



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

214794
(11) (B2)

(22) Přihlášeno 14 05 79
(21) (PV 6477-80)

(32) (31) (33) Právo přednosti od 15 05 78
(905667) Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 10 09 81

(45) Vydáno 15 09 84

(51) Int. Cl.³
C 07 D 519/04
//A 61 K 31/475

(72)

Autör vynálezu

CONRAD ROBERT ALLEN a GERZON KOERT, INDIANAPOLIS, INDIANA
(Sp. st. a.)

(73)

Majitel patentu

ELI LILLY AND COMPANY, INDIANAPOLIS, INDIANA (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby poloamidů dimerních indol-dihydroindolových derivátů z rodu Vinca, spojených můstkem

1

Bylo zjištěno, že některé přírodní alkaloidy získávané z rostlin druhu Vinca rosea [Catharanthus roseus don. — alkaloidy z rodu Catharanthus nebo Vinca] jsou účinné při léčbě experimentálních nádorových onemocnění živočichů. Mezi tyto sloučeniny náležejí leurosín (viz americký patentový spis č. 3 370 057), vinkaleukoblastin (vinblastin) — dále označovaný jako VLB (viz americký patentový spis č. 3 097 137), leuroformin (viz belgický patentový spis č. 811 110), leurosidin (vinrosidin) a leurokristin (dále označovaný jako vinkristin [oba viz americký patentový spis č. 3 205 220], deoxy-VLB „A“ a „B“ [viz Tetrahedron Letters, 783 (1958)], 4-deacetylvinblastin (viz americký patentový spis č. 3 954 773), 4-deacetoxy-3'-hydroxyvinblastin (viz americký patentový spis č. 3 944 554), leurokolombin (viz americký patentový spis č. 3 890 325) a vinkadiolin (viz americký patentový spis č. 3 887 565). Dva z těchto alkaloidů, a to VLB a vinkristin, jsou v současné době na trhu jako prostředky k léčbě nádorových onemocnění, zejména leukemií a příbuzných chorob člověka. Tyto dva komerční alkaloidy se obvykle podávají intravenózně.

Chemické modifikace alkaloidů z rodu Vinca byly poněkud omezeny určitými okolnostmi. V první řadě je třeba vzít v úvahu,

2

že struktura molekuly těchto látek je neobvykle složitá a že je tedy velmi obtížné vyvinout chemické reakce, kterými by byla modifikována jedna konkrétní funkční skupina v molekule bez ovlivnění jiných skupin. V druhé řadě pak přichází v úvahu skutečnost, že z frakcí získaných z rostlin druhu Vinca rosea nebo z alkaloidů z těchto rostlin byly izolovány nebo vyrobeny dimerní alkaloidy postrádající žádané chemoterapeutické vlastnosti a stanovení jejich struktury vedlo k závěru, že tyto sloučeniny jsou úzce příbuzné s aktivními alkaloidy, od nichž se často liší jen stereochemií na jediném uhlíku. Antineoplastická účinnost se tedy zdála být omezena jen na velmi specifické základní struktury a v soulase s tím se naděje na získání účinnějších léčiv modifikací těchto struktur zdály jen velmi malé. Mezi úspěšné modifikace fyziologicky účinných alkaloidů náleží příprava 6,7-dihydro-VLB (viz americký patentový spis č. 3 352 868) a náhrada acetylové skupiny na C₄ [uhlík v poloze 4 cyklického systému VLB — viz níže uvedené číslování] vyšší alkanoylovou skupinou nebo nepříbuznými acylovými skupinami (viz americký patentový spis číslo 3 392 173). Některé z těchto C₄-derivátů jsou schopné prodloužit život myši inokulovaných leukemií P1534. Jeden z těchto C₄-derivátů, v němž je C₄-acetylová skupina VLB nahrazena chloracetylovou skupinou, je rovněž

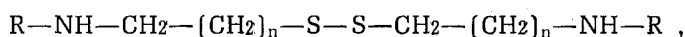
užitečným meziproduktem pro přípravu strukturně modifikovaných derivátů VLB, v nichž C4-acetylovou skupinu VLB nahrazuje N,N-dialkylglycylová skupina (viz americký patentový spis č. 3 387 001).

Byly rovněž připraveny C3-karboxamidové a -karboxyhydrazidové deriváty VLB, vinkristinu, vinkadiolinu apod., a bylo zjištěno, že jsou účinné proti nádorovým onemocněním (viz belgický patentový spis č. 858 451).

Tyto sloučeniny jsou neobyčejně zajímavé, protože například 3-karboxamidy VLB jsou účinnější proti Ridgewayově osteogennímu sarkomu a Gardnerovu lymfosarkomu než samotný VLB, tedy než základní alka-

loid, z něhož byly odvozeny. Určité z těchto aminoderivátů se co do účinnosti přibližují účinnosti vinkristinu proti stejným nádorům. Jeden z těchto amidů, a to C3-karboxamid 4-deacetyl-VLB (vindesin), je v současné době v klinických zkouškách na lidech a zdá se, že je méně neurotický než vinkristin a že je účinný proti leukémiím, včetně leukémií rezistentních na vinkristin.

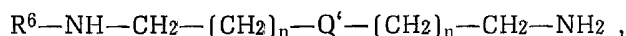
V belgickém patentovém spisu č. 858 541 jsou popsány a chráněny bis-deriváty dimerních sloučenin z rodu Vinca, spojené můstkem, které je možno popsat obecným vzorcem



ve kterém R znamená zbytek dimerního alkaloidu z rodu Vinca, obsahujícího karboxylovou skupinu na C3, a n má hodnotu 1 až 5. Bylo zjištěno, že sloučeniny této struktury jsou hlavními produkty reakce C3-karboxazidu sloučeniny z rodu Vinca ($R-N_3$) a sloučeniny vzorce $NH_2-CH_2-CH_2-SH$, a předpokládá se, že vznikají oxidací karboxamidoethylmerkaptanové skupiny na C3 vzduchem, jako je tomu u systému cystein-

-cystin. Tato oxidace je pochopitelně omezena na tvorbu disulfidické vazby z merkaptoalkylamidu a není obecně použitelná k syntéze jiných bis-derivátů dimerních sloučenin z rodu Catharanthus, spojených můstkem.

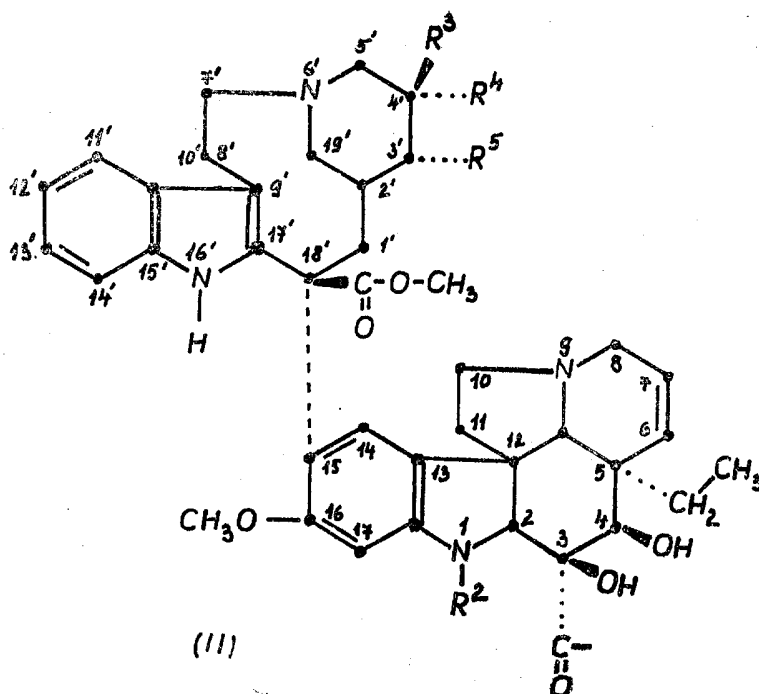
Předmětem vynálezu je způsob výroby poloamidů dimerních indol-dihydroindolových derivátů z rodu Vinca, spojených můstkem, obecného vzorce IIA,



(IIA)

ve kterém

R^6 představuje indol-dihydroindolovou parciální strukturu obecného vzorce II,



kde

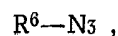
R^2 znamená methylovou skupinu nebo atom vodíku,

jeden ze symbolů R^3 a R^4 znamená hydroxylovou skupinu nebo atom vodíku a druhý představuje ethylovou skupinu, a

R^5 znamená atom vodíku,

Q' představuje skupinu S nebo S—S, a n má hodnotu 0, 1 nebo 2,

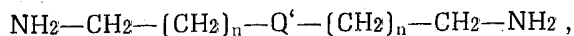
a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se azid obecného vzorce



ve kterém

R^6 znamená zbytek indol-dihydroindolového alkaloidu shora uvedeného obecného vzorce II, kde R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají shora uvedený význam,

nechá reagovat s diaminem obecného vzorce



ve kterém

Q' a n mají shora uvedený význam, v poměru 1 mol sloučeniny obecného vzorce R^6-N_3 na každý mol diaminu shora uvedeného obecného vzorce, načež se výsledná sloučenina popřípadě převede na svoji farmaceuticky upotřebitelnou adiční sůl s kyselinou.

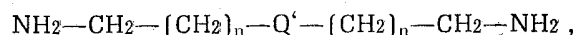
Mezi netoxické kyseliny použitelné pro přípravu farmaceuticky použitelných adičních solí sloučenin obecného vzorce IIA s kyselinami náleží anorganické kyseliny, jako kyselina chlorovodíková, dusičná, fosforečná, sírová, bromovodíková, jodovodíková, dusitá a fosforečná, jakož i netoxické organické kyseliny, včetně alifatických mono- a dikarboxylových kyselin, fenylsubstituovaných alkanových kyselin, hydroxyalkanových a alkandiových kyselin, aromatických kyselin a alifatických a aromatických sulfonových kyselin. Mezi tyto farmaceuticky upotřebitelné soli náleží tedy například sulfáty, pyrosulfáty, bisulfáty, sulfity, bisulfity, nitráty, fosfáty, monohydrogenfosfáty, dihydrogenfosfáty, metafosfáty, pyrofosfáty, chloridy, bromidy, jodidy, acetáty, propionáty, dekanoáty, kapryláty, acyláty, formiáty, isobutyráty, kapronáty, heptanoáty, propioláty, oxaláty, malonáty, sukcináty, suberáty, sebakáty, fumaráty, maleáty, benzoáty, chlorbenzoáty, methylbenzoáty, dinitrobenzoáty, hydroxybenzoáty, methoxybenzoáty, ftaláty, tereftaláty, benzensulfonáty, toluensulfonáty, chlorbenzensulfonáty, xylensulfonáty, fenylacetáty, fenylpropionáty, fenylbutyráty, citráty, laktáty, 2-hydroxybutyráty, glykoláty, soli s kyselinou jablčnou, tartráty, methansulfonáty, propan-sulfonáty, 1-naftalensulfonáty a 2-naftalensulfonáty.

Jako příklad způsobu podle vynálezu se uvádí následující postup, při němž se jako základní výchozí látka používá VLB:

VLB se nechá reagovat s bezvodým hydrazinem v inertním rozpouštědle rozpouštějícím obě tyto reakční složky, jako v nižším alkoholu, v uzavřené reakční nádobě. Reakční směs se obvykle zahřívá na teplotu v rozmezí od 40 do 100 °C po dobu od 12 do 48 hodin, během kteréžto doby je reakce prakticky ukončena. Produktem reakce je 4-deacetyl-VLB-C3-karboxhydrazid, protože reakce s hydrazinem vede nejen ke konverzi esterové skupiny na C3 na hydrazidové seskupení, ale za zásaditých reakčních podmínek i k hydrolýze acetylové skupiny na C4 na skupinu hydroxylovou. Jiné esterové skupiny v molekule nejsou za shora uvedených

reakčních podmínek napadány, pouze s tím, že obvykle vzniká i určité množství 18'-de-methoxykarbonylderivátu. Hlavním produktem reakce je nicméně 4-deacetyl-VLB-C3-karboxhydrazid. Analogickým způsobem se připraví 4-deacetyl-C3-karboxhydrazidy deoxy-VLB „A“ a „B“ a leurosidiu. Takto vzniklé karboxhydrazidy se pak působením dusitanu sodného v kyselině převádějí na odpovídající azidy. Produkt této reakce se obvykle používá v tom stavu, v jakém byl izolován z reakční směsi, protože bylo zjištěno, že k dosažení přiměřeného výtěžku žádaného bisamidu není nutno azid čistit.

Reakcí 1 molu takto získaného azidu s 1 molem diaminu obecného vzorce



kde Q' má shora definovaný význam, za standardních reakčních podmínek reakce azidu a aminu, popsanych v belgickém patentovém spisu č. 858 451 se získají žádané produkty obecného vzorce IIA.

Vzniklý poloamid obecného vzorce IIA lze snadno oddělit od popřípadě současně vzniklého bisamidu a lze jej vyčistit a charakterizovat běžným způsobem. V praxi obvykle vzniká poloamid jako vedlejší produkt vedle žádaného bisamidu i v těch případech, kdy se nechávají reagovat 2 moly azidu s 1 molem diaminu. 1 mol tohoto poloamidu se pak může podrobit reakci s 1 molem druhého azidu obecného vzorce R^6-N_3 , v němž zbytek ve významu symbolu R^6 je odlišný od zbytku již přítomného v poloamidu obecného vzorce IIA, za vzniku nesymetricky substituovaného bisamidu.

Poloamidy obecného vzorce IIA vyráběné způsobem podle vynálezu mají hlavní využití jako meziprodukty pro přípravu bisamidů vykazujících účinnost proti nádorovým onemocněním.

Výchozí látky používané při shora popsané syntéze se připravují následujícím způsobem.

Příprava výchozích látek

4-deacetyl-VLB-C3-karboxhydrazid

VLB se v bezvodém ethanolu zahřívá s nadbytkem bezvodého hydrazinu cca 18 hodin v uzavřené reakční nádobě na teplotu zhruba 60 °C. Reakční nádoba se ochladí, otevře se, její obsah se vyjme a těkavé podíly se odpaří ve vakuu. Zbytek obsahující 4-deacetyl-VLB-C3-karboxhydrazid se vyjme methyldichloridem, methyldichloridový roztok se promyje vodou, oddělí se a po vysušení se methyldichlorid odpaří ve vakuu. Zbytek se rozpustí ve směsi stejných dílů chloroformu a benzenu a chromatografuje se na silikagelu. Jako eluční činidlo se používá směs benzenu, chloroformu a triethylaminu. Počáteční chromatografické frakce obsahují nezreagované výchozí ma-

teriály spolu s 4-deacetyl-VLB vzniklým při reakci jako vedlejší produkt. Další frakce obsahují 4-deacetyl-18'-demethoxykarbonyl-VLB-C3-karboxhydrazid, který již dříve popsali Neuss a spol. v Tetrahedron Letters, 1968, 783. Následující frakce, které podle chromatografie na tenké vrstvě obsahují 4-deacetyl-VLB-C3-karboxhydrazid, se spojí a ve vakuu se z nich odpaří rozpouštědlo. Pevný zbytek taje za rozkladu zhruba při 219 až 220 °C.

4-deacetyl-VLB-C3-karboxazid

V 15 ml bezvodého methanolu se rozpustí 678 mg 4-deacetyl-VLB-C3-karboxhydrazidu, k roztoku se přidá ca 50 ml 1 N vodné kyseliny chlorovodíkové, výsledný roztok se ochladí zhruba na 0 °C, přidá se k němu ca 140 mg dusitanu sodného a reakční směs se 10 minut míchá za udržování teploty zhruba na 0 °C. Po přidání dusitanu sodného se roztok tmavě červenohnědě zbarví. Výsledná směs se zalkalizuje přidávkem nadbytku studeného 5% vodného roztoku kyselého uhlíkatu sodného a vodný roztok se třikrát extrahuje methylenchloridem. 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazid vzniklý při shora popsané reakci přejde do methylenchloridu a tato organická vrstva se oddělí. Takto získaný methylenchloridový roztok 4-deacetylvinblastin-C3-karboxazidu se obvykle používá bez dalšího čištění.

Vynález ilustruje následující příklad provedení, jímž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

Příklad

Příprava bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]disulfidu

8 g 4-deacetyl-VLB-C3-karboxhydrazidu ve vodné kyselině chlorovodíkové se nechá reagovat s dusitanem sodným za vzniku 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazidu. Azid vzniklý při této reakci se izoluje ve formě roztoku ve 400 ml methylenchloridu.

Do 500 ml methanolu, v němž je rozpuštěno 10,8 g methoxidu sodného, se vnese 22,5 gramu cystamin-dihydrochloridu, reakční směs se cca 4 hodiny míchá, načež se z ní

odpaří rozpouštědlo. Zbytek se asi 1 hodinu míchá s etherem a pak se směs zfiltruje. Odpařením etherového filtrátu ve vakuu k suchu se získá cca 10 g olejovitého zbytku tvořeného cystaminem ve formě volné báze.

K roztoku 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazidu v methylenchloridu se přidá 760 mg volné báze cystaminu v methylenchloridu. Po přidání 75 ml tetrahydrofuranu se reakční směs za vyloučení přístupu světla zhruba 16 hodin míchá při teplotě místnosti, pak se zfiltruje a filtrát se odpaří ve vakuu k suchu. Zbytek obsahující bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]disulfid se rozpustí v methylenchloridu, roztok se promyje vodou a vysuší se. Zbytek po odpaření methylenchloridu obsahuje podle chromatografie na tenké vrstvě v rozpouštědlovém systému methylenchlorid-methanol-ethylacetát (1:1:1) dva hlavní produkty. Zbytek se podrobí chromatografii na silikagelu za použití shora zmíněného systému rozpouštědel jako elučního činidla. Frakce, které podle chromatografie na tenké vrstvě obsahují bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]disulfid, se spojí a odpaří se z nich rozpouštědlo. Získá se 2,8 g žádaného produktu. Další hlavní reakční produkt se rovněž izoluje a vyčistí. Tímto produktem je reakční produkt 1 molu 4-deacetyl-VLB-C3-karboxazidu a cystaminu, tedy 4-deacetyl-VLB-C3-N-2-(2-aminoethylthio)ethylkarboxamid. Vyšších výtěžků tohoto produktu se dosáhne v případě, že se 1 mol azidu nechá reagovat s 1 molem cystaminu.

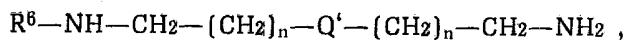
Takto připravený bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]disulfid je identický s produktem získaným postupem popsaným v belgickém patentovém spisu číslo 858 451.

Disulfát bis[β-(4-deacetyl-VLB-C3-karboxamido)ethyl]disulfidu se připraví v ethanolu přidávkem stechiometrického množství 2% (objem/objem) ethanolické kyseliny sírové. Disulfát se rovněž připraví titrací roztoku báze 2% ethanolickou kyselinou sírovou až do bodu, kdy alikvotní část roztoku, zředěná 5 objemy vody, má hodnotu pH v rozmezí od 3,0 do 3,5. Kterýmkoliv z těchto postupů se po odpaření ethanolu získá špinavě bílá amorfnní sůl.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby poloamidů dimerních indol-dihydroindolových derivátů z rodu Vin-

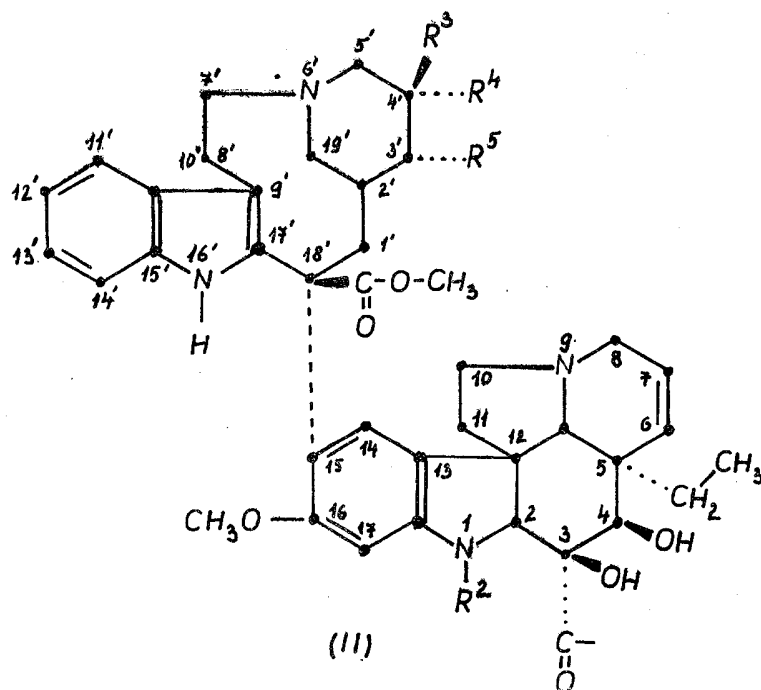
ca, spojených můstkem, obecného vzorce IIA,



(IIA)

ve kterém

R⁶ představuje indol-dihydroindolovou partiální strukturu obecného vzorce II,



kde

R^2 znamená methylovou skupinu nebo atom vodíku,

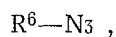
jeden ze symbolů R^3 a R^4 znamená hydroxylovou skupinu nebo atom vodíku a druhý představuje ethylovou skupinu, a

R^5 znamená atom vodíku,

Q' představuje skupinu S nebo S—S a

n má hodnotu 0, 1 nebo 2,

a jejich farmaceuticky upotřebitelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se azid obecného vzorce

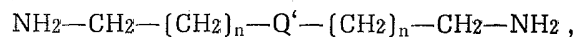


ve kterém

R^6 znamená zbytek indol-dihydroindolové-

ho alkaloidu shora uvedeného obecného vzorce II, kde R^2 , R^3 , R^4 a R^5 mají shora uvedený význam,

nechá reagovat s diaminem obecného vzorce



ve kterém

Q' a n mají shora uvedený význam, v poměru 1 mol sloučeniny obecného vzorce R^6-N_3 na každý mol diaminu shora uvedeného obecného vzorce, načež se výsledná sloučenina popřípadě převede na svoji farmaceuticky upotřebitelnou adiční sůl s kyselinou.