



(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 147069 B

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: 1806/79

(51) Int.Cl.³: C 07 C 143/68

(22) Indleveringsdag: 02 maj 1979

(41) Alm. tilgængelig: 04 nov 1979

(44) Fremlagt: 02 apr 1984

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 03 maj 1978 HU GO 1402

(71) Ansøger: *GYOGYSZERKUTATO INTEZET; Budapest IV., HU.

(72) Opfinder: Janos *Kuszmán; HU, Pal *Sohar; HU, Endre *Csanyi; HU, Emilia *Király; HU.

(74) Fuldmægtig: Ingeniørfirmaet Budde, Schou & Co

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af
1,6-dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol

(57) Sammendrag:

en delvis mesylering efterfulgt af en acylering og de-
acylere den fremkomne forbindelse med den almene formel



hvor R betyder en mættet, lavere aliphatisk gruppe, med
en sur alkohol.

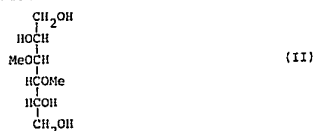
1806-79

1,6-Dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol med formelen I



hvor Ms betyder mesyl, og Me betyder methyl, er en hid-
til ukendt forbindelse, der i forhold til beslægtede for-
bindelser udviser en kraftigere cytostatisk virkning.

Forbindelsen fremstilles ved at underkaste et mannitol-
derivat med formelen II

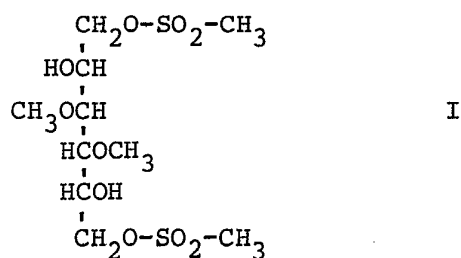


DK 147069 B

0

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af 1,6-dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol med formlen I

5



10

15

Forbindelsen med formlen I er hidtil ukendt. Den analoge forbindelse med en cyklisk ethergruppe i 3,4-stilling (dvs. 3,4-O-isopropylidenderivatet, der indeholder en dioxolanring) beskrives i Naturwissenschaften 46, 84 (1959) og Acta Chim. Hung. 25, 361-368 (1960). Biologiske undersøgelser har imidlertid vist, at 3,4-O-isopropylidenhexitoler, der indeholder cytostatiske grupper i 1- og 6-stilling er ineffektive (Chem. Ber. 92, 2506-2515 (1959), Arzneimittelforschung 17, 145-149 (1967)).

20

25

Det har nu uventet vist sig, at 1,6-dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol med formlen I er et overordentligt kraftigt virkende cytostatisk middel, der endog er mere effektivt end 1,6-dimesyl-D-mannitol, der indeholder frie hydroxygrupper ("Mannogranol"), 1,6-dibrom-1,6-didesoxy-D-mannitol ("Myelobromol") og 1,6-dibrom-1,6-didesoxydulcitol ("Elobromol"), det mest aktive af de i handelen gængse cytostatika af denne type.

30

Der er gennemført forsøg med forskellige transplanterbare tumorer hos mus og rotter. Der anvendes følgende tumortyper:

35

	Mus: SC-180 sc. sarcom	(fast)
	Harding-Passey melanom	"
	NK/Lymphom	(ascites)
	Ehrlich carcinom	"
5	P-388	(leukæmi)
	Rotte: Yoshida sc. sarcom	(fast)
	Walker sc. carcino-sarcom	"

Dyrene, der anvendes ved forsøgene, er følgende:

10	CFY rotter
	CFLP mus
	BDF ₁ mus (L-1210, P-388)

Forsøgene gennemføres hver gang med dyr af begge
 15 køn. Ved forsøgenes begyndelse er musenes gennemsnitlige
 legemsvægt 20-22 g, medens rotternes er 150-180 g. Dyrene
 holdes i plastbure og fodres med et standardfoder til
 laboratoriedyr (LATI, Gödöllő, Ungarn). Dyrene får vand
 ad libitum.

20 Faste tumorer overføres ved subkutan implantation
 af tumorstykker. Tumorer af ascitestypen overføres med
 10⁷ celler fra ascites, medens tumorer af leukæmitypen
 overføres med en milt-suspension. Behandlingen af dyrene
 startes 24 timer efter transplantationen, dog med und-
 25 tagelse af Harding-Passey melanom, hvor behandlingen
 startes på den 4. dag efter transplantationen. Resultater-
 ne er anført i tabel I til III.

Tabel I

Sammenligning af ED₅₀-værdier ved Yoshida sc. sarcom hos rotter

5	Forbindelse	ED ₅₀		Relativ Aktivitet	
		i.p.	p.o.	i.p.	p.o.
	1,6-Dimesyl-3,4-dimethyl-mannitol	20	70	1	1
10	1,6-dibrom-1,6-didesoxy-D-mannitol ("Myelobromol")	490	170	0,04	0,41
	1,6-dimesyl-D-mannitol ("Mannogranol")	500	600	0,04	0,116
15	1,6-dibrom-1,6-didesoxy-dulcitol ("Elobromol")	50	-	0,4	-

Tabel II

Tumor-inhiberende effekt på faste tumorer

20	Tumor	Forbindelse	Dosering mg/kg	Behandling ^x	Inhibering, %
	Walker sc. sarcom	1,6-dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol	10	5x i.p.	90
			10	5x p.o.	97
25		1,6-dibrom-1,6-didesoxy-dulcitol	100	6x i.p.	95 ^{xx}
	S-180 sc. sarcom	1,6-dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol	100	4x p.o.	50
			200	6x p.o.	70
30		1,6-dibrom-1,5-didesoxy-dulcitol	200	8x i.p.	57 ^{xx}
		1,6-dimesyl-1,6-didesoxy-D-mannitol	300	6x i.p.	31
			500	6x i.p.	toksisk
	Harding-P. melanom	1,6-dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol	30	10x p.o.	31
			100	10x p.o.	52
35		1,6-dibrom-1,6-didesoxy-dulcitol	200	13x i.p.	67

*Gennemført på grupper af 8 dyr

**Németh et al.: Cancer Chemother. Rep. 56, 593-602 (1972)

$$\text{Inhibering \%} = \frac{\text{tumorvægt hos behandlede dyr} \times 100}{\text{tumorvægt hos kontroldyr}}$$

5

Tabel III

Tumor-inhiberende effekt på ascites- og leukæmi-type-tumorer

Tumor	Forbindelse	Dosering mg/kg	Behand- ling	Forlæn- gelse af Helbre- vedetid	
				101	delse
NK/Ly	1,6-Dimesyl-3,4-di- lymphom methyl-D-mannitol	30	4x i.p.	101	
	1,6-Dibrom-1,6-di- desoxy-dulcitol	125	6x i.p.	90**	
Ehrlich	1,6-Dimesyl-3,4-di- asc. methyl-D-mannitol carcinom	100	4x i.p.	99,6	
	P-388	100	4x i.p.	82	0/8
leukæmi	1,6-Dimesyl-3,4-di- methyl-D-mannitol	100	4x i.p.	82	0/8

15

20

**Németh et al.: Cancer Chemother. Rep. 56, 593-602 (1972).

Helbredelse = tumorfri overlevelse i 90 dage efter trans-
plantationen.

25

$$\text{Forlængelse af levetid (\%)} = \frac{\text{levetid af behandlede dyr} \times 100}{\text{levetid af kontroldyr}}$$

30

Resultaterne i tabel I-III viser, at forbindelsen med formlen I inhiberer væksten af faste tumorer betydeligt. På disse tumorer udøver forbindelsen en betydelig inhibering, selv i meget lave doser i sammenligning med den toksiske, hvilket giver meget fordelagtige terapeutiske indices (LD_{50}/ED_{50}).

35

Da giftigheden af den omhandlede forbindelse og sammenligningsforbindelserne er af samme størrelsesorden, kan der beregnes relative aktivitetsværdier ved sammen-

ligning af ED_{50} -værdierne (jf. tabel I). Resultaterne af disse beregninger viser også utvetydigt den særdeles overlegne virkning af forbindelsen med formlen I.

Forbindelsen med formlen I har ligesom sammenligningsforbindelserne en svag antileukæmisk virkning. På Ehrlich ascites tumor udøver forbindelsen med formlen I imidlertid en helbredende virkning (jf. tabel III), medens sammenligningsforbindelsen kun har en moderat inhiberende virkning.

Den akutte giftighed (LD_{50} -værdien) af forbindelsen med formlen I, bestemt på CFLP og BDF_1 mus, er 1000 mg/kg efter intraperitoneal indgivelse og 1100 mg/kg efter oral indgivelse, hvilket viser den fremragende orale resorption af den omhandlede forbindelse. Forsøgene gennemføres med grupper på 10 mus (5 hanner og 5 hunner), og dyrene holdes under observation i 3 uger. Blandt sammenligningsforbindelserne er LD_{50} -værdien for f.eks. 1,6-dibrom-1,6-desoxy-dulcitol bestemt på de samme dyr hhv. 900 mg/kg (i.p.) og 1500 mg/kg (p.o.) (Németh et al.: Cancer Chemother. Rep. 56, 593-602 (1972)).

1,6-Dibrom-1,6-didesoxy-D-mannitol, 1,6-dimesyl-D-mannitol og 1,6-dibrom-1,6-didesoxy-dulcitol, der anvendes som sammenligningsforbindelser, udøver en karakteristisk virkning på hæmatopoiesis. Denne virkning er til sidst en ret stærk og selektiv indvirkning på dannelsen af myeloide leukocyter. En undersøgelse af forbindelsen med formlen I i denne henseende har vist, at dens virkning på hæmatopoiesis er svag, og til forskel fra det ovenfor angivne er virkningen ikke selektiv. Resultaterne af undersøgelsen af blodtællinger i det perifere kredsløb hos rotter er anført i tabel IV.

0

Tabel IV

Virkning på perifere blodtal hos rotter

Dosering mg/kg	Maksimalt fald i granulocyt- tal, %	Varighed af virk- ning, dage	Maksimalt fald i lymfocyt- tal, %	Varighed af virk- ning, dage
30	38,8	1	26	2
100	38,8	1	47	5
300	52,1	3 (4-7)	38	5

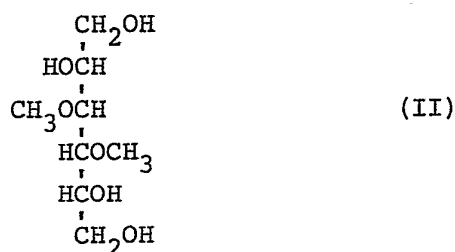
10

De ovenfor anførte forsøgsresultater viser, at forbindelsen med formelen I har en stærk cytostatisk virkning og en lav giftighed og kan anvendes med en høj grad af sikkerhed.

15

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af forbindelsen med formelen I er ejendommelig ved, at et mannitol-derivat med formelen II

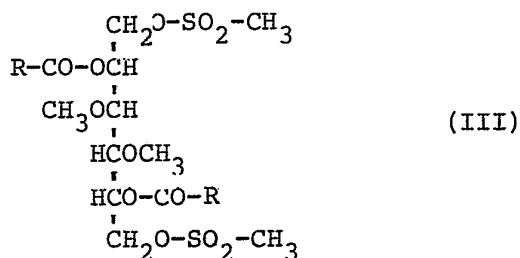
20



25

underkastes en delvis mesylering efterfulgt af en acylering, og den fremkomne forbindelse med den almene formel III

30



35

hvor R betyder mættet, lavere aliphatisk gruppe, deacyleres med en sur alkohol.

0

Der gås fortrinsvis frem på følgende måde:
3,4-di-O-methyl-D-mannitol, en forbindelse, der let
kan fremstilles ved metoder, der er kendt fra littera-
turen (Am. Chem. Soc. 76, 2701-2705 (1954), J. Org. Chem.
5 33, 3714-3718 (1968)) opløses i pyridin, og der sættes
2,2 ækvivalenter mesylchlorid til den afkølede opløsning.
Efter omsætningen tilsættes 3 ækvivalenter eddikesyre-
anhydrid. Den fremkomne ester (med formlen III, R =
methyl) isoleres ved at udhælde reaktionsblandingen i
10 vand og ekstrahere den fremkomne blanding med chloroform.
Stoffet, der fås efter inddampning af chloroformopløs-
ningen, koges på et dampbad i nærværelse af methanol,
der indeholder tørt, gasformigt hydrogenchlorid, til
fraspaltning af acetylgrupperne. Efter omsætningen ind-
15 dampes opløsningen, og det fremkomne rå produkt omkry-
stalliseres fra ethanol. På denne måde fås 1,6-di-O-
-mesyl-3,4-di-O-methyl-D-mannitol i godt udbytte.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses nærmere
ved hjælp af følgende eksempel.
20

Eksempel

Fremstilling af 1,6-di-O-mesyl-3,4-di-O-methyl-D-mannitol

Trin A: Fremstilling af 1,6-di-O-mesyl-2,5-di-O-acetyl-
25 -3,4-di-O-methyl-D-mannitol (formel III, R =
methyl).

105 g krystallinsk 3,4-dimethyl-D-mannitol med
formlen II (Am. Chem. Soc. 76, 2701-2705 (1954), J. Org.
Chem. 33, 3714-3718 (1968)) opløses i 1500 ml absolut
30 pyridin. Opløsningen afkøles til -10°C , og der tilsættes
dråbevis 85 ml mesylchlorid til den afkølede og kraftigt
omrørte opløsning i løbet af én time. Derefter hæves
temperaturen af blandingen til 0°C , og blandingen hol-
des ved denne temperatur i yderligere 30 minutter. Den
35 fremkomne suspension afkøles igen, og der tilsættes 150
ml eddikesyreanhydrid under omrøring med en sådan has-
tighed, at blandingens temperatur ikke stiger over 0°C .
Den fremkomne blanding holdes ved 0°C natten over og

0

udhældes derefter i 5 liter isvand. Den udskilte olie optages i én liter chloroform, og den vandige fase ekstraheres med 3 x 200 ml chloroform. De organiske ekstrakter forenes, vaskes med iskold 1N vandig svovlsyre indtil vaskevandet er surt og derefter med vand, iskold 5% 's vandig natriumhydrogencarbonatopløsning og igen med vand. Opløsningen tørres over natriumsulfat og inddampes derefter. Den faste remanens opløses i det dobbelte volumen varmt ethylacetat, og der sættes petroleumsether til opløsningen, indtil denne bliver uklar. Blandingen afkøles, og det udskilte stof frafiltreres og vaskes med petroleumsether. Der fås 161 g (71,5% af det teoretiske udbytte) af et råt produkt med et smeltepunkt på 99-101°C, der er tilstrækkelig rent til anvendelse i det næste trin. Ved omkrystallisation fra det tredobbelte volumen ethanol fås et rent stof, der smelter ved 101-103°C. $[\alpha]_D^{20} = +18,7^\circ$ (c = 1, i chloroform), $R_f = 0,5$ (løbemiddel: carbontetrachlorid/ethylacetat i forholdet 1:2).

15

Analyse for $C_{14}H_{26}O_{12}S_2$ (M 450,48):

20

	C%	H%	S%
Beregnet:	37,33	5,82	14,24
Fundet:	37,45	5,91	14,43

25

Trin B: Fremstilling af 1,6-di-O-mesyl-3,4-di-O-methyl-D-mannitol (formel I).

30

45 g af det rå produkt (formel III, R = methyl), der er fremstillet i trin A, suspenderes i 450 ml 7,5N tør methanolisk saltsyre, og suspensionen koges under tilbagesvaling på et dampbad. Når opløsningen er fuldstændig, fortsættes kogningen i yderligere 10 minutter, og derefter inddampes opløsningen til tørhed i vakuum. Remanensen suspenderes i en lille mængde ethanol, og det faste stof frafiltreres. Der fås 25 g (68% af det teoretiske udbytte) af ovennævnte forbindelse. Smeltepunkt: 99-102°C. Dette produkt omkrystalliseres fra det syv-dobbelte volumen ethanol, hvorved der fås 22 g (60%)

35

0

rent 1,6-di-O-mesyl-3,4-di-O-methyl-D-mannitol med et
smeltepunkt på 112-114°C. $[\alpha]_D^{20} = +35^\circ$ (c = 1, i methanol)

Analyse for $C_{10}H_{22}O_{10}S_2$ (M 366,41):

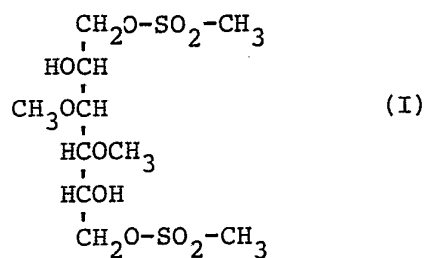
	C%	H%	S%
5 Beregnet:	32,78	6,05	17,50
Fundet:	32,81	6,08	17,65

0

P a t e n t k r a v .

Analogifremgangsmåde til fremstilling af
1,6-dimesyl-3,4-dimethyl-D-mannitol med formlen I

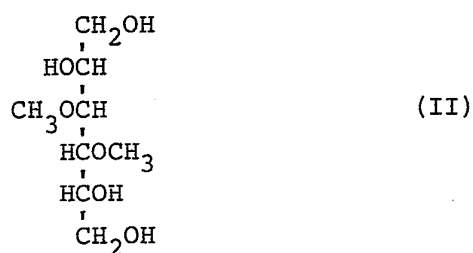
5



10

k e n d e t e g n e t ved, at et mannitolderivat med form-
len II

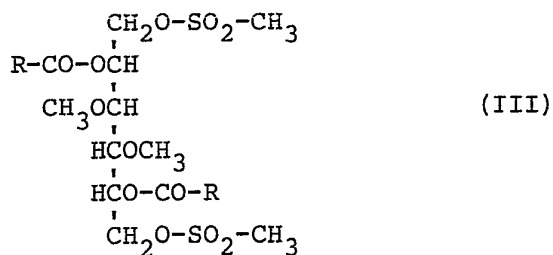
15



20

underkastes en delvis mesylering efterfulgt af en acylering,
og den fremkomne forbindelse med den almene formel III

25



30

hvor R betyder en mættet, lavere alifatisk gruppe,
deacyleres med en sur alkohol.

35

Fremdragne publikationer:

DK patent nr. 92788.