DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK
AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

PATENTSCHRIFT 143 075

Ausschließungspatent
Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

				Int. Cl.[3]	
(11)	143 075	(44)	30.07.80	3(51)	C 07 D 519/04
(21)	AP C 07 D / 212 369	(22)	20.04.79		
(31)	899 032	(32)	20.04.78	(33)	US

(71) siehe (73)

(72) Cullinan, George J; Gerzon, Koert, US

(73) Eli Lilly and Company, Indianapolis, US

(74) Patentanwaltsbüro Berlin, 1130 Berlin, Frankfurter Allee 286

(54) Verfahren zur Herstellung von 4-Desacetyl-vincaleucoblastin-C_3-carbonsäurehydraziden

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 4-Desacetyl-vincaleucoblastin-C_3-carbonsäurehydraziden, die zur Bekämpfung von Tumoren oder als antineoplastische Mittel eingesetzt werden können. Ein mögliches Ausgangsmaterial ist 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid, das aus 4-Desacetyl-VLB in einem Überschuß von wasserfreiem Hydrazin durch 18 Stunden langes Erwärmen auf 60 °C in einem geschlossenen Reaktionsgefäß gewonnen und anschließend gereinigt wird. Zur Herstellung von beispielsweise 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylcarboxhydrazid wird CH_3NHNH_2 mit einer Lösung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxacid in CH_2Cl_2 umgesetzt.

212369

Verfahren zur Herstellung von 4-Desacetyl-vincaleucoblastin-C_3-carbonsäurehydraziden

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 4-Desacetyl-vincaleucoblastin-C_3-carbonsäurehydraziden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Verschiedene in der Natur vorkommende Alkaloide von Vinca rosea haben sich bei der Behandlung von experimentellen bösartigen Erkrankungen bei Tieren als wirksam erwiesen. Hierzu gehören Leurosin (US-PS 3 370 057), Vincaleukoblastin (Vinblastin), im folgenden als VLB bezeichnet (US-PS 3 097 137), Leuroformin (BE-PS 811 110); Leurosidin (Vinrosidin) und Leurocristin (im folgenden als Vincristin bezeichnet) (beide in US-PS 3 205 220); Deoxy-VLB "A" und "B", Tetrahedron Letters, 783 (1958); 4-Desacetoxyvinblastin (US-PS 3 954 773); 4-Desacetoxy-3'-hydroxyvinblastin (US-PS 3 944 554); Leurocolombin (US-PS 3 890 325) und Vincadiclin (US-PS 3 887 565). Zwei dieser Alkaloide, VLB und Vincristin, sind nun als Arzneimittel zur Behandlung von bösartigen Erkrankungen, insbesondere von Leukämien und verwandten Krankheiten, beim Menschen im Handel. Diese beiden Alkaloide werden gewöhnlich auf intravenösem Wege verabreicht.

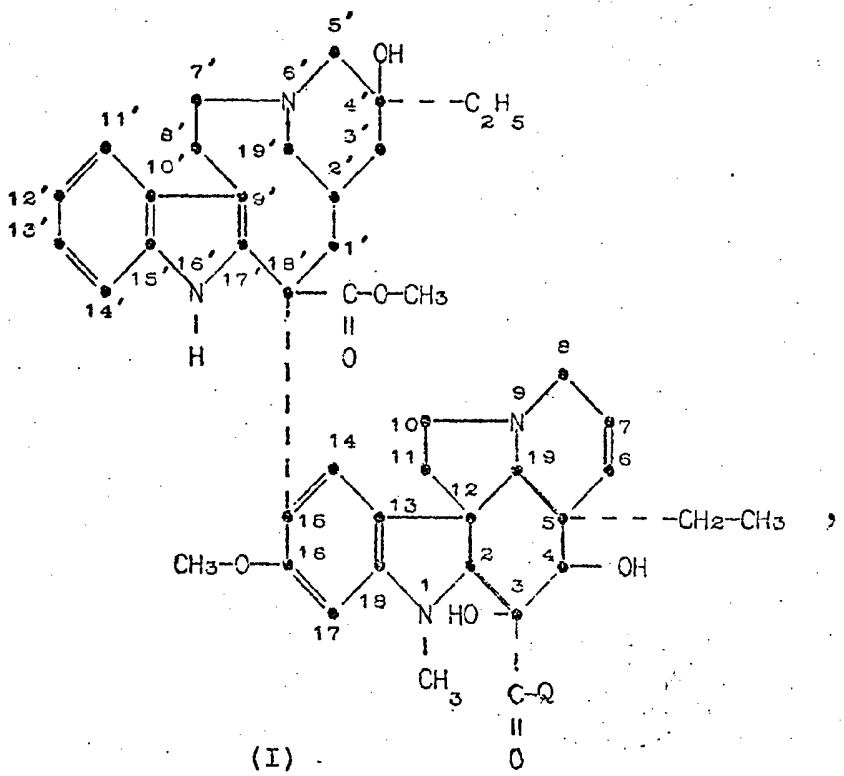
Chemische Modifikationen der Vincaalkaloide sind ziemlich begrenzt. In erster Linie sind die Molekularstrukturen, um die es sich hier handelt, außerordentlich kompliziert, und chemische Reaktionen zur Modifikation einer bestimmten funktionellen Gruppe des Moleküls, die andere Gruppen nicht in Mitleidenschaft ziehen, lassen sich kaum entwickeln.
Zweitens sind aus Fraktionen oder Alkaloiden von Vinca rosea dimere Alkaloide ohne erwünschte chemotherapeutische Eigenschaften gewonnen oder erzeugt worden, und die Ermittlung ihrer Strukturen hat ergeben, daß diese "inaktiven" Verbindungen den wirksamen Alkaloiden eng verwandt sind, wobei der Unterschied häufig nur in der Stereochemie an einem einzigen Kation liegt. Die antineoplastische Wirksamkeit ist somit offenbar auf ganz bestimmte Grundstrukturen begrenzt, und die Aussichten, stärker wirksame Arzneimittel durch Änderung dieser Strukturen zu erhalten, erscheinen entsprechend gering. Zu den erfogreichen Veränderungen von physiologisch wirksamen Alkaloiden gehört die Herstellung von 6,7-Dihydro-VLB (US-PS 3 352 868) und der Ersatz der Acetylgruppe an C_4 (Kohlenstoffatom 4 des VLB-Ringsystems, vergleiche die unten wiedergegebene numerierte Struktur) durch höhere Alkanoylgruppen oder andere Acylgruppen (vgl. US-PS 3 392 173). Verschiedene dieser C_4-Derivate vermögen das Leben von mit P1534-Leukämie inokulierten Mäusen zu verlängern. Eines der C_4-Derivate, wobei die C_4-Acetylgruppe von VLB durch eine Chloracetylgruppe ersetzt ist, ist außerdem ein wertvolles Zwischenprodukt für die Herstellung von strukturell modifizierten VLB-Verbindungen, bei welchen die C_4-Acetylgruppe von VLB durch eine N,N-Dialkylglycylgruppe ersetzt ist (vgl. US-PS 3 387 001). C_3-Carboxamid- und -carboxhydrazidderivate von VLB, Vincristin, Vincadiolin und anderen sind gleichfalls hergestellt worden und haben sich als wirksame Mittel gegen Tumore erwiesen (BE-PS 813 168). Diese Verbindungen sind von außerordentlich großem Interesse, weil beispielsweise die 3-Carboxamide von VLB gegen Ridgeway-Osteogensarcom und Gardner-Lymphosarcom stärker wirksam sind als VLB selbst, das Grundalkaloid, von dem sie sich ableiten. Bestimmte Vertreter dieser Amidderivate nähern sich

tatsächlich in ihrer Aktivität der von Vincristin gegen die gleichen Tumore. Eines der Amide, 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxamid oder Vindesin, befindet sich derzeit in der klinischen Prüfung am Menschen und hat sich als bei bestimmten Leukämien wirksam erwiesen. Bei Menschen hat Vindesin offenbar geringere Neurotoxizität als Vincristin und ist anscheinend gegen vincristinresistente Leukämien wirksam.

In BE-PS 813 168 ist angegeben, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid im Fall von transplantierten Tumoren bei Mäusen ein wirksames Antitumormittel darstellt. Es wird gezeigt, daß es gegen Ridgeway-Osteogensarcom, Gardner-Lymphosarcom und P 1534(J)-Leukämie wirksam ist.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung neuer Verbindungen der allgemeinen Formel



(I)

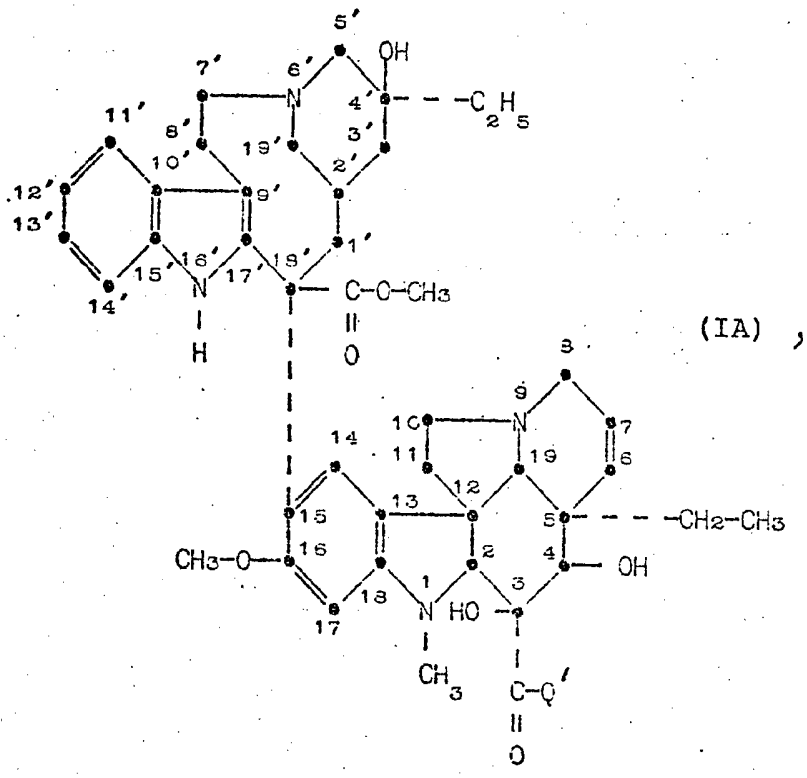
worin Q für die Gruppe $-NH-N\begin{matrix}R\\R^1\end{matrix}$ steht, in der

R für sich allein C_1-C_3-Alkyl, ß-Hydroxyethyl, ß-Acetoxyethyl, C_2-C_4-Alkanoyl, Dichloracetyl, Benzoyl oder C_1-C_3-Alkyl-carbazyl,

R^1 für sich allein Methyl oder Wasserstoff nur dann, wenn R für C_1-C_3-Alkyl steht, und sonst Wasserstoff bedeutet, oder

R und R^1 zusammen eine C_1-C_3-Alkylidengruppe bilden,

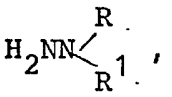
dadurch gekennzeichnet, daß ein 4-Desacetylvincaleuco-blastin-C_3-derivat der allgemeinen Formel



(IA) ,

worin Q' N_3 oder $NHNH_2$ bedeutet, dann wenn Q' N_3 bedeutet,

in einem inerten Lösungsmittel mit

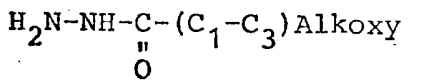


worin

R C_1-C_3-Alkyl, ß-Hydroxyethyl oder ß-Acetoxyethyl und

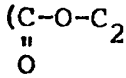
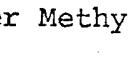
R^1 H oder Methyl, wenn R für C_1-C_3-Alkyl steht, und sonst H bedeutet,

umgesetzt wird, woran sich gegebenenfalls eine Acetylierung anschließt, wenn R für ß-Hydroxyethyl steht, oder dann, wenn Q' für $NHNH_2$ steht, in Lösung mit Formaldehyd, Acetaldehyd, Aceton oder Propionaldehyd umgesetzt wird, woran sich gegebenenfalls eine Hydrierung anschließt, oder mit dem Anhydrid oder Säurechlorid einer (C_2-C_4)-Alkanoylsäure, Dichloressigsäure,oder Benzoesäure oder mit

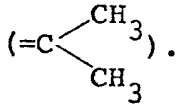


umgesetzt wird.

In der Formel I kann R für sich allein Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, Acetyl, Propionyl, n-Butyryl, Isobutyryl, Dichloracetyl, Benzoyl, Ethylcarbazyl

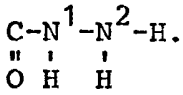
 oder Methylcarbazyl  .

sein. C_1-C_3-Alkylidengruppen, die R und R^1 bedeuten, wenn sie zusammengenommen werden, sind Methyliden ($=CH_2$), Ethyliden ($=CH-CH_3$), n-Propyliden ($=CH-C_2H_5$ und Isopropyliden



Die Verbindungen der Formel I sind als Derivate von 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid bezeichnet worden. Die systematische Bezeichnung dieser Verbindungen sollte noch einen "3-Descarbomethoxy"-Ausdruck umfassen, aber dieser Ausdruck ist weggelassen worden, weil die Bezeichnung "C_3-Carboxhydrazid" einschließt, daß die C_3-Carbomethoxygruppe von VLB ersetzt worden ist. Außerdem könnte noch ein anderes Bezeichnungssystem angewandt werden; beispielsweise können die Verbindungen als Derivate von 4-Desacetyl-VLB-23-desmethoxy-23-hydrazid bezeichnet werden, was auf den Ersatz des C_{23}-Methoxyls durch Hydrazid hinweist. Es wird jedoch bevorzugt, die Verbindungen als C_3-Carboxhydrazidderivate zu bezeichnen.

Hydrazin enthält zwei Stickstoffatome, die in einem Hydrazid folgendermaßen numeriert werden:



Die erfindungsgemäß erhältlichen Hydrazidderivate sind alle N^2-Derivate.

Die Verbindungen mit der Struktur der obigen Formel I können nach mehreren verschiedenen Arbeitsweisen hergestellt werden. Bei der im Rahmen der Erfindung bevorzugt angewandten Arbeitsweise wird zuerst 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid durch die Einwirkung von Hydrazin auf VLB nach BE-PS 813 168 hergetellt. Hierbei werden VLB und Hydrazin unter Verwendung von wasserfreiem Ethanol als Lösungsmittel in einem geschlossenen Reaktionsgefäß erwärmt. Stattdessen kann 4-Desacetyl-VLB mit wasserfreiem Hydrazin unter den gleichen Bedingungen umgesetzt werden.

Die Reakton von Hydrazin mit VLB selbst bewirkt Hydrolyse der Acetoxygruppe an C_4, so daß das Reaktionsprodukt immer 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid ist, gleichgültig, ob VLB oder 4-Desacetyl-VLB als Ausgangsamterial verwendet wird. Die Herstellung von Verbindungen der Formel I wird mit 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxyhydrazid, gleichgültig wie es hergestellt worden ist, als Ausgangsmaterial durchgeführt. Diese Verbindung wird nach der in der erwähnten BE-PS 813 168 angegebenen Arbeitsweise in das entsprechende C_3-Carboxazid übergeführt, indem das Hydrazid mit Nitrit in saurer Lösung behandelt wird. Das so erzeugte 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid kann dann mit verschiedenen alkylsubstituierten Hydrazinen zu den Verbindungen der Formel I umgesetzt werden, worin R C_1-C_3-Alkyl und R^1 Methyl oder H wie vorgesehen bedeutet. Das Azid kann auch mit N-(ß-Hydroxyethyl)hydrazin zu dem entsprechenden 4-Desacetyl-VLB-C_3-/N^2-(ß-hydroxy)ethyl/carboxhydrazid umgesetzt werden. Diese letztgenannte Verbindung eignet sich sehr gut für die Herstellung des entsprechenden ß-Acetoxyethylhydrazidderivats durch Acetylierung, wodurch eine Verbindung der Formel I, worin R ß-Acetoxyethyl und R^1 Wasserstoff bedeutet, erzeugt wird. Diese letztere Verbindung wird jedoch vorzugsweise durch Umsetzung des C_3-Carboxazids mit ß-Acetoxyethylamin hergestellt.

Verbindungen der Formel I, worin R C_2-C_4-Alkanoyl, Dichloracetyl, Benzoyl oder C_1-C_3-Alkylcarbazyl bedeutet, werden durch Umsetzung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid mit dem entsprechenden Anhydrid oder Säurechlorid hergestellt. In gleicher Weise ist das 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid das Ausgangsmaterial zur Herstellung von Verbindungen der Formel I, worin R und R^1 zusammen eine C_1-C_3-Alkylidengruppe bilden. Diese Verbindungen werden durch Umsetzung des unsubstituierten C_3-Carboxhydrazids mit Formaldehyd,

Acetaldehyd, Propionaldehyd oder Aceton hergestellt. Diese Alkylidenderivate können ihrerseits hydriert werden, beispielsweise mit einem Hydridreduktionsmittel, wie $NaBH_4$, wodurch die entsprechende Verbindung der Formel I, worin R C_1-C_3-Alkyl und R^1 Wasserstoff bedeuten, erhalten wird.

Ausführungsbeispiele

Durch die folgenden Beispiele wird die Erfindung einschließlich der Herstellung der erforderlichen Ausgangsmaterialien weiter erläutert.

Herstellung von Ausgangsmaterialien

(1) 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid

4-Desacetyl-VLB wird etwa 18 Stunden in einem geschlossenen Reaktionsgefäß mit einem Überschuß von wasserfreiem Hydrazin auf etwa 60 °C erwärmt. Nach Abkühlen und Öffnen des Reaktionsgefäßes wird der Inhalt entnommen und im Vakuum von den flüchtigen Bestandteilen befreit. Der erhaltene Rückstand, 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid, wird in Methylenchlorid aufgenommen, und die Methylenchloridlösung wird mit Wasser gewaschen, abgetrennt und getrocknet, worauf das Methylenchlorid durch Eindampfen im Vakuum entfernt wird. Der erhaltene Rückstand wird in einer Lösungsmittelmischung aus gleichen Teilen Chloroform und Benzol gelöst und an Kieselgel chromatographiert. Als Elutionsmittel wird Benzol-Chloroform-Triethylamin zur Entwicklung des Chromatogramms verwendet. Die anfänglichen chromatographischen Fraktionen enthalten nicht umgesetztes 4-Desacetyl-VLB. Weitere Fraktionen enthalten das von Neuss et al. in Tetrahedron Letters, 1968, 783,

beschriebene 4-Desacetyl-18'-descarbomethoxy-VLB-C_3-carboxhydrazid. Die nächsten Fraktionen, die aufgrund ihres Dünnschichtchromatogramms (TLC) 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid enthalten, werden vereinigt und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der erhaltene Feststoff schmilzt bei 219 bis 220 °C unter Zersetzung.

(2) 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid

Zu einer Lösung von 678 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid in 15 ml wasserfreiem Methanol werden 50 ml wäßrige 1n Salzsäure gegeben, und die so erhaltene Lösung wird auf etwa 0 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 140 mg Natriumnitrit wird das Reaktionsgemisch 10 Minuten bei einer Temperatur von 0 °C gerührt. Nach Zugabe des Natriumnitrits wird die Lösung dunkelrotbraun. Dann wird das Reaktionsgemisch durch Zugabe eines Überschusses kalten 5-prozentigen wäßrigen Natriumbicarbonats alkalisch gemacht. Die wäßrige Lösung wird dreimal mit Methylendichlorid extrahiert. Das bei der Umsetzung gebildete 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid geht in das Methylendichlorid über. Die Methylendichloridlösung von 4-Desacetyl-vinblastin-C_3-carboxazid wird gewöhnlich ohne weitere Reinigung verwendet.

Endprodukte

Beispiel 1

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylcarboxhydrazid

20 ml CH_3NHNH_2 werden zu einer Lösung von 1 g 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid in 150 ml CH_2Cl_2 gegeben. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen und 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Zur Entfernung von überschüssigem CH_3NHNH_2 wird die CH_2Cl_2-Lösung mehrere Male mit Wasser extrahiert. Dann wird sie getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum verdampft. Es werden 250 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylcarboxhydrazid als bräunliche amorphe Festsubstanz mit folgenden physikalischen Kennzeichen erhalten:

M.S.: m/e = 782 (M^+), 441, 355, 154
I.R.: ν = 3450 cm^{-1} (-N-H)
1750 cm^{-1} ($-COOCH_3$)
1655 cm^{-1} (-COONH-)

Beispiel 2

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylidencarboxhydrazid

1 mmol (768 mg) 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid wird in 50 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 200 mg CH_3CHO versetzt. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Lösung wird bis zu einem bräunlichen amorphen Pulver eingedampft, das zur Entfernung von überschüssigem CH_3CHO zwischen CH_2Cl_2 und Wasser verteilt wird. Die CH_2Cl_2-Lösung wird getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylidencarboxhydrazid hat folgende physikalische Kennzeichen:

M.S.: m/e = 794 (M^+)

I.R.: ν = 1680 cm^{-1} (-CON)

1710 cm^{-1} (COO)

Beispiel 3

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylcarboxhydrazid

Das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylidencarboxhydrazid von Beispiel 2 wird in 100 ml absolutem Ethanol gelöst, worauf 500 mg 96-prozentiges $NaBH_4$ zugegeben werden. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei Zimmertemperatur gerührt. Dann wird 1 n HCl zugesetzt, bis die Lösung klar wird. Anschließend wird weiteres Wasser zugegeben. Die Lösung wird mit konzentriertem NH_4OH alkalisch gemacht und zweimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die CH_2Cl_2 - Extrakte werden getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das erhaltene bräunliche amorphe Pulver, das das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylcarboxyhydrazid enthält, hat die folgenden physikalischen Kennzeichen: Ausbeute = 49 mg.

M.S.: m/e = 796 (M^+)

I.R.: ν = 3460 cm^{-1} (N-H)

1656 cm^{-1} (CON)

1715 cm^{-1} (COO)

Beispiel 4

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2, N^2-dimethylcarboxhydrazid

Eine Lösung von 1,5 g 4-Desacethyl-VLB-C_3-carboxazid in CH_2Cl_2 wird mit 20 ml $H_2NN(CH_3)_2$ versetzt. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen, und etwa 60 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die erhaltene Lösung wird zur Trockne eingedampft,

und der Rückstand wird in CH_2Cl_2 gelöst. Die Methylendichloridlösung wird einmal mit verdünntem NH_4OH und dann mit Wasser zur Entfernung von überschüssigem $H_2NN(CH_3)_2$ extrahiert. Die CH_2Cl_2-Lösung wird getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das erhaltene Pulver wird an Kieselgel chromatographiert und mit Ethylacetat:Methanol (1:1) eluiert. Die aufgrund der Dünnschichtchromatographie (Kieselgel eluiert mit Ethylacetat:Methanol, 1:1) das gewünschte Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Das erhaltene bräunliche amorphe Pulver, das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2,N^2-dimethylcarboxhydrazid enthält, hat die folgenden physikalischen Kennzahlen: Ausbeute = 250 mg.

M.S.: m/e = 796 (M^+) , 737, 455, 355, 154
I.R.: ν = 1715 cm^{-1} (COO)
1670 cm^{-1} (CON)

Beispiel 5

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-acetylcarboxhydrazid

300 mg Essigsäureanhydrid werden zu einer Lösung von 1500 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid in 50 ml CH_2Cl_2 gegeben. Das Reaktionsgemisch wird 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wird die CH_2Cl_2-Lösung mit verdünntem NH_4OH und anschließend mit Wasser gewaschen. Dann wird sie getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das erhaltene bräunliche amorphe Pulver, das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-acetylcarboxhydrazid enthält, hat die folgenden physikalischen Kennzahlen: Ausbeute = 750 mg.

M.S.: m/e = 810 (M^+)
I.R.: ν = 3410 cm^{-1} (N-H)
1720 cm^{-1} (COO)
1670 cm^{-1} (CON)

4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-dichloracetylcarboxhydrazid wird in gleicher Weise durch Verwendung von Dichloressigsäureanhydrid anstelle des bei der obigen Arbeitsweise verwendeten Essigsäureanhydrids hergestellt.

Beispiel 6

Herstellung von 4-Desacetoxy-VLB-C_3-N^2-butyrylcarboxhydrazid

120 mg Buttersäureanhydrid werden zu einer Lösung von 768 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid in 50 ml CH_2Cl_2 gegeben. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das Reaktionsgemisch wird mit verdünntem NH_4OH extrahiert, und der Extrakt wird verworfen. Die hinterbleibende CH_2Cl_2-Lösung wird getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert, wobei mit Ethylacetat:Methanol (1:1) eluiert wird. Fraktionen, die aufgrund ihres TLC das gewünschte Produkt enthalten, werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Das erhaltene bräunliche amorphe Pulver (128 mg), das das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-butyrylcarboxhydrazid enthält, hat die folgenden physikalischen Kennzahlen:

M.S.: m/e = 838 (M^+), 497, 355, 154

Beispiel 7

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-benzoylcarboxhydrazid

Zu einer Lösung von 768 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid in 50 ml CH_2Cl_2 werden 240 mg Benzoesäureanhydrid gegeben. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wird die CH_2Cl_2-Lösung mit verdünntem NH_4OH und anschließend mit Wasser gewaschen, wodurch Benzoate entfernt werden. Danach wird die Lösung getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das amorphe Pulver wird an Kieselgel chromatographiert, wobei mit Ethylacetat:Methanol (1:1) eluiert wird. Fraktionen, die aufgrund ihres TLC (Siliciumdioxid, Ethylacetat:Methanol, 1:1) das gewünschte Produkt enthalten, werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Es werden 150 mg eines bräunlichen amorphen Pulvers erhalten, das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-benzoylcarboxhydrazid enthält und folgende physikalische Kennzahlen hat:

M.S.: m/e = 872 (M^+), 813, 531, 355, 154
NMR: stimmt mit angenommener Struktur überein, neue aromatische Protonen bei delta 7,3 bis 8,0.

Beispiel 8

Herstellung von
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-hydroxy)ethylcarboxhydrazid

3 g 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid werden in CH_2Cl_2 gelöst und mit 15 ml $H_2NNHCH_2CH_2OH$ versetzt. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen, und das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei Zimmertemperatur gerührt und dann eingedampft. Der Rückstand

wird zwischen $CHCl_3$ und H_2O verteilt. Die $CHCl_3$-Lösung wird zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das amorphe Pulver wird an Kieselgel chromatographiert, wobei mit Ethylacetat:Methanol (1:1) eluiert wird. Fraktionen, die aufgrund von TLC (Kieselgel, Elutionsmittel, Ethylacetat:Methanol, 1:1) das gewünschte Produkt enthalten, werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Das so erhaltene bräunliche amorphe Pulver hat die folgenden physikalischen Kennzahlen: Ausbeute = 1 g.

I.R.: ν = 1720 cm^{-1} (COO)
1655 cm^{-1} (CON)

B e i s p i e l 9

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-acetoxy)-ethylcarboxhydrazid

1624 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-hydroxy)ethylcarboxhydrazid werden in 50 ml CH_2Cl_2 gelöst. Nach Zugabe von 220 mg Essigsäureanhydrid wird das Reaktionsgefäß verschlossen und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das Reaktionsgemisch wird dann mit verdünntem NH_4OH und mit Wasser gewaschen. Danach wird die CH_2Cl_2-Lösung getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das amorphe Pulver wird an Kieselgel chromatographiert, wobei das Chromatogramm mit Ethylacetat:Methanol (1:1) eluiert wird. Fraktionen, die aufgrund des TLC (Kieselgel, Ethylacetat:Methanol, 1:1, als Elutionsmittel) das gewünschte Produkt enthalten, werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Es werden 215 mg eines bräunlichen amorphen Pulver erhalten, das das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-acetoxy)-ethylcarboxhydrazid enthält und folgende physikalische Kennzahlen hat:

M.S.: m/e = 854 (M^+), 795, 651, 513, 355, 154

Beispiel 10

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylcarbozylcarboxhydrazid

900 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-carboxazid werden in CH_2Cl_2 gelöst und mit einer Lösung von 1 g $H_2NNHCOC_2H_5$ (O) in CH_2Cl_2 versetzt.

Das Reaktionsgefäß wird verschlossen und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wird das Reaktionsgemisch zur Trockne eingedampft, und der Rückstand wird zwischen CH_2Cl_2 und Wasser verteilt. Die CH_2Cl_2-Schicht wird zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das erhaltene bräunliche amorphe Pulver, das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylcarbazylcarboxhydrazid enthält, wird durch Auflösen in wasserfreiem Ethanol und Einstellen des pH auf 4 mit 2-prozentiger H_2SO_4 in absolutem Alkohol in das Sulfat übergeführt, das ausfällt. Der Niederschlag wird abfiltriert und getrocknet, und man erhält 104 mg eines bräunlichen amorphen Pulvers.

Beispiel 11

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylidencarboxhydrazid

768 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid werden 100 ml THF gelöst und mit 20 ml 37-prozentigem wäßrigen Formaldehyd versetzt. Das Reaktionsgefäß wird verschlossen und über Nacht bei Zimmertemperatur gerührt. Die erhaltene Lösung wird bis zu einem Gel eingedampft, das dann in absolutem Ethanol gelöst wird. Die Alkohollösung wird mit CH_2Cl_2 versetzt, und die so gebildete Lösung wird mit Wasser extrahiert. Die CH_2Cl_2-Schicht wird abgetrennt, getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das erhaltene bräunliche amorphe

-1 JUN 1979 * 7908894

Pulver, das 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylidencarboxhydrazid enthält, hat die folgenden physikalischen Kennzahlen:

M.S.: m/e = 780 (M^+), 439, 355, 154
I.R.: breite Bande für Carbonyle ν = 1650 bis 1740 cm^{-1}
NMR: 2 neue Signale delta 4,63 und delta 4,89

B e i s p i e l 12

Herstellung von 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-isopropylidencarboxhydrazid

400 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid werden in 25 ml Aceton gelöst, und das Reaktionsgemisch wird 3 Tage im Dunkeln bei Zimmertemperatur gerührt. Die Lösung wird eingedampft, wodurch 400 mg 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-isopropylidencarboxhydrazin mit den folgenden physikalischen Kennzahlen erhalten werden:

M.S.: m/e = 808 (M^+), 822, 836, 777, 750, 751, 467, 355, 154, 124

I.R. ($CHCl_3$): ν = 1730 cm^{-1} ($-COOCH_3$)
1710 cm^{-1} (-N=C-)
1685 cm^{-1} (-COONH)

Die Verbindungen der Formel I inhibieren das Wachstum von auf Mäuse transplantierten Tumoren und/oder verlängern das Leben von tumorinokulierten Mäusen. Zum Nachweis der Wirksamkeit dieser Arzneimittel wurden Versuche durchgeführt, wobei das Mittel gewöhnlich intraperitoneal in einer gegebenen Dosierungshöhe 7 bis 10 Tage verabreicht wurde. Der Umfang des Tumors wurde nach 7 oder 11 Tagen bestimmt, wenn das Arzneimittel das Tumorwachstum inhibierte. Im Fall der Lebensverlängerung wurde die zusätzliche Lebenszeit behandelter Tiere gegenüber der von Kontrolltieren ermittelt.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse von Versuchen zusammengestellt, bei denen Mäuse mit transplantierten Tumoren erfolgreich mit einer Verbindung der Fomel I behandelt wurden. In Spalte 1 ist die Bezeichnung der Verbindung, in Spalte 2 der transplantierte Tumor, in Spalte 3 die Dosishöhe oder der Dosierungshöhenbereich und die Anzahl der Tage, an dem die Dosierung verabreicht wurde, und in Spalte 4 die prozentuale Inhibierung des Tumorwachstums oder die prozentuale Verlängerung der Überlebenszeit angegeben. Es werden folgende Abkürzungen benutzt:

ROS = Ridgeway-Osteogensarcom,
GLS = Gardner-Lymphosarcom,
P 1534 (J) = eine Leukämie und
B16 = malignes Melanoma.

Tabelle I

Verbindung	Tumor	Dosis, mg/kg x Tage	prozentuale Inhibierung oder Verlängerung 3 Tage	7 Tage
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methyl-carboxhydrazid	GLS	0,25-0,5 x 10	toxisch	toxisch
		0,125 x 10	83	53
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2,N^2-dimethylcarboxyhydrazid	GLS	0,5 x 10	toxisch	toxisch
		0,25 x 10	100	--
		0,125 x 10	100	93
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethyl-carboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	toxisch	toxisch
		0,25 x 10	100 (+)	toxisch
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-hydroxy)ethylcarboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	toxisch	toxisch
		0,5 x 7	90	
		0,3 x 7	20	
		0,25 x 10	100	40
		0,125 x 10	77	37
		0,2 x 7		
		0,3 x 9	17	
		0,2 x 9	100	
		0,1 x 9	0	
	ROS	0,5 x 10	toxisch	
		0,3 x 10	14	
		0,2 x 10	0	

Tabelle I (Fortsetzung)

Verbindung	Tumor	Dosis, mg/kg x Tage	prozentuale Inhibierung oder Verlängerung 3 Tage	7 Tage
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-acetoxy)ethylcarboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	100	100
		0,25 x 10	100	73
		0,125 x 10	74	26
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-acetoxy)ethylcarboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	100	87
		0,25 x 10	74	55
		0,125 x 10	36	35
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-acetylcarboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	100	toxisch
		0,25 x 10	100	100
		0,125 x 10	100	93
	B16	1,2 x 3		69
		0,9 x 3		84
		0,6 x 3		109
		0,3 x 3		100
		0,15 x 3		71

Tabelle I (Fortsetzung)

Verbindung	Tumor	Dosis, mg/kg x Tage	prozentuale Inhibierung oder Verlängerung 3 Tage	7 Tage
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-benzoyl-carboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	toxisch	toxisch
		0,25 x 10	100	toxisch
		0,125 x 10	76	45
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-butyryl-carboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	64	toxisch
		0,25 x 10	100	100
		0,125 x 10	100	100
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethyl-carbazylcarboxhydrazid	GLS	0,4 x 7	93	
		0,2 x 7	100	
	ROS	0,4 x 10	toxisch	
		0,2 x 10	66	
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-isopro-pylidencarboxhydrazid	ROS	0,05 x 10	33	
		0,1 x 10	42	
		0,15 x 10	74	
		0,2 - 1,0 x 10	toxisch	

Tabelle I (Fortsetzung)

Verbindung	Tumor	Dosis, mg/kg x Tage	prozentuale Inhibierung oder Verlängerung 3 Tage	7 Tage
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylidencarboxhydrazid	GLS	0,4 x 9	toxisch	
		0,2 x 9	100	
	ROS	0,4 x 9	toxisch	
		0,2 x 9	100	
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylidencarboxhydrazid	GLS	0,5 x 10	toxisch	toxisch
		0,25 x 10	100	100
		0,125 x 10	91	91
4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-isopropylidencarboxhydrazid	ROS	0,15 x 10		74

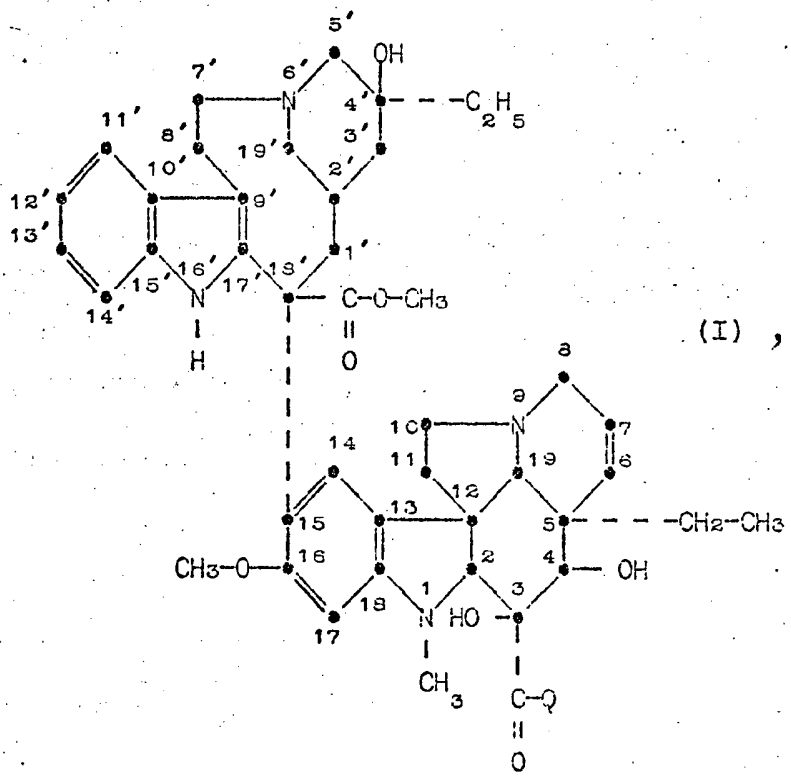
Die neuen Hydrazidderivate der Formel I unterscheiden sich in ihrem Antitumorspektrum von VLB, Vincristin und Vindesin sowie dem C_4-N,N-Dialkylglycylester von VLB in der gleichen Weise, in der sich die Antitumorspektren dieser Verbindungen untereinander unterscheiden, indem einige gegen bestimmte Tumoren oder Klassen von Tumoren stärker wirksam und gegen andere weniger wirksam sind. Bei der klinischen Anwendung einer Verbindung der Formel I würde sie jedoch zunächst auf dem gleichen Wege mit dem gleichen Träger gegen die gleichen Arten von Tumoren, wie Vincristin und VLB, angewandt werden. Unterschiede in der Dosierungshöhe würden selbstverständlich aufgrund des Verhältnisses der Wirksamkeit von Vincristin oder VLB einerseits und des neuen Mittels andererseits beim selben experimentellen Tumor bei Mäusen angewandt.

Bei der Anwendung der neuen Hydrazidderivate der Formel I als antineoplastische Mittel erfolgt die Verabreichung parenteral. Hierfür werden isotone Lösungen mit einem Gehalt von 1-10 mg/ml einer Verbindung der Formel I angewandt. Die Verbindungen werden im Verhältnis von 0,01 bis 1 mg/kg und vorzugsweise von 0,1 bis 1 mg/kg Körpergewicht ein- oder zweimal in der Woche oder alle 2 Wochen je nach Wirksamkeit und Toxizität des Mittels angewandt. Eine andere mögliche Methode, zu einer therapeutischen Dosis zu gelangen, beruht auf der Körperoberfläche mit einer Dosis im Bereich von 0,1, bis 10 mg/m² Körperoberfläche nach jeweils 7 oder 14 Tagen.

Die klinische Prüfung einer Verbindung der Formel I wird nach der Arbeitsweise von S. K. Carter durchgeführt, die in dem Kapitel "Study Design Principles for the Clinical Evaluation of New Drugs as Developed by the Chemotherapy Programme of the National Cancer Institute" auf S. 242-289 von "The Design of Clinical Trials in Cancer Therapy", herausgegeben von Maurice Staquet (Futura Publishing Co., New York, 1973), beschrieben ist.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung von 4-Desacetyl-vincaleucoblastin-C_3-carbonsäurehydraziden der allgemeinen Formel



(I) ,

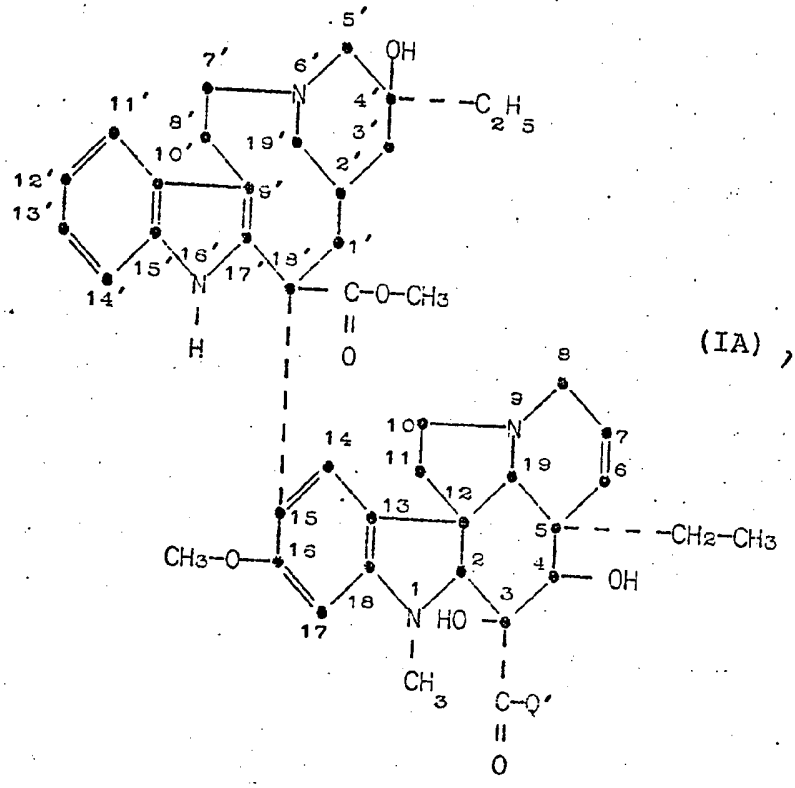
worin Q für die Gruppe $-NH-N\begin{matrix}R\\R^1\end{matrix}$ steht, in der

R für sich allein C_1-C_3-Alkyl, ß-Hydroxyethyl, ß-Acetoxyethyl, C_2-C_4-Alkanoyl, Dichloracetyl, Benzoyl oder C_1-C_3-Alkyl-carbazyl,

R^1 für sich allein Methyl oder Wasserstoff nur dann, wenn R für C_1-C_3-Alkyl steht, und sonst Wasserstoff bedeutet, oder

R und R^1 zusammen eine C_1-C_3-Alkylidengruppe bilden,

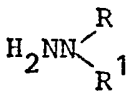
dadurch gekennzeichnet, daß ein 4-Desacetylvincaleucoblastin-C_3-derivat der allgemeinen Formel



(IA),

worin Q' N_3 oder $NHNH_2$ bedeutet, dann wenn Q' N_3 bedeutet,

in einem inerten Lösungsmittel mit



worin

R C_1-C_3-Alkyl, ß-Hydroxyethyl oder ß-Acetoxyethyl und

R^1 H oder Methyl, wenn R für C_1-C_3-Alkyl steht, und sonst H bedeutet,

umgesetzt wird, woran sich gegebenenfalls eine Acetylierung anschließt, wenn R für ß-Hydroxyethyl steht, oder dann, wenn Q' für $NHNH_2$ steht, in Lösung mit Formaldehyd, Acetaldehyd, Aceton oder Propionaldehyd umgesetzt wird, woran sich gegebenenfalls eine Hydrierung anschließt, oder mit dem Anhydrid oder Säurechlorid einer (C_2-C_4)-Alkanoylsäure, Dichloressigsäure,oder Benzoesäure oder mit

$$H_2N\text{-}NH\text{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}\text{-}(C_1\text{-}C_3)\text{Alkoxy}$$

umgesetzt wird.

2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid mit Methylhydrazin umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylcarboxhydrazid gewonnen wird.

3. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid mit Acetaldehyd umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylidencarboxhydrazid gewonnen wird.

4. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid mit Acetaldehyd umgesetzt, anschließend hydriert und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylcarboxhydrazid gewonnen wird.

5. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid mit N^2,N^2-Dimethylhydrazin umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2,N^2-dimethylcarboxhydrazid gewonnen wird.

6. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid mit Acetanhydrid umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-acetylcarboxhydrazid gewonnen wird.

7. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxhydrazid mit Buttersäureanhydrid umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-butyrylcarboxhydrazid gewonnen wird.

8. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxyhydrazid mit Benzoesäureanhydrid umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-benzoylcarboxhydrazid gewonnen wird.

9. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid mit N^2-(ß-Hydroxyethyl)hydrazin umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-hydroxy)ethylcarboxhydrazid gewonnen wird.

10. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid mit N^2-(ß-Hydroxyethyl)hydrazin umgesetzt, dann eine Umsetzung mit Essigsäureanhydrid durchgeführt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-(ß-acetoxy)ethylcarboxhydrazid gewonnen wird.

11. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-C_3-carboxazid mit N^2-Ethylcarbazylhydrazid umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-ethylcarbazylcarboxhydrazid gewonnen wird.

12. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-carboxhydrazid mit Formaldehyd umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-methylidencarboxhydrazid gewonnen wird.

13. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß 4-Desacetyl-VLB-carboxhydrazid mit Aceton umgesetzt und 4-Desacetyl-VLB-C_3-N^2-isopropylidencarboxhydrazid gewonnen wird.