Wasserstoffatom H_A an der mit # und H_B an der mit * bezeichneten Position sitzt, gegebenenfalls nach Ersatz von H_B durch eine Schutzgruppe, mit einer dem oben definierten Rest M^1 entsprechenden aktivierten Carboxylkomponente M^1a, die gegebenenfalls Schutzgruppen trägt, in einem geeigneten Lösungsmittel, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, nach üblichen Methoden umsetzt, gegebenenfalls mittels bekannter Methoden selektiv eine, mehrere oder alle Schutzgruppen von M^1 abspaltet und das Produkt mit Verbindungen der allgemeinen Formel (IV)

$$K^1\text{-}Sp^1\text{-}L^1a \qquad (IV)$$

worin K^1 und Sp^1 wie oben definiert sind und L^1a für eine reaktive Vorstufe der Gruppe L^1 steht, umsetzt, wobei gegebenenfalls die Schutzgruppen selektiv abgespalten und schrittweise verschiedene Gruppen $K^2\text{-}Sp^2\text{-}L^2$- und $K^3\text{-}Sp^3\text{-}L^3$- in

vergleichbarer Weise eingeführt werden können, und daß man, falls mit der mit * bezeichneten Position eine Kohlenhydrat-Komponente verknüpft werden soll, gegebenenfalls selektiv die Schutzgruppe, die H_B ersetzt, mittels bekannter Methoden abspaltet, und in der oben beschriebenen Weise den Rest M^2 und wie gewünscht Reste der Formeln K^4-Sp^4- L^4-, K^5-Sp^5-L^5- und K^6-Sp^6-L^6- einführt

oder daß man, falls M^1 und/oder M^2 ein Peptid bedeuten, in vergleichbarer Weise nach üblichen Methoden einen ersten Aminosäurerest in Form der entsprechenden gegebenenfalls Schutzgruppen tragenden Carboxylkomponente einführt, gegebenenfalls Schutzgruppen abspaltet, weiterhin gegebenenfalls Schutzgruppen tragende Aminosäurereste anknüpft, gegebenenfalls erneut Schutzgruppen abspaltet wie oben angegeben Reste der Formeln K^1-Sp^1-L^1-, K^2-Sp^2-L^2-, K^3-Sp^3-L^3-, K^4-Sp^4-L^4-, K^5-Sp^5-L^5- und/oder K^6-Sp^6-L^6- einführt und falls erforderlich Schutzgruppen abspaltet.

Die Reaktionen können bei verschiedenen Druck- und Temperaturverhältnissen, beispielsweise 0,5 bis 2 bar, bzw. -30 bis +100°C, in geeigneten Lösungsmitteln wie Dimethylformamid (DMF), Tetrahydrofuran (THF), Dichlormethan, Chloroform, niederen Alkoholen, Acetonitril, Dioxan, Wasser oder in Gemischen der genannten Lösungsmittel durchgeführt werden. In der Regel sind Reaktionen in DMF oder THF/Dichlormethan bei Raumtemperatur und Normaldruck bevorzugt.

Für die Aktivierung der Carboxylgruppen kommen die in der Peptidchemie bekannten Kupplungsreagenzien wie sie z.B. in Jakubke/Jeschkeit: Aminosäuren, Peptide, Proteine; Verlag Chemie 1982 oder Tetrahedr. Lett. 34, 6705 (1993) beschrieben sind, in Frage. Bevorzugt sind beispielsweise Säurechloride, N-Carbonsäureanhydride oder gemischte Anhydride.

Weiterhin geeignet zur Aktivierung der Carboxylgruppen ist die Bildung von Addukten mit Carbodiimiden z.B. N,N'-Diethyl-, N,N'-Diisopropyl-, N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimid-Hydrochlorid, N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid-metho-p-toluolsulfonat, oder Carbonylverbindungen wie Carbonyldiimidazol, oder 1,2-Oxazoliumverbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfat oder 2-tert.-Butyl-5-methyl-isoxazolium-perchlorat, oder Acylaminoverbindungen wie 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin, oder Propanphosphonsäureanhydrid, oder Isobutylchloroform, oder Benzotriazolyloxy-tris(dimethylamino)phosphonium-hexafluorophosphat,

1-Hydroxybenzotriazol- oder Hydroxysuccinimidester. Weiterhin kann die Aminosäurekomponente auch in Form eines Leuchs'schen Anhydrids eingesetzt werden.

Als Basen können beispielsweise Triethylamin, Ethyl-diisopropylamin, Pyridin, N,N-Dimethylaminopyridin oder andere eingesetzt werden.

Als Schutzgruppen für eventuelle weitere reaktive Funktionen im Camptothecin-Teil oder für Drittfunktionen der Aminosäuren können die in der Peptidchemie bekannten Schutzgruppen beispielsweise vom Urethan-, Alkyl-, Acyl-, Ester- oder Amid-Typ eingesetzt werden.

Aminoschutzgruppen im Rahmen der Erfindung sind die üblichen in der Peptid-Chemie verwendeten Aminoschutzgruppen.

Hierzu gehören bevorzugt: Benzyloxycarbonyl, 3,4-Dimethoxybenzyloxycarbonyl, 3,5-Dimethoxybenzyloxycarbonyl, 2,4-Dimethoxybenzyloxycarbonyl, 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, 4-Nitrobenzyloxycarbonyl, 2-Nitrobenzyloxycarbonyl, 2-Nitro-4,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl, Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, tert-Butoxycarbonyl (Boc), Allyloxycarbonyl, Vinyloxycarbonyl, 3,4,5-Trimethoxybenzyloxycarbonyl, Phthaloyl, 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl, 2,2,2-Trichlor-tert-butoxycarbonyl, Menthyloxycarbonyl, 4-Nitrophenoxycarbonyl, Fluorenyl-9-methoxycarbonyl (Fmoc), Formyl, Acetyl, Propionyl, Pivaloyl, 2-Chloracetyl, 2-Bromacetyl, 2,2,2-Trifluoracetyl, 2,2,2-Trichloracetyl, Benzoyl, Benzyl, 4-Chlorbenzoyl, 4-Brombenzoyl, 4-Nitrobenzoyl, Phthalimido, Isovaleroyl oder Benzyloxymethylen, 4-Nitrobenzyl, 2,4-Dinitrobenzyl, 4-Nitrophenyl oder 2-Nitrophenylsulfenyl. Besonders bevorzugt sind die Fmoc-Gruppe und die Boc-Gruppe.

Bevorzugte Carboxylschutzgruppen sind lineare oder verzweigte C_1-C_4-Alkylester.

Die Modifizierung der mit einer Brücken-Gruppierung M^1 und/oder M^2 verknüpften Camptothecin-Derivate mit Kohlenhydratresten kann über verschiedene Methoden und Linkergruppen erfolgen. Bevorzugt ist z.B. die Überführung von p-Amino-phenylglycosiden in Isothiocyanate und die Verknüpfung beispielsweise mit Aminogruppen. Weiterhin können auch Carboxyalkyl- oder Aminoalkylglycoside leicht mit Amino- bzw. Carboxylgruppen gekuppelt werden.

Die Abspaltung von Schutzgruppen in entsprechenden Reaktionsschritten kann zum Beispiel durch Säure- oder Base-Einwirkung, hydrogenolytisch oder auf andere Weise reduktiv erfolgen.

Biologische Testung

1. **Wachstumsinhibitionstest zur Bestimmung der cytotoxischen Eigenschaften:**

Die humanen Dickdarmzellinien SW 480 und HT 29 (ATCC-Nr. CCL 228 und HBT-38) sowie die Maus-Melanom-Zellinie B16F10 wurden in Rouxschalen in RPMI 1640 Medium unter Zusatz von 10 % FCS gezogen. Anschließend wurde trypsiniert und in RPMI plus 10 % FCS zu einer Zellzahl von 50.000 Zellen/ml aufgenommen. 100 µl Zellsuspension/Well wurden in eine 96 Mikrowellplatte gegeben und 1 Tag bei 37°C im CO_2-Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden weitere 100 µl RPMI Medium und 1 µl DMSO mit den Prüfsubstanzen zugesetzt. Das Wachstum wurde nach Tag 3 und Tag 6 überprüft. Dazu wurde zu jedem Mikrowell 40 µl MTT-Lösung (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolinbromid) mit einer Ausgangskonzentration von 5 mg/ml H_2O zugesetzt. Es wurde 5 Stunden im CO_2-Brutschrank bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde das Medium abgesaugt und 100 µl i-Propanol/Well zugesetzt. Nach 30 min Schütteln mit 100 µl H_2O wurde die Extinktion bei 540 nm mit einem Titertek Multiskan MCC/340 (Flow) gemessen.

Die cytotoxische Wirkung ist in der Tabelle 1 als IC_{50}-Wert jeweils für die SW 480- und HT 29- und B16F10-Zellinie angegeben:

Tabelle 1:

Beispiel	IC_{50} / nM SW 480	IC_{50} / nM HT 29	IC_{50} / nM B16F10
1.1	15	10	30
1.5	100	60	300
2.1	7	5	15
2.3	6	3	9
2.4	5	3	10
3.1	10	8	150
4.1	40	40	300
5.1	70	40	200
6.1	150	200	3000

2. Hämatopoetische Aktivität von Glycokonjugaten im Vergleich zum zugrundeliegenden Wirkstoff:

Material und Methoden:

Knochenmarkzellen wurden aus dem Femur der Maus gespült. 10^5-Zellen wurden in McCoy 5A-Medium (0,3 % Agar) zusammen mit rekombinanten murinen GM-CSF (Genzyme; Stammzellen-Kolonienbildung) und den Substanzen (10^{-4} bis 100 µg/ml) bei 37°C und 7 % CO_2 inkubiert. 7 Tage später wurden die Kolonien (<50 Zellen) und Kluster (17-50 Zellen) ausgezählt.

Ergebnisse:

Wie in Tab. 2 dargestellt, zeigen die untersuchten Glycokonjugate eine gegenüber dem zugrundeliegenden Wirkstoff drastisch verminderte Hemmung der Knochenmarkstammzellproliferation.

Tabelle 2:

Hemmung der CSF-induzierten Proliferation von Knochenmarkstammzellen der Maus

Beispiel	IC_{50} [µg/ml]
7-Ethyl-Camptothecin	2×10^{-6}
1.1	2×10^{-3}
9-Amino-Camptothecin	1×10^{-3}
3.1	2×10^{-2}

3. In-vivo-Hemmung des Tumorwachstums im Nacktmaus-Modell

Material:

Für alle in-vivo-Experimente zur Untersuchung der Hemmung des Tumorwachstums wurden athymische Nacktmäuse (NMRI nu/nu-Stamm) verwendet. Das ausgewählte großzellige Lungenkarzinom LXFL 529 wurde durch serielle Passage in Nacktmäusen entwickelt. Der menschliche Ursprung des Tumors wurde durch isoenzymatische und immunohistochemische Methoden belegt.

Experimenteller Aufbau:

Der Tumor wurde subcutan in beide Flanken von 6 bis 8 Wochen alten nu/nu-Nacktmäusen implantiert. Die Behandlung wurde, abhängig von der Verdopplungszeit, gestartet sobald die Tumoren einen Durchmesser von 5-7 mm erreicht hatten. Die Mäuse wurden der Behandlungsgruppe und der Kontrollgruppe (5 Mäuse pro Gruppe mit 8 - 10 auswertbaren Tumoren) durch Randomisieren zugeteilt. Die einzelnen Tumoren der Kontrollgruppe wuchsen alle progressiv.

Die Größe der Tumoren wurde in zwei Dimensionen mittels Schieblehre vermessen. Das Tumorvolumen, das gut mit der Zellzahl korreliert, wurde anschließend für alle Auswertungen verwendet. Das Volumen wurde gemäß

der Formel "Länge x Breite x Breite / 2" berechnet ([a x b^2] / 2, a bzw. b stehen für zwei rechtwinklig angeordnete Durchmesser).

Die Werte des relativen Tumorvolumens (RTV) wurden für jeden einzelnen Tumor durch Dividieren der Tumorgröße am Tag X mit der Tumorgröße des Tages 0 (zum Zeitpunkt der Randomisierung) berechnet. Die mittleren Werte des RTV wurden dann für die weitere Auswertung verwendet.

Die Hemmung der Zunahme des Tumorvolumens (Tumorvolumen der Testgruppe/Kontrollgruppe, T/C, in Prozent) war der abschließende Meßwert.

Behandlung:

Die Applikation der Verbindungen erfolgte an Tag 1, 2 und 3 nach Randomisierung intraperitoneal (i.p).

Ergebnisse:

Anhand der Verbindung aus Beispiel 1.1 ist die therapeutische Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Glycokonjugate gegenüber dem großzelligen humanen Lungentumorxenografts LXFL 529 dargestellt. Die Therapie führt bei der maximal tolerablen Dosis (MTD) und bei 1/2 MTD zu deutlichen Tumorremission.

Tabelle 3:

Therapie	Dosis [mg/kg/ Tag]	Überlebens-zeit [Tage]	Zahl der Tumoren	relatives Tumor-volumen an Tag 14 [% des Tages 0]	relatives Körperge-wicht an Tag 7 [% des Tages 0]
Kontroll-gruppe	-	>21 >21 >21 >21 >21		692	102
1.1	12,5 (MTD)	>21 >21 >21 >21 >21	9	0,1	95
1.1	6,25	>21 >21 >21 >21 13	8	32	98

Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen sowohl in-vitro als auch in-vivo eine überraschend starke Antitumor-Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Tumoren, insbesondere solchen der Lunge und des Dickdarms, verbunden mit einer großen Selektivität gegenüber nicht malignen Zellen auf.

Sie eignen sich daher zur Behandlung von Krebserkrankungen insbesondere von solchen der Lungen und des Dickdarms.

Zur vorliegenden Erfindung gehören pharmazeutische Zubereitungen, die neben nicht-toxischen, inerten pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen eine oder mehrere erfindungsgemäße Verbindungen enthalten oder die aus einem oder mehreren erfindungsgemäßen Wirkstoffen bestehen, sowie Verfahren zur Herstellung dieser Zubereitungen.

Der oder die Wirkstoffe können gegebenenfalls in einem oder mehreren der oben angegebenen Trägerstoffe auch in mikroverkapselter Form vorliegen.

Die therapeutisch wirksamen Verbindungen sollen in den oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis 99,5, vorzugsweise von etwa 0,5 bis 95 Gew.-%, der Gesamtmischung vorhanden sein.

Die oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen können außer den erfindungsgemäßen Verbindungen auch weitere pharmazeutische Wirkstoffe enthalten.

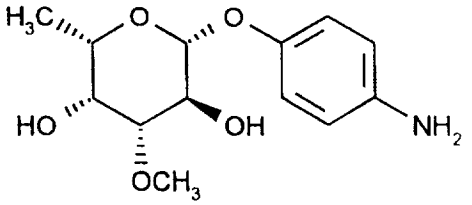
Im allgemeinen hat es sich sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin als vorteilhaft erwiesen, den oder die erfindungsgemäßen Wirkstoffe in Gesamtmengen von etwa 0,5 bis etwa 500, vorzugsweise 5 bis 100 mg/kg Körpergewicht je 24 Stunden, gegebenenfalls in Form mehrerer Einzelgaben, zur Erzielung der gewünschten Ergebnisse zu verabreichen. Eine Einzelgabe enthält den oder die erfindungsgemäßen Wirkstoffe vorzugsweise in Mengen von etwa 1 bis etwa 80, insbesondere 3 bis 30mg/kg Körpergewicht.

Beispiele

Kohlehydrat-Edukte

Beispiel I.1:

p-Aminophenyl-3-O-methyl-ß-L-fucopyranosid



I.1.a) p-Nitrophenyl-3-O-methyl-ß-L-fucopyranosid:

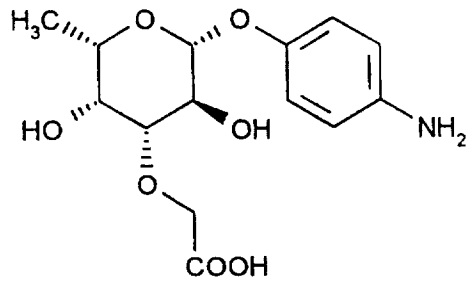
6 g (21 mmol) p-Nitrophenyl-ß-L-fucopyranosid in 300 ml absol. Methanol werden mit 7,84 g (31,5 mmol) Dibutylzinnoxid versetzt und 2 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird eingeengt, der Rückstand getrocknet und dann in 300 ml DMF aufgenommen. Nach Zugabe von 15,7 ml Methyliodid wird der Ansatz 40 h bei 70°C gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in 300 ml Dichlormethan aufgenommen. Die Suspension wird filtriert, die verbleibende Lösung erneut eingeengt und einer Flash-Chromatographie (Dichlormethan/Methanol 99:1) unterzogen. Nach Einengen erhält man 3,82 g (61%) des Zielproduktes.

I.1) p-Aminophenyl-3-O-methyl-ß-L-fucopyranosid:

3,81 g (12,73 mmol) p-Nitrophenyl-3-O-methyl-ß-L-fucopyranosid werden in Methanol gelöst und nach Zusatz von Platindioxid in einer Wasserstoffatmosphäre bei geringem Überdruck hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Fällen mit Ether erhält man 3 g (88 %) des Zielprodukts. [DC: Dichlormethan/Methanol 9:1 R_f= 0,53].

Beispiel I.2:

p-Aminophenyl-3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosid



I.2.a) p-Nitrophenyl-3-O-methoxycarbonylmethyl-ß-L-fucopyranosid:

1 g (3,5 mmol) p-Nitrophenyl-ß-L-fucopyranosid und 1,3 g (5,2 mmol) Dibutylzinnoxid werden in 50 ml Methanol 2 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wird eingeengt, der Rückstand in 50 ml Dioxan aufgenommmen, mit 2 ml Bromessigsäure-methylester sowie 100 mg Tetrabutylammoniumiodid versetzt und 16 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird abgedampft und das Produkt durch Flash-Chromatographie (Dichlormethan/Methanol 99:1) gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Fällen aus Methanol/Ether erhält man 455 mg (37 %) der Zielverbindung.

I.2) p-Aminophenyl-3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosid:

282 mg (0,79 mmol) p-Nitrophenyl-3-methoxycarbonylmethyl-ß-L-fucopyranosid werden in 20 ml Methanol gelöst und mit 440 µl einer wäßrigen 2N Lithiumhydroxid-Lösung versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemp. wird mit saurem Ionenaustauscher SC108 auf pH 3 eingestellt und filtriert. Zum Filtrat werden 250 mg Palladium auf Aktivkohle zugesetzt. Anschließend wird 1,5 h mit Wasserstoff bei geringem Überdruck hydriert, der Katalysator abgetrennt und mit Methanol gewaschen. Einengen, Aufnehmen in Wasser und Gefriertrocknung führen in 86 %iger Ausbeute zum Zielprodukt (212 mg). [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 5:1:0,2 R_f= 0,24]

Als weitere Kohlenhydratbausteine können beispielsweise die folgenden Derivate eingesetzt werden:

p-Aminophenyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-2-O-methyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-2-O-hydroxyethyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-4-O-methyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-methyl-α-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-n-propyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3-desoxy-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3,4-didesoxy-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3,4-epoxy-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-4-desoxy-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-methoxycarbonylmethyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-hydroxyethyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-2-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-succinyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3,4-di-O-methyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-carbamoylmethyl-ß-L-fucopyranosid
p-Aminophenyl-α-L-rhamnopyranosid
p-Aminophenyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-2-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-4-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-6-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-2,3-di-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-2,4-di-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-2,6-di-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3,4-di-O-methyl-ß-D-galactopyranosid, Acetat
p-Aminophenyl-3,6-di-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-4,6-di-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-2,3,4-tri-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-2,3,6-tri-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-2,4,6-tri-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3,4,6-tri-O-methyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3-desoxy-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3,4-didesoxy-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-6-O-acetyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-methoxycarbonylmethyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-carboxymethyl-ß-D-galactopyranosid, Natriumsalz

p-Aminophenyl-3-O-carbamoylmethyl-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-(N-methyl-carbamoylmethyl)-ß-D-galactopyranosid
p-Aminophenyl-α-D-mannopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-methyl-α-D-mannopyranosid
p-Aminophenyl-2,3-di-O-methyl-α-D-mannopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-methoxycarbonylmethyl-α-D-mannopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-carboxymethyl-α-D-mannopyranosid
p-Aminophenyl-3-O-carbamoylmethyl-α-D-mannopyranosid
p-Aminophenyl-4-O-(ß-D-galactopyranosyl)-ß-D-glucopyranosid
p-Aminophenyl-4-O-(3'-sulfat-ß-D-galactopyranosyl)-ß-D-glucopyranosid,Natriumsalz
p-Aminophenyl-4-O-(3'-O-methyl-ß-D-galactopyranosyl)-ß-D-glucopyranosid
p-Aminophenyl-2-O-methyl-4-O-(3'-O-methyl-ß-D-galactopyranosyl)-ß-D-glucopyranosid
p-Aminophenyl-4-O-(3',4'-di-O-methyl-ß-D-galactopyranosyl)-ß-D-glucopyranosid

Bereits in EP 501 250 wurde die Synthese der folgenden Kohlenhydratbausteine beschrieben:

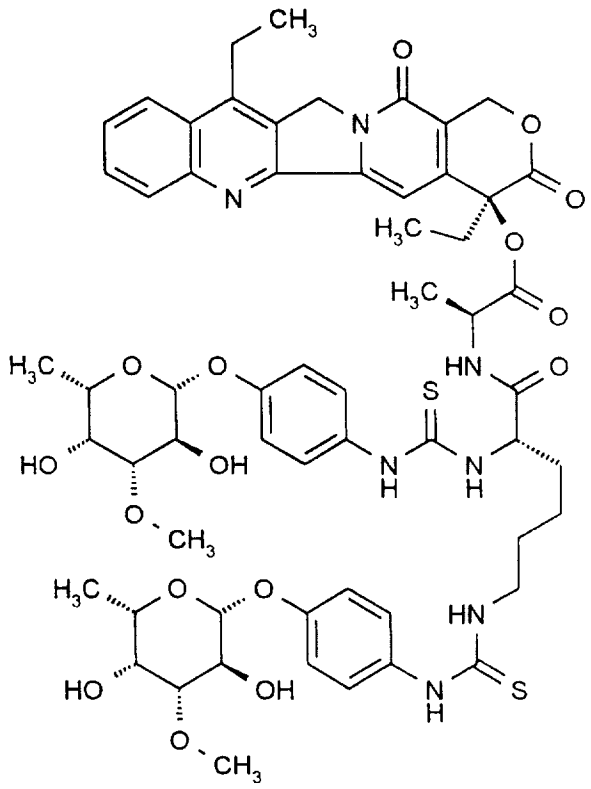
Carboxymethyl-β-L-fucopyranosid
5-Carboxypentyl-β-L-fucopyranosid

Die Verknüpfung dieser beiden Bausteine mit Peptidkonjugaten kann in der in EP 501 250 beschriebenen Weise erfolgen.

Glycokonjugate

Beispiel 1.1:

20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin:



1.1.a) 20(S)-7-Ethyl-20-O-[N-(tert-butoxycarbonyl)-alanyl]-camptothecin:

Eine Lösung von 1,88 g (5,0 mmol) 20(S)-7-Ethyl-camptothecin (S. Sawada et al., Chem.Pharm.Bull., 39 (1991) 1446-1454) in 100 ml absolutem Dimethylformamid wird unter Rühren mit 2,15 g (10,0 mmol) N-(tert-Butoxycarbonyl)-alanin-N-carbonsäureanhydrid sowie 150 mg (1,2 mmol) 4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin versetzt. Nach 3 h bei Raumtemperatur setzt man weitere 2,15 g (10,0 mmol) N-(tert-Butoxycarbonyl)-alanin-N-carbonsäureanhydrid und 150 mg (1,2 mmol) 4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin zu und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Anschließend wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand durch Flash-chromatographie [Petrolether/Ethylacetat 2:1 -> 1:1 -> Ethylacetat] gereinigt. Man erhält farblose Kristalle (2,02 g, 73,8 %); DC [Ethylacetat]: R_f = 0,56; Schmp. = 206-212°C; FAB-MS: m/z = 548 ($M+H^+$).

1.1.b) 20(S)-20-O-Alanyl-7-ethyl-camptothecin, Trifluoracetat:

Eine Lösung von Verbindung 1.1.a (1,81 g, 3,3 mmol) in einer Mischung aus 70 ml Dichlormethan und 7 ml wasserfreier Trifluoressigsäure wird für 90 min. bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen im Vakuum auf ein kleines Volumen wird das Produkt mit Diethylether ausgefällt und gründlich mit Diethylether gewaschen. Das Produkt fällt in hellgelben Kristallen (1,34 g, 72,3 %) an; DC [Ethylacetat]: R_f = 0,05; Schmp. = 242°C (Zers.).

1.1.c) 20(S)-7-Ethyl-20-O-[N^{α},N^{ε}-di-(tert-butoxycarbonyl)-lysyl-alanyl]-camptothecin:

1,57 g (4,55 mmol) N,N-Di-(tert-butoxycarbonyl)-lysin und 923 mg (6,83 mmol) 1-Hydroxy-1H-benzotriazol Hydrat werden in 35 ml Dimethylformamid gelöst. Nach Zugabe von 1,09 g (5,7 mmol) N-Ethyl-N'-(dimethylaminopropyl)-carbodiimid Hydrochlorid und 990 µl (5,7 mmol) Ethyl-diisopropylamin rührt man für 30 min. bei Raumtemperatur. Anschließend setzt man eine Lösung aus Verbindung 1.1.b (1,3 g, 2,32 mmol) in 35 ml Dimethylformamid und 408 µl (2,32 mmol) Ethyl-diisopropylamin zu und rührt den Ansatz für weitere 16 h bei Raumtemperatur. Nach Einengen im Vakuum und Reinigung durch Flashchromatographie [Petrolether/Ethylacetat 2:1 -> 1:1 -> Ethylacetat] erhält man hellgelbe Kristalle (1,38 g, 75,3 %); DC [Ethylacetat]: R_f = 0,53; Schmp. = 125°C (Zers.).

1.1.d) 20(S)-7-Ethyl-20-O-(lysyl-alanyl)-camptothecin, Di-Trifluoracetat:

Eine Suspension der obigen Verbindung (1,18 g, 1,5 mmol) in Dichlormethan (50 ml) wird mit wasserfreier Trifluoressigsäure (5 ml) versetzt und die resultierende Lösung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen auf ein kleines Volumen im Vakuum wird das Produkt durch Zugabe von Diethylether ausgefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert und aus Ethylacetat umkristallisiert. Man erhält gelbe Kristalle (862 mg, 71,5 %); DC [Ethylacetat]: R_f = 0,05; Schmp. = 137°C (Zers.).

1.1) 20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin:

Eine Lösung von 269,4 mg (1,0 mmol) p-Aminophenyl-3-O-methyl-ß-L-fucopyranosid (Beispiel I.1) in Dioxan/Wasser 1:1 (10 ml) wird unter Rühren mit Thiophosgen (150 µl, 2,0 mmol) versetzt. Nach 10 min. versetzt man mit 4 Äquivalenten Ethyldiisopropylamin, engt anschließend im Vakuum ein und trocknet den Rückstand für 1 h im Ölpumpenvakuum. Das erhaltene Isothiocyanat wird in 50 ml absolutem Dimethylformamid gelöst und mit 361,7 mg (0,45 mmol) von Verbindung 1.1.d sowie 317 µl (1,8 mmol) Ethyl-diisopropylamin versetzt. Man rührt für 16 h bei Raumtemperatur, engt dann im Vakuum ein und reinigt durch Flash-Chromatographie [Acetonitril/Wasser 15:1 -> 10:1 -> 5:1]. Das Produkt wird aus Dichlormethan/Methanol mit Diethylether umgefällt. Man erhält 203,3 mg (37,7 %) des Zielproduktes als gelbe Kristalle; Schmp. = 196-198°C (Zers.).

Beispiel 1.2:

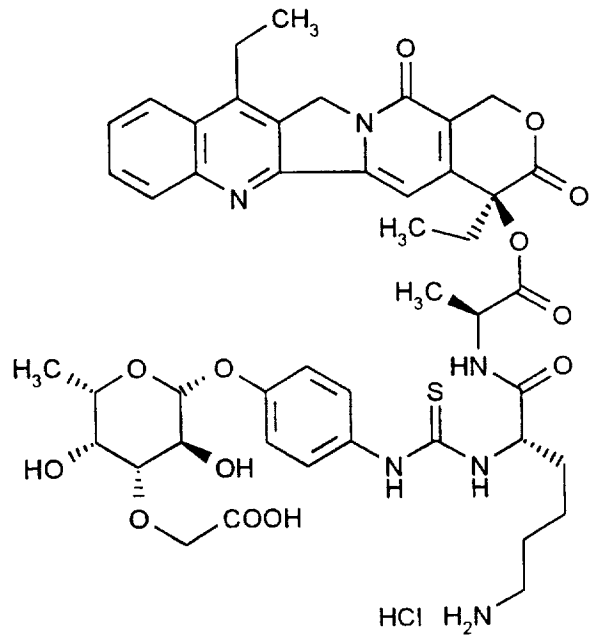
20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin, Di-Natriumsalz:

Das Glycokonjugat wird in Analogie zu Beispiel 1.1 aus 361,7 mg (0,45 mmol) Peptidkonjugat 1.1.d und 313,3 mg (1,0 mmol) p-Aminophenyl-3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosid (Beispiel I.2) hergestellt.

Reinigung durch Flashchromatographie [Acetonitril/Wasser 10:1 -> 5:1]. Überführung in das Di-Natriumsalz mit 2 Äquivalenten einer 0,1N Natronlauge. Man erhält einen gelben, amorphen Feststoff (162,8 mg, 27,2 %); DC [Acetonitril/Wasser 5:1]: R_f = 0,09.

Beispiel 1.3:

20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin, Hydrochlorid:



1.3.a) 20(S)-7-Ethyl-20-O-[N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-alanyl]-camptothecin, Trifluoracetat:

Das Konjugat aus Beispiel 1.1.b wird in Analogie zur Vorschrift von Beispiel 1.1.c. mit N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysin verknüpft und anschließend an der α-Aminofunktion gemäß Beispiel 1.1.d deblockiert.

1.3.b) 20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin:

Die Verbindung aus Beispiel 1.3.a wird in Analogie zu Beispiel 1.1 mit 1,2 Äquivalenten des Kohlenhydratderivats aus Beispiel I.2 umgesetzt.

1.3) 20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin, Hydrochlorid:

Das Konjugat 1.3.b wird mit Piperidin in DMF deblockiert. Nach 30min. engt man ein und digeriert den Rückstand zweimal mit Dichlormethan. Dann wird in DMF aufgenommen und mit Methanol/Ether gefällt. Das Produkt wird abgesaugt, mit Ether gewaschen und dann aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Anschließend nimmt man in Wasser auf, versetzt mit 1 Äquivalent einer 0,01N HCl-Lösung und lyophilisiert erneut.

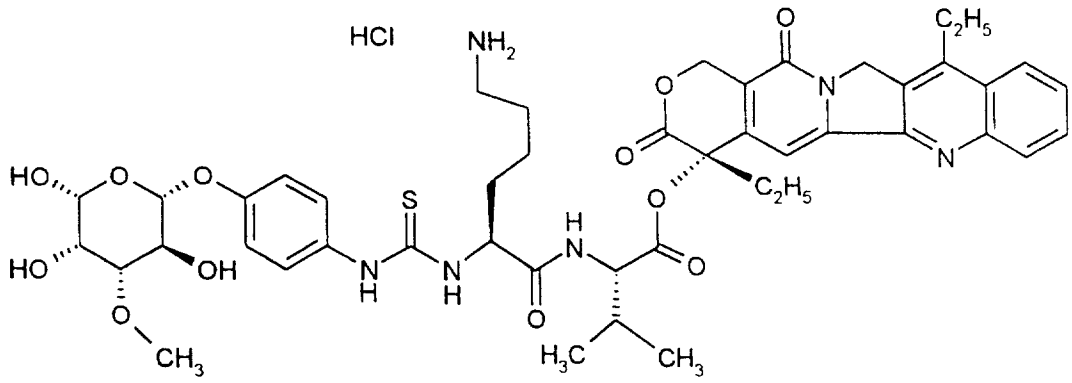
Beispiel 1.4:

20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-valyl}-camptothecin, Hydrochlorid

Die Verbindung wird analog zu 1.3 hergestellt.

Beispiel 1.5

7-Ethyl-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxyl-phenyl-amino-thiocarbonyl]-lysyl-valyl}-camptothecin, Hydrochlorid:



1.5.a) 20-O-[N-(tert-Butoxycarbonyl)-valyl)-7-ethyl-camptothecin:

Die Verbindung wird unter Verwendung des in 1.1.a beschriebenen Verfahrens aus 1,88 g (5,0 mmol) 20(S)-7-Ethyl-camptothecin (S. Sawada et al., Chem. Pharm. Bull. 39 (1991) 1446-1454) und 2,43 g (10,0 mmol) N-(tert-Butoxycarbonyl)-valin-N-carbonsäureanhydrid hergestellt. Man erhält 1,46 g (51 % an beigen

Kristallen [DC (Acetonitril): R_f = 0,86; Schmp. = 224-227°C (Zers.); FAB-MS: m/z = 576 ($M+H^+$).

1.5.b) 7-Ethyl-20-O-valyl-camptothecin, Trifluoracetat:

Aus Verbindung 1.5.a (1,44 g, 2,5 mmol) wird wie unter 1.1.b beschrieben die N-(tert-Butoxycarbonyl)-Gruppe abgespalten. Man erhält 626 mg (43 %) an gelben Kristallen [DC (Acetonitril): R_f = 0,45; Schmp. = 160°C Zers.)].

1.5.c) 20-O-[N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-valyl]-7-ethyl-camptothecin:

In Analogie zu 1.1.c werden 797 mg (1,7 mmol) N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysin mit Verbindung 1.5.b (590 mg, 1,0 mmol) umgesetzt. Nach Einengen im Vakuum und Reinigung durch Flashchromatographie [Petrolether/Ethylacetat 1:2] erhält man beige Kristalle. Ausb.: 287 mg (31 %) [DC (Ethylacetat): R_f = 0,50; Schmp. = 172°C (Zers.)].

1.5.d) 7-Ethyl-20-O-[N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-valyl]-camptothecin, Trifluoracetat:

Obige Verbindung (277,8 mg, 0,3 mmol) wird wie beschrieben mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan entschützt. Man erhält 209 mg (74 %) an gelben Kristallen [DC (Ethylacetat): R_f = 0,06; Schmp. = 199°C (Zers.)].

1.5.e) 20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α}-(O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxyphenylamino-thiocarbonyl]-N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxy-carbonyl]-lysyl-valyl}-camptothecin:

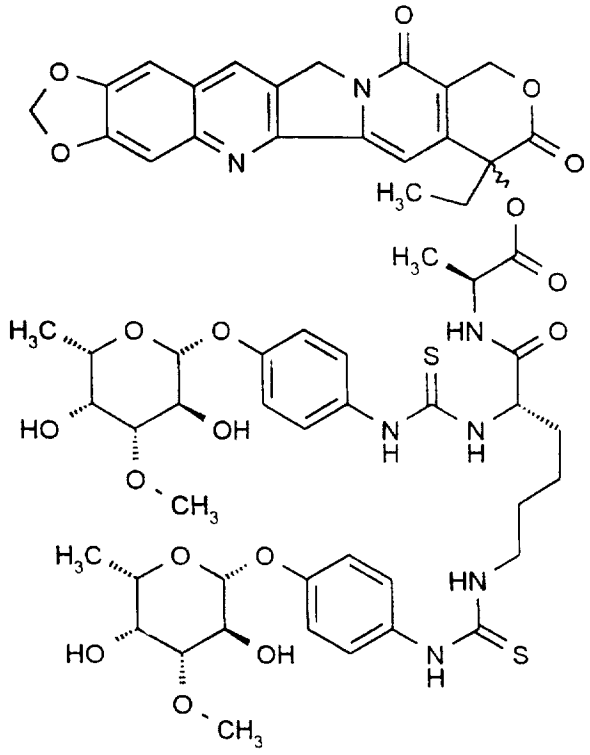
Die Verbindung aus Beispiel 1.5.d wird in Analogie zu Beispiel 1.1 mit 1,2 Äquivalenten des Kohlenhydratderivats aus Beispiel I.1 umgesetzt und das Produkt durch Umfällen aus Dichlormethan/Methanol 1:1 mit Diethylether gereinigt. Man erhält in 35 %-iger Ausbeute beige Kristalle [DC (Acetonitril/Ethylacetat 1:1): R_f = 0,68].

1.5) 20(S)-7-Ethyl-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl-]-lysyl-valyl}-camptothecin, Hydrochlorid:

Das Konjugat 1.5.e wird mit Piperidin in DMF deblockiert. Nach 3 h engt man ein und fällt den Rückstand zweimal aus Dichlormethan/Methanol 1:1 mit Diethylether um. Anschließend nimmt man in Wasser auf, versetzt mit 1 Äquivalent einer 0,01N HCl-Lösung und lyophilisiert.

Beispiel 2.1:

20(R,S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin



2.1.a) 20(R/S)-10,11-Methylendioxy-camptothecin:

Dieses Camptothecin-Derivat wird nach Wall et. al. (J.Med.Chem., 29 (1986), 2358) aus dem racemischen Tricyclus hergestellt.

2.1.b) 20(R,S)-10,11-Methylendioxy-20-O-alanyl-camptothecin, Trifluoracetat:

Eine Lösung von 300 mg (0,765 mmol) 20(R/S)-10,11-Methylendioxy-camptothecin in 30 ml absolutem Dimethylformamid wird unter Rühren mit 330 mg (1,53 mmol) N-(tert-Butoxycarbonyl)-alanin-N-carbonsäureanhydrid sowie 30 mg 4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin versetzt. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur setzt man jeweils zwei weitere Äquivalente N-(tert-Butoxycarbonyl)-alanin-N-carbonsäureanhydrid und 30 mg 4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin zu. Nach Abschluß der Reaktion wird im Vakuum eingeengt. Nach Fällen aus Dichlormethan mit Ether erhält man die geschützte Zwischenstufe in 80 %iger Ausbeute. [DC: Dichlormethan/Methanol 95:5 R_f = 0,38]. Man nimmt in 10 ml Dichlormethan auf und setzt bei 0°C 2 ml wasserfreie Trifluoressigsäure zu. Nach 15 min. wird eingeengt und aus Dichlormethan/Methanol mit Ether gefällt.
Ausb.: 97 % [FAB-MS: m/z = 464 = M+H].

2.1) 20(R,S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin

Das Glycokonjugat wird in Analogie zu den Vorschriften zu 1.1.c, 1.1.d und 1.1 aus dem Alanyl-Konjugat in Beispiel 2.1.b hergestellt.

Ausb.: 87 % [DC: Acetonitril/Wasser 10:1 R_f = 0,33] [FAB-MS: m/z = 1214 = M+H].

Beispiel 2.2:
20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin

2.2.a) 20(S)-10,11-Methylendioxy-camptothecin:

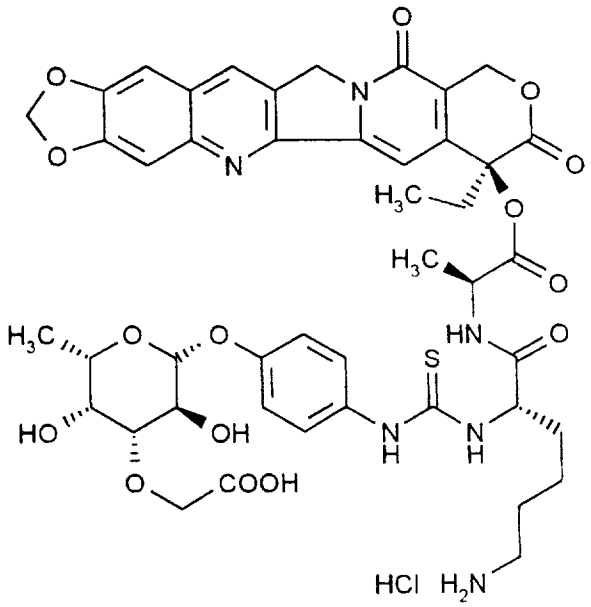
Dieses Camptothecin-Derivat wird nach Wall et. al. (J.Med.Chem., 29 (1986), 2358) aus dem S-konfigurierten, enantiomerenreinen Tricyclus, der durch Racematspaltung gewonnen werden kann, hergestellt.

2.2) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin

Darstellung in Analogie zu Beispiel 2.1.

Beispiel 2.3:

20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin, Hydrochlorid



2.3.a) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-alanyl-camptothecin, Trifluoracetat:

Dieses Konjugat wird aus der Verbindung 2.2.a in Analogie zu 2.1.b hergestellt. Ausb.: 72% über 2 Stufen [FAB-MS: m/z = 464 = M+H].

2.3.b) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin, Trifluoracetat:

Das Konjugat aus Beispiel 2.3.a wird in Analogie zur Vorschrift von Beispiel 1.1.c. mit N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysin verknüpft und anschließend an der α-Aminofunktion durch Einwirkung von Trifluoressigsäure deblockiert. Ausb.: 52 % über 2 Stufen.

2.3.c) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin:

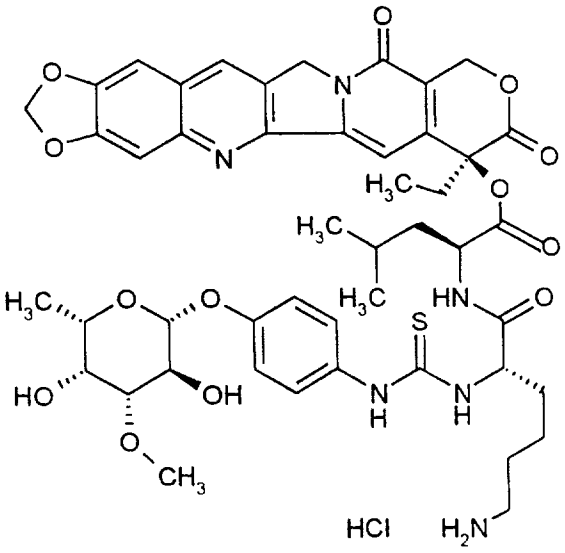
Die Verbindung aus Beispiel 2.3.b wird in Analogie zu Beispiel 1.1 mit 1,2 Äquivalenten des Kohlenhydratderivats aus Beispiel I.2 umgesetzt. Das Rohprodukt wird durch Verrühren mit Wasser und anschließende Fällung aus Dichlormethan/Methanol mit Ether gereinigt.
Ausb.: 88 % [DC: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17 %ig 15:4:0,5 R_f = 0,27]

2.3) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-carboxymethyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin, Hydrochlorid

Das Konjugat 2.3.c wird mit Piperidin in DMF deblockiert. Nach 20min. engt man ein und digeriert den Rückstand zweimal mit Dichlormethan. Das Produkt wird abgesaugt, noch einmal mit Ether gewaschen und dann aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Anschließend nimmt man in Dioxan/Wasser auf, versetzt mit 1 Äquivalent einer 0,1N HCl-Lösung und lyophilisiert erneut. Ausb.: quant. [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 5:1:0,2 R_f = 0,26] [FAB-MS: m/z = 947 = M+H]

Beispiel 2.4:

20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-Methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin, hydrochlorid



2.4.a) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-leucyl-camptothecin, Trifluoracetat

Ausgehend von 20(S)-10,11-Methylendioxy-camptothecin (Beispiel 2.2.a) wird mit N-tert-Butoxycarbonyl)-leucin-N-carbonsäureanhydrid in Analogie zu Beispiel 2.1.b die Zielverbindung hergestellt.

2.4.b) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin, Trifluoracetat:

Das Konjugat aus Beispiel 2.4.a wird in Analogie zur Vorschrift von Beispiel 1.1.c mit N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysin verknüpft und anschließend an der α-Aminofuntion durch Einwirkung von Trifluoressigsäure deblocliert. Ausb.: 69 % über 2 Stufen.

2.4.c) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin:

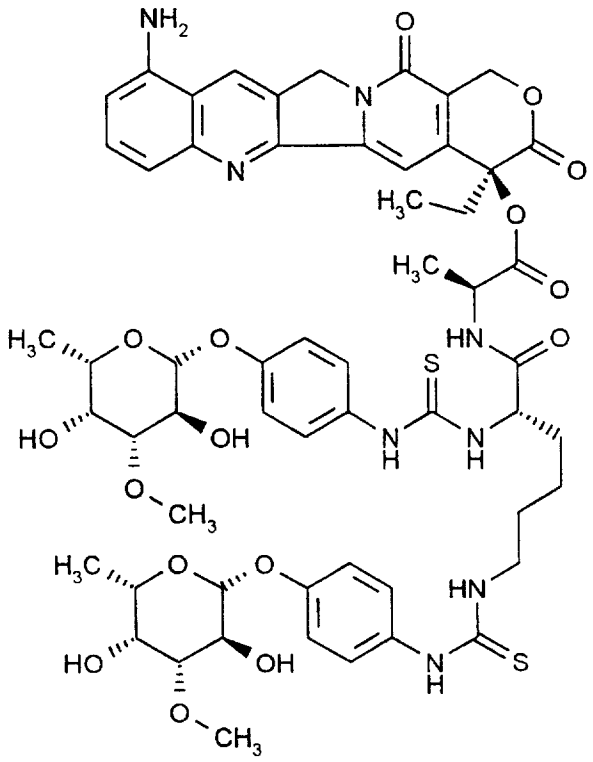
Die Verbindung aus Beispiel 2.4.b wird in Analogie zu Beispiel 1.1 mit 1,2 Äquivalenten des Kohlenhydratderivats aus Beispiel I.1 umgesetzt. Das Rohprodukt wird durch Fällung aus Dichlormethan/Methanol mit Ether gereinigt. Ausb.: 95 % [DC: Acetonitril/Wasser 20:1 R_f = 0,48].

2.4) 20(S)-10,11-Methylendioxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin, Hydrochlorid.

Das Konjugat 2.4.c wird mit Piperidin in DMF deblockiert. Nach 20 min. engt man ein und destilliert zweimal mit Dichlormethan nach. Das Produkt wird aus Dichlormethan/Methanol mit Ether gefällt. Anschließend nimmt man in Wasser auf, versetzt mit 1 Äquivalent einer 0,1N HCl-Lösung und lyophilisiert. Ausb.: 75 % [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 5:1:0,2 R_f = 0,47].

Beispiel 3.1:

20(S)-9-Amino-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin



3.1.a) 20(S)-9-Nitro-camptothecin:

Dieses Derivat wird nach der Vorschrift von Wani et al. (J.Med.Chem. 29 (1986), 2358) hergestellt.

3.1.b) 20(S)-9-Nitro-20-O-alanyl-camptothecin, Trifluoracetat:

516mg (1,31mmol) der Verbindung aus Beispiel 3.1.a werden in 55 ml absolutem Dimethylformamid unter Rühren mit 846 mg (3,9 mmol) N-(tert-Butoxycarbonyl)-alanin-N-carbonsäureanhydrid sowie 55 mg 4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin versetzt. Nach 4 h wird im Vakuum eingeengt und mit Dichlormethan/Essigester 2:1 an Kieselgel chromatographiert. Nach erneutem Einsatz des zurückgewonnen Edukts unter gleichen Bedingungen erhält man die geschützte Zwischenstufe in 54 %iger Ausbeute. [DC: Dichlormethan/Methanol 95:5 R_f = 0,5]. Man nimmt in 40 ml Dichlormethan auf und setzt bei 0°C 4 ml wasserfreie Trifluoressigsäure zu.

Nach 15 min. wird eingeengt und durch Verrühren mit Ether gereinigt. Ausb.: 80 %

3.1.c) 20(S)-9-Amino-20-O-alanyl-camptothecin, Trifluoracetat:

320 mg (0,55 mmol) der Verbindung aus 3.1.b werden in 30 ml Ethanol aufgenommen und 15 min. über 10 mg Platindioxid hydriert. Der Katalysator wird abfiltriert, die Lösung eingeengt und das Produkt nach Fällung aus Dichlormethan mit Methanol in die nächste Stufe eingesetzt.

3.1.d) 20(S)-9-Amino-20-O-(lysyl-alanyl)-camptothecin, Di-Trifluoracetat:

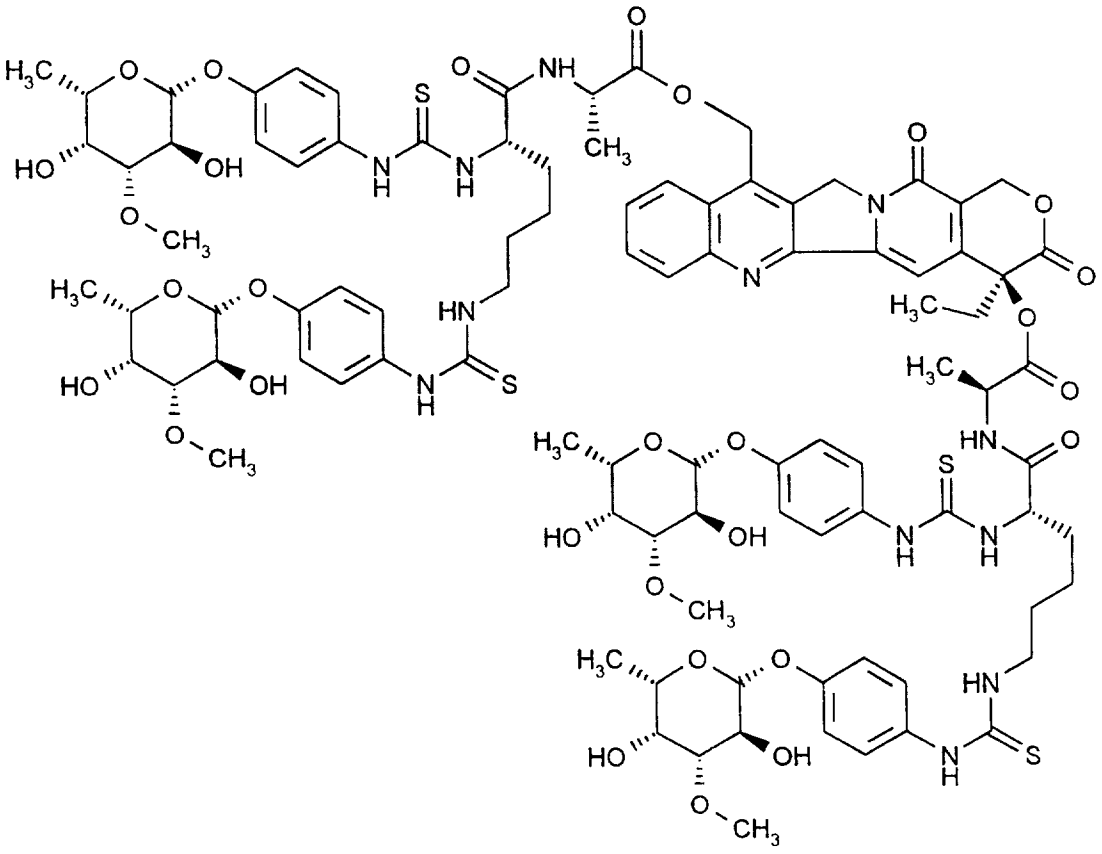
31 mg (0,09mmol) N,N-Di-(tert-butoxycarbonyl)-lysin werden in 5 ml Dimethylformamid mit 15 mg (0,135mmol) N-Hydroxy-succinimid und 22 mg (0,11 mmol) Dicyclohexyl-carbodiimid für 2 h voraktiviert. Anschließend setzt man Verbindung 3.1.c (60 mg, 0,09 mmol) und 31µl Ethyl-diisopropylamin zu und rührt den Ansatz für weitere 16 h bei Raumtemperatur. Nach Einengen im Vakuum und Reinigung durch Flashchromatographie [Toluol/Ethanol 8:1] erhält man die Zwischenstufe in 47 %iger Ausbeute. [DC: Dichlormethan/Methanol 9:1 R_f = 0,31]. 30 mg (0,039 mmol) werden in Dichlormethan (10 ml) mit wasserfreier Trifluoressigsäure (2 ml) versetzt und die resultierende Lösung für 30 min. bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen wird das Produkt aus Dichlormethan/Methanol mit Ether ausgefällt (20 mg, 57 %). [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 10:5:3 R_f = 0,44].

3.1) 20(S)-9-Amino-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin

Das Glycokonjugat wird aus den Verbindungen in 3.1.d und I.1 in Analogie zu Beispiel 1.1 hergestellt. Ausb.: 58 % [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 5:1:0,2 R_f = 0,6].

Beispiel 4.1:

20(S)-7-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-Methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyloxymethyl}-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin



4.1.a) 20(S)-7-Hydroxymethyl-camptothecin:

Diese Verbindung wird nach der Vorschrift von Miyasaka et al. (Chem. Pharm. Bull. 39 (1991) 2574) hergestellt.

4.1.b) 20(S)-7-(Alanyloxymethyl)-20-O-alanyl-camptothecin, Di-Trifluoracetat:

1 g (2,64 mmol) 20(S)-7-Hydroxymethyl-camptothecin werden in 100 ml DMF gelöst und dann mit 100 mg 4-N,N-Dimethylaminopyridin und 1,5 Äquivalenten N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-alanin-N-carboxy-anhydrid versetzt und die Suspension 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Um vollständige Doppelacylierung zu erreichen, setzt man erneut 100 mg 4-N,N-Dimethylaminopyridin und 1,5 Äquivalente

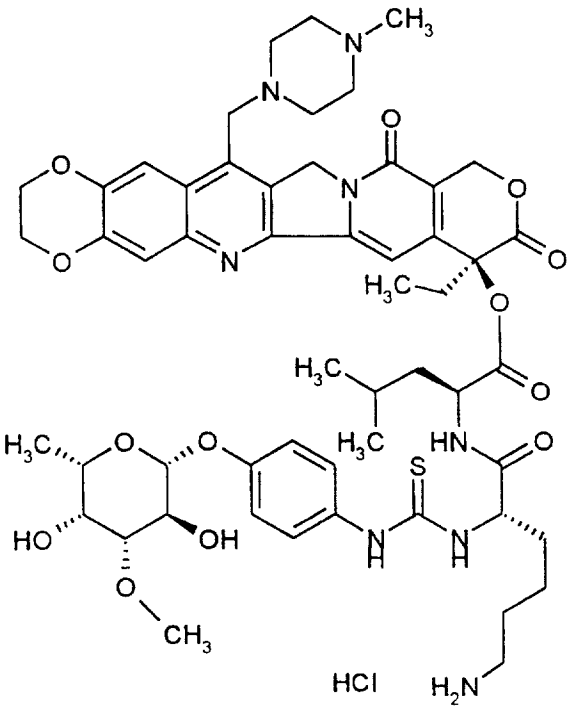
N-(tert-Butoxycarbonyl)-alanin-N-carboxy-anhydrid zu und beläßt weitere 16 h bei Raumtemperatur. Man engt ein und reinigt durch Flash-Chromatographie an Ethylacetat/Petrolether 1:1. Das gereinigte Material wird in 30 ml Dichlormethan aufgenommen und bei 0°C mit 5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach 30 min Rühren wird eingeengt und das aminodeblockierte Produkt aus Dichlormethan/Ether gefällt. Anschließend wird aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. [DC: Acetonitril/-Wasser/Eisessig 10:5:5 R_f = 0,17] [FAB-MS: m/z = 777 = M+H].

4.1) 20(S)-7-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyloxymethyl}-20-O-{N^{α},N^{ε}-bis-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-alanyl}-camptothecin

Das Konjugat wird aus Beispiel 4.1.b in Analogie zu den Beispielen 1.1.c, 1.1.d und 1.1 hergestellt, auf allen Stufen jedoch mit der doppelten Menge der jeweiligen Reaktanden. [DC: Acetonitril/Wasser 10:1 R_f = 0,2] [MALDI-MS: m/z = 2047 = M(+3)+Na].

Beispiel 5.1:

20(S)-7-[4-(Methylpiperazino)methyl]-10,11-(ethylendioxy)-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin, Hydrochlorid



5.1.a) 20(S)-7-[Methylpiperazino)methyl]-10,11-(ethylendioxy)-camptothecin, Trifluoracetat

Dieses Derivat wird nach der Vorschrift von Luzzio et al. (J.Med.Chem. 38 (1995), 396) hergestellt.

5.1.b) 20(S)-7-[-4-[Methylpiperazino)methyl]-10,11-(ethylendioxy)-20-O-leucyl-camptothecin, Tri-Trifluoracetat

Ausgehend von der Verbindung aus Beispiel 5.1.a) wird mit N-[tert-Butoxy-carbonyl)-leucin-N-carbonsäureanhydrid (10 Äquivalente) in Analogie zu Beispiel 2.1.b die Zielverbindung hergestellt. Die Reinigung der Boc-geschützten Zwischenstufe erfolgt durch Flash-Chromatographie [Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17%ig 15:1:0,1]. Ausb.: 62% über 2 Stufen [ESI-MS: m/z = 632 = M+H; m/z = 654 = M+Na].

5.1.c) 20(S)-7-[4-Methylpiperazino)methyl-10,11-(ethylendioxy)-20-O-{N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin, Tri-Trifluoracetat:

Das Konjugat aus Beispiel 5.1.b wird in Analogie zur Vorschrift von Beispiel 1.1.c mit N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl)-9-methoxycarbonyl)-lysin verknüpft und anschließend an der α-Aminofunktion durch Einwirkung von Trifluoressigsäure deblockiert. Die Reinigung der Boc-geschützten Zwischenstufe erfolgt durch Flash-Chromatographie [Dichlormethan/Methanol 10:1] Ausb.: 53 % über 2 Stufen. [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 5:1:0,2 R_f = 0,13] [FAB-MS: m/z = 982 = M+H].

5.1.d) 20(S)-7-[4-(Methylpiperazino)methyl]-10,11-(ethylendioxy)-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin:

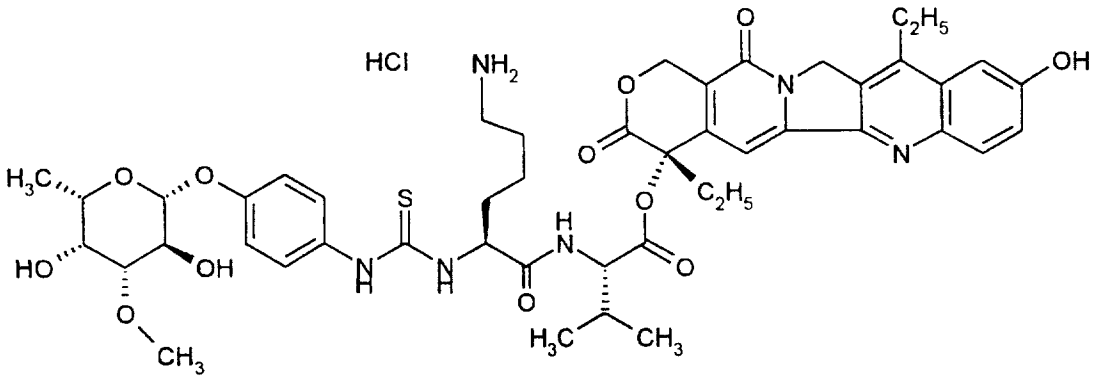
Die Verbindung aus Beispiel 5.1.c wird in Analogie zu Beispiel 1.1 mit 1,2 Äquivalent des Kohlenhydratsderivats aus Beispiel I.1 umgesetzt. Das Rohprodukt wird durch Fällung aus Methanol mit Ether gereinigt. Ausb.: 83 % [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 5:1:0,2 R_f = 0,21].

5.1) 20(S)-7-[4-Methylpiperazino)methyl]-10,11-(ethylendioxy)-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-leucyl}-camptothecin, Hydrochlorid

Das Konjugat 5.1.d wird mit Piperidin in DMF deblockiert. Nach 20 min engt man ein und destilliert zweimal mit Dichlormethan nach. Das Produkt wird aus Dichlormethan/Methanol mit Ether gefällt. Anschließend nimmt man in Wasser auf, versetzt mit 1 Äquivalent einer 0,1N HCl-Lösung und lyophilisiert. Ausb.: 95 % [DC: Acetonitril/Wasser/Eisessig 10:3:1,5 R_f = 0,15] [FAB-MS: m/z = 1071 = M+H].

Beispiel 6.1

7-Ethyl-10-hydroxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-valyl}-camptothecin, Hydrochlorid



6.1.a) 20-O-[N-(tert-Butoxycarbonyl)-valyl]-7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin:

Die Verbindung wird unter Verwendung des in 1.1.a beschriebenen Verfahrens aus 392,4 mg (1,0 mmol) 20(S)-7-Ethyl-10-hydroxy-camptothecin (S. Sawada et al., Chem. Pharm. Bull. 39 (1991) 3183-3188) und insgesamt 2,43 g (10,0 mmol) N-(tert-Butoxycarbonyl)-valin-N-Carbonsäurehydrid innerhalb von 6 Tagen hergestellt. Man erhält nach Flash-Chromatographie [Petrolether/Ethylacetat 5:1 -> 2:1 -> 1:1] 353 mg (45 %) an hellgelben Kristallen [DC Acetonitril/Ethylacetat 1:1): R_f = 0,63; Schmp. = 95-97°C].

6.1.b) 7-Ethyl-10-hydroxy-20-O-valyl-camptothecin, Trifluoracetat:

Aus Verbindung 6.1.a (340 mg, 0,43 mmol) wird wie unter 1.1.b beschrieben die N-(tert-Butoxycarbonyl)-Gruppe abgespalten. Man erhält 255 mg (98 %) an gelben Kristallen [DC (Acetonitril/Ethylacetat 1:1): R_f = 0,04; Schmp. = 189°C (Zers.)].

6.1.c 20-O-[N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-valyl]-7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin:

In Analogie zu 1.1.c werden 562,3 mg (1,2 mmol) N^{α}-(tert-Butoxycarbonyl)-N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysin mit Verbindung 6.1.b (242,2 mg, 0,4 mmol) umgesetzt. Nach Einengen im Vakuum und Reinigung durch Flashchromatographie [Petrolether/Ethylacetat 5:1 -> 3:1 -> 1:1] erhält man gelbe

Kristalle. Ausb.: 251 mg (67 %) [DC (Acetonitril/Ethylacetat 1:1): R_f = 0,68; Schmp. = 163°C (Zers.)].

6.1.d) 7-Ethyl-20-O-[N^{ε}-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-valyl]-10-hydroxy-camptothecin, Trifluoracetat:

Obige Verbindung (244,9 mg, 0,26 mmol) wird wie beschrieben mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan entschützt. Man erhält 115 mg (46 %) an gelben Kristallen [DC (Acetonitril/Ethylacetat 1:1): R_f = 0,05; Schmp. = 196°C (Zers.)].

6.1.c) 20(S)-7-Ethyl-10-hydroxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-N^{ε}-[fluorenyl-9-methoxycarbonyl]-lysyl-valyl}-camptothecin:

Die Verbindung aus Beispiel 6.1.d wird in Analogie zu Beispiel 1.1 mit Äquivalenten des Kohlenhydratsderivats aus Beispiel 1:1 umgesetzt und das Produkt durch Flashchromatographie [Petrolether/Ethylacetat 1:1 -> 2:3 -> 1:2] gereinigt. Man erhält in 36 5-iger Ausbeute beige Kristalle [DC (Acetonitril/Ethylacetat 1:1): R_f = 0,55].

6.1) 20(S)-7-Ethyl-10-hydroxy-20-O-{N^{α}-[O-(3-O-methyl-ß-L-fucopyranosyl)-4-hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl]-lysyl-valyl}-camptothecin, Hydrochlorid.

Das Konjugat 6.1.e wird mit Piperidin in DMF deblockiert. Nach 2 h engt man ein und fällt den Rückstand zweimal aus Dichlormethan/Methanol 1:1 mit Diethylether um. Anschließend nimmt man in Wasser auf, versetzt mit 1 Äquivalent einer 0,01N HCl-Lösung und lyophilisiert.

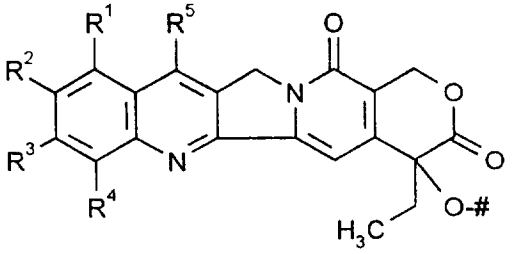
Patentansprüche

1. Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

A-Cp-B (I)

worin

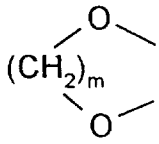
Cp für eine Gruppe der Formeln

[A] 

worin

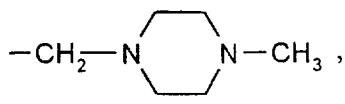
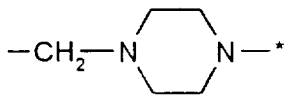
R^1, R^2, R^3 und R^4 unabhängig voneinander Wasserstoff, Alkyl mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen, Halogen, Amino, Hydroxy oder Nitro bedeuten können oder

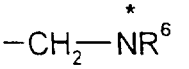
R^2 und R^3 zusammen eine Gruppe der Formel

 bedeuten, wobei

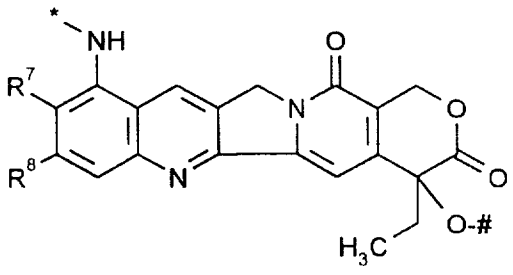
m die Werte 1 oder 2 annehmen kann, und

R^5 für H, $-CH_2CH_3$, $-CH_2$-O-*, $-CH_2$-NH*,

 ,  steht,

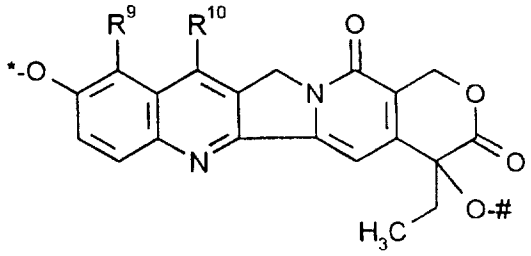
oder für $-CH_2-N(CH_2CH_3)R^6$ oder  steht,

worin R^6 Arylmethyl oder Hetarylmethyl bedeutet,

[B] 

worin

R^7 und R^8 wie R^2 und R^3 definiert sind und mit diesen gleich oder verschieden sein können,

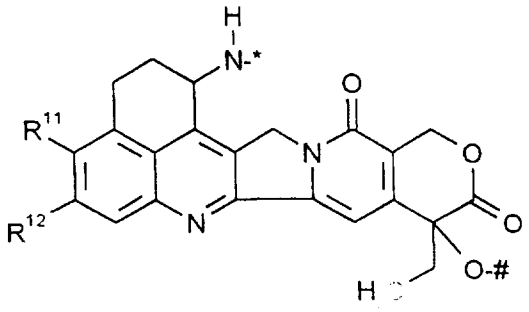
[C] 

worin

R^9 für Wasserstoff oder $-CH_2-N(CH_3)_2$ steht und

R^{10} für Wasserstoff oder Ethyl steht,

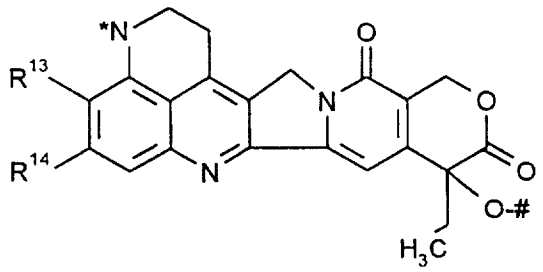
oder

[D] 

worin

R^{11} und R^{12} wie R^2 und R^3 definiert sind und mit diesen gleich oder verschieden sein können,

oder

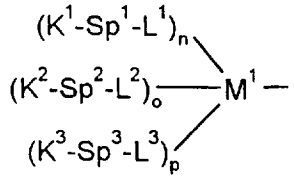
[E] 

worin

R^{13} und R^{14} wie R^2 und R^3 definiert sind und mit diesen gleich oder verschieden sein können,

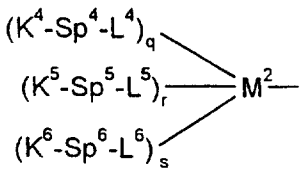
steht, wobei Cp an den mit # markierten Positionen mit A und an den mit * markierten Positionen mit B verknüpft ist,

A einen Rest der Formel



bedeutet, wobei gilt $1 \leq (n + o + p) \leq 3$,

B Wasserstoff oder einen Rest der Formel



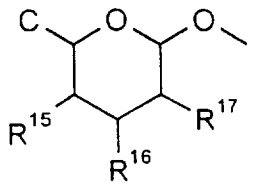
bedeutet, wobei gilt $0 \leq (q + r + s) \leq 3$, worin

M^1 und M^2 unabhängig voneinander für eine Brücken-Gruppierung stehen, deren Hauptkette bis zu 21 Atome in linearer Abfolge umfaßt,

L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 und L^6 unabhängig voneinander für Linker-Gruppierungen stehen, wie sie in der Glycokonjugatchemie gängigerweise eingesetzt werden,

Sp^1, Sp^2, Sp^3, Sp^4, Sp^5 und Sp^6 unabhängig voneinander für Arylen mit bis zu 10 Kohlenstoffatomen oder für Alkylen mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen stehen, die jeweils gegebenenfalls substituiert sind, und

K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 und K^6 unabhängig voneinander für einen Rest der Formel (II)



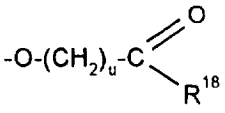
(II)

stehen, worin

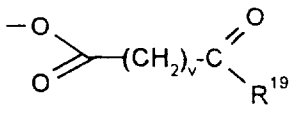
C Methyl, Hydroxymethyl, Alkoxymethyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Acyloxymethyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen oder einen Rest der Formel $-CH_2-D$ bedeutet, worin

D für einen Rest der Formel (II) steht,

R^{15}, R^{16} und R^{17} unabhängig voneinander Wasserstoff, Hydroxy, gegebenenfalls durch Hydroxyl substituiertes Alkoxy mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, gegebenenfalls durch Alkyl oder Acyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen substituiertes Amino, Halogen, Sulfat oder eine Gruppe der Formeln



oder



bedeuten, worin

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxyl oder Alkoxy mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen stehen oder für Amino, das gegebenenfalls durch Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen substituiert ist, stehen und

u und v unabhängig voneinander die Werte 0, 1, 2, 3 oder 4 annehmen können

oder

R^{15}, R^{16} und R^{17} unabhängig voneinander für einen Rest der Formel (II) stehen

oder

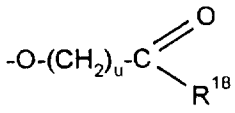
zwei der Reste R^{15}, R^{16}, R^{17} zusammen für eine Epoxygruppe stehen,

sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

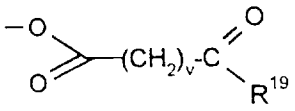
2. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, worin K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 und K^6 unabhängig voneinander für einen Rest der Formel (II) stehen können, wobei

C Methyl, Hydroxymethyl, Methoxymethyl oder Acetoxymethyl bedeutet,

R^{15} Wasserstoff, Hydroxyl, Methoxy oder eine Gruppe der Formeln



oder



bedeutet, worin

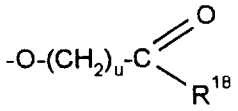
u und v unabhängig voneinander die Werte 1 oder 2 annehmen können und

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxyl oder Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen,

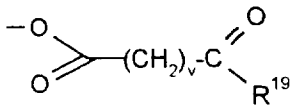
oder

R^{15} für einen Rest der Formel (II) steht,

R^{16} Wasserstoff, Hydroxyl, Halogen, Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, Sulfat oder eine Gruppe der Formeln



oder

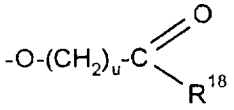
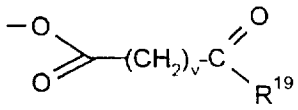


bedeutet, worin

u und v unabhängig voneinander die Werte 1 oder 2 annehmen können und

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxy oder Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen oder für Amino, das gegebenenfalls durch Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist, stehen,

R^{17} Hydroxyl, Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, das gegebenenfalls durch Hydroxy substituiert ist, gegebenenfalls durch Alkyl oder Acyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen substituiertes Amino, oder eine Gruppe der Formeln

 oder 

bedeutet, worin

u und v unabhängig voneinander die Werte 1 oder 2 annehmen können und

R^{18} und R^{19} unabhängig voneinander für Hydroxyl oder Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen stehen,

oder worin

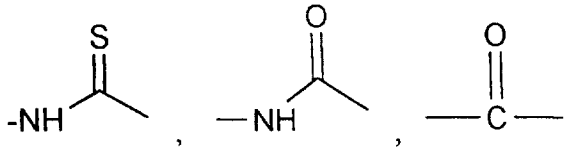
R^{15} und R^{16} gemeinsam für eine Epoxygruppe stehen,

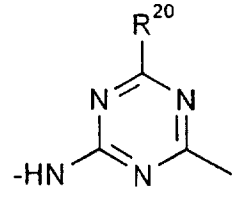
sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

3. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, worin Sp^1, Sp^2, Sp^3, Sp^4, Sp^5 und Sp^6 unabhängig voneinander für Arylen mit bis zu 10 Kohlenstoffatomen stehen können, das mit je einer Gruppe K^1, K^2, K^3, K^4, K^5 oder K^6 und L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 oder L^6 verknüpft ist und das gegebenenfalls noch ein- oder mehrfach durch Hydroxy, Carboxy, Carboxyalkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, Nitro, Cyano, Halogen, Alkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen, Halogenalkyl mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen oder durch Alkoxy mit bis zu 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist, sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

4. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, worin

L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 und L^6 unabhängig voneinander



oder  bedeuten, wobei

R^{20} für Chlor oder für Hydroxyalkylamino mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht,

sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

5. Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, worin M^1 und M^2 unabhängig voneinander für ein Peptid stehen können, das über eine Aminofunktion mit L^1, L^2, L^3, L^4, L^5 und/oder L^6 verknüpft ist, über eine Acylfunktion mit Cp verknüpft ist und dessen Aminosäurebausteine gegebenenfalls Schutzgruppen tragen können, sowie deren Isomere, Isomerengemische und Salze.

6. Verbindungen gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß M_1 und/oder M_2 für ein Mono-, Di- oder Tripeptid stehen.

7. Verbindungen gemäß Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Peptid aus gegebenenfalls Schutzgruppen tragenden Aminosäurebausteinen besteht, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Glycyl, Alanyl, Valyl, Leucyl, Lysyl, Seryl, Glutamyl, Threonyl, Asparagyl, Isoleucyl, Diaminopropionyl, Diaminobutyryl, Arginyl, Histidyl und/oder Ornithyl.

8. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der allgemeinen Formel (III)

$$H_B\text{-Cp-}H_A \qquad \text{(III)}$$

worin Cp die oben angegebene Bedeutung hat und das Wasserstoffatom H_A an der mit # und H_B an der mit * bezeichneten Position sitzt, gegebenenfalls nach Ersatz von H_B durch eine Schutzgruppe, mit einer dem oben definierten Rest M^1 entsprechenden aktivierten Carboxylkomponente M^1a, die gegebenenfalls Schutzgruppen trägt, in einem geeigneten

Lösungsmittel, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, nach üblichen Methoden umsetzt, gegebenenfalls mittels bekannter Methoden selektiv eine, mehrere oder alle Schutzgruppen von M^1 abspaltet und das Produkt mit Verbindungen der allgemeinen Formel (IV)

$$K^1\text{-}Sp^1\text{-}L^1a \qquad (IV)$$

worin K^1 und Sp^1 wie oben definiert sind und L^1a für eine reaktive Vorstufe der Gruppe L^1 steht, umsetzt, wobei gegebenenfalls die Schutzgruppen selektiv abgespalten und schrittweise verschiedene Gruppen $K^2\text{-}Sp^2\text{-}L^2$- und $K^3\text{-}Sp^3\text{-}L^3$- in vergleichbarer Weise eingeführt werden können, und daß man, falls mit der mit * bezeichneten Position eine Kohlenhydrat-Komponente verknüpft werden soll, gegebenenfalls selektiv die Schutzgruppe, die H_B ersetzt, mittels bekannter Methoden abspaltet, und in der oben beschriebenen Weise den Rest M^2 und wie gewünscht Reste der Formeln $K^4\text{-}Sp^4\text{-}L^4$-, $K^5\text{-}Sp^5\text{-}L^5$- und $K^6\text{-}Sp^6\text{-}L^6$- einführt

oder daß man, falls M^1 und/oder M^2 ein Peptid bedeuten, in vergleichbarer Weise nach üblichen Methoden einen ersten Aminosäurerest in Form der entsprechenden gegebenenfalls Schutzgruppen tragenden Carboxylkomponente einführt, gegebenenfalls Schutzgruppen abspaltet, weiterhin gegebenenfalls Schutzgruppen tragende Aminosäurereste anknüpft, gegebenenfalls erneut Schutzgruppen abspaltet, wie oben angegeben Reste der Formeln $K^1\text{-}Sp^1\text{-}L^1$-, $K^2\text{-}Sp^2\text{-}L^2$-, $K^3\text{-}Sp^3\text{-}L^3$-, $K^4\text{-}Sp^4\text{-}L^4$-, $K^5\text{-}Sp^5\text{-}L^5$- und/oder $K^6\text{-}Sp^6\text{-}L^6$- einführt und falls erforderlich Schutzgruppen abspaltet,

und daß man weiterhin gegebenenfalls nach üblichen Methoden die Stereoisomeren trennt und daß man gegebenenfalls die Verbindungen in ihre Salze überführt.

9. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln.

10. Arzneimittel, enthaltend Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern al Application No
PCT/EP 97/05088

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C07H17/00 A61K31/70

According to International Patent Classification(IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C07H A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GUPTA, ELORA ET AL: "Pharmacokinetic modulation of irinotecan and metabolites by cyclosporin A" CANCER RES. (1996), 56(6), 1309-14 CODEN: CNREA8;ISSN: 0008-5472, 15 March 1996, XP002053618 see page 1309, left-hand column, paragraph 2 - page 1309, right-hand column, paragraph 1 --- -/--	1

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[ ] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

2

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
3 February 1998	18/02/1998

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Riolo, J

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern ial Application No
PCT/EP 97/05088

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
P,A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 126, no. 4, 27 January 1997 Columbus, Ohio, US; abstract no. 46340, KITAJIMA, MARIKO ET AL: "Production of camptothecinoids by utilizing cell cultures of Ophiorrhiza pumila and synthetic studies of their related compounds" XP002053619 see abstract	1
P,A	& TENNEN YUKI KAGOBUTSU TORONKAI KOEN YOSHISHU (1996), 38TH, 283-288 CODEN: TYKYDS, 27 November 1996, -----	1

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Interna ales Aktenzeichen
PCT/EP 97/05088

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07H17/00 A61K31/70

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 C07H A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	GUPTA, ELORA ET AL: "Pharmacokinetic modulation of irinotecan and metabolites by cyclosporin A" CANCER RES. (1996), 56(6), 1309-14 CODEN: CNREA8;ISSN: 0008-5472, 15.März 1996, XP002053618 siehe Seite 1309, linke Spalte, Absatz 2 - Seite 1309, rechte Spalte, Absatz 1 --- -/--	1

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[ ] Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

2

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
3.Februar 1998	18/02/1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Riolo, J

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. ales Aktenzeichen
PCT/EP 97/05088

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 126, no. 4, 27.Januar 1997 Columbus, Ohio, US; abstract no. 46340, KITAJIMA, MARIKO ET AL: "Production of camptothecinoids by utilizing cell cultures of Ophiorrhiza pumila and synthetic studies of their related compounds" XP002053619 siehe Zusammenfassung	1
P,A	& TENNEN YUKI KAGOBUTSU TORONKAI KOEN YOSHISHU (1996), 38TH, 283-288 CODEN: TYKYDS, 27.November 1996, -----	1

2