



PATENTSCHRIFT 150 470

Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

11) 150 470 (44) 02.09.81 Int. Cl.³ 3(51) C 07 H 15/20
21) WP C 07 H / 207 133 (22) 07.08.78

-
- 71) Zentralinstitut für Krebsforschung, Berlin, DD
72) Schwabe, Konrad, Dr.rer.nat. Dipl.-Chem.; Wohlrab, Wolfgang, Dr.sc.nat., DD
73) siehe (72)
74) Akademie der Wissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, AG Patent- und Neuererwesen, 1115 Berlin, Lindenberger Weg 70
-

- 54) Verfahren zur Herstellung von
4-Alkylbrenzcatechin-0- β -D-glucopyranosiduronsäuren
-

57) Die Erfindung hat das Ziel, entgiftete Transportformen der isher in der Hautmedizin eingesetzten 4-Alkylbrenzcatechine ereitzustellen. Erfindungsgemäß wird 4-Alkylbrenzcatechin mit .2.3.4-Tetra-0-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester m Verhältnis 2 : 1 und katalytischen Mengen p-Toluolsulfonsäure-Monohydrat n Benzol gelöst, das Benzol abgezogen, der Rückstand m Vakuum-Rotationsverdampfer (3 bis 6 mm Hg-Säule) 40 bis 50 min bei 00 bis 110 °C geschmolzen und der gebildete 4-Alkylbrenzcatechin-mono-0-triacetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-ethylester mit verdünnter Natronlauge behandelt. R₁ = Methyl- der Isopropyl; R₂ = Formel II und R₃ = H - β -D-Glucopyranosiduronyl- oder R₃ = 0- β -D-Glucopyranosiduronyl- und R₂ = H. - Formel I und II -

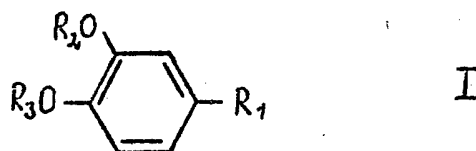
-1- 207133

K. Schwabe und W. Wohlrab

Verfahren zur Herstellung von 4-Alkylbrenzcatechin-0-β-D-glucopyranosiduronsäuren

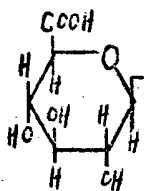
Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 4-Alkylbrenzcatechin-0-β-D-glucopyranosiduronsäuren der allgemeinen Formel I, in der



R_1 = Methyl- oder Isopropyl-;

R_2 =



und R_3 = H;

β-D-Glucopyranosiduronyl-

oder R_3 = β-D-Glucopyranosiduronyl- und R_2 = H
bedeuten.

Die Anwendung der Erfindung liegt auf dem Gebiet der Medizin, speziell der Therapie von Hautkrankheiten.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Diese Verbindungen sind noch nicht beschrieben worden. Bekannt sind lediglich die Aglykone dieser Verbindungen, nämlich 4-Methylbrenzcatechin und 4-Isopropylbrenzcatechin, die in der Hautmedizin bei externer Applikation als depigmentierende Substanzen dienen, indem sie die epidermalen Melanozyten selektiv zerstören (R.P. Zaumseil u. W. Wohlrab: Derm. Mschr. 162 (1976), 914-979; W. Wohlrab u. R.P. Zaumseil: Derm. Mschr. 162 (1976), 980-985; J. Peker u. W. Wohlrab: Derm. Mschr. i. Druck (1978). Darüberhinaus können tierexperimentelle maligne Melanome durch solche depigmentierenden Agenzien in ihrem Wachstum gehemmt werden (D.A. Paslin: Acta Dermatovenerol. 53 (1973), 119-122; S.S. Blechen: Pigment Cell. 1 (1973), 202-207).

Weiterhin ist bekannt, daß eine Reihe maligner Melanomtypen des Menschen einen erhöhten β -Glucuronidasespiegel aufweisen (C. Vaquero, C. Masson, M. Guigon u. J. Hewitt: Europ. J. Cancer 11 (1975), 739-742).

β -D-Glucopyranosiduronsäuren sind bisher nur vom unsubstituierten Brenzcatechin synthetisch dargestellt worden, und auch nur in Methylesterform, indem 4 Mole Brenzcatechin mit 1 Mol 1.2.3.4-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester und p-Toluolsulfonsäure als Katalysator 1,5 Std. bei 100°C im Vakuum (10-12 mm Hg-Säule) verschmolzen wurden (G.N. Bollenback, J.W. Long, D.G. Benjamin und J.A. Lindquist: J. Amer. Soc. 77 (1955), 3310-3315). Hierbei wird Brenzcatechin-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester erhalten und anschließend mittels Bariumcarbonat zum Brenzcatechin- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester entazetyliert. Eine direkte Übertragung dieser Darstellungsmethode bei Übernahme der dort angewandten Molverhältnisse, Reaktionszeit und Reaktionstemperatur auf die Synthese der Verbindungen der allgemeinen Formel I ist nicht möglich, da in diesem Falle Zersetzung eintritt.

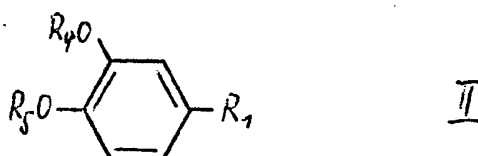
Ziel der Erfindung

Die Erfindung hat das Ziel, eine Synthese der bisher nicht bekannten 4-Alkylbrenzcatechin-0-β-D-glucopyranosiduronsäuren der Formel I zu entwickeln, die als entgiftete Transportformen der bisher in der Hautmedizin eingesetzten 4-Alkylbrenzcatechine Verwendung finden können.

Darlegung des Wesens der Erfindung

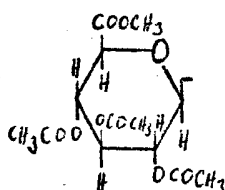
Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe gelöst, indem 2 Mole 4-Alkylbrenzcatechin mit 1 Mol 1.2.3.4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosiduronsäuremethylester unter Zusatz katalytischer Mengen p-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in Benzol in der Wärme gelöst, am Vakuum-Rotationsverdampfer das Benzol abgezogen und der Rückstand am Vakuum-Rotationsverdampfer (3-6 mm Hg-Säule) 40-50 Min. bei 100-110°C erhitzt wird, bis keine Blasenbildung mehr erfolgt.

Aus den hier gebildeten Verbindungen der allgemeinen Formel II, in der



R₁ = Methyl- oder Isopropyl-;

R₄ =



und R₅ = H;

1.2.3.4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosiduronyl-

oder R₅ = 1.2.3.4-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosiduronyl-

und R₄ = H

bedeuten, werden durch Behandlung mit verdünnter Natronlauge

die Azetylgruppen abgespalten und die Methylestergruppe verseift.

Die neuen Verbindungen stellen entgiftete Transportformen des 4-Methyl- bzw. 4-Isopropylbrenzcatechins dar und werden vorzugsweise durch β -Glucuronidase in den Melanomzellen zur freien Wirkform und D-Glucuronsäure gespalten. Auf diese Weise bilden die neuen Verbindungen potentielle selektiv wirkende Zytostatika für erhöhte β -Glucuronidaseaktivitäten enthaltende maligne Melanomtypen. Die neuen Verbindungen zeichnen sich gegenüber dem 4-Methyl- bzw. 4-Isopropylbrenzcatechin durch eine wesentlich bessere Verträglichkeit aus und sind deshalb als Depigmentierungsmittel in der Hautmedizin und Kosmetik besser geeignet. So wird beispielsweise durch Behandlung des Meerschweinchenohres mit 4-Methylbrenzcatechin-mono-O-glucopyranosiduronsäure eine irreversible Depigmentierung erhalten, ohne daß die behandelten Epidermiszellen ein von der Norm abweichendes Stoffwechselverhalten zeigen.

Die Erfindung wird durch folgendes Beispiel veranschaulicht:

Ausführungsbeispiel

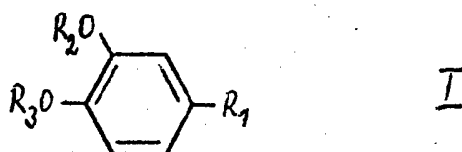
A. 11 g (29,5 mmol) 1.2.3.4-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester, 7.095 g (57,5 mmol) 4-Methylbrenzcatechin und 0,355 g (1,87 mmol) p-Toluolsulfonsäure-Monohydrat werden in 50 ml Benzol in der Wärme gelöst, das Benzol im Vakuum abgezogen und der Rückstand am Vakuum-Rotationsverdampfer 45 Min. bei 100-110°C (3-6 mm Hg-Säule) geschmolzen, bis keine Blasenbildung mehr erfolgt. Das Reaktionsprodukt wird in wenig Chloroform gelöst und an 500 g Kieselgel H (Typ 60, Merck) mit Chloroform-Azeton (95:5) als Laufmittel aufgetrennt. Die Fraktion mit dem R_F -Wert 0,39 (Kieselgelplatte, Laufmittel Chloroform-Aceton 95:5) ergibt nach Verdampfen des Lösungsmittels 6 g dünnstichtchromatographisch reinen 4-Methylbrenzcatechin-mono-O-triacetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester (Ausbeute 24 %, bezogen

auf 4-Methylbrenzcatechin). Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol zeigen die erhaltenen Nadeln einen Smp. von 161-164°.

B. 3 g (6,8 mMol) des nach A gewonnenen 4-Methylbrenzcatechin-mono-O-triacetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylesters werden in 150 ml Wasser suspendiert und mit 44,8 ml 1 N NaOH versetzt. Man schüttelt etwa 30 Min. bis die Lösung völlig klar geworden ist, prüft dünnschichtchromatographisch (Laufmittel Chloroform-Methanol 9:1) die Vollständigkeit der Entacetylierung und Verseifung der Methylestergruppe und entfernt dann die Na^+ -Ionen mittels eines Kationenaustauschers (z.B. Dowex 50 WX 8, 200-400 mesh, Serva). Das essigsaure Eluat wird i. Vak. (Badtemperatur $< 35^\circ\text{C}$) zur Trockne verdampft. Es werden 1,83 g (90 % Ausbeute) reine, amorphe 4-Methylbrenzcatechin-mono-O- β -D-glucopyranosiduronsäure vom Smp. 97-100° (unscharf) erhalten (R_f -Wert = 0,096; Laufmittel Äthylazetat-Isopropanol-Wasser, 65:24:12, v/v). Die Verbindung wird durch β -Glucuronidase zu 4-Methylbrenzcatechin und D-Glucuronsäure gespalten.

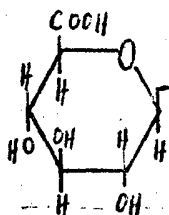
Erfindungsanspruch

Verfahren zur Herstellung von 4-Alkylbrenzcatechin-O- β -glucopyranosiduronsäuren der allgemeinen Formel I,



in der R_1 = Methyl- oder Isopropyl;

R_2 =



und R_3 = H

O- β -D-Glucopyranosiduronyl-

oder R_3 = O- β -D-Glucopyranosiduronyl- und R_2 = H

bedeuten, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Alkylbrenzcatechin mit 1.2.3.4-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester im Verhältnis 2:1 und katalytischen Mengen p-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in Benzol gelöst, das Benzol abgezogen, der Rückstand am Vakuum-Rotationsverdampfer (3-6 mm Hg-Säule) 40-50 Min. bei 100-110° geschmolzen und der gebildete 4-Alkylbrenzcatechin-mono-O-triacetyl- β -D-glucopyranosiduronsäuremethylester mit verdünnter Natronlauge behandelt wird.