



NORGE
[NO]

STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 133802

(51) Int. Cl.² C 07 C 175/00

(21) Patensøknad nr. 343/71
(22) Inngitt 01.02.71
(23) Løpedag 01.02.71

(41) Alment tilgjengelig fra 03.08.71
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 22.03.76
(30) Prioritet begjært 02.02.70, Sveits, nr. 1428/70

(54) Oppfinnelsens benevnelse Analogifremgangsmåte for fremstilling
av terapeutisk virksomme vitamin A-syreamider.

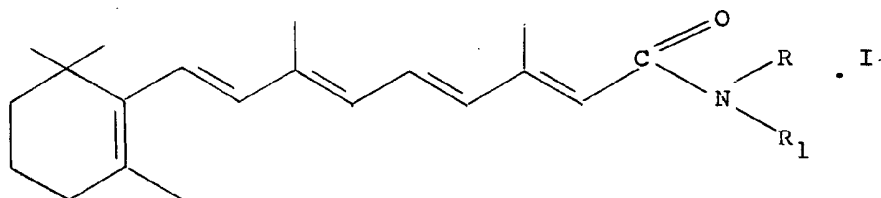
(71)(73) Søker/Patenthaver HOFFMANN-LA ROCHE & CO. AKTIENGESELLSCHAFT, F.,
Grenzacherstrasse 124-184,
CH-4002 Basel, Sveits.

(72) Oppfinner BOLLAG, WERNER, Basel,
RÜEGG, Rudolf, Bottmingen,
RYSER, Gottlieb, Basel,
Sveits.

(74) Fullmektig A/S Oslo Patentkontor Dr. ing. K. O. Berg, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner Ingen.

Nærværende oppfinnelse vedrører en analogifremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk virksomme vitamin A-syreamider av den generelle formel



133802

2

hvor R og R₁ hver betyr en eventuelt med en lavere alkoksygruppe eller en di-laverealkylamino-gruppe substituert alkylgruppe med 1 - 10 karbonatomer, en hydroksy-laverealkylgruppe, eller en fenyl- eller benzylgruppe, idet R i tillegg betyr hydrogen.

Uttrykket "alkylgruppe" betyr såvel rettkjedete som forgrenete hydrokarbongrupper med 1 - 10 karbonatomer, som metyl, etyl, propyl, isopropyl, n-butyl, tert.butyl, pentyl, heksyl, heptyl, n-decyl o.l. Uttrykket "hydroksy-laverealkylgruppe" betyr hydroksy-laverealkylgrupper med 1 - 4 karbonatomer, som f.eks. en hydroksyetylgruppe. Uttrykket "lavere alkoksy-gruppe" betyr rettkjedete eller forgrenete alkoksygrupper med 1 - 4 karbonatomer, f.eks. metoksy, etoksy o.l. Uttrykket "laverealkylaminogruppe" betyr alkylaminogrupeer med 1 - 4 karbonatomer, f.eks. metylamino, etylamino o.l.

Frengangsmåten ifølge oppfinnelsen karakteriseres ved at man omsetter vitamin A-syren eller et funksjonelt derivat av denne med et amin med den generelle formel,



hvor R og R₁ har de oven angitte betydninger.

Som amin med formel II foretrekkes anvendelsen av etylamin.

Som funksjonelle derivater av vitamin A-syre kan spesielt nevnes vitamin A-syrehalogenidene, fortrinnsvis klorid, såvel som vitamin A-syreester.

Det er hensiktsmessig å foreta reaksjonen i et inert organisk oppløsningsmiddel, som f.eks. eter, og ved en temperatur fra ca. romtemperatur til reaksjonsblandingens tilbakeløpstemperatur.

Det er også hensiktsmessig å gjennomføre reaksjonen i inertgassatmosfære, f.eks. i nitrogenatmosfære.

De nye vitamin A-syreamidene kan anvendes for topisk og systemisk terapi av precancerose og carcinoma, såvel som for systemisk og topisk profylaxe av carcinoma. De kan anvendes som sådanne eller i kombinasjon med cystostatisk midler såvel som med strålings-terapi. Dessuten kan de anvendes for topisk og systemisk terapi av acne, psoriasis og andre ledsagende dermatologiske affeksjoner med forsterket eller patologisk foranderlig forhorning såvel som ved eksem. De kan også anvendes ved affeksjoner av slimhud som skyldes inflammatoriske eller degenerative hhv. metaplastiske forandringer. Som foretrukket vitamin A-syreamid kan vitamin A-syreetylamid nevnes.

De på mus og rotter gjennomførte toksisitetsundersøkelser ga følgende resultater med hensyn til akutt toksisitet:

A-rotte

Vitamin A-syreetylamid i rapsolje

	mg/kg p.o.	og	i.p.
	24 t.	10 dager	
DL ₁₀	> 4000	> 4000	
DL ₅₀	> 4000	> 4000	
DL ₉₀	> 4000	> 4000	

B-mus

1) Vitamin A-syreetylamid i rapsolje

	mg/kg p.o.	og	i.p.	
	24 t.	10 dager	20 dager	
DL ₁₀	> 4000	> 4000	> 4000	
DL ₅₀	> 4000	> 4000	> 4000	
DL ₉₀	> 4000	> 4000	> 4000	

133802

4

2) Vitamin A-syreetanolamid i rapsolje

mg/kg i.p.

24 t.

10 dager

DL ₁₀	>4000	710
DL ₅₀	>4000	1000
DL ₉₀	>4000	1400

3) Vitamin A-syredietylamid, vitamin A-syre-n-butylamin, vitamin A-syrefenylamid, vitamin A-syreisopropylamid, vitamin A-syremetylamid i rapsolje

mg/kg i.p.

DL ₁₀	>4000	>4000
DL ₅₀	>4000	>4000
DL ₉₀	>4000	>4000

De med fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen erholdte substituerte vitamin A-syreamider innehar en utpreget epithel-beskyttelses-virkning (vist ifølge Boguth et al. Int. Z. Vitaminf. 1960, 31, 6), og forårsaker i motsetning til fri vitamin A-syre og det usubstituerte amidet ingen hudirritasjon og ingen såkalt A-hypervitaminose.

De følgende forsøk ble utført:

Forsøk 1 er rettet på en sammenligning av den epitel-beskyttende virkning for de substituerte amider av vitamin A-syren, som fremstilles ifølge nærværende oppfinnelse, vitamin A-syre og vitamin A-syreamid, og

forsøk 2 er rettet på en sammenligning av hudirritasjonseffekten og A-hypervitaminose bieffektene for de substituerte amider av vitamin A-syre som fremstilles ifølge nærværende oppfinnelse, vitamin A-syre og vitamin A-syreamid.

Forsök 1

Her ble den foran angitte metode av Boguth et al., Int. Z. Vitaminf. 31, 6 (1960) anvendt og kastrerte hunrotter ble forbehandlet med en blanding av 1 mcg oestradiol-benzoat og 250 mcg testosteron-propionat i 0,1 ml sesamolje, inntil rene, skjell-lignende celler opptrådte i vagina-sekretet. Deretter ble dosene av vitamin A-aktive forbindelser administrert i logaritmiske trinn med en faktor på 1,2. Verdien for den epitel-beskyttende virkning ble bestemt for hver forbindelse som dosen som er nødvendig for å gi bare ca. 50 % skjell-lignende celler i sekretet.

Resultatene av dette forsök er gjengitt i tabell 1.

Tabell 1

<u>Forbindelse</u>	<u>Midlere aktig dose (mikrogram)</u>	<u>Relativ aktivitet %</u>
Vitamin A-syre	132	100
Vitamin A-syreamid	129	102
Vitamin A-syre-etylamid	121	109
Vitamin A-syre- dietylamid	171	77
Vitamin A-syre- etanolamid	133	99

Som det fremgår av resultatene av dette forsök har de substituerte amider av vitamin A-syre, som fremstilles ifølge nærværende oppfinnelse, epitel-beskyttende virkninger som er sammenlignbare med virkningene av vitamin A-syre og vitamin A-syreamid.

Forsök 2

Hudirritasjons- og A-hypervitaminoseprøver ble utført.

Hudirritasjonsprøvene ble utført på følgende måte:

Halvparten av skinnet på ryggen av et marsvin ble barbert bort. En 1% 's oppløsning av prøvepreparatet oppløst i aceton ble påført 8 ganger i løpet av 10 dager til den utsatte hud.

133802

6

Reaksjonen ble avlest på den 10. dag under bruk av en skala fra 0 til 4 for å bestemme graden som følger:

- 4 = sterkest reaksjon med skurv, rødhet og sterk krustdannelse
- 3 = sterk reaksjon med skurv, rødhet og noen krustdannelse
- 2 = moderat skurvdannelse, ingen rødhet, ingen krustdannelse
- 1 = svak skurv
- 0 = ingen reaksjon .

Hypervitaminose-prøvene ble utført med mus som veidde 25-27 g som mottok 10 i.p. administrasjoner av prøvesubstansen suspendert i arachis-olje i løpet av 14 dager. De følgende symptomer ble vurdert: tap av vekt, hudskurv, tap av hår og benbrudd. De ble vurdert etter en skala fra 0 til 4 som følger:

- 1. Tap av vekt:
 - >10 g = 4
 - 7-9 g = 3
 - 4-6 g = 2
 - 1-3 g = 1
 - < 1 g = 0
- 2. Hudskurv:
 - meget sterk = 4
 - sterk = 3
 - moderat = 2
 - svak = 1
 - ingen = 0
- 3. Tap av hår:
 - meget sterkt = 4
 - sterkt = 3
 - moderat = 2
 - svakt = 1
 - intet = 0
- 4. Benbrudd:
 - Antall ekstremiteter med frakturerte ben: 0 til 4

Den laveste daglige dose som gir hypervitaminose ved 14 dagers prøven med mus ble angitt i tabellene. Betingelsen for dyrene som resulterer i et total på minst 3 poeng ble betraktet som hypervitaminose. Angivelsen >400 ble innført i tabellen hvis 400 mg/kg ikke ga noen hypervitaminose. Det er mulig at meget høyere doser av disse preparater kan anvendes uten å gi noen hypervitaminose.

Resultatene av dette forsøk er satt opp i tabell 2.

Tabell 2

<u>Forbindelse</u>	<u>Hudirritasjon (skala 0 til 4)</u>	<u>A-hypervita- minose (mg/kg daglig)</u>
Vitamin A-syre	4	50
Vitamin A-syreamid	3	50
Vitamin A-syre- metylamid	0	> 400
Vitamin A-syre- etylamid	0,5	> 400
Vitamin A-syre- fenylamid	0,5	> 400
Vitamin A-syre- benzylamid	0,5	> 400
Vitamin A-syre- etanolamid	0	400
Vitamin A-syre- metoksyetylamid	0,5	400
Vitamin A-syre- dietylaminooetylamid	0,5	200
Vitamin A-syre- butylamid	0	> 400
Vitamin A-syre- isopropylamid	0	> 400
Vitamin A-syre- n-decylamid	0	> 400
Vitamin A-syre- dietylamid	0	> 400

133802

8

Tabell 2
(fortsatt)

Forbindelse	Hudirritasjon (skala 0 til 4)	A-hypervita- minose (mg/kg daglig)
Vitamin A-syre- metylpropylamid	0,5	200
Vitamin A-syre- dibutylamid	-	> 400
Vitamin A-syre- di-n-decylamid	-	> 400
Vitamin A-syre- difenylamid	0,5	> 400

Som det fremgår av resultatene fra dette forsøk har de substituerte amider av vitamin A-syre, som fremstilles ifølge nærværende oppfinnelse, nesten ingen hudirritasjon og nesten ingen A-hypervitaminose i sammenligning med vitamin A-syre og vitamin A-syreamid.

Forbindelsene, som fremstilles ifølge fremgangsmåten, kan anvendes som legemidler, f.eks. i form av farmasøytiske preparater.

De for systemisk anvendelse benyttede preparater kan fremstilles ved at man til en forbindelse med den generelle formel I som aktiv bestanddel tilsetter en ikke-toksisk, inert og i slike preparater vanlige faste eller flytende bærestoffer.

Midlene kan administreres enteralt eller parenteralt. For den enterale administrasjon egner seg f.eks. midler i form av tabletter, kapsler, dragéer, sirup, suspensjoner, løsninger og suppositorier. For den parenterale administrasjonen

egner seg midler i form av infusjons- eller injeksjonsløsninger.

Doseringen ved administrasjonen av forbindelsen kan variere alt etter anvendelsesområdet og den enkelte pasients behov.

Forbindelsene ifølge fremgangsmåten kan administreres i mengder opptil 1000 mg daglig i en eller flere doser.

En foretrukket administrasjonsform er kapsler med et innhold fra ca. 20 mg til ca. 200 mg aktivstoff. Egnede former er kapsler av hard- eller mykgelatin, metylcellulose eller av et annet egnet materiale, som løses lett i fordøyelsessystemet.

Preparatene kan inneholde inerte eller også medisinsk aktive tilsetningsstoffer. Tabletter eller granulater kan f.eks. inneholde en rekke bindemidler, fyllstoffer, bærestoffer eller fortynningsmidler. Flytende stoffer kan f.eks. foreligge i form av en steril og med vann blandbar løsning. Kapsler kan foruten aktivstoff i tillegg inneholde et fyllmateriale eller fortykningsmiddel. Dessuten kan de inneholde smaksforbedrende tilsetninger, såvel som de vanlige konserverings-, stabiliserings-, fuktholdende- eller emulgeringsmidler. Videre kan de inneholde salter for å forandre det osmotiske trykket, puffer eller andre tilsetninger.

De foran nevnte bærestoffene og fortynningsmidlene kan være organiske eller uorganiske stoffer, f.eks. vann, gelatin, melkesukker, stivelse, magnesiumstearat, talkum, gummi arabicum, polyalkylenglykoler og lignende. En forutsetning er at de ved fremstilling av preparatene anvendte hjelpestoffene er ikke-toksiske.

For topisk anvendelse kan de fremstilte produktene hensiktsmessig anvendes i form av salver, tinkturer, krem, løsninger, "lotions", spray, suspensjoner og lignende. Foretrukket er salver, krem og løsninger. Disse for topisk anvendelse benyttede preparater kan fremstilles ved at man til de fremstilte produkter, hvilke tjener som aktive bestanddeler, tilsetter ikke-toksiske inerte, for den topiske behandling

133802

10

egnede og i slike preparater vanlige faste eller flytende bærestoffer.

Det er hensiktsmessig ved topisk anvendelse å benytte 1 til ca. 10%'ige, fortrinnsvis ca. 2 til ca. 5%'ige løsninger, og ca. 1 til ca. 10%'ig, fortrinnsvis ca. 2 til ca. 5%'ig salve eller krem.

De fremstilte produkter kan også anvendes sammen med et antioksydasjonsmiddel. Av disse kommer særlig tocoferol, N-metyl- γ -tocoferamin, såvel som butylert hydroksyanisol, butylert hydroksytoluen eller etoksykinolin, i betraktning.

EKSEMPEL 1

60 vektsdeler etylamin og 300 volumdeler absolutt eter omrøres under iskjöling i nitrogenatmosfære, og til dette tildryppes 30 minutter syrekloridet av 30 vektsdeler vitamin A-syre i 100 volumdeler absolutt eter. Man rører 4 timer ved romtemperatur, og derefter rører man 2 timer under tilbakelöp. Man avkjöler blandingen, fortynner med 1000 volumdeler eter og vasker 4 ganger med hver gang 100 volumdeler vann. Eterlösningen törkes over natriumsulfat, opplösningsmidlet avdampes og resten krystalliseres i en benzen-heksan-blanding. Man erholder vitamin A-syreetylamid med et smp. på 137 - 138°C; $\lambda_{\text{maks}} = 347 \text{ m}\mu$, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1540$.

EKSEMPEL 2

Analogt eksempel 1 kan fölgende substituerte vitamin A-syre-amider fremstilles:

- vitamin A-syremetylamid
smp. 174°-175°; $\lambda_{\text{maks}} = 345 \text{ m}\mu$, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1645$
- vitamin A-syreisopropylamid
smp. 134°-135°; $\lambda_{\text{maks}} = 345 \text{ m}\mu$, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1515$
- vitamin A-syrebutylamid
smp. 92°-93°C; $\lambda_{\text{maks}} = 347 \text{ m}\mu$, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1430$

- vitamin A-syremetylpropylamid		
smp. 112°-113°C; λ_{maks} 347 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1462	
- vitamin A-syre-n-decylamid		
smp. 71°-72°C; λ_{maks} 347 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1163	
- vitamin A-syreetanolamid		
smp. 138-139°C; λ_{maks} 347 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1475	
- vitamin A-syrefenylamid		
smp. 146-147°C; λ_{maks} 362 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1450	
- vitamin A-syredifenylamid		
smp. 116°-117°C; λ_{maks} 368 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1130	
- vitamin A-syrebenzylamid		
smp. 104°-105°C; λ_{maks} 350 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1220	
- vitamin A-syre-2-dietylaminøetylamid		
smp. 86-87°C; λ_{maks} 347 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1310	
- vitamin A-syre-2-metoksyetylamid		
smp. 86°C; λ_{maks} 348 m μ , E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$	1352	

EKSEMPEL 3

Analogt eksempel 1 fremstilles vitamin A-syredietylamidet. For å rense dette stoffet, blir det kromatografert ved hjelp av 600 g aluminiumoksyd (aktivitet III nøytral) og ved hjelp av heksan, hvorved man etter å ha isolert en forfraksjon erholder det rene amidet sammen med heksan. Etter å ha fjernet oppløsningsmidlet erholder man vitamin A-syredietylamidet i form av en olje. λ_{maks} 340 m μ E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$ 1300.

EKSEMPEL 4

Analogt eksemplene 1 og 3 kan følgende substituerte vitamin A-syreamider fremstilles:

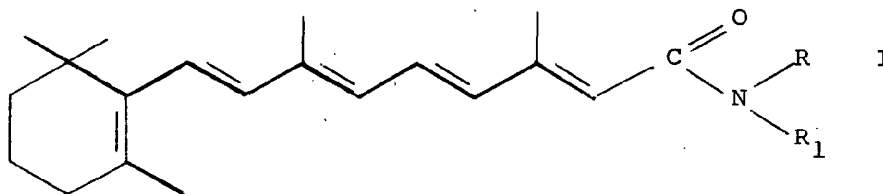
133802

12

- vitamin A-syre-di-n-butylamid
 $\lambda_{\text{maks}} \quad 337 \text{ m}\mu \quad E_1^{1\%} \text{ cm} \quad 985$
- vitamin A-syre-di-n-decylamid
 $\lambda_{\text{maks}} \quad 337 \text{ m}\mu \quad E_1^{1\%} \text{ cm} \quad 775$

P a t e n t k r a v

Analogifremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk virksomme vitamin A-syreamid av den generelle formel



hvor R og R₁ hver betyr en eventuelt med en lavere alkoksygruppe eller en di-laverealkylamino-gruppe substituert alkylgruppe med 1 - 10 karbonatomer, en hydrokso-laverealkylgruppe, eller en fenyl- eller benzylgruppe,

hvorved R i tillegg betyr hydrogen,

k a r a k t e r i s e r t v e d at man omsetter vitamin A-syre eller et funksjonelt derivat av denne med et amin av den generelle formel,



hvor R og R₁ har de ovenfor angitte betydninger.