

ELJÁRÁS ELŐÁLLÍTÁSUKRA,
DEMETOXI-RAPAMICIN-SZÁRMAZÉKOK, ((AZOK) GYÓGYSZERIPARI ALKALMAZÁSÁUK
(ÉS ELŐÁLLÍTÁSA), VALAMINT ILYEN SZÁRMAZÉKOKAT HATÓANYAGKÉNT TAR-
TALMAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK

K i v o n a t KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

(A találmány új demetoxi-rapamicin-származékokra, ezek gyógy-szeripari alkalmazására, ilyen származékok előállítására alkal-mas eljárásra, valamint ilyen származékokat hatóanyagként tar-talmazó gyógyszerkészítményekre vonatkozik.)

A találmány szerinti új vegyületek a rapamicinnél stabi-labbak, biológiailag jobban hasznosulnak, könnyebben formálha-tók galenuszi készítményekké és hatásosabban gátolják az immu-nreakciókat.

A találmány szerinti demetoxi-rapamicin-származékok (I) ál-talános képletében

- R_1 jelentése - többek között - alkilcsoport, alkenilcso-port, alkinilcsoport, hidroxil-alkenil-csoport, arilcso-port, tio-alkil-csoport, aril-alkil-csoport, hidroxil-aril-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-csoport, hidroxil-alkoxil-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-aril-alkil-cso-port, halogén-alkil-csoport, halogén-aril-csoport, acil-oxil-alkil-csoport, amino-alkil-csoport, alkil-amino-al-til-csoport, alkoxil-karbonil-amido-alkil-csoport, acil-amido-alkil-csoport, aril-szulfonamido-alkil-csoport, allilcsoport, dioxolanil-allil-csoport vagy alkil-szilil-csoport;
- R_2 jelentése *helyettesített arilcsoport* ~~((II) vagy (III) általános képletű csoport);~~
és
- X, valamint Y jelentése - egymástól függetlenül - oxigén-

atom, hidrogénatom + hidroxilcsoport vagy hidrogénatom +
+ OR₉ általános képletű csoport.

(A (I) általános képletű vegyületeket a találmány szerinti
eljárással például úgy állítják elő, hogy rapamicint vagy rapa-
micinszármazékot

- szelén-dioxiddal és R₁OH általános képletű vegyülettel;
- savval és R₁OH általános képletű vegyülettel;
- Z kilépőcsoportot tartalmazó R₃-Z általános képletű
vegyülettel; vagy
- morfolino-kén-trifluoriddal

reagáltatnak.)

jellemző alak : (+)


1643/96

18160

Képviselő:

Danubia Szabadalmi és

Védjegy Iroda Kft.

Budapest

A

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

**DEMETOXI-RAPAMICIN-SZÁRMAZÉKOK, AZOK GYÓGYSZERIPARI
ALKALMAZÁSA ÉS ELŐÁLLÍTÁSA, VALAMINT ILYEN SZÁRMAZÉKOKAT
HATÓANYAGKÉNT TARTALMAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK**

SANDOZ LTD., Bazel, Svájc

Feltalálók:

Dr. COTTENS Sylvain, Witterswil,

Dr. SEDRANI Richard, Bazel,

Svájc

A nemzetközi bejelentés napja: 1994. 12. 16.

Elsőbbségei: 1993. 12. 17. (9325802.8) GB

1993. 12. 17. (9325800.2) GB

1994. 04. 11. (9407138.8) GB

1994. 11. 01. (9421982.1) GB

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP94/04191

A nemzetközi közrebocsátás száma: WO 95/16691

Aktaszámunk: 83595-2703-PT/KmO

A találmány új demetoxi-rapamicin-származékokra, azok gyógyszeripari alkalmazására, valamint ilyen származékok előállítására szolgáló eljárásra vonatkozik. A találmány szerinti demetoxi-rapamicin-származékok farmakológiai szempontból első-sorban mint az immunreakciók gátlására alkalmas hatóanyagok je-lentősek.

A rapamicin a makrolidok közé tartozó ismert antibiotikum, amelyet a *Streptomyces hygroscopicus* állít elő. A rapamicin szerkezetét az (A) képlet ábrázolja [McAlpine, J.B. és munka-társai: *J. Antibiotics*, 44. 688 (1991); Schreiber, S.L. és mun-katársai: *J. Am. Chem. Soc.*, 113. 7433 (1991); 3 929 992. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás stb.]. A szak-irodalomban számos javaslat található a rapamicinmolekula atom-jainak a számozására vonatkozóan. A félreértések elkerülése vé-gett a leírásban az (A) képletben látható számozási rendszert alkalmazzuk minden olyan esetben, amikor az egyes rapamicin-származékokat megnevezzük.

A rapamicinról - amely rendkívül hatásosan fojtja el az immunreakciókat - már azt is kimutatták, hogy daganatgátló és gombaellenes tulajdonságokkal is rendelkezik, gyógyszerkénti alkalmazását azonban nagymértékben korlátozza, hogy biológiai-lag csak igen alacsony és ingadozó szinten hasznosul, ugyan-akkor nagyon mérgező. A rapamicin ráadásul alig oldható, így nehéz belőle stabil galenuszi kompozíciókat előállítani.

Számos rapamicinszármazék ismeretes:

- egyes 16-O-szubsztituált rapamicinszármazékokat a WO 94/02136. sz. nemzetközi bejelentésben ismertetnek, amelynek szövegét a találmány ismertetését kiegészítő referen-ciaanyagnak tekintjük, a továbbiakban felsorolt szakirodalmi helyekkel együtt;

- 40-O-aril- és 40-O-alkil-rapamicin-származékok szerepelnek például az 5 258 389. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban és a PCT/EP 93/02604. sz. szabadalmi bejelentésben;

- karbonsavakkal képzett észterekről van szó a WO 92/05179. sz. nemzetközi bejelentésben;

- a rapamicin amid-észterei képezik a tárgyat az 5 118 677. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásnak;

- karbamátokat ismertetnek az 5 118 678. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban;

- fluorozott észterekre vonatkozik az 5 100 883. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás;

- acetálok szerepelnek az 5 151 413. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban;

- szilil-éterekről van szó az 5 120 842. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban; és

- 32-O-dihidro- vagy 32-O-helyettesített rapamicinszármazékok szerepelnek az 5 256 790. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban.

Meglepetéssel fedeztük fel, hogy vannak a rapamicinnak bizonyos új demetoxi-származékai - a találmány szerinti új vegyületek -, amelyeknek a rapamicinnel összehasonlítva jobbak a farmakológiai tulajdonságai, amelyek a rapamicinnél stabilabbak, biológiailag jobban hasznosulnak, könnyebben formálhatók galenuszi készítményekké és hatásosabban gátolják az immunrendszer reakcióit. Az új vegyületek olyan rapamicinszármazékok, amelyek a 16-os és/vagy a 39-es helyzetben nem tartalmaznak metoxicsoporto(ka)t, mert ez(eke)t a csoporto(ka)t más, megadott szubsztituens(ek) helyettesíti(k). Nem állt szándékunkban

korlátozni magunkat semmilyen egyéni elmélettel, csak feltételeztük, hogy a rapamicinnek ezek a metoxicsoportjai támadásnak vannak kitéve az anyagcsere folyamán, de különleges, kiválasztott szubsztituensekkel helyettesíthetők, és így - adott esetben a molekula bizonyos további módosításaival együtt - elérhető, hogy az aktivitás megmaradása - sőt egyes esetekben növekedése - mellett a metabolikus "támadásra" való érzékenység csökkenjen.

A találmány szerinti új vegyületek közé tartoznak mindezekelőtt azok a rapamicinszármazékok, amelyeknél

(i) a 16-os helyzetben levő metoxicsoportot más szubsztituens helyettesíti, mégpedig előnyösen (adott esetben hidroxil-csoporttal szubsztituált) alkinil-oxi-csoport; és/vagy

(ii) a 39-es helyzetben levő metoxicsoport a 39-es szénatommal együtt hiányzik, és így a rapamicin ciklohexilcsoportjából olyan ciklopentilcsoport keletkezik, amelyről hiányzik a 39-es helyzetbeli metoxicsoport: ezek a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-helyettesített-42-nor-rapamicin-származékok, amelyeket a leírásban egyszerűen csak ciklopentil-rapamicin-származékoknak nevezünk.

A molekula fennmaradó része olyan, mint a rapamiciné vagy annak immungátló származékaié és analogonjaié, például az ismertett származékoké. A molekula adott esetben más hely(ek)en is lehet módosítva, például a rapamicinmolekula 40-es helyzetében levő hidroxilcsoport alkilezve lehet és/vagy a 32-es helyzetben levő karbonilcsoportot hidrogénezni lehet.

Az új vegyületek előnyös esetben olyan rapamicinszármazékok, amelyek (I) általános képletében

- R_1 jelentése alkilcsoport, alkenilcsoport, alkinilcsoport, hidroxil-alkenil-csoport, hidroxil-alkil-csoport,

- hidroxi-alkinil-csoport, arilcsoport, tio-alkil-csoport, aril-alkil-csoport, hidroxi-aril-alkil-csoport, hidroxi-aril-csoport, dihidroxi-alkil-csoport, hidroxi-alkoxi-alkil-csoport, hidroxi-alkil-aril-alkil-csoport, dihidroxi-alkil-aril-alkil-csoport, alkoxi-alkil-csoport, alkoxi-aril-alkil-csoport, halogén-alkil-csoport, halogén-aril-csoport, halogén-aril-alkil-csoport, acil-oxi-alkil-csoport, amino-alkil-csoport, alkil-amino-alkil-csoport, alkoxi-karbonil-amido-alkil-csoport, acil-amido-alkil-csoport, aril-szulfonamido-alkil-csoport, allil-csoport, dihidroxi-alkil-allil-csoport, dioxolanil-allil-csoport, karbalkoxi-alkil-csoport vagy alkil-szilil-csoport; előnyösen valamilyen telítetlen csoport, még előnyösebben valamilyen aromás csoport vagy alkinilcsoport; még ennél is előnyösebben alkinilcsoport, hidroxi-alkinil-csoport, benzilcsoport, alkoxi-benzil-csoport vagy klór-benzil-csoport (a helyettesített benzilcsoportok orto-szubsztituáltak); legelőnyösebben pedig alkinilcsoport vagy hidroxi-alkinil-csoport;
- R_2 jelentése olyan csoport, amelynek (II) vagy (III) általános képletében
 - R_3 jelentése hidrogénatom, alkilcsoport, alkenilcsoport, alkinilcsoport, arilcsoport, tio-alkil-csoport, aril-alkil-csoport, hidroxi-aril-alkil-csoport, hidroxi-aril-csoport, hidroxi-alkil-csoport, dihidroxi-alkil-csoport, hidroxi-alkoxi-alkil-csoport, hidroxi-alkil-aril-alkil-csoport, dihidroxi-alkil-aril-alkil-csoport, alkoxi-alkil-csoport, acil-oxi-alkil-csoport,

amino-alkil-csoport, alkil-amino-alkil-csoport, alkoxi-karbonil-amido-alkil-csoport, acil-amido-alkil-csoport, aril-szulfonamido-alkil-csoport, allilcsoport, dihidroxi-alkil-allil-csoport, di-oxolanil-allil-csoport, karbalkoxi-alkil-csoport vagy alkil-szilil-csoport; előnyös esetben hid-roxi-alkil-csoport, hidroxil-alkoxi-alkil-csoport, acil-amino-alkil-csoport, alkoxi-alkil-csoport vagy amino-alkil-csoport; különösen előnyösen hidroxil-etil-csoport, hidroxil-propil-csoport, hidroxil-etoxil-etil-csoport, metoxil-etil-csoport vagy acetil-amino-etil-csoport;

-- R_4 jelentése hidrogénatom, illetve R_4 az R_3 szubsztituenssel együtt egy 2-6 szénatomos alkil-léncsoportot képez;

-- R_5 jelentése helyettesített vagy nem helyettesített acilcsoport - például formilcsoport, karboxilcsoport, amidocsoport vagy észtercsoport -, oxil-metil-csoport, iminil-metil-csoport vagy dioxil-metil-csoport - például $-O-CH_2-O-$ -; célszerűen

(i) oxil-metil-csoport, például hidroxil-metil-csoport, például általában olyan csoport, amelynek R_6O-CH_2- általános képletében

--- R_6 jelentése hidrogénatom, alkilcsoport, alkenilcsoport, alkinilcsoport, arilcsoport, aminocsoport, acilcsoport - például alkil-karbonil-csoport, aril-karbonil-

-csoport, heteroaril-karbonil-csoport, hidroxil-alkil-karbonil-csoport, amino-alkil-karbonil-csoport vagy formilcsoport -, tio-alkil-csoport, aril-alkil-csoport, hidroxil-aril-alkil-csoport, hidroxil-aril-csoport, hidroxil-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-csoport, hidroxil-alkoxil-alkil-csoport, hidroxil-alkil-aril-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-aril-alkil-csoport, alkoxil-alkil-csoport, acil-oxil-alkil-csoport, amino-alkil-csoport, alkil-amino-alkil-csoport, alkoxil-karbonil-amido-alkil-csoport, acil-amido-alkil-csoport, aril-szulfonamido-alkil-csoport, allil-csoport, dihidroxil-alkil-allil-csoport, dioxolanil-allil-csoport, karbalkoxil-alkil-csoport vagy alkil-szilil-csoport;

(ii) acilcsoport, például (4-metil-piperazin-1-il)-karbonil-csoport, (morfolin-4-il)-karbonil-csoport vagy N-metil-N-(2-piridin-2-il-etil)-karbamoil-csoport, például általában olyan csoport, amelynek R_7CO - általános képletében

--- R_7 jelentése hidrogénatom, alkilcsoport, hidroxilcsoport, alkoxilcsoport, aril-oxil-csoport, amidocsoport, alkil-amido-csoport, aminosavmaradék vagy N,N-diszubsztituált amidocsoport, amelynek a szubsztituensei

(a) az alkilcsoportok, az arilcsoportok,

az aril-alkil-csoportok vagy az alkil-aril-csoportok; illetve

(b) a heterociklusos csoportok - például morfolinocsoport vagy piperazinocsoport -

közül kerülnek ki;

(iii) imino-metil-csoport, például p-toluol-szulfonil-hidrazono-metil-csoport, például általában olyan csoport, amelynek R_8NCH- általános képletében

--- R_8 jelentése alkilcsoport, arilcsoport, aminocsoport, alkil-amino-csoport, aril-amino-csoport vagy aril-szulfonil-amino-csoport; vagy

(iv) O,O-diszubsztituált metilidin-dioxi-csoport, például O,O-(alkilén)-metilidin-dioxi-csoport, vagyis olyan csoport, amelyben a két oxigénatomot egy alkiléncsoport köti össze; és

- X, valamint Y jelentése - egymástól függetlenül - oxigénatom, hidrogénatom + hidroxilcsoport vagy hidrogénatom + + olyan csoport, amelynek $-OR_9$ általános képletében R_9 jelentése alkilcsoport - előnyösen 1-4 szénatomos alkilcsoport -, acilcsoport - például alkil-karbonil-csoport, aril-karbonil-csoport, heteroaril-karbonil-csoport, hidroxil-alkil-karbonil-csoport, amino-alkil-karbonil-csoport vagy formilcsoport - vagy arilcsoport,

azzal a megjegyzéssel, hogy az "alk" szótag vagy az "alkil" megjelölés oxigénatommal adott esetben megszakított (-O-), 1-10

szénatomos - előnyös esetben 1-6 szénatomos -, elágazó szénláncu, egyenes szénláncu vagy ciklusos alifás szubsztituensre, az "ar" szótag vagy az "aril" megjelölés pedig adott esetben helyettesített, 4-14 szénatomos, monociklusos - adott esetben heterociklusos - aromás szubsztituensre (például tolilcsoport-ra, fenilcsoport-ra, benzilcsoport-ra vagy piridilcsoport-ra) utal; továbbá a következő megkötésekkel:

- abban az esetben, ha R_2 jelentése (II) általános képletű csoport, akkor R_1 jelentése metilcsoporttól eltérő és

- (i) R_3 jelentése hidroxil-alkil-csoport, alkoxil-alkil-csoport, hidroxil-alkoxil-alkil-csoport, acil-amino-alkil-csoport vagy amino-alkil-csoport; és/vagy
- (ii) X jelentése oxigénatomtól eltérő; és/vagy
- (iii) R_1 jelentése - adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített - alkinilcsoport, előnyösen - adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített - alk-2-inil-csoport, például prop-2-inil-csoport, but-2-inil-csoport, pent-2-inil-csoport vagy 4-hidroxil-but-2-inil-csoport; és

- abban az esetben, ha R_1 jelentése metilcsoport, akkor R_2 jelentése (III) általános képletű csoport.

A (I) általános képletű demetoxi-rapamicin-származékok közé tartoznak a következő vegyületek is:

a) azok a 16-O-szubsztituált rapamicinszármazékok, amelyek - R_1 helyén

(i) benzilcsoportot, orto-alkoxil-benzil-csoportot vagy klór-benzil-csoportot (előnyösen benzilcsoportot vagy orto-metoxil-benzil-csoportot); vagy

(ii) (adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített) al-

kinilcsoportot, előnyösen (adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített) alk-2-inil-csoportot, mindenekeelőtt prop-2-inil-csoportot, but-2-inil-csoportot, pent-2-inil-csoportot vagy 4-hidroxi-but-2-inil-csoportot;

- R_2 helyén (II) általános képletű csoportot;
 - R_3 helyén hidrogénatomot, hidroxil-alkil-csoportot, alkoxi-alkil-csoportot, hidroxil-alkoxi-alkil-csoportot, acil-amino-alkil-csoportot vagy amino-alkil-csoportot;
 - R_4 helyén metilcsoportot; és
 - X, valamint Y helyén - egymástól függetlenül - oxigénatomot, hidrogénatomot + hidroxilcsoportot vagy hidrogénatomot + + 1-4 szénatomos alkoxics csoportot
- tartalmaznak; közülük is mindenekeelőtt azok a 16-O-szubsztituált rapamicinszármazékok, amelyek

- R_1 helyén alkinilcsoportot vagy hidroxil-alkinil-csoportot, előnyösen (adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített) 3-6 szénatomos alk-2-inil-csoportot;

- R_2 helyén (II) általános képletű csoportot;
 - R_3 helyén hidrogénatomot, hidroxil-alkil-csoportot, alkoxi-alkil-csoportot vagy hidroxil-alkoxi-alkil-csoportot;
 - R_4 helyén metilcsoportot; és
 - X, valamint Y helyén egyaránt oxigénatomot
- tartalmaznak;

b) azok a 16-O-szubsztituált rapamicinszármazékok, amelyek

- R_1 helyén alkilcsoportot, alkenilcsoportot, alkinilcsoportot, arilcsoportot, tio-alkil-csoportot, aril-alkil-csoportot, hidroxil-aril-alkil-csoportot, hidroxil-aril-csoportot, hidroxil-alkil-csoportot, dihidroxil-alkil-csoportot, hidroxil-alkoxi-alkil-csoportot, hidroxil-alkil-aril-alkil-csoportot, dihidroxil-

-alkil-aril-alkil-csoportot, alkoxi-alkil-csoportot, acil-oxi-alkil-csoportot, amino-alkil-csoportot, alkil-amino-alkil-csoportot, alkoxi-karbonil-amido-alkil-csoportot, acil-amido-alkil-csoportot, aril-szulfonamido-alkil-csoportot, allilcsoportot, dihidroxi-alkil-allil-csoportot, dioxolanil-allil-csoportot, karbalkoxi-alkil-csoportot vagy alkil-szilil-csoportot - előnyösen alkinilcsoportot - tartalmaznak, azzal a megjegyzéssel, hogy az "alk" szótag és az "alkil" megjelölés oxigénatommal adott esetben megszakított (-O-), 1-10 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncu vagy ciklusos alifás szubsztituensre, az "aril" megjelölés pedig valamilyen monociklusos aromás szubsztituensre utal, és amennyiben R_1 metilcsoportot jelent, 16-epi-rapamicin-származékokról van szó; továbbá

- R_2 jelentése (II) általános képletű csoport, amelyben
 - R_3 jelentése hidrogénatom; és
 - R_4 jelentése metilcsoport; és
- X, valamint Y jelentése egyaránt oxigénatom; és

c) az R_2 helyén (III) általános képletű csoportot, R_1 , R_5 , X és Y helyén pedig a már megadott szubsztituensek valamelyikét tartalmazó ciklopentil-rapamicin-származékok, például azok a vegyületek, amelyek R_1 helyén metilcsoportot, X és Y helyén egyaránt oxigénatomot, R_5 helyén pedig helyettesített vagy nem helyettesített acilcsoportot (például formilcsoportot, karboxilcsoportot, amidocsoportot vagy észtercsoportot), oxi-metil-csoportot, imino-metil-csoportot vagy dioxo-metil-csoportot (például -O-CH-O képletű csoportot) tartalmaznak; így például

(i) helyettesített oxi-metil-csoportot, például olyan csoportot, amelynek R_6O-CH_2- általános képletében R_6 jelentése hidrogénatom, alkilcsoport, alkenilcsoport, alkinilcsoport, aril-

csoport, tio-alkil-csoport, aril-alkil-csoport, hidroxil-aryl-alkil-csoport, hidroxil-aryl-csoport, hidroxil-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-csoport, hidroxil-alkoxil-alkil-csoport, hidroxil-alkil-aryl-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-aryl-alkil-csoport, alkoxil-alkil-csoport, acil-oxil-alkil-csoport, amino-alkil-csoport, alkil-amino-alkil-csoport, alkoxil-karbonil-amido-alkil-csoport, acil-amido-alkil-csoport, aril-szulfonamido-alkil-csoport, allil-csoport, dihidroxil-alkil-allil-csoport, dioxolanil-allil-csoport, karbalkoxil-alkil-csoport vagy alkil-szilil-csoport;

(ii) acilcsoportot, például olyan csoportot, amelynek R_7CO -általános képletében R_7 jelentése hidrogénatom, alkilcsoport, hidroxilcsoport, alkoxilcsoport, aril-oxil-csoport, amidocsoport, alkil-amido-csoport, aminosavmaradék vagy olyan, N,N-szubsztituált amidocsoport, amelynek a szubsztituensei egy heterociklusos csoportot (például morfolinocsoportot vagy piperazinocsoportot) képeznek;

(iii) valamilyen imino-metil-csoportot, így például alkil-imino-metil-csoportot, aril-imino-metil-csoportot vagy hidrazonometil-csoportot; vagy

(iv) O,O-diszubsztituált dioxil-metilén-csoportokat, például O,O-(alkilén)-dioxil-metilén-csoportot, vagyis olyan dioxil-metilén-csoportot, amelynek két oxigénatomját alkilén-csoport kapcsolja össze; azzal a megjegyzéssel, hogy az "alk" szótag olyan, 1-6 szénatomos - előnyös esetben 1-3 szénatomos -, egyenes vagy elágazó szénláncu vagy ciklusos alifás csoportra utal, amelyben a szénláncot adott esetben megszakíthatja egy éterkötés (-O-), az "aryl" megjelölés pedig valamilyen aromás csoport - előnyös esetben valamilyen monociklusos aromás csoport - helyett áll.

Különösen jó eredménnyel lehet alkalmazni például a következő, (I) általános képletű vegyületeket:

1. 16-demetoxi-16-(pent-2-inil-oxi)-rapamicin,
2. 16-demetoxi-16-(but-2-inil-oxi)-rapamicin,
3. 16-demetoxi-16-(propargil-oxi)-rapamicin,
4. 16-demetoxi-16-(4-hidroxi-but-2-inil-oxi)-rapamicin,
5. 16-demetoxi-16-(benzil-oxi)-40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicin,
6. 16-demetoxi-16-(benzil-oxi)-rapamicin,
7. 16-demetoxi-16-(orto-metoxi-benzil)-rapamicin,
8. 16-demetoxi-40-O-(2-metoxi-etil)-16-(pent-2-inil-oxi)-rapamicin,
9. 39-demetoxi-40-dezoxi-39-formil-42-nor-rapamicin,
10. 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(hidroxi-metil)-42-nor-rapamicin,
11. 39-demetoxi-40-dezoxi-39-karboxil-42-nor-rapamicin,
12. 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(4-metil-piperazin-1-il-karbonil)-42-nor-rapamicin,
13. 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(morfolin-4-il-karbonil)-42-nor-rapamicin,
14. 39-demetoxi-40-dezoxi-39-[N-metil,N-(2-piridin-2-il-etil)-karbamoil]-42-nor-rapamicin és
15. 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(p-toluolszulfonil-hidrazono-metil)-42-nor-rapamicin.

A (I) általános képletű vegyületeket általában a következő bekezdésekben ismertetett eljárásokkal állítjuk elő rapamicinből vagy rapamicinszármazékokból.

1. Abban az esetben, ha R_1 helyén metilcsoporttól eltérő szubsztituenst tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket ki-

vánunk előállítani, a kiindulási vegyületet a 16-os szénatomhoz kapcsolódó oxigénatomnál **ugy** módosíthatjuk, hogy a rapamicint vagy a rapamicinszármazékot

(i) megfelelő reakciókörülmények között szelén-dioxiddal és R_1 -OH általános képletű vegyülettel reagáltatjuk - R_1 jelentése a már megadott -, például magas reakciót hőmérsékleteket alkalmazunk; vagy célszerűen

(ii) valamilyen savval - például toluolszulfonsavval - és valamilyen nukleofil ágenssel - például R_1 -OH általános képletű vegyülettel - reagáltatjuk a környezet hőmérsékletén, megfelelő aprotikus oldószerben, például diklór-metánban, acetonitrilben vagy tetrahidrofuranban.

2. Abban az esetben, ha R_2 helyén (II) általános képletű csoportot, R_3 helyén pedig hidrogéntől eltérő szubsztituenst tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket kívánunk előállítani, például O-alkilezzük a 40-es helyzetben levő hidroxilcsoportot. Az alkilezést megfelelő körülmények között valamilyen kilépőcsoporthoz kapcsolódó szerves csoporttal való reagáltatással hajtjuk végre (például R_3 -Z általános képletű vegyületeket alkalmazunk, ahol R_3 a már definiált szerves csoportok valamelyike, például alkilcsoport, allilcsoport vagy benzilcsoport, attól függően, hogy milyen csoportot kívánunk bevinni a molekulába O-szubsztituensként, Z pedig a kilépőcsoport, például $CCl_3C(NH)O$ vagy CF_3SO_3 csoport), például valamilyen sav, így trifluor-metánszulfonsav, kámforszulfonsav, p-toluolszulfonsav vagy ezeknek a savaknak a megfelelő piridiniumsója vagy helyettesített piridiniumsói jelenlétében, amennyiben Z jelentése $CCl_3C(NH)O$ képletű csoport, illetve valamilyen bázis - például piridin, helyettesített piridin, diizopropil-etil-amin vagy pentametil-piperidin -

jelenlétében, amennyiben Z jelentése CF_3SO_3 képletű csoport, de végrehajthatjuk az alkilezést a rapamicin 40-O-alkilezésére vonatkozóan az 5 258 389. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban vagy a PCT/EP 93/02604. sz. szabadalmi bejelentésben ismertetett eljárásokhoz hasonló módon is.

3. Abban az esetben, ha R_2 helyén (III) általános képletű csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületeket kívánunk előállítani, a (II) általános képletű csoport ciklohexángyűrűjének a (III) általános képletű csoport ciklopentángyűrűjévé való átalakítását úgy valósítjuk meg, hogy morfolino-kén-trifluoriddal való reagáltatással előállítjuk az aldehidvegyületet - például az R_5 helyén formilcsoportot tartalmazó vegyületet, amelyet ezután oxidálunk - ha az aldehidből karbonsavat, például R_5 helyén karboxilcsoportot tartalmazó vegyületet kívánunk előállítani - vagy redukálunk, ha az aldehidből alkoholt, például R_5 helyén hidroximetil-csoportot tartalmazó vegyületet kívánunk előállítani. A többi találmány szerinti hasonló vegyületet további O-helyettesítéssel vagy -módosítással lehet előállítani az ezen a területen járatos szakemberek számára ismert módszerekkel, például a következő általános eljárásokkal:

(i) oxi-metil-származékok előállítása céljából az alkoholvegyületet a 40-O-helyettesítéssel kapcsolatban már ismertetett módon reagáltatjuk;

(ii) acil-származékok előállítása céljából az adott karbonsavat a kívánt aminnal vagy alkohollal valamilyen aktiváló vagy kapcsoló hatású reagenssel, például oxalil-kloriddal vagy diciklohexil-karbodiimiddal reagáltatjuk, hogy megkapjuk - az említés sorrendjében - a kívánt amidot vagy észtert; és

(iii) imino-metil-, illetve metilidin-dioxi-csoportot tartalmazó vegyületek előállítása céljából az aldehidvegyületet savas közegben kondenzáljuk a kívánt aminnal, illetve alkiléndiollal.

4. Abban az esetben, ha az előállítani kívánt vegyület X helyén oxigéntől eltérő szubsztituenst tartalmazó (I) általános képletű rapamicinszármazék, az X helyén hidrogénatomot + hidroxilcsoportot tartalmazó 32-O-dihidro-vegyületet úgy kapjuk meg, hogy megvédjük - például trietil-szilil-étert képező védőcsoportokkal - az oxigénatomokon például a rapamicinnek a 28-as és a 40-es helyzetben levő hidroxilcsoportjait, majd a megvédett vegyületet például L-szelektriddel redukáljuk és - adott esetben - például enyhén savas közegben eltávolítjuk a redukált vegyület védőcsoportjait ahhoz az eljáráshoz hasonló módon, amelyet az 5 256 790. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban 32-O-dihidro-rapamicin rapamicinből kiinduló előállításával kapcsolatban ismertetnek. Abban az esetben, ha a helyettesítést a 32-es helyzetben levő hidroxilcsoporton kívánjuk elvégezni, a 28,40-O,0-védett vegyületet - például a 40-O-alkilezésre már leírt módon - alkilezzük, acilezzük vagy más módon - például az 5 256 790. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban közölt eljárásokhoz hasonló módon - O-szubsztituáljuk.

A felsorolt eljárásokat meg lehet valósítani bármilyen sorrendben, de kiindulási anyagként rapamicint célszerű felhasználni. Az említett reakció(k) lejátszatása előtt a kiindulási anyagokat és az intermediereket meg lehet védeni - például a 4. eljárásnál ismertetett módon, oxigénatom(ok)hoz kapcsolt védőcsoporttal. Ebben az esetben a védőcsoport(ok) eltávolítása után kapjuk meg az előállítani kívánt végterméket.

Az új vegyületeket különösen jó eredménnyel lehet alkalmazni a következő esetekben:

a) Az átültetett szerv vagy szövet szervezetből való kilöködésének megelőzése és az átültetett szerv vagy szövet elleni immunreakciók kezelése; így például olyan betegek gyógykezelése, akikbe szívet, tüdőt, szívet + tüdőt, májat, vesét, hasnyálmirigyet, bőrt vagy szaruhártyát ültettek át, beleértve a heveny kilöködési reakciók megelőzését és kezelését, a rendkívül heveny kilöködési reakciók megelőzését és kezelését (például az átültetett szervek ellen megnyilvánulókat) és a krónikusan jelentkező - például éráttetéssel kapcsolatos - kilöködési reakciók megelőzését és kezelését. A találmány szerinti új vegyületek alkalmazása csontvelőátültetés esetén is javallott, mégpedig a csontvelő és a gazdaszervezet közötti immunológiai összeférhetetlenség miatt előforduló, úgynevezett "graft-versus-host" betegség (vagyis az átültetett csontvelőnek a gazdaszervezet elleni támadásában megnyilvánuló betegség) megelőzése és kezelése céljából.

b) Az autoimmun betegségek és gyulladásos állapotok megelőzése és kezelése, különös tekintettel az egyéb kórokok mellett autoimmun eredetre is visszavezethető gyulladásos állapotokra (így a reumaszerű ízületi gyulladásra, az idült ízületi gyulladásra és a deformálódással járó ízületi gyulladásra), valamint a reumás betegségekre. A találmány szerinti új vegyületeket alkalmazni lehet például olyan, különleges autoimmun betegségek kezelésére is, mint az autoimmun hematológiai rendellenességek (beleértve például a Crosby-szindrómát, az apláziás vérszegénységet, a vörösvérsejtekre korlátozódó vérszegénységet és a trombocitaszám spontán csökkenését), a bőrpirosságot előidéző szisztémás bőrtuberkulózist, a több helyen jelentkező porcgyulladást,

a szklerodomát, a Wegener-féle granulomás állapotot, a bőrízomgyulladást, az idült aktiv májgyulladást, a súlyos izomgyengeséget, a pikkelysömört, a Steven-Johnson-szindrómát, a spontán jelentkező trópusi zsirszékletet, az autoimmun gyulladásos bélbetegségeket (beleértve a fekélyes vastagbélgyulladást és a Crohn-kórt), a belső elválasztással kapcsolatos szembetegségeket, a Graves-kórt, a szarkoidózist, a szklerózis multiplexet, az elsődleges májcirrhózist, a fiataalkori cukorbetegséget (az I. típusú diabétesz mellitust), a szemgolyó elülső és hátsó részének a gyulladását, a szemszárazságot előidéző szaru- és kötőhártya-gyulladást és a tavaszi szaru- és kötőhártya-gyulladást, a tüdő szövetközi részének rostos elfajulását, a pikkelysömörös ízületi gyulladást, a glomerulonefritist a nefrózis tünetcsoportjával vagy a nélkül (beleértve például a spontán kialakuló nefrózis-tünetcsoportot és a minimális elváltozással járó vesebetegséget), valamint a fiataalkori bőrízomgyulladást.

c) Asztma megelőzése és kezelése.

d) A több gyógyszerrel szemben kialakult rezisztencia (MDR) kezelése. Az új vegyületek gátolják az MDR kialakulásában szerepet játszó P-glikoproteinek (Pgp) működését. (A P-glikoproteinek specifikusan kötődő molekulákat szállítanak át a sejtfalakon.) Az MDR különösen a rákos és az AIDS-es betegeknél okoz nehézségeket. Ezek a betegek ugyanis nem reagálnak a hagyományos kemoterápiás kezelésre, mert a Pgp "kiszivattyuzza" a sejtekből a gyógyszerek hatóanyagait. Az új vegyületeket ezért fel lehet használni más kemoterápiás hatóanyagok hatásosságának a fokozására olyan módon, hogy kezeljük és csökkentjük a több gyógyszerrel szemben kialakult ellenállóképességet például a rákos vagy az AIDS-ben szenvedő betegeknél.

e) Burjánzásban megnyilvánuló rendellenességek - például daganatok, tulzott mértékű burjánzással jelentkező bőrbetegségek és más, hasonló rendellenességek - kezelése.

f) Gombás fertőzések kezelése.

g) Gyulladások megelőzése és kezelése, főleg szteroidok hatásának fokozásával kapcsolatban.

h) Fertőzések - mindenekelőtt Mip-faktorokkal vagy Mip-szerű faktorokkal rendelkező kórokozók által előidézett fertőzések - megelőzése és kezelése.

A találmány kidolgozásának eredményeként tehát rendelkezésre állnak a találmány szerinti új vegyületek mint új intermedierek vagy gyógyhatású anyagok, továbbá olyan új módszerek a felsorolt rendellenességek megelőzésére és kezelésére, amelyek szerint a találmány tárgyát képező új vegyületeket hatásos mennyiségben juttatjuk az arra rászoruló szervezetébe, és lehetőség van arra, hogy a találmány szerinti új vegyületeket farmakológiai szempontból elfogadható hígítóanyaggal vagy hordozóanyaggal kombinálva vagy társítva olyan gyógyszereket állítsunk elő, amelyekkel meg lehet előzni, illetve kezelni lehet a már említett rendellenességeket.

Az új vegyületeket farmakológiai szempontból hatásos dózisban, farmakológiai szempontból elfogadható formában juttatjuk be a kezelésre szoruló személy szervezetébe. Az új vegyületek esetében a megfelelő dózisok nagysága természetesen függ a kezelendő betegségtől (például a betegség típusától és a rezisztencia jellegétől), az elérni kívánt hatástól és az alkalmazási módtól.

Ezzel kapcsolatban azonban általánosságban el lehet annyit mondani, hogy orális alkalmazás esetén kielégítő eredményeket

lehet elérni 0,05-5 mg/kg testtömeg vagy legfeljebb 10 mg/kg testtömeg napi dózisokkal, például 0,1-2 mg/kg testtömeg vagy legfeljebb 7,5 mg/kg testtömeg napi dózisokkal, amelyeket naponta egy alkalommal vagy - osztott dózisok formájában - 2-4 alkalommal vesz be a beteg; vagy parenterálisan - például intravénásan, így vénába való csepegtetés vagy infúzió útján - 0,01-2,5 mg/kg testtömeg vagy legfeljebb 5 mg/kg testtömeg, például 0,05-0,1 mg/kg testtömeg vagy legfeljebb 1,0 mg/kg testtömeg napi dózisokkal. Így a betegek megfelelő napi adagja szájon keresztüli alkalmazás esetén 500 mg körül van - például 5-100 mg -, intravénás alkalmazás esetén pedig 0,5-125 mg vagy legfeljebb 250 mg, például 2,5-50 mg.

Ugy is eljárhatunk, sőt célszerű is úgy eljárni, hogy a gyógyszert az adott betegre megállapított módon (betegspecifikusan) adagoljuk, hogy a hatóanyag-koncentráció a teljes vérmenyiségben előre meghatározott - például RIA-módszerrel mért - értékeket érjen el. Így a betegnél a gyógyszeradagolást be lehet úgy állítani, hogy az átáramló teljes vérmennyiségben a hatóanyag koncentrációja (RIA-módszerrel mérve) állandóan 50-500 ng/ml vagy 150-1000 ng/ml legyen, vagyis az immunreakciók elfojtását célzó ciklosporinos terápiában jelenleg használt adagolási módszerekhez hasonlókat lehet alkalmazni.

Az új vegyületeket mint hatóanyagokat lehet önmagukban vagy más hatóanyagokkal együtt alkalmazni. Így például az immunreakciók elfojtását célzó alkalmazások esetén - például a transzplantátum és a gazdaszervezet közötti immunológiai összeférhetetlenség miatt kialakuló "graft-versus-host" betegség, a transzplantátum-kilökődés vagy az autoimmun betegségek megelőzésekor vagy kezelésekor - az új vegyületeket kombinálni

lehet ciklosporinokkal, aszkomicinekkel vagy ezek analogonjaival - például A-ciklosporinnal, G-ciklosporinnal vagy FK-506-tal -, kortikoszteroidokkal, ciklofoszfamiddal, azatioprénnel, metotrexáttal, brekvinárral, leflunomiddal, mizoribinnel, immunreakciók elfojtására alkalmas monoklonális antitestekkel, például fehérvérsejt-receptorokhoz megfelelő monoklonális antitestekkel, így MHC-vel, CD2-vel, CD3-mal, CD4-gyel, CD7-tel, CD-25-tel, CD28-cal, CTLA4-gyel, B7-tel, CD45-tel vagy CD58-cal vagy mindezek ligandumjaival; vagy más, az immunrendszer működését szabályozó vegyületekkel.

Az immunrendszer működésének elfojtását célzó alkalmazásokhoz - például a beültetett szervek vagy szövetek kilökődésének megelőzéséhez vagy a kilökődéssel fenyegető állapotok kezeléséhez - a találmány szerinti hatóanyagokat legcélszerűbb IL-2-es transzkripciós inhibitorokkal, például az immunreakciók elfojtására alkalmas ciklosporinokkal - így A-ciklosporinnal -, valamint aszkomicinekkel, például FK-506-tal kombinálni. Ha az új vegyületeket gyulladásgátlóként alkalmazzuk, felhasználhatunk velük együtt gyulladásgátló szereket, például kortikoszteroidokat is. Fertőzések megakadályozása céljából a találmány szerinti új vegyületeket más fertőzésgátló szerekekkel - például vírusellenes hatóanyagokkal vagy antibiotikumokkal - kombinált formában lehet alkalmazni.

A találmány szerinti új vegyületeket a szervezetbe bejuttathatjuk bármilyen hagyományos módszerrel, de mindenekelőtt enterálisan, például orálisan - például megíható oldatok, tabletták vagy kapszulák alakjában - vagy parenterálisan, például injektható oldatok vagy szuszpenziók formájában. Az orális alkalmazásra megfelelő, egységdózist tartalmazó kiserelési for-

mákban a találmány szerinti hatóanyagok mennyisége például 1-50 mg, rendszerint 1-10 mg. A találmány szerinti új vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítményeket a rapamicint tartalmazó gyógyszerkészítményekhez hasonlóan lehet elkészíteni - ez szakemberek számára valószínűleg magától értetődik -, például a 41 795. sz. európai közrebecsátási iratban ismertetett eljárással.

A találmány szerinti új vegyületek farmakológiai hatásait például a következő tesztek igazolják.

1. Kevert limfociták reagálása (MLR)

Az MLR-tesztet eredetileg genetikailag különböző egyénekből származó szövetek vagy szervek átültetésével kapcsolatban fejlesztették ki, hogy fel tudják mérni, milyen mértékben kompatibilisek a potenciális szervdonor szövetek a befogadó szervezet szöveivel. Az immunreakciók in vitro körülmények közötti vizsgálatához az MLR-teszt az egyik legmegbízhatóbb modell. A találmány szerinti új vegyületek immunreakciók elfojtására irányuló hatásának igazolására a szakirodalomban például T. Meo által ismertetett, rágszáló kísérleti állatokra kidolgozott MLR-modellt alkalmazzuk [Immunological Methods (L. Lefkovits és B. Peris szerkesztésében), Academic Press, New York, 1979, 227-239. oldal].

8-10 hetes nőstény Balb/c egerekből származó lépsejteket ($0,5 \times 10^6$) 5 napon át együtt inkubálunk 8-10 hetes nőstény CBA egerekből származó, 2000 rad sugárzási dózist elnyelt vagy C-mitomicinnel kezelt lépsejtekkel ($0,5 \times 10^6$). A genetikailag különböző besugárzott sejtek burjánzást idéznek elő a Balb/c egerekből származó lépsejtekénél. A burjánzás mértékét a DNS-be beépített radioaktív prekursorral lehet meghatározni. A bur-

jánzásra serkentő sejtek - minthogy előzőleg besugároztuk vagy C-mitomycinrel kezeltük őket - nem reagálnak burjánzással a Balb/c egerektől származó sejtekre, de megőrzik antigénképességüket. A találmány szerinti új vegyületeknek a Balb/c egerekből származó sejtekre gyakorolt burjánzásgátló hatását mérjük különböző hígítási oldatokban, és a mérési adatokból kiszámítjuk a sejtburjánzás 50 %-os gátlását eredményező oldat koncentrációját (IC_{50}). Ennek a vizsgálatnak a során a példákban szereplő valamennyi új vegyület aktívnek bizonyul. Különösen a példák szerinti alkinil-származékok fojtják el hatásosan az immunreakciókat: IC_{50} -értékeik ennél a vizsgálatnál a rapamicinre vonatkoztatva 0,3-0,8-szorosak, vagyis vannak közöttük olyanok is, amelyek háromszor olyan aktívak, mint a rapamicin.

2. Az IL-6 által közvetített burjánzás vizsgálata

6-Interleukintól (IL-6) függő, egérből származó hibridóma sejtvonal felhasználásával állapítjuk meg, hogy a találmány szerinti új vegyületek milyen mértékben képesek gátolni azt a jelzőreakciósort, amelyben a növekedési faktor szerepet játszik. A vizsgálatot 96 mérőhelyes lemezekon hajtjuk végre. Mérőhelyenként 5000 sejtet tenyésztünk milliliterenként 1 ng rekombináns IL-6-tal kiegészített, savótól mentes közegben M.H. Schreier és R. Tees módszere szerint [Immunological Methods (L. Lefkovits és B. Pernis szerkesztésében), II. kötet, Academic Press, New York, 1981, 263.-275. oldal]. A tesztvegyület jelenlétében és távollétében végrehajtott 66 órás inkubálást követően a sejteket további 6 órán keresztül mérőhelyenként 1 μ Ci aktivitású radioaktív (3-H)-timidin sugárforrás hatásának tesszük ki, majd a sejttenyészetet összegyűjtjük és folyadékszintillációs mű-

szerrel számláljuk meg az általa kibocsátott elemi részecskéket. A DNS-be beépült (3-H)-timidin mennyisége korrelációt mutat a sejtszám növekedésével és így a sejtburjánzás mértékének tekinthető. A tesztvegyület oldatából készített higitási sorozat felhasználásával végrehajtott mérések eredményeiből kiszámítható annak az oldatnak a koncentrációja, amely oldattal 50 %-os burjánzásgátlást lehet elérni a sejteknél (IC_{50}). Ennek a vizsgálatnak a során a példákban szereplő valamennyi új vegyület aktívnak bizonyul. Különösen a példák szerinti alkinil-származékok fojtják el hatásosan az immunreakciókat: az ezzel a tesztrel megállapított IC_{50} -értékeik 0,2-0,9-szer akkora, mint a rapamicinre mért IC_{50} -érték, vagyis vannak közöttük olyanok is, amelyek ötször olyan aktívak, mint a rapamicin.

3. A makrofilinmegkötő képesség vizsgálata

Ismeretes, hogy a rapamicin és a szerkezetileg hozzá hasonló felépítésű, az immunreakciókat ugyancsak gátló FK-506 in vivo körülmények között kötődik a 12-makrofilinhez (amelyet ezért FK-506-megkötő fehérjének vagy röviden FKBP-12-nek is neveznek). A feltételezések szerint ez a kötődés kapcsolatban van ezeknek a vegyületeknek az immungátló aktivitásával. Az új vegyületek is erősen kötődnek a 12-makrofilinhez, amint ezt egy kompetitív kötődési teszt eredményei igazolják. A teszt elvégzéséhez BSA-hoz kapcsolt FK-506-tal vonunk be mérőhelyeket egy mikrotiter lemezen. Ezután a tesztvegyület jelenlétében és távollétében engedünk biotinilezett rekombináns humán 12-makrofilint (biot-MAP-ot) az immobilizált FK-506-hoz kötődni. A nem specifikusan kötődő makrofilin eltávolítását célzó mosás után meghatározzuk a megkötött biot-MAP mennyiségét, mégpedig olyan

módon, hogy lugos sztreptavidin-foszfátáz-konjugátummal együtt inkubáljuk, majd mosást követően hozzáadunk szubsztrátumként p-nitro-fenil-foszfátot, és 405 nm-en mérjük az optikai sűrűséget. Mivel a tesztvegyület hozzákötődik a biot-MAP-hoz, csökken az FK-506 által megkötött biot-MAP mennyisége és ennek következtében a 405 nm-en mért optikai sűrűség is kisebb lesz. A tesztvegyület oldatából készített higitási sorozattal végzett mérések alapján meg lehet határozni annak az oldatnak a koncentrációját, amely 50 %-os mértékben gátolja a biot-MAP-nak az immobilizált FK-506-hoz való kötődését (IC_{50}). A példákban szereplő új vegyületek mindegyike jó kötődést mutatott az FKBP-hez ennek a vizsgálatnak a keretében.

4. A lokalizált graft-versus-host-reakció (GvH-reakció) vizsgálata

A találmány szerinti új vegyületek in vivo körülmények közötti hatásosságát egy megfelelő állatkísérleti modell [Ford és munkatársai: Transplantation, 10. 258 (1970)] keretében igazoljuk. 6 hetes nőtény Wistar/Furth (WF) patkányokból származó 10^7 lépsejtet injektálunk a 0. napon mintegy 100 g-os nőtény (F344 x WF) F_1 patkányok bal hátsó mancsába a bőr alá. Az állatokat 4 egymást követő nap kezeljük ilyen módon, majd a 7. napon eltávolítjuk a térdhajlati nyirokcsomókat. A két nyirokcsomó közötti tömegkülönbséget használjuk fel paraméterként a cím szerinti reakció kiértékeléséhez.

5. Genetikailag eltérő vese átültetésekor jelentkező reakciók vizsgálata patkányoknál

Egy nőtény Fisher 344-es patkány veséjét átültetjük egy olyan WF befogadó patkányba, amelynek egyik - a bal oldali -

vesését előzőleg eltávolítottuk. Az átültetést úgy hajtjuk végre, hogy a vesecsatornák végeit összeszájazzatjuk. A húgyvezeték végeit is összeszájazzatjuk. A kezelést az átültetés napján kezdjük meg és 14 napon át folytatjuk. A veseátültetést követő 7 nap elteltével a másik oldalon levő vesét is eltávolítjuk, így a befogadó patkány élete a donortól kapott vese teljesítményétől függ. Az újvesés patkány túlélését tekintjük a transzplantátum működésére jellemző paraméternek.

6. Kísérleti uton kiváltott allergiás agy- és gerincvelőgyulladás (EAE) vizsgálata patkányoknál

Az EAE-modell keretében vizsgáljuk a találmány szerinti új vegyületek hatásosságát például a következő szakirodalmi helyeken ismertetett módon: Levin és Wenk: Amer. J. Path., 47. 61. (1965); McFarlin és munkatársai: J. Immunol. 113. 712 (1974) és Borel: Transplant. and Clin. Immunol., 13. 3. (1981). Az EAE széles körben elfogadott modell a szklerózis multiplexszel kapcsolatos vizsgálatokhoz. Him Wistar patkányok hátsó mancsaiba olyan elegyet fecskendezünk, amely marhagerincvelőt és teljes Freund-féle hatásfokozó adalékot tartalmaz. A betegség tünetei - vagyis a farok és a két hátsó láb megbénulása - rendszerint 16 napon belül észlelhetők. Feljegyezzük a megbetegedett állatok számát, valamint a betegség kezdetének időpontját.

7. Kísérleti uton kiváltott ízületi gyulladás vizsgálata a Freund-féle hatásfokozó adalék alkalmazásával

A találmány szerinti új vegyületek hatásosságát a kísérleti uton előidézett ízületi gyulladással szemben a szakirodalomban ismertetett eljárással igazoljuk [Winter és Nuss: Arthritis and Rheumatism, 2. 394 (1966); Billingham és Davies: Handbook of

Experimental Pharmacol., 50/II. (Vane és Ferreira szerkesztésében), Springer-Verlag, Berlin, 1979, 108.-144. oldal stb.]. 150 g testtömegű, him vagy nőstény OFA és Wistar patkányok faroktövébe vagy hátsó mancsába i.c. befecskendezünk 0,1 ml, 0,6 mg mennyiségű, hőkezeléssel elpusztított, liofilizált Mycobacterium smegmatis-t tartalmazó ásványolajat. A kifejlődő ízületi gyulladás kezelését a hatásfokozó adalék befecskendezése után (az 1.-18. napon) azonnal megkezdjük. A már kifejlődött ízületi gyulladás kezelését a 14. napon kezdjük meg, amikor már a másodlagos gyulladásos állapot is jól kialakult. Ez a kezelés a 14. és a 20. nap közötti időszakra esik. A kísérlet végén mikrométerű kaliberkörzővel meghatározzuk a duzzadt ízületek térfogatát. Az ED₅₀-érték az a mg/kg testtömeg dimenzióval kifejezett orális dózis, amely a kontrollhoz viszonyítva felére csökkenti a primer vagy a szekunder duzzadás mértékét.

8. A tumorelles és az MDR-ellenes hatás vizsgálata

A találmány szerinti új vegyületek daganatellenes hatását, valamint azt a képességüket, hogy a több gyógyszerrel szemben kifejlődött ellenállóképesség csökkentésével növelni tudják a tumorelles hatóanyagok teljesítményét, például úgy igazoljuk, hogy a tesztelni kívánt új vegyületekkel együtt és azok nélkül valamilyen rákellenes hatóanyagot - például kolchicint vagy etopozidot - adunk in vitro körülmények között több hatóanyaggal szemben rezisztens sejtekhez, valamint hatóanyagokra érzékeny sejtekhez, illetve juttatunk be olyan állatok szervezetébe, amelyekben több hatóanyaggal szemben rezisztens vagy hatóanyagokra érzékeny daganatok, illetve fertőzések jöttek létre, és egyúttal végzünk olyan kísérleteket is, amelyek keretében az új vegyüle-

teket önmagukban alkalmazzuk. Ilyen in vitro tesztek végezhetünk bármilyen megfelelő, hatóanyagokkal szemben ellenállóképes sejtvonallal és kontroll (parentális) sejtvonallal, amelyet például a szakirodalomban ismertetett eljárásokkal hozunk létre [Ling és munkatársai: J. Cell, Physiol., 83. 103-116 (1974), valamint Bech-Hansen és munkatársai: J. Cell. Physiol., 88. 23-32 (1976)]. A több hatóanyaggal szemben ellenállóképes (például kolchicinrezisztens) CHR sejtvonalat (szubklón: C5S3.2), valamint a parentális, hatóanyagokra érzékeny AUX B1 sejtvonalat (szubklón: AB1 S11) használjuk fel mint különleges klónokat. In vivo körülmények között a daganatellenes és az MDR-ellenes hatást például olyan egerek szervezetében mutatjuk ki, amely egerekbe előzőleg több hatóanyaggal szemben ellenállóképes és hatóanyagokra érzékeny rákos sejteket fecskendeztünk. A Slater és munkatársai által ismertetett módszerek alkalmazásával [J. Clin. Invest., 70. 1131 (1982)] DR, VC, AM, ET, TE vagy CC gyógyszer-hatóanyagokkal szemben ellenállóképes, hasvizkórral járó, Ehrlich-féle rákos daganatból (EA) kivett sejtekből származó alvonalakat hozunk létre olyan módon, hogy sorozatban viszünk át EA sejteket Balb/c egerek - mint gazdaállatok egymást követő nemzedékeinek egyedeibe. Ugyanilyen eredményeket lehet elérni, ha a találmány szerinti új vegyületeket összehasonlításokra lehetőséget adó kísérleti modellek keretében teszteljük például in vitro körülmények között vagy olyan kísérleti állatok bevonásával, amelyeket előzőleg megfertőztünk hatóanyagokkal szemben ellenállóképes és hatóanyagokra érzékeny virustörzsekkel, antibiotikumokkal - például penicillinnel - szemben rezisztens és baktériumokra érzékeny baktériumtörzsekkel, gombaölő hatóanyagokkal szemben ellenállóképes és azokra

érzékeny gombatörzsekkel, valamint hatóanyagokkal szemben rezisztens véglénytörzsekkel, például plazmódiumtörzsekkel, például a természetben előforduló Plasmodium falciparum altörzsszel, amely szerzett rezisztenciát mutat kemoterápiás kezelés esetén a maláriaellenes hatóanyagokkal szemben.

9. Szteroidok hatásának fokozásával kapcsolatos vizsgálatok

A találmány szerinti új vegyületeknek a makrofilin megkötésére irányuló aktivitása lehetőséget ad arra, hogy ezeket a vegyületeket felhasználjuk a kortikoszteroidok hatásának fokozására. Abban az esetben, ha a találmány szerinti vegyületeket valamilyen kortikoszteroiddal - például dexametazonnal - együtt alkalmazzuk a kezelés során, nagymértékben fokozzuk a szteroid hatását. Ezt ki lehet mutatni például a rágcső emlődagangában vírus-klóramfenikol acetiltranszferáz (MMTV-CAT) jelzőgènes vizsgálattal, például a Ning és munkatársai által ismertett módszerrel [J. Biol. Chem., 268. 6073 (1993)]. Ez a szinergizáló hatás lehetővé teszi a kortikoszteroidok dózisainak csökkentését, és így bizonyos esetekben csökkenteni lehet a mellékhatások jelentkezésének a veszélyét.

10. Teszt a falósejtek fertőzőképességét fokozó faktorok (Mip-faktorok), valamint az azokhoz hasonló faktorok gátlásának vizsgálatára

A találmány szerinti új vegyületek mindezekben tulmenően megkötik a makrofilinhez szerkezetileg hasonló Mip-faktorok és azokkal rokonságot mutató más faktorok széles körét, és így gátolják ezeknek a faktoroknak a működését. A Mip-faktorok és rokonfaktoraik fertőzőképes faktorok, amelyeket igen sok kórokozó

képes létrehozni, például a Chlamidia-nemzetséghez tartozók - így a Chlamidia trachomatis -, a Neisseria-nemzetséghez tartozók - így a Neisseria meningitidis - és a Legionella-nemzetséghez tartozók - így a Legionella pneumophila -, valamint a Rickettsziák rendjének szükségképpen élősködő mikroorganizmusai. Ezeknek a faktoroknak a szerepe meghatározó a sejtközi fertőzések kialakulásában. A találmány szerinti új vegyületek hatásosan csökkentik a Mip-faktorokat, valamint az azokhoz hasonló faktorokat termelő kórokozók fertőzőképességét. Ezt úgy igazolhatjuk, hogy például a Lundemose és munkatársai által ismertett módszerek alkalmazásával [Mol. Microbiol., 7. 777 (1993)] összehasonlítjuk a kórokozók sejttenyészetekben makrolidok jelenlétében mutatott fertőzőképességét az ugyanezen kórokozók makrolidok nélkül tapasztalt fertőzőképességével.

A találmány szerinti új vegyületeket fel lehet használni olyan vizsgálatokhoz is, amelyekkel ki lehet mutatni makrofilint megkötő vegyületek jelenlétét és meg lehet határozni azok mennyiségét. Ilyenek például a diagnosztikai célokat szolgáló vizsgálatok vagy a szűrővizsgálatok. Így a találmány - egy másik megvalósítási forma keretében - arra is lehetőséget ad, hogy az új vegyületekkel mint szűrővizsgálati eszközökkel valamilyen tesztoldatban - például vérben, vérsavóban vagy rangsorolni kívánt baktérium-táptalajban - meghatározzuk a makrofilint megkötő vegyületeket (kimutassuk azok jelenlétét). Célszerűen úgy járunk el, hogy a vizsgálni kívánt új vegyületet immobilizáljuk (rögzítjük) mikrobiológiai mérőhelyeken, majd engedjük, hogy tesztoldat jelenlétében, illetve távollétében hozzákötődjék az előzőleg megjelölt 12-makrofilinhez (FKBP-12). Úgy is eljáráhatunk, hogy az FKBP-12-t rögzítjük a mikrotiterlemez mérőhelye-

in, majd tesztoldat jelenlétében és távollétében hagyjuk hozzákötődni az előzőleg például fluorral, enzimmel vagy radioaktív izotóppal megjelölt, találmány szerinti új vegyülethez, például olyan új vegyülethez, amelynek (I) általános képletében az R_1 szubsztituens foglal magában egy jelzőcsoportot. A lemezeket ezután lemossuk, és meghatározzuk a megkötött jelzett vegyület mennyiségét. A tesztoldatban levő makrofilinmegkötő anyag mennyisége durva megközelítéssel fordítottan arányos a megkötött jelzett vegyület mennyiségével. Mennyiségi elemzésekhez standard megkötődési görbét veszünk fel olyan módon, hogy a makrofilinmegkötő vegyületet ismert koncentrációkban alkalmazzuk.

A következő példák nem a találmány korlátozására, hanem a találmány ismertetésére szolgálnak. A vegyületek azonosításának elősegítése céljából spektroszkópiai adatokat is közlünk.

1. példa

16-Demetoxi-16-(pent-2-inil-oxi)-rapamicin előállítása

5 ml diklór-metánban feloldunk 0,6 ml 2-pentin-1-olt, majd a kapott oldathoz hozzáadunk először 456 mg rapamicint, azután pedig 5 mg p-toluolszulfonsavat. A reakcióelegyet 2 órán át kevertetjük a környezet hőmérsékletén. A reakciót ezt követően befagyasztjuk 7 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal. A vizes fázist elválasztjuk és 10 ml etil-acetáttal kétszer extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal megszárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologtatjuk. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Eluáló szerként etil-acetát és hexán 3:2 térfogatarányú elegyét használjuk. A nyersterméket végül preparatív nagytelje-

sitményü folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 10 mm, MeOH/H₂O 80/20, 3 ml/min).

MS (FAB) m/z 972 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃) (a fő izomerre):

d = 0,67 (1H, q); 1,13 (3H, t); 1,67 (3H, s); 1,74 (3H, s); 3,33 (3H, s); 3,40 (3H, s); 3,73 (1H, d); 3,77 (1H, dm); 4,01 (1H, dm); 4,16 (1H, d); 4,66 (1H, s).

2. példa:

16-Demetoxi-16-(but-2-inil-oxi)-rapamicin előállítása

3 ml diklór-metánban feloldunk 0,4 ml 2-butin-1-olt, majd a kapott oldathoz hozzáadunk először 251 mg rapamicint, azután pedig 4 mg p-toluolszulfonsavat. Az így keletkezett elegyet 2 órán át kevertetjük a környezet hőmérsékletén. A reakciót ezután 7 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat beadagolásával befagyasztjuk. A vizes fázist elválasztjuk és kétszer 10 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologatjuk. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Eluálószerként etil-acetát és hexán 3:2 térfogatarányu elegyét használjuk. A nyersterméket végül preparatív nagyteljesítményü folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 10 mm, MeOH/H₂O 80/20, 3 ml/min).

MS (FAB) m/z 958 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃) (a fő izomerre):

d = 0,67 (1H, q); 1,67 (3H, s); 1,74 (3H, s); 1,83 (1H, bs); 3,33 (3H, s); 3,40 (3H, s); 3,72 (1H, d); 3,75 (1H, dm); 4,01 (1H, dm); 4,16 (1H, d); 4,73 (1H, s).

3. példa

16-Demetoxi-16-(propargil-oxi)-rapamicin előállítása

3 ml diklór-metánban feloldunk 0,3 ml propargil-alkoholt. A kapott oldathoz hozzáadunk először 251 mg rapamicint, majd 4 mg p-toluolszulfonsavat. A keletkezett elegyet 2 órán át kevertetjük a környezet hőmérsékletén. A reakciót ezután 7 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat beadagolásával beagyasztjuk. A vizes fázist elválasztjuk, majd kétszer 10 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologtatjuk. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Eluálószerként etil-acetát és hexán 3:2 térfogatarányu elegyét használjuk. A nyersterméket végül nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 10 mm, MeOH/H₂O 80:20, 3 ml/min).

MS (FAB) m/z 944 (M+Li).

¹H-NMR (CDCl₃) (a fő izomerre):

δ = 0,68 (1H, q); 1,66 (3H, s); 1,74 (3H, s); 2,32 (1H, bt); 3,34 (3H, s); 3,41 (3H, s); 3,67 (1H, d); 3,83 (1H, dm), 4,08 (1H, dm); 4,16 (1H, d); 4,84 (1H, s).

4. példa

16-Demetoxi-16-(4-hidroxi-but-2-inil-oxi)-rapamicin előállítás

6 ml diklór-metánban szuszpendálunk 940 mg 2-butin-1,4-diolt. A kapott szuszpenzióhoz hozzáadunk először 502 mg rapamicint, majd 5 mg p-toluolszulfonsavat. A keletkezett elegyet 2 óra hosszat kevertetjük a környezet hőmérsékletén. A reakciót ezután 10 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat be-

adagolásával befagyasztjuk. A vizes fázist elválasztjuk, majd kétszer 10 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologtatjuk. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Az eluálást etil-acetát és hexán 4:1 térfogatarányu elegyével végezzük. A nyerste-terméket végül nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 25 mm, MeOH/H₂O 75/25, 7 ml/min).

MS (FAB) m/z 974 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃) (a fő izomerre):

δ = 0,67 (1H, q); 1,67 (3H, s); 1,75 (3H, s); 3,33 (3H, s); 3,41 (3H, s); 3,73 (1H, d); 3,81 (1H, dm); 4,08 (1H, dm); 4,17 (1H, d); 4,28 (2H, bs); 4,67 (1H, s).

5. példa

16-Demetoxi-16-(benzil-oxi)-40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicin előállítása

3 ml diklórmétánban feloldunk 0,6 ml benzil-alkoholt. A kapott oldathoz hozzáadunk először 264 mg mennyiségű, a WO 94/09010. sz. PCT szabadalmi bejelentésben ismerttetett eljárással előállított 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicint, majd 5 mg p-toluolszulfonsavat. A keletkezett elegyet 1 óra hosszat kevertetjük a környezet hőmérsékletén. A reakciót ezután 7 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat beadagolásával befagyasztjuk. A vizes fázist elválasztjuk és kétszer 10 ml di-etil-éterrel extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologtatjuk. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Az eluálást először hexán és aceton 4:1 térfogatarányu

elegyével, majd ugyancsak hexán és aceton 1:1 térfogatarányu elegyével végezzük. A nyersterméket végül nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 25 mm, CH₃CN/H₂O 75/25, 8 ml/min).

MS (FAB) m/z 1040 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃) (a fő izomerre):

δ = 0,72 (1H, q); 1,73 (6H, s); 3,32 (3H, s); 3,43 (3H, s); 3,7 (4H, m); 4,15 (1H, d); 4,18 (1H, d); 4,47 (1H, d); 4,80 (1H, s); 7,3 (5H, m).

6. példa

16-Demetoxi-16-(benzil-oxi)-rapamicin előállítása

1 mmol rapamicint feloldunk 50 ml diklór-metán és 3 ml benzil-alkohol elegyében. A kapott oldathoz hozzáadunk 0,1 mmol p-toluolszulfonsavat, majd a reakcióelegyet 2-10 óra hosszat kevertetjük a környezet hőmérsékletén. A reakcióelegyet ezután beleöntjük telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldatba. A szerves fázist elválasztjuk, nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a benne levő oldószert elpárologtatjuk. A nyersterméket ezt követően nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk. Ilyen módon fehér por formájában kapjuk meg a címszerű terméket.

7. példa

16-Demetoxi-16-(orto-metoxi-benzil-oxi)-rapamicin előállítása

3 ml diklór-metánban feloldunk 0,76 g orto-metoxi-benzil-alkoholt. A kapott oldathoz hozzáadunk először 250 mg rapamicint, majd 5 mg p-toluolszulfonsavat. A reakcióelegyet 8 óra hosszat kevertetjük a környezet hőmérsékletén, majd a reakciót

5 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat beadagolásával befagyasztjuk. A fázisokat elválasztjuk, és a vizes fázist kétszer 10 ml dietil-éterrel extraháljuk. Az egyesített szerves oldatot nátrium-szulfáttal szárítjuk, szűrjük, majd csökkentett nyomáson bepároljuk. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Eluálószerként hexán és aceton (4:1)-(3:2) térfogatarányu elegyeit használjuk. A keletkezett terméket preparatív nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tovább tisztítjuk (RP-18, 250 x 25 mm, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 75:25, 8 ml/min).

MS (FAB) m/z 1026 (M+Li).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (a fő izomerre):

δ = 0,67 (1H, q); 1,73 és 1,74 (6H, 2s); 3,33 (3H, s); 3,41 (3H, s), 3,72 (1H, d); 3,81 (3H, s); 4,18 (1H, széles d); 4,26 (1H, d); 4,45 (1H, d); 4,72 (1H, széles s); 6,83 (1H, d); 6,92 (1H, m); 7,23 (1H, m); 7,32 (1H, m).

8. példa

16-Demetoxi-40-O-(2-metoxi-etil)-16-(pent-2-inil-oxi)-rapamicin előállítása

5 ml diklór-metánban feloldunk 0,7 ml 2-pentin-1-olt. A kapott oldathoz hozzáadunk először 486 mg 40-O-(2-metoxi-etil)-rapamicint, majd 5 mg p-toluolszulfonsavat. A reakcióelegyet 2 óra hosszat kevertetjük a környezet hőmérsékletén. A reakciót ezután 7 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat beadagolásával befagyasztjuk. A vizes fázist elválasztjuk és kétszer 10 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologtatjuk. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Eluálószerként etil-acetát és hexán 1:1 térfogatarányu

elegyét használjuk. A nyersterméket végül preparatív nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 25 mm, MeOH/H₂O 83/17, 7 ml/min).

MS (FAB) m/z 1030 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃) (a fő izomerre):

δ = 0,72 (1H, q); 1,14 (3H, t); 1,67 (3H, s); 1,74 (3H, s); 3,33 (3H, s); 3,38 (3H, s); 3,45 (3H, s); 3,73 (1H, d); 3,77 (1H, dm); 4,01 (1H, dm); 4,17 (1H, d); 4,65 (1H, s).

9. példa

39-Demetoxi-40-dezoxi-39-formil-42-nor-rapamicin előállítása

40 ml acetonitrilben feloldunk 1,85 g rapamicint, majd a kapott oldathoz -30 °C-on hozzáadunk 365 μ l morfolino-kén-trifluoridot. A reakcióelegyet 1 óra hosszat -30 °C-on, majd ismét 1 óra hosszat 0 °C-on tartjuk. A reakciót ezt követően telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat beadagolásával befagyasztjuk. A vizes fázist háromszor 30 ml etil-acetáttal extraháljuk, majd a szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal szárítjuk. Az oldószer elpárologtatása után visszamaradt nyersterméket szilikagéllel töltött oszlopon kromatografáljuk. Az eluálást hexán és aceton 4:1 térfogatarányú elegyével végezzük.

MS (FAB, LiI mátrixanyag): 888 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃):

δ = 3,13 (s, 3H); 3,34 (s, 3H); 9,62 (d, 1H); 3,0 ppm és 3,6 ppm között nincs több szingulett, 0,6 ppm és 0,85 ppm között nincs csucs.

10. példa

39-Demetoxi-40-dezoxi-39-(hidroxi-metil)-42-nor-rapamicin
előállítása

Tetrahidrofurán és víz 5:1 térfogatarányu elegyének 1,2 ml-ében feloldunk 44 mg 39-demetoxi-40-dezoxi-39-formil-42-nor-rapamicint. A kapott oldatot 0 °C-on 2 óra hosszat kezeljük 1,5 mg t-butyl-amin/borán komplexszel, majd a reakcióelegyet 2 ml 0,1 N sósavoldatra öntjük. A keletkezett elegyet háromszor 5 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után 2 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal mossuk, majd nátrium-szulfáttal szárítjuk. Az oldószer vákuumban való elpárologatása után visszamaradt nyersterméket szilikagéllel töltött oszlopon kromatografáljuk. Az eluálást hexán és etil-acetát 1:1 térfogatarányu elegyével hajtjuk végre.

MS (FAB, LiI mátrixanyag): 890 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃):

d = 3,13 (s, 3H); 3,33 (s, 3H); 4,18 (m, 2H). 0,5 ppm és 0,85 ppm között nincs csucs; aldehid-protonra utaló csucs nem látható 9,62 ppm-nél.

11. példa

39-Demetoxi-40-dezoxi-39-karboxi-42-nor-rapamicin előál-
litása

2 ml vízben feloldunk 85 mg NaOCl-t és 113 mg NaH₂PO₄-et, majd az így kapott oldatot hozzáadjuk egy olyan oldathoz, amely 111 mg 39-demetoxi-40-dezoxi-39-formil-42-nor-rapamicint és 0,2 ml 2-metil-2-butént, valamint 4 ml t-butanolt tartalmaz. Az így keletkezett elegyet 2 óra hosszat kevertetjük a környezet

hőmérsékletén. Ezután az oldószereket elpárologtatjuk, és a visszamaradt anyagot háromszor 5 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után vízmentes nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologtatjuk. A bepárlási maradékot preparatív nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 10 mm, acetonitril/víz 60/40, 3 ml/min).

MS (FAB, LiI mátrixanyag): 904 (M+Li).

¹H-NMR (CDCl₃):

δ = 1,65 (s, 3H); 1,78 (s, 3H); 3,13 (s, 3H); 3,33 (s, 3H); 3,75 (d, 1H); 4,18 (d, 1H); nincs csucs 0,85 ppm alatt; nem látható további szingulett a 3,0-3,6 ppm-es tartományban.

12. példa

39-Demetoxi-40-dezoxi-39-(4-metil-piperazin-1-il-karbonil)-42-nor-rapamicin előállítása

4 ml tetrahidrofuránban feloldunk 180 mg 39-karboxi-39-demetoxi-40-dezoxi-42-nor-rapamicint. A kapott oldathoz -75 °C-on kevertetés közben hozzáadunk először 0,08 ml piridint, majd 0,04 ml oxalil-kloridot. A reakcióelegyet 30 percig -75 °C-on tartjuk, majd hozzáadunk 0,09 ml N-metil-piperazint. Az így kapott reakcióelegyet további 1 óra hosszat kevertetjük, majd a reakciót 5 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat és 5 ml etil-acetát beadagolásával befagyasztjuk. A vizes fázist elválasztása után kétszer 5 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítésük után nátrium-szulfáttal szárítjuk, majd a bennük levő oldószert elpárologtatjuk. A bepárlási maradékot preparatív nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel tisztítjuk (RP-18, 250 x 10 mm, MeOH/H₂O

85/15, 3 ml/min).

MS (FAB) m/z 986 (M+Li).

¹H-NMR (CDCl₃):

δ = 1,65 (3H, s); 1,78 (3H, s); 2,31 (3H, s); 2,4 (4H, m);
3,13 (3H, s); 3,34 (3H, s); 3,79 (1H, d); 4,21 (1H, d); 4,68
(1H, bs).

13. példa

39-Demetoxi-40-dezoxi-39-(morfolin-4-il-karbonil)-42-nor-
-rapamicin előállítás

Ezt a vegyületet a 11. példa szerint állítjuk elő, de
N-metil-piperazin helyett morfolint alkalmazunk.

MS (FAB) m/z 973 (M+Li).

¹H-NMR (CDCl₃):

δ = 1,65 (3H, s); 1,77 (3H, s); 3,13 (3H, s); 3,33 (3H, s);
3,6 (4H, m); 3,77 (1H, d); 4,19 (1H, d); 4,66 (1H, bs).

14. példa

39-Demetoxi-40-dezoxi-39-[N-metil,N-(2-piridin-2-il-etil)-
-karbamoil]-42-nor-rapamicin előállítás

Ezt a vegyületet a 11. példa szerint állítjuk elő, de
N-metil-piperazin helyett (2-piridin-2-il-etil)-metil-amint
használunk fel.

MS (FAB) m/z 1022 (M+Li).

¹H-NMR (CDCl₃):

δ = 1,66 (3H, s); 1,78 (3H, s); 2,93 (3H, s); 3,13 (3H,
s); 3,33 (3H, s); 4,23 (1H, m); 4,67 (1H, s); 7,1 (2H, m);
7,6 (1H, m); 8,51 (1H, d).

15. példa

39-Demetoxi-40-dezoxi-39-(p-toluolszulfonil-hidrazono-
-metil)-42-nor-rapamicin előállítása

10 ml acetonitril és 523 mg 39-demetoxi-40-dezoxi-39-formil-42-nor-rapamicin elegyéhez hozzáadunk 156 mg p-toluolszulfonil-hidrazidot. A reakcióelegyet 30 percig kevertetjük a környezet hőmérsékletén, majd elpárologtatjuk az oldószert. A bepárlási maradékot szilikagélen kromatografáljuk. Eluálószerként hexán és aceton 5:1 térfogatarányu elegyét használjuk. A kromatografálás eredményeként megkapjuk a cím szerinti vegyületet.

MS (FAB) m/z 1056 (M+Li).

H-NMR (CDCl₃):

δ = 1,65 (3H, s); 1,76 (3H, s); 2,43 (3H, s); 3,13 (3H, s); 3,34 (3H, s); 3,79 (1H, d); 4,18 (1H, d); 4,69 (1H, bs); 7,13 (1H, d); 7,32 (2H, d); 7,56 (1H, s); 7,80 (2H, d).

Szabadalmi igénypontok

1. Demetoxi-rapamicin-származékok, amelyek (I) általános képletében

- R_1 jelentése alkilcsoport, alkenilcsoport, alkinilcsoport, hidroxil-alkenil-csoport, hidroxil-alkil-csoport, hidroxil-alkinil-csoport, arilcsoport, tio-alkil-csoport, aril-alkil-csoport, hidroxil-aril-alkil-csoport, hidroxil-aril-csoport, dihidroxil-alkil-csoport, hidroxil-alkoxil-alkil-csoport, hidroxil-alkil-aril-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-aril-alkil-csoport, alkoxil-alkil-csoport, alkoxil-aril-alkil-csoport, halogén-alkil-csoport, halogén-aril-csoport, halogén-aril-alkil-csoport, acil-oxil-alkil-csoport, amino-alkil-csoport, alkil-amino-alkil-csoport, alkoxil-karbonil-amido-alkil-csoport, acil-amido-alkil-csoport, aril-szulfonamido-alkil-csoport, allil-csoport, dihidroxil-alkil-allil-csoport, dioxolanil-allil-csoport, karbalkoxil-alkil-csoport vagy alkil-szilil-csoport;
- R_2 jelentése olyan csoport, amelynek (II) vagy (III) általános képletében
 - R_3 jelentése hidrogénatom, alkilcsoport, alkenilcsoport, alkinilcsoport, arilcsoport, tio-alkil-csoport, aril-alkil-csoport, hidroxil-aril-alkil-csoport, hidroxil-aril-csoport, hidroxil-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-csoport, hidroxil-alkoxil-alkil-csoport, hidroxil-alkil-aril-alkil-csoport, dihidroxil-alkil-aril-alkil-csoport,

alkoxi-alkil-csoport, acil-oxi-alkil-csoport, amino-alkil-csoport, alkil-amino-alkil-csoport, alkoxi-karbonil-amido-alkil-csoport, acil-amido-alkil-csoport, aril-szulfonamido-alkil-csoport, allilcsoport, dihidroxi-alkil-allil-csoport, dioxolanil-allil-csoport, karbalkoxi-alkil-csoport vagy alkil-szilil-csoport;

- R_4 jelentése hidrogénatom, illetve R_4 az R_3 szubsztituenssel együtt 2-6 szénatomos alkilén-csoportot képezhet; és
- R_5 jelentése - adott esetben helyettesített - acilcsoport, oxi-metil-csoport, imino-metil-csoport vagy dioxi-metilin-csoport,

azzal a megjegyzéssel, hogy az "alk" szótag vagy az "alkil" megjelölés oxigénatommal adott esetben megszakított 1-10 szénatomos egyenes vagy elágazó szénláncu vagy ciklusos alifás szubsztituensre, az "ar" szótag vagy az "aril" megjelölés pedig adott esetben helyettesített, 4-14 szénatomos monociklusos - adott esetben heterociklusos - aromás szubsztituensre utal; továbbá a következő megkötésekkel:

- abban az esetben, ha R_2 jelentése (II) általános képletű csoport, akkor R_1 jelentése metilcsoporttól eltérő és

- (i) R_3 jelentése hidroxil-alkil-csoport, alkoxi-alkinil-csoport, hidroxil-alkoxi-alkil-csoport, acil-amino-alkil-csoport vagy amino-alkil-csoport; és/vagy
- (ii) X jelentése oxigénatomtól eltérő; és/vagy
- (iii) R_1 jelentése - adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített - alkinilcsoport; és

- abban az esetben, ha R_1 jelentése metilcsoport, akkor R_2 jelentése (III) általános képletű csoport.

2. Az 1. igénypont szerinti demetoxi-rapamicin-származékok közül azok a vegyületek, amelyek (I) általános képletében

- R_1 jelentése benzilcsoport, orto-alkoxi-benzil-csoport, klór-benzil-csoport vagy - adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített - alkinilcsoport;
- R_2 jelentése olyan csoport, amelynek (II) általános képletében
 - R_3 jelentése hidrogénatom, hidroxil-alkil-csoport, alkoxi-alkil-csoport, hidroxil-alkoxi-alkil-csoport, acil-amino-alkil-csoport vagy amino-alkil-csoport; és
 - R_4 jelentése metilcsoport; valamint
- X és Y jelentése - egymástól függetlenül - oxigénatom, hidrogénatom + hidroxilcsoport vagy hidrogénatom + 1-4 szénatomos alkoxicssoport.

3. A 2. igénypont szerinti demetoxi-rapamicin-származékok közül azok a vegyületek, amelyek (I) általános képletében

- R_1 jelentése - adott esetben hidroxilcsoporttal helyettesített - 3-6 szénatomos alk-2-inil-csoport;
- R_2 jelentése olyan csoport, amelynek (II) általános képletében
 - R_3 jelentése hidrogénatom, hidroxil-alkil-csoport, alkoxi-alkil-csoport vagy hidroxil-alkoxi-alkil-csoport; és
 - R_4 jelentése metilcsoport; valamint
- X és Y jelentése egyaránt oxigénatom.

4. Az 1. igénypont szerinti demetoxi-rapamicin-származékok közül azok a vegyületek, amelyek (I) általános képletében R_2 jelentése (III) általános képletű csoport.

5. Az 1. igénypont szerinti demetoxi-rapamicin-származékok közül

- (i) a 16-demetoxi-16-(pent-2-inil-oxi)-rapamicin,
- (ii) a 16-demetoxi-16-(but-2-inil-oxi)-rapamicin,
- (iii) a 16-demetoxi-16-(propargil-oxi)-rapamicin,
- (iv) a demetoxi-16-(4-hidroxi-but-2-inil-oxi)-rapamicin,
- (v) a 16-demetoxi-16-(benzil-oxi)-40-0-(2-hidroxi-etil)-rapamicin,
- (vi) a 16-demetoxi-16-(benzil-oxi)-rapamicin,
- (vii) a 16-demetoxi-16-(orto-metoxi-benzil)-rapamicin,
- (viii) a 16-demetoxi-40-0-(2-metoxi-etil)-16-(pent-2-inil-oxi)-rapamicin,
- (ix) a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-formil-42-nor-rapamicin,
- (x) a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(hidroxi-metil)-42-nor-rapamicin,
- (xi) a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-karbonil-42-nor-rapamicin,
- (xii) a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(4-metil-piperazin-1-il-karbonil)-42-nor-rapamicin,
- (xiii) a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(morfolin-4-il-karbonil)-42-nor-rapamicin,
- (xiv) a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-[N-metil,N-(2-piridin-2-il-etil)-karbamoil]-42-nor-rapamicin és a
- (xv) a 39-demetoxi-40-dezoxi-39-(p-toluolszulfonil-hidrazono-metil)-42-nor-rapamicin.

6. Az 1.-5. igénypontok bármelyike szerinti demetoxi-ra-

pamicin-származékok alkalmazása gyógyszerként.

7. Gyógyszerkészítmények, amelyek farmakológiai szempontból elfogadható higitóanyagok vagy hordozóanyagok mellett az 1.-5. igénypontok bármelyike szerinti demetoxi-rapamicin-származékok valamelyikét tartalmazzák.

8. Az 1.-5. igénypontok bármelyike szerinti demetoxi-rapamicin-származékok alkalmazása olyan gyógyszerek gyártására, amelyek a következő állapotok bármelyikének megelőzésére vagy kezelésére alkalmasak:

- (i) autoimmun betegségek,
- (ii) az átültetett szerv vagy szövet elleni heveny immunreakciókkal jellemezhető állapot,
- (iii) az átültetett szerv vagy szövet elleni rendkívül heveny immunreakciókkal jellemezhető állapot,
- (iii) az átültetett szerv vagy szövet elleni idült immunreakciókkal jellemezhető állapot,
- (iii) az átültetett csontvelőnek a gazdaszervezet elleni támadásában megnyilvánuló betegség,
- (iv) asztma,
- (v) több gyógyszerrel szemben kialakult rezisztencia,
- (vi) daganatok és rendkívül gyors burjánzással összefüggő rendellenességek,
- (vii) gombás fertőzések,
- (viii) gyulladásos állapotok és
- (ix) Mip-faktorokkal vagy Mip-szerű faktorokkal rendelkező kórokozók által okozott fertőzések.

9. Eljárás a (I) általános képletű, 1. igénypont szerinti demetoxi-rapamicin-származékok előállítására, azzal j e l l e -

m e z v e , hogy egyet vagy többet alkalmazunk a következő műveletek közül:

(i) abban az esetben, ha R_1 helyén metilcsoporttól eltérő szubsztituenszt tartalmazó (I) általános képletű vegyületet kívánunk előállítani, rapamicint vagy rapamicinszármazékot megfelelő reakciókörülmények között szelén-dioxiddal és R_1 -OH általános képletű vegyülettel reagáltatunk - R_1 jelentése az 1. igénypontban megadott - vagy rapamicint, illetve rapamicinszármazékot megfelelő aprotikus oldószerben valamilyen savval és R_1 -OH általános képletű vegyülettel reagáltatunk;

(ii) abban az esetben, ha R_2 helyén (II) általános képletű csoportot, azon belül pedig R_3 helyén hidrogéntől eltérő szubsztituenszt tartalmazó (I) általános képletű vegyületet kívánunk előállítani, rapamicint vagy rapamicinszármazékot olyan, kilépőcsoportból és egy ahhoz kapcsolódó szerves csoportból álló vegyülettel reagáltatunk, amelynek R_3 -Z általános képletében

- R_3 a molekulába O-szubsztituensként bevinni kívánt szerves csoport az R_3 szubsztituens 1. igénypontbeli értelmezésekor megadottak közül; és

- Z jelentése valamilyen kilépőcsoport, célszerűen

$\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})\text{O}$ vagy CF_3SO_3 ,

és a reakciót - például abban az esetben, ha $Z = \text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})\text{O}$ - megfelelő sav vagy - például abban az esetben, ha $Z = \text{CF}_3\text{SO}_3$ - megfelelő bázis jelenlétében játszadjuk le;

(iii) abban az esetben, ha R_2 helyén (III) általános képletű csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet kívánunk előállítani, rapamicint vagy rapamicinszármazékot morfolinó-kén-trifluoriddal reagáltatunk, majd a keletkezett aldehidvegyületet - adott esetben - a megfelelő karbonsavvá oxidáljuk

vagy a megfelelő alkohollá redukáljuk, továbbá - szintén adott esetben -

- (a) a kapott alkoholt az (ii) pontban megadott módon O-szubsztituáljuk; vagy
- (b) a kapott karbonsavat aktiválószer vagy kapcsolást elősegítő adalékanyag jelenlétében valamilyen aminnal, illetve valamilyen alkohollal reagáltatva előállítjuk a megfelelő amidot, illetve a megfelelő észtert; vagy
- (c) a kapott aldehidet a kívánt aminnal, illetve alkiléndiollal savas közegben reagáltatva előállítjuk a megfelelő, imino-metil-csoportot, illetve dioxi-metil-csoportot tartalmazó vegyületet;

(iv) abban az esetben, ha X helyén oxigéntől eltérő szubsztituenst tartalmazó (I) általános képletű vegyületet kívánunk előállítani, a rapamicint vagy a rapamicinszármazékot - O-védett formában - a 32-es ketocsoporton redukálva alkoholvegyületet állítunk elő, amelyet - adott esetben - az (ii) pontban megadott módon O-szubsztituálunk; és

(v) a vegyületeket - adott esetben - szükség szerint védőcsoportok bevitelével megvédjük vagy védőcsoportoktól mentesítjük, és az így előállított, (I) általános képletű vegyületeket kinyerjük.

*Alapozó
27.11.*

SANDOZ LTD. helyett
a meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegyiroda Kft.

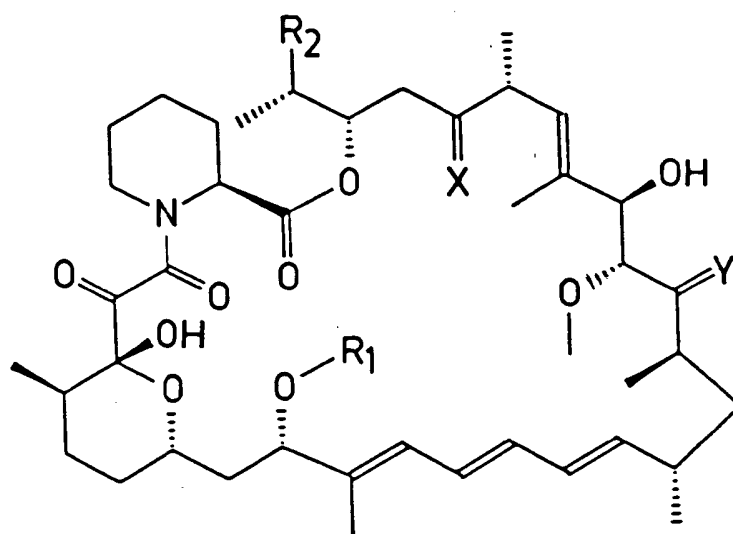
[Signature]

1643/96

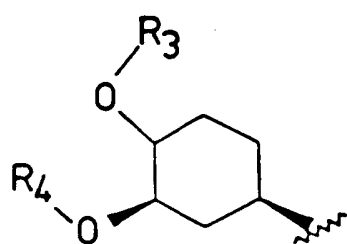
18160

NYOMDAPÉLDÁNY MÁSOLATA

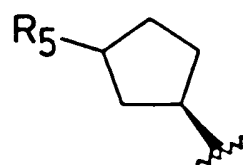
1/1



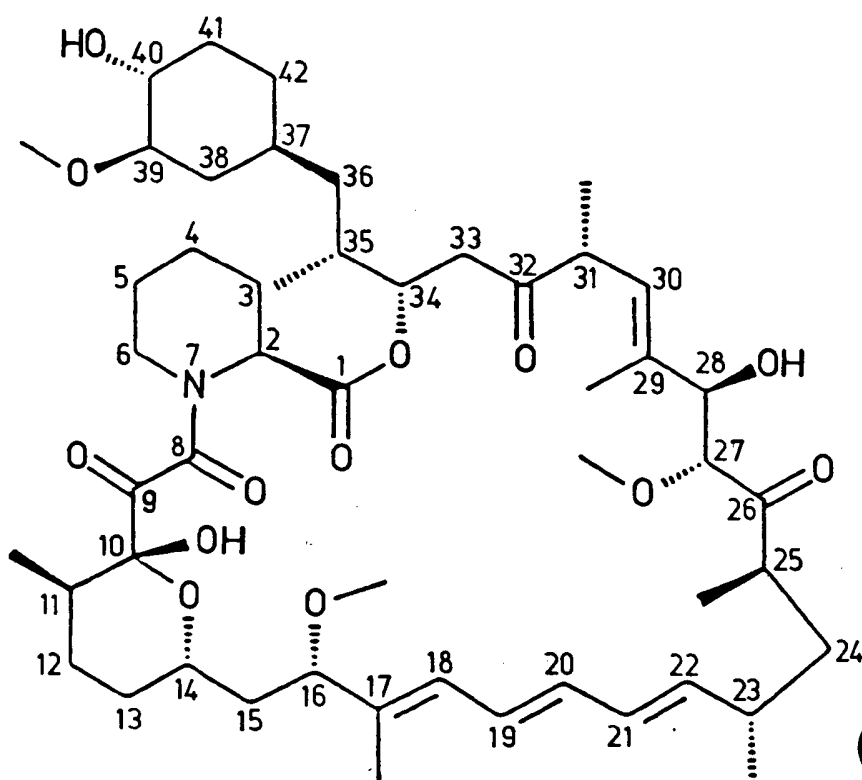
(I)



(II)



(III)



(A)