

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 823169 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **823169**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
**C07H 15/252
C07D309/30**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **14.09.1982**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **14.09.1982**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **19.03.1983**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

18.09.1981 GB 81.28252

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Farmitalia Carlo Erba S.p.A, via Carlo Imbonati 24 20159 Milano, Italia, ITALIA, (IT)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Cassinelli, Giuseppe, Italia, ITALIA, (IT)

2 •Arcamone, Federico, Nerviano, ITALIA, (IT)

3 •Casazza, Anna Maria, Italia, ITALIA, (IT)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Heinänen Oy Patenttitoimisto, Airport Plaza, Äyritie 8 D, 01510 Vantaa

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Antrasykliniantibioottien 3'- deaminoanalogit, niiden valmistusmenetelmä, koostumus sekä käyttö.

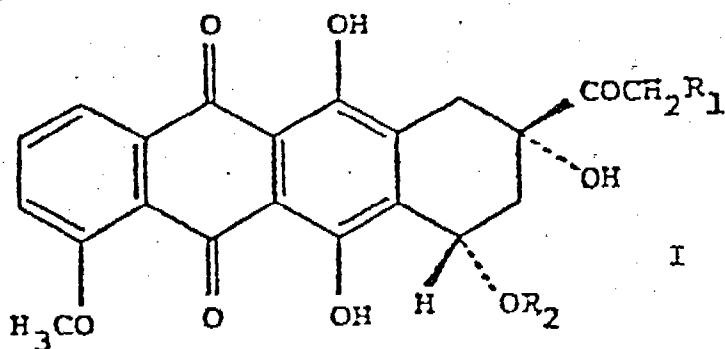
3'-deaminoanaloger av antracyklinantibiotika, förfarande för deras framställning, kompositiooch användning därav.

ANTRASYKLIINIANTIBIOOTTINEN 3'-DEAMINOANALOGIT, NIIDEN VALMISTUSMENETELMÄ, KOOSTUMUS JA KÄYTTÖ - 3'-DEAMINOANALOGER AV ANTRACYKLINANTIBIOTIKA, FÖRFARANDE FÖR DERAS FRAMSTÄLLNING, KOMPOSITION OCH ANVÄNDNING DÄRAV

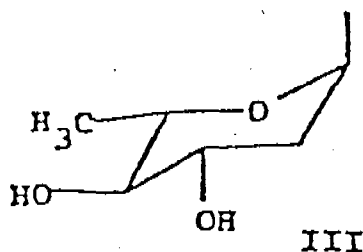
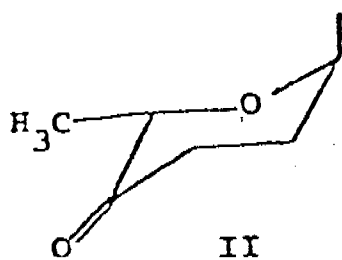
Keksintö on yhteydessä daunorubisiiniin ja doksorubisiiniin yhteydessä olevien glykosiidisten antrasykliiniantibioottien luokkaan, niiden valmistukseen, niitä sisältäviin farmaseutisiin valmisteisiin ja niiden käyttöön tiettyjen nisäkäskasvaimien hoidossa.

Daunorubisiini ja doksorubisiini, joihin tässä olevan keksinnön yhdisteet ovat yhteydessä, sekä tunnetaan että niitä käytetään antituumoriantibiootteina ja molempia kuvaillaan laajasti kirjallisuudessa. Edelleen, tässä olevien yhdisteiden lähtöaineet 3',4'-diepi-daunorubisiini ja 3',4'-diepi-doksorubisiini ovat molemmat tunnettuja yhdisteitä, mitkä on kuvailtu US-patentissa 4,112,076 (5.9.1978), jonka omistaa muistiin merkitsemätön luovutuksen saaja.

Keksintö antaa, sen yhdeltä kannalta, kaavaa I olevien antrasykliiniglykosidien uuden ryhmän,



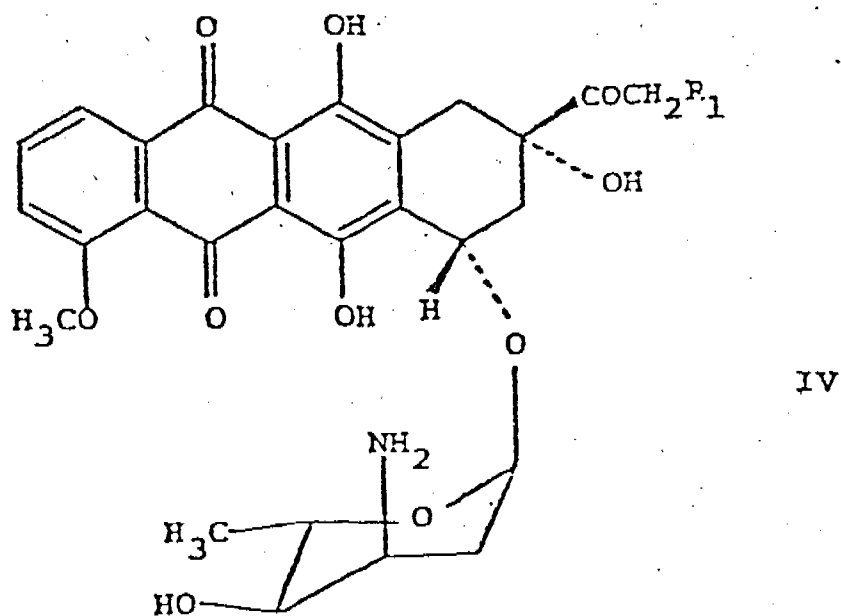
jossa R_1 on vety tai hydroksi ja R_2 on α -L-pyranosyylijäämä kaavaa II tai III



Nämä antrasykliiniglykosidit sisältävät neutraalin glykosidiosan, joko 2,3,6-trideoksi- α -L-glysero-heksopyranosidi-4-ulosyyli (α -L-sinerulosyyli II) tai 2,6-dideoksi- α -L-arabiino-heksopyranosyyli (III) ja ne nimetään seuraavasti:

- 1) 3'-deamino-4'-dehydro-daunorubisiini (I:R₁=H; R₂=II) (tästä eteenpäin yhdiste I-A)
- 2) 3'-deamino-3'-hydroksi-4'-epi-daunorubisiini (I:R₁=H, R₂=III) (tästä eteenpäin yhdiste I-B)
- 3) 3'-deamino-4'-dehydro-doksorubisiini (I:R₁=OH, R₂=II) (tästä eteenpäin yhdiste I-C)
- 4) 3'-deamino-3'-hydroksi-4'-epi-doksorubisiini (I:R₁=OH, R₂=III) (tästä eteenpäin yhdiste I-D).

Toiselta kannalta, keksintö antaa menetelmän keksinnön antrasykliiniglykosidien valmistamiseksi. Uudet yhdisteet valmistetaan 3',4'-diepi-daunorubisiinistä (IV, R₁=H) ja 3',4'-diepi-doksorubisiinistä (IV, R₁=OH), molemmat tunnettuja antrasykliiniglykosideja kuvailtu edellä mainitussa US-patentissa 4,112,076 (5.9. 1978).



Menetelmä uusien yhdisteiden valmistamiseksi sisältää kaavaa IV, jossa aksiaalinen aminoryhmä on ekvatoriaalisen hydroksiryhmän vieressä, olevien antrasykliiniglykosidien deaminoinnin edeten diatsotoidun välituotteen kautta antamaan yhdisteet I-A ja I-C

hydridin kulkeutumisen C-4' asemasta seurauksena ja yhdisteet I-B ja I-D yksinkertaisesti veden nukleofiilisen liittymisen C-3' asemaan seurauksena.

Deaminointireaktio suoritetaan mieluiten natriumnitriitillä kylmässä vedellisessä happoympäristössä, mutta se voidaan vaihtoehtoisesti suorittaa typpitrioksidilla tai alkyylinitriiteillä kylmässä vesi- tai alkoholiympäristössä.

Keksinnön antrasykliiniglykosideilla on antituumorivaikutusta. Erityisesti, 3'-deamino-3'-hydroksi-4'-epi-doksorubisiini (I-D) osoittaa huomattavaa vaikutusta hiirillä koekasvaimiin. Niinpä, keksintö vielä muulta kannalta antaa farmaseuttisia yhdisteitä sisältäen kaavan I antrasykliiniglykosidiä terapeuttisesti tehokkaan määrän lisättynä farmaseuttisesti kelvollisella laimentimella tai kantoaineella, ja antaa tiettyjen nisäkäskasvaimien käsittelymenetelmiä sisältäen sanottujen yhdisteiden terapeuttisesti tehokkaiden määrien antamisen kasvaimesta kärsivälle.

Keksintöä kuvataan nyt yksityiskohtaisemmin seuraavissa valmistavissa esimerkeissä ja biologisissa tiedoissa.

ESIMERKKI 1

3'-deamino-4'-dehydro-daunorubisiini (I-A) ja 3'-deamino-3'-hydroksi-4'-epi-daunorubisiini (I-B).

0,55 g liuosta; 1 mmol 3',4'-diepi-daunorubisiini-hydrokloridia ($IV:R_1=H$) 25 ml:ssa vettä, jäähdytettiin $0^{\circ}C$:een ja käsiteltiin sitten 0,72 g:lla; 7,5 mmol natriumnitriittiä ja 7,5 ml 1-N etikkahappoa useissa erissä 20 min ajan sekoittaen sellaisella nopeudella että lämpötila ei ylittänyt 0° . Oltuaan 3 tuntia 0° :ssa reaktioseos sisältäen punaisen värisen sakan tuotiin huoneen lämpötilaan. Typpeä poreilutettiin liuoksen läpi poistamaan ylimäärä typpihapoketta ja liuos sitten uutettiin kloroformilla. Kloroformiute pestiin vedellä, kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla, haihdutettiin pieneen tilavuuteen ja kromatografioitiin silicageelikolonissa. Kolonnin eluointi kloroformilla tuotti 3'-deamino-4'-dehydro-daunorubisiiniä (I-A) amorffisessa muodossa, jossa on s.p. 143-144 % (hajoten); $[\alpha]_D^{23} = +190^{\circ}$

($c=0,05$ metanolissa). UV- ja näkyvän valon spektrit: $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 235, 253, 290, 480, 496 ja 530 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 808, 557, 188, 236, 242 ja 143). FD-massa spektri: m/z 510 (M^{+}); 398 ja 562. $^1\text{H-NMR}$ -spektri (CDCl_3): 1,36 (d, $J=6,5$ Hz, 3H, CH_3-5'); 1,70-2,40 (m, 6H, H-8, H-2', H-3'); 2,41 (s, 3H, COCH_3); 2,97 (d, $J=19,5$ Hz, 1H, H-10_{ax}); 3,25 (dd, $J=19,5$ Hz, 1H, H-10_{eq}); 4,09 (s, 3H, OCH_3); 4,40 (q, $J=6,5$ Hz, 1H, H-5'); 4,62 (s, 1H, OH-9); 5,41 (m, 1H, H-7); 5,67 (t, $J=6,0$ Hz, 1H, H-1'); 7,30-8,10 (m, 3H, aromaattisia protoneja); 13,29; 14,01 δ (2s, 2H, OH-6, OH-11).

Kolonnin edelleen eluointi 97:3-kloroformi:asetoniseoksella antoi 3'-deamino-3'-hydroksi-4'-epi-daunorubisiini (I-B), jolla on s.p. 165-170°C (hajoten), $[\alpha]_D^{20} = +350^\circ$ ($c=0,025$, metanolissa). UV- ja näkyvän valon spektrit: $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 235, 254, 290, 480, 496 ja 530 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 714, 509, 154, 226, 231 ja 142). FD-massa spektrit m/z 528 (M^{+}); 398, 362. $^1\text{H-NMR}$ -spektri (CDCl_3): 1,36 (d, $J=6,0$ Hz, 3H, CH_3-5'); 1,60-2,40 (m, 4H, H-8, H-2'); 2,41 (s, 3H, COCH_3); 2,86 ja 3,30 (2d, $J=19$ Hz, 2H, H-10); 3,5-4,0 (m, 2H, H-3', H-4'); 4,07 (s, 3H, OCH_3); 4,65 (m, 1H, H-5'); 5,25 (m, 1H, H-7); 5,48 (m, 1H, H-1'); 7,30-8,10 (m, 3H, aromaattisia protoneja), 13,26; 13,98 δ (2s, 2H, OH-6, OH-11).

ESIMERKKI 2

3'-deamino-4'-dehydro-doksorubisiini (I-C) ja 3'-deamino-3'-hydroksi-4'-epi-doksorubisiini (I-D).

Otsikkoyhdisteiden (I-C) ja (I-D) valmistus lähtien 3',4'-diepi-doksorubisiinistä (IV: $R_1=H$) suoritettiin esimerkissä I kuvatun menettelyn mukaisesti.

3'-deamino-4'-dehydro-doksorubisiini (I-C) saatiin punaisen värisenä pulverina, jolla on s.p. 140°C (hajoten) $[\alpha]_D^{20} = +145$ ($c=0,046$ metanolissa). UV- ja näkyvän valon spektrit $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 235, 254, 480, 496 ja 530 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 690, 490, 190, 228, 230, 140). FD-massaspektrit: m/z 526 (M^{+}), 414, 336. $^{13}\text{C-NMR}$ -spektri (CDCl_3): 13,9 (C-6'); 27,6 (C-2'); 33,1 (C-3'); 33,9 (C-10); 35,9 (C-8); 56,6 (O- CH_3); 65,4 (C-14); 68,9 (C-7); 71,3 (C-5'); 76,6 (C-9); 100,3 (C-1'); 118,5 (C-3); 119,8 (C-1, C-4a); 133,7 (C-6a, C-10a, C-12a); 135,8 (C-2); 155,6 (C-11); 156,1 (C-6); 161,0 (C-4); 186,9 (C-5, C-12); 210,3 (C-4') ja 213,9 δ (C-13).

Samoin, 3'-deamino-3'-hydroksi-4'-epi-doksorubisiini (I-D) saatiin punaisen värisenä pulverina, jolla on s.p. 176-180°C (hajoten): $[\alpha]_D^{23} = +280$ (c=0,046 metanolissa). UV- ja näkyvän valon spektrit $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 235, 254, 290, 480, 496 ja 532 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 674$, 478, 186, 223, 228 ja 148. FD-massaspektri: m/z 544 (M^{+}), 414, 378, 336. ^{13}C -NMR-spektri ($\text{CD}_3\text{OD}:\text{CDCl}_3$, 1:1 tilav.): 17,8 (C-6'); 33,9 (C-10); 36,3 (C-8); 38,0 (C-2'); 57,0 (OCH_3); 65,4 (C-14); 68,8 (C-7); 69,8 (C-3', C-4'); 77,0 (C-9); 77,9 (V-5'); 101,4 (C-1'); 119,3 (C-3, C-4a), 120,3 (C-1); 134,3 ja 135,8 (C-6a, C-10a, C-12a); 136,5 (C-2); 155,7 (C-6, C-11); 161,6 (C-4); 187,3 (C-12); 187,6 (C-5) ja 214,2 δ (C-13).

BIOLOGINEN TOIMELIAISUUS

Keksinnön uusien antrasykliinglykosidien solumyrkyllinen vaikutus koestettiin HeLa-soluihin "in vitro" (altistus aika 42 t/verrattuna daunorubisiiniin ja doksorubisiiniin). Tulokset esitetään taulukossa 1.

Taulukko 1

Bakteeripassivoimiskoe HeLa-soluihin "in vitro"

Yhdiste	ID_{50} (mg/ml)
Daunorubisiini.HCl	12
Yhdiste I-A	350
Yhdiste I-B	60
Doksorubisiini.HCl	11
Yhdiste I-C	40
Yhdiste I-D	25

Tämän keksinnön tietyt yhdisteet, kun koetettu P-388 ja L-1210 muriinileukemioihin, osoittivat ylivoimaisia tuloksia verrattuna daunorubisiiniin ja doksorubisiiniin, erikoisesti suunkautta annosteltuna. Tulokset antituumorivaikutuksesta eri muriinileukemioihin on annettu taulukoissa 2, 3 ja 4.

Taulukko 2.

Antituumorivaikutus P388 leukemiaan. Käsittely kohteeseen 1 pv.

Yhdiste	Annostus (mg/kg)	T/C ^a %	LTS ^b	c
Daunorubisiini ^d	2,9	170,150	0/9,0/10	0/9,0/10
	4,4	154,150,155	0/8,0/9,0/10	2/8,3/9,0/10
	6,6	145,150,160	0/8,0/9,0/10	7/8,5/9,0/10
Yhdiste I-A ^d	30,8	109	0/8	0/8
	30	127	0/8	0/8
	60	160,165	0/3,0/10	0/3,2/10
	78	95	0/10	5/10
	101	100	1/10	5/10
Daunorubisiini ^e	4,4	170	0/10	0/10
	6,6	160	0/10	6/10
Yhdiste I-B ^e	15	180	0/5	0/5
	20	290	0/5	0/5
	26	160	0/5	3/5
Doksorubisiini ^e	4,4	225	0/8	0/8
	6,6	290	1/8	0/8
	10	300	2/8	0/8
Yhdiste I-C ^e	10	170	2/10	0/10
	15	180	0/8	0/8
	22,5	210	0/8	0/8
	33,7	230	1/8	0/8
Doksorubisiini ^f	4,4	245,223	0/10,0/10	0/10,0/10
	6,6	255,258	1/10,0/10	0/10,0/10
	10	345,282	2/10,1/10	0/10,0/10
Yhdiste I-D ^f	6,6	250	1/10	0/10
	10	290	3/10	0/10
	15	>630,>658	6/10,6/10	0/10,1/10
	22,5	>630,>658	9/10,5/10	0/10,2/10
	33,7	194	3/10	5/10
	50,5	76	1/10	7/10

a) keskimääräinen elinaika: % käsittelemättömästä vertailusta

b) pitkän ajan kuluttua eloonjääneet (≥ 60 pv)

c) arvioitu autoptisiin havaintoihin kuolleilla hiirillä perustuen

d) kolmen kokeen tiedot

e) liuotettu 10%:een Tween 80

f) liuotettu tai suspensoitu veteen, kahden kokeen tiedot

Taulukko 3. Yhdisteen I-D vaikutukset hiirileukemiaan

Kasvain	Reitti	Käsittely			Yhdiste	Annostus mg/kg	T/C ^a %	LTS ^b	Toksisuus ^c kuolemät
		Täpa	pv	Liutotin					
Cross	suoneen	suoneen	1	H ₂ O	doksorubisiini	10	200	0/8	0/8
						13	241,275	0/18	1/18
						16,9	233,175	1/18	6/18
						13,3	183	0/7	0/7
						26,6	225	0/8	0/8
	suoneen	suun kautta	1	Tween ^e	yhdiste I-D	39,9	250	0/8	3/8
						26	133	0/7	0/7
						33,9	158	0/10	0/10
						44	158	0/10	0/10
						4,4	166	0/10	0/10
L1210	kohteeseen	kohteeseen	1	Tween ^e	doksorubisiini	6,6	166	0/10	0/10
						10	177	3/10	0/10
						8,8	>600	3/6	0/6
						13,3	505	3/8	0/6
						20	238	0/8	2/8
	suoneen	suoneen	1	Tween ^e	doksorubisiini	10	157	0/10	0/10
						13	178	0/10	0/10
						16,9	185	0/10	0/10
						13,3	185	0/9	0/10
						20	264	0/9	0/8
					yhdiste I-D	30	600	3/8	0/8

7

a,b,c: ks. taulukko 2 d kahden kokeen tiedot

e Tween 80 10 % H₂O:ssa

Taulukko 4.

Yhdisteen I-C vaikutus Gross-leukemiaan

Yhdiste	Liuotin	Tapa	Annostus (mg/kg)	T/C ^a %	LTS ^b	Toksise kuolema
Dokсорubisiini	Tween 80 ^d	suoneen	13 ^e	214,275,242	0/20	0/20
			16,9 ^e	228,175,250	1/28	8/28
Yhdiste I-C	Tween 80 ^d	suoneen	40 ^f	185,250	0/17	2/17
			48	116	0/10	7/10
			57,6	116	0/10	10/10
Yhdiste I-C	Tween 80 ^d	suun kautta	40	192	0/8	0/8
			48	200	0/8	0/8
			57,6	200	0/8	2/8

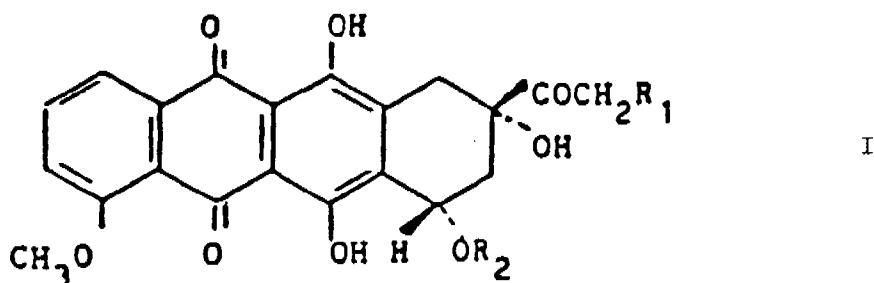
a,b,c: katso taulukko 2, d katso taulukko 3, e kolmen kokeen tiedot, f kahden kokeen tiedot

Vaihteluja ja muunnoksia voidaan tietenkin tehdä ilman että loitotaan keksinnön hengestä ja tarkoituksesta.

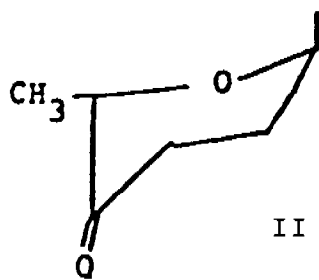
Ollen täten kuvailleet keksintöämme, jonka haluamme suojata patentilla ja tähän asiaan liittyen vaatimus on:

PATENTTIVAATIMUS

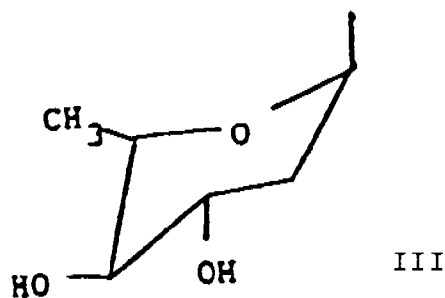
Analogiamenetelmä kaavan I mukaisen antrasykliiniglykosidin valmistamiseksi



missä R_1 on vety tai hydroksi ja R_2 on:



tai



t u n n e t t u siitä, että 3',4'-diepi-daunorubisiinihydrokloridin vesiliuos tai 3'-4'-diepi-doksorubisiinihydrokloridin vesiliuos saatetaan reagoimaan noin 0°C:ssa natriumnitriitin ja 1-N etikkahapon kanssa, jolloin saadaan, vastaavasti, a) kaavan I mukaisten glykosidien, joissa R_1 on H ja R_2 on II tai III, tai b) kaavan I mukaisten glykosidien, joissa R_1 on OH ja R_2 on II tai III deaminoitu seos, ja että sanotulle seokselle suoritetaan kromatografinen erotuskäsittely silikageelillä eluimalla ensin kloroformilla ja sitten kloroformi-asetoniseoksella 97:3 til/til, minkä avulla kaavan I mukainen yhdiste saadaan seoksesta vapaana emäksenä puhtaassa muodossa.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI _____

CH _____

DE _____

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE _____

US _____

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron
eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

KP

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Journal of The Chemical Society,
Chemical Communications, 1971, n: 18,

Ng Ying Kin, N.H.K., Williams, J.M.,

The nitrous acid deamination of methyl
4-amino-4-deoxy- α -D-galactopyranonide and
3-amino-3-deoxy- β -D-allopyranonide, p. 1123-
1124.

17.8.1988

Ulla Harty

Allekirjoitus