NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO (11) **303939** (13) B1

(51) Int Cl[6] C 07 F 9/59, A 61 K 31/685

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19922642	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	03.07.1992		
(24) Løpedag	03.07.1992	(85) Videreføringsdag	
(41) Alm. tilgj.	05.01.1993	(30) Prioritet	04.07.1991, DE, 4122140
(45) Meddelt dato	28.09.1998		04.09.1991, DE, 4129364

(73) Patenthaver Asta Medica AG, Weismüllerstrasse 45, D-60314 Frankfurt am Main, DE
(72) Oppfinner Wolfgang Schumacher, Langen, DE
Jürgen Engel, Alzenau, DE
Gerhard Nössner, Offenbach, DE
Bernhard Kutscher, Maintal, DE
Jurij Stekar, Bielefeld, DE
Peter Hilgard, Bielefeld, DE
(74) Fullmektig Kari O. Hanssen, Bryns Patentkontor AS, 0106 Oslo

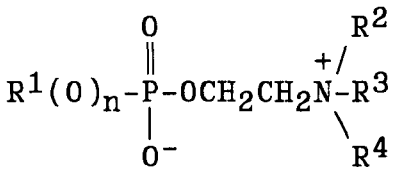
(54) Benevnelse **Oktadecyl-[2-(N-metylpiperidiono)-etyl]-fosfat og fremstilling derav, legemiddel omfattende forbindelsen og rensemetode for denne**

(56) Anførte publikasjoner EP A2 108565, US 4935520

(57) Sammendrag Oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat samt en fremgangsmåte for fremstilling derav. Forbindelsene rapporteres å ha en bedre henholdsvis mer fordelaktig antitumorvirkning enn de kjente beslektede forbindelser.

Foreliggende oppfinnelse vedrører oktadecyl-[2-(N-metylpiperidiono)-etyl]-fosfat og fremstilling derav, legemiddel omfattende forbindelsen og rensemetode for denne.

EP-publikasjon nr. 108565 angår forbindelser med den generelle formel



og deres farmasøytiske godtagbare salter, der R_1 er en alifatisk C_{8-30} hydrokarbonrest, restene R_2, R_3 og R_4 er like eller forskjellige og er hydrogen eller laveralkylrester, og der gruppen $NR_2R_3R_4$ betyr en cyklisk aminogruppe og n har verdien 0 eller 1. For disse forbindelser angis en anti-tumorvirkning samt en sopphemmende virkning.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer følgelig et legemiddel med antineoplastisk virkning, kjennetegnet ved at det som aktiv bestanddel inneholder oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat.

Videre omfatter oppfinnelsen oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat for anvendelse som terapeutisk aktivt middel, samt legemiddel inneholdende oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat ved siden av vanlige bærere og/eller fortynnings- henholdsvis hjelpestoffer. Endelig omfatter oppfinnelsen også anvendelse av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat for fremstilling av legemidler.

Overraskende har oppfinnelsens forbindelse en meget bedre, henholdsvis mer fordelaktig, anti-tumorvirkning enn de i EP-publikasjon nr. 108565 beskrevne, henholdsvis nevnte, forbindelser.

I tillegg bevirker oppfinnelsens forbindelser en hemming av blodplateaggregeringen, videre har de en fosfolipase-A_2-inhiberende, samt en lipoksygenase-inhiberende virkning.

Oppfinnelsen angår også en ny og forbedret fremstillings- og opparbeidsingsmetode for dette oktadecyl-[2-(N-metylpiperidiono)-etyl]-fosfat.

Oppfinnelsen tilveiebringer videre en fremgangsmåte for fremstilling av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat, kjennetegnet ved at n-oktadecylalkohol omsettes i en enkolbemetode med fosforoksyklorid i et inert oppløsningsmiddel, eller også uten oppløsningsmiddel, i nærvær eller fravær av et basisk stoff, det oppnådde produkt omsettes uten isolering og rensing i et inert oppløsningsmiddel med et N-metyl-piperidinoetanolsalt i nærvær av et basisk stoff til fosforsyrediesterkloridet og det oppnådde oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat settes fri ved hydrolyse og isoleres.

Oppfinnelsen tilveiebringer videre en rensemetode for oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat, kjennetegnet ved at man behandler en oppløsning av oktadecyl-[2-(N-metyl-piperidino)-etyl]-fosfat som er oppnådd ved den ovenfor omtalte fremgangsmåten, eller på i og for seg kjent måte, i et organisk oppløsningsmiddel med en blandesjikt-ionebytter eller etter hverandre med en sur ionebytter og en basisk ionebytter.

Overraskende er det nå funnet at det ved oppfinnelsens fremgangsmåte oppnås et høyere totalutbytte og et renere produkt selv om det anvendes et rensetrinn mindre enn i den tidligere kjente metode for alkylfosfokoliner. I tillegg anvendes det her mindre oppløsningsmiddel. Den nye fremgangsmåte ifølge oppfinnelsen unngår også anvendelsen av alkylerende reagenser som for eksempel dimetylsulfat som på grunn av anvendelse av kaliumkarbonat som hjelpebase fører

til et høyt kaliuminnhold i produktene. Kaliuminnholdet må holdes lavest mulig ved stoffer som skal anvendes som farmasøytisk aktive bestanddeler.

Heller ikke er det lenger nødvendig med en tidkrevende kromatografisk rensing.

Den ifølge den nye fremgangsmåte oppnådde produktrenhet er høyere enn den ved kjente fremgangsmåte for fremstilling av alkylfosfokoliner og i tillegg oppnår man høyere utbytter (særlig ved fremstilling i stor målestokk).

Det første trinn ved fremgangsmåten består i omsetningen av fosforoksyklorid med N-oktadecylalkohol i halogenerte hydrokarboner, mettede cykliske etere, acykliske etere, mettede C_{5-10} hydrokarboner, mettede aromatiske hydrokarboner som også kan være substituert med halogen (særlig klor) eller i blandinger av de ovenfor nevnte oppløsningsmidler eller også uten oppløsningsmiddel, eventuelt i nærvær av for dette formål vanlige basiske stoffer.

Som halogenerte hydrokarboner kommer særlig C_{1-6} hydrokarboner i betraktning, hvorved et eller flere eller alle hydrogenatomer kan være erstattet med kloratomer. Som eksempler skal nevnes metylenklorid, kloroform, etylenklorid, klorbenzen eller diklorbenzen. Dreier det seg om halogensubstituerte aromatiske hydrokarboner, er disse fortrinnsvis substituert med et eller to halogenatomer.

Som mettede cykliske etere skal særlig nevnes for eksempel eter med en ringstørrelse på 5-6, som består av karbonatomer og et eller to oksygenatomer. Eksempler er tetrahydrofuran eller dioksan.

De acykliske etere består av 2-8 karbonatomer og er flytende. Eksempler er dietyleter, diisobutyleter, metyl-tert.-butyleter, diisopropyleter.

Som mettede hydrokarboner skal særlig nevnes eventuelt forgrenede C_{5-10} hydrokarboner som er flytende. Eksempler er pentan, heksan, heptan, cykloheksan.

Som aromatiske hydrokarboner skal særlig nevnes benzen og alkylsubstituerte benzener, hvorved alkylsubstituentene har 1-5 karbonatomer.

Som basiske stoffer både for reaksjonen mellom fosforoksyklorid og n-oktadecylalkohol og også for den derpå følgende omsetning med N-metylpiperidinoetanolsaltet kommer aminer i betraktning, for eksempel alifatiske aminer med formelen $NR_1R_2R_3$, der R_1, R_2 og R_3 er like eller forskjellige og betyr hydrogen eller C_1-C_6-alkyl og også aromatiske aminer som pyridin, pikolin eller kinolin.

Ved omsetningen med et N-metylpiperidionoetanolsalt kan det her nødvendige basiske stoff tilsettes samtidig med, eller også før, N-metylpiperidinoetanolsaltet. For denne reaksjon er det i ethvert tilfelle nødvendig med et oppløsningsmiddel, dvs. at hvis det første reaksjonstrinn ble gjennomført uten noe spesielt oppløsningsmiddel, må et slikt nå tilsettes. Molforholdet fosforoksyklorid:oktadecylalkohol ligger for eksempel mellom 1,5:1 og 1:1.

N-metylpiperidinoetanolsaltet anvendes for eksempel i et overskudd i forhold til n-oktadecylalkoholen, for eksempel i et 1,1-1,5 molart overskudd.

Hvis reaksjonen mellom fosforoksyklorid og n-oktadecylalkohol skjer i nærvær av et basisk stoff, er mengden basisstoff for eksempel 1-3 mol beregnet på 1 mol $POCl_3$. For den derpå følgende omsetning med piperidinsaltet (piperidinsalt betyr alltid N-metylpiperidinoetanolsaltet), er den anvendte mengde av basisstoff for eksempel 1-5 mol, beregnet på 1 mol alkanol.

Reaksjonstemperaturen ved omsetningen mellom fosforoksyklorid og n-oktadecylalkohol ligger mellom -30°C og +30°C, fortrinnsvis mellom -15°C og +15°C, og særlig mellom -10°C og -5°C.

Reaksjonstiden for omsetningen utgjør for eksempel 0,5-5 timer, fortrinnsvis 1-3 timer, og særlig 1,5-2 timer. Hvis reaksjonen skjer i nærvær av et basisstoff, forløper den vanligvis hurtig, for eksempel ca. 30 minutter.

Deretter blir piperidinsaltet tilsatt porsjonsvis eller fullstendig.

Som salter av N-metylpiperidinoetanol kommer i betraktning salter med mineralsyre (som for eksempel svovelsyre eller saltsyre), videre salter med organiske syrer som eddiksyre, p-toluensulfonsyre og lignende.

Dette reaksjonstrinn skjer i et inert oppløsningsmiddel. Som oppløsningsmiddel kommer her de samme i betraktning som ble benyttet ved omsetningen av fosforoksyklorid med n-oktadecylalkoholen, hvis denne omsetningen skjedde i et oppløsningsmiddel.

Deretter blir det basiske stoff, oppløst i et av de angitte oppløsningsmidler, eventuelt uten oppløsningsmiddel, dryppet til.

Fortrinnsvis anvender man her som oppløsningsmiddel for det basiske stoff: halogenerte hydrokarboner, mettede cykliske etere, acykliske etere, mettede C_{5-10} hydrokarboner, flytende aromatiske hydrokarboner eller blandinger av disse.

Det dreier seg her om de samme oppløsningsmidler som kan anvendes for omsetningen av fosforoksyklorid med n-oktadecylalkohol.

Ved tilsetningen av det basiske stoff stiger temperaturen. Man sørger for at temperaturen holdes innen et område mellom 0°C og 40°C, fortrinnsvis 10-30°C, og særlig 15-20°C.

Reaksjonsblandingen omrøres så ytterligere ved 5-30°C, fortrinnsvis 15-25°C, for eksempel i 1-40 timer, og fortrinnsvis 3-15 timer.

Hydrolysen av reaksjonssatsen skjer ved tilsetning av vann, hvorved man overholder en temperatur mellom 10°C og 30°C, fortrinnsvis mellom 15°C og 30°C, og særlig mellom 15°C og 20°C.

De tidligere nevnte hydrolysevæsker kan også inneholde basiske stoffer. Som slike basiske stoffer kommer i betraktning karbonater og hydrogenkarbonater av alkali- og jordalkalimetaller.

For å fullføre hydrolysen omrører man i ytterligere 0,5-4 timer, fortrinnsvis 1-3 timer, og særlig 1,5-2,5 timer ved 10-30°C, og fortrinnsvis 15-25°C, og særlig ved 18-22°C.

Reaksjonsoppløsningen vaskes så med en blanding av vann og alkoholer (fortrinnsvis alifatiske, mettede C_{1-4} alkoholer) som eventuelt også kan inneholde et basisk stoff.

Blandingsforholdet vann:alkohol kan for eksempel ligge mellom 5 og 0,5, og fortrinnsvis mellom 1-3 på volumbasis.

Som basiske stoffer for vaskevæsken kan man for eksempel anvende karbonater og hydrogenkarbonater av alkali- og jordalkalimetaller samt ammoniakk (for eksempel vandig ammoniakk). Spesielt foretrukket er en 3%-ig natriumkarbonatoppløsning i vann.

Eventuelt kan det deretter gjennomføres en vasking av reaksjonsoppløsningen med en sur oppløsning.

Fordelaktig er den sure vasking for fjerning av enda ikke omsatte basiske andeler av reaksjonsoppløsningen, særlig ved anvendelse av metylenklorid som oppløsningsmiddel.

Vaskeoppløsningen består av en blanding av vann og alkoholer. Fortrinnsvis anvendes det blandinger av alifatiske mettede C_{1-4} alkoholer, hvorved det eventuelt også kan være tilstede et surt stoff. Blandingsforholdet vann:alkohol kan for eksempel ligge mellom 5 og 0,5, fortrinnsvis mellom 1 og 3 på volumbasis.

Som surt stoff for vaskevæsken kan man for eksempel anvende mineralsyrer og organiske syrer, særlig saltsyre eller svovelsyre, eller vinsyre eller sitronsyre. Spesielt foretrukket er en 10%-ig oppløsning av saltsyre i vann.

Til slutt vaskes det nok en gang med en blanding av vann og alkoholer. Fortrinnsvis anvendes det blandinger av alifatiske mettede C_{1-4} alkoholer, hvorved det også kan være tilstede et basisk stoff.

Blandingsforholdet vann:alkohol kan for eksempel ligge mellom 5 og 0,5, og fortrinnsvis mellom 1 og 3 på volumbasis.

De vaskede faser blir så forenet og tørket på vanlig måte, hvoretter oppløsningsmidlet fjernes (for eksempel under et redusert trykk fra 5-100 mbar), eventuelt etter tilsetning av 150-1000 ml, fortrinnsvis 300-700 ml, og aller helst 450-550 ml av en alifatisk alkohol (beregnet på 1 mol vektsandel tørket produkt). Som alkoholer anvendes fortrinnsvis mettede alifatiske alkoholer med en kjedelengde på 1-5 karbonatomer. Spesielt foretrukket som alkohol er herved n-butanol eller isopropanol. Alkoholbehandlingen gjennomføres for fullstendig fjerning av restvann.

Det således oppnådde produkt kan renses på vanlig måte, for eksempel ved kromatografi eller omkrystallisering.

Spesielt fordelaktig er dog den følgende, likeledes oppfinneriske rensemetode:

Den som ovenfor beskrevne faste rest slemmes for eksempel opp i mettede alifatiske C_{3-6} ketoner, for eksempel aceton, butanon eller metyl-tert.-butylketon i 1-4 timer, og fortrinnsvis 2 timer, omrøres, suges av og tørkes ved 20-50°C under vakuum ved 5-100 torr.

Det således forrensede produkt tas opp i vannfrie C_{1-4} alkoholer, henholdsvis slike alkoholer som høyst inneholder 5 vekt-% vann, ved 20-60°C, og fortrinnsvis 40°C, og uoppløselige materialer filtreres av.

Som alkoholer skal spesielt nevnes metanol, etanol, isopropanol, butanol, isobutanol.

Det oppnådde filtrat omrøres med en blandingssjikt-ionebytter, for eksempel "Amberlite MB3", for eksempel i 1-5 timer, og fortrinnsvis 2 timer, ved 10-50°C, og fortrinnsvis 20°C.

I stedet for en blandesjikt-ionebytter kan rensingen også skje etter hverandre med en sur ionebytter og en basisk ionebytter.

Som ionebytter kan man anvende alle uoppløselige faststoffer som inneholder ionebyttende grupper.

Sure ionebyttere er slike som for eksempel inneholder sure grupper som sulfonsyregrupper eller karboksygrupper. Eksempler er ionebyttere med sulfonsyregrupper på en polystyrenmatriks, som for eksempel "Amberlite IR 120", "Dowex HCR", "Duolite C 20" eller "Lewatit S 100".

Svakt sure ionebyttere er for eksempel slike på basis av en polyakrylsyrematriks som "B. Amberlite IRC 76", "Duolite C 433" eller "Relite CC".

Som basisk ionebytter skal for eksempel nevnes slike som på en polymermatriks (for eksempel polystyrenmatriks) bærer primære, sekundære, tertiære eller kvaternære aminogruper, som for eksempel "Duolite A 101", "Duolite A 102", "Duolite 15 A 348", "Duolite A 365", "Duolite A 375", "Amberlite IRA 67", "Duolite A 375", "Amberlite IRA 458" og "Duolite A 132".

Blandesjikt-ionebyttere er blandinger av sure og alkaliske ionebytterharpikser som for eksempel "Amberlite MB1", "Amberlite MB2", "Amberlite MB3" og "Amberlite MB6".

Ytterligere anvendelige ionebyttere er nevnt i Ullmanns "Encyclopedia of Industrial Chemistry", 5. opplag (1989), bind A14, s. 450.

Etter avsuging av ionebytterharpiksen damper man inn under redusert trykk, for eksempel 20-200 torr ved 40-70°C, og omkrystalliserer deretter fra halogenerte hydrokarboner, mettede alifatiske ketoner eller fra alkohol/ketonblandinger.

Som halogenerte hydrokarboner for omkrystalliseringen skal for eksempel nevnes hydrokarboner med 1-6 karbonatomer, hvorved et eller flere av alle hydrogenatomer kan være erstattet med kloratomer. Som eksempel skal nevnes metylenklorid, kloroform, etylenklorid eller klorbenzen.

Som alkoholer skal nevnes mettede alifatiske alkoholer med 1-6 karbonatomer og 1-3 hydroksylgrupper. Som ketoner skal nevnes alifatiske ketoner med 3-6 karbonatomer.

Blandingsforholdet alkohol:keton utgjør på volumbasis 1 til 1-5.

Fortrinnsvis foreligger det et etanol:acetonforhold på 1:1 på volumbasis.

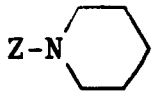
Det oppnådde krystaller av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etanol]-fosfat suges av og vaskes hvis nødvendig med mettede hydrokarboner med 1-6 karbonatomer, for eksempel ved en temperatur på 15-30°C i vaskevæsken.

I tillegg til fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen kan man oppnå de omtalte forbindelser ved at man på i og for seg kjent måte

b) omsetter en forbindelse med formelen

$$C_{18}H_{37}\text{-O-PO(OH)}_2 \qquad \text{I}$$

eller et reaksjonsdyktig derivat av denne forbindelse, med en forbindelse med formelen



II

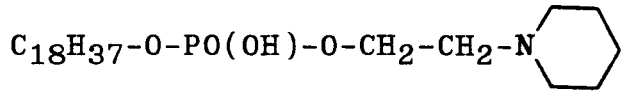
eventuelt i nærvær av basiske stoffer, hvori Z er hydrogen, metyl eller er gruppen $-CH_2-CH_2-OH$ og piperidin-forbindelsen også kan foreligge i form av N-metylpiperidiniumderivatet, hvorved i dette tilfellet den positive ladning nøytraliseres med anionet til en organisk eller uorganisk syre, og eventuelt metyleres, eller

c) en forbindelse med formelen

$$C_{18}H_{37}\text{-O-PO(OH)-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Y} \qquad \text{III}$$

der Y er klor, brom eller jod omsettes med piperidin eller N-metylpiperidin med eventuell metylering, eller

d) en forbindelse med den generelle formel



IV

metyleres, henholdsvis en i henhold til b) eller c) oppnådd forbindelse metyleres.

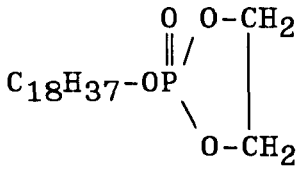
Til fremgangsmåte b):

Fremgangsmåte b) kan gjennomføres uten oppløsningsmiddel (i dette tilfellet ved overskudd av forbindelse II) eller i et inert oppløsningsmiddel ved en temperatur mellom 0 og 180°C, og fortrinnsvis 18-120°C. Som oppløsningsmiddel egner seg for eksempel lavere alifatiske alkoholer (metanol), alifatiske rettkjedede etere (dietyleter), mettede cykliske etere (dioksan, tetrahydrofuran), aromatiske hydrokarboner (toluen, benzen, pyridin), klorerte, alifatiske, laveremolekylære hydrokarboner ($CHCl_3$, CCl_4), lavere alkylamider eller dialkylamider av laveremolekylære, alifatiske karboksylsyrer (dimetylformamid, dimetylacetamid) eller også dimetylsulfoksyd, acetonitril. Opparbeidingen skjer på i og for seg kjent måte ved hydrolyse ved hjelp av alkoholer:vann eller kun vann. Rensing av reaksjonsproduktet skjer for eksempel ved omkrystallisering eller søylekromatografi. Omsetningen i henhold til fremgangsmåte b) kan også skje i nærvær av ytterligere basiske stoffer som for eksempel tertiære aminer (N-metylpiperidin, N-metylmorfolin, N-metylpyrolidin, kinolin, pyridin).

Hvis utgangsforbindelsen er den frie syre $C_{18}H_{37}$-O-PO(OH)$_2$, aktiveres denne ved hjelp av i og for seg kjente kondensasjonsmidler som for eksempel 2,4,6-trimetylbenzensulfonylklorid, 8-kinolinsulfonylklorid, 2,4,6-isopropylbenzensulfonylimidazolid, 2,4,6-trimetylbenzensulfonyltetrazolid eller dicykloheksylkarbodiimid og omsettes så.

Hvis utgangsforbindelsen $C_{18}H_{37}$-O-PO(OH)$_2$ foreligger i form av et aktivert derivat, dreier det seg for eksempel om slike forbindelser der begge OH-grupper er erstattet med halogen (Cl, Br, J).

Som aktivert derivat kan man for eksempel også anvende en forbindelse med formelen



i dette tilfellet skjer reaksjonen fortrinnsvis i en autoklav eller en omrøringsapparatur ved en temperatur mellom -20°C og +130°C.

Hvis utgangsforbindelsen med formel II anvendes som et piperidiniumsalt, kommer som syreanion: Cl^-, Br^-, J^-, tosylatanion, svovelsyreanion (HSO_4^-, SO_2^{2-}), i betraktning.

Til fremgangsmåte c):

Denne reaksjon skjer på i og for seg kjent måte uten oppløsningsmiddel eller i et inert oppløsningsmiddel ved temperaturer mellom 50 og 100°C.

Som oppløsningsmiddel kommer de samme i betraktning som for fremgangsmåte b); likeledes kan piperidinet, for eksempel N-metylpiperidin i overskudd, virke som oppløsningsmiddel.

Hensiktsmessig skjer omsetningen i nærvær av syrebindende (halogenidbindende) stoffer som for eksempel Ag_2CO_3.

Til fremgangsmåte d):

Alkyleringen skjer fortrinnsvis ved omsetning med forbindelser med formel MHal, $ArSO_2OM$ og $SO_2(OM)_2$, hvorved Hal er et halogenatom, og særlig klor, brom eller jod, og Ar er en aromatisk rest (for eksempel en eventuelt med en eller flere lavere alkylrester substituert fenyl- eller naftylrest) og M er metylresten. Eksempler er p-toluensulfonsyre-metylester, dimetylsulfat, metylhalogenid. Alkyleringsreaksjonen gjennomføres eventuelt under tilsetning av vanlige syrebindende midler som alkalihydroksyder, alkalikarbonater, alkalihydrogenkarbonater, jordalkalikarbonater, alkaliacetater, tertiære aminer (som for eksempel trialkylaminer som trietylamin), pyridin eller også alkalihydrider ved temperaturer mellom 0 og 200°C, fortrinnsvis 40 og 140°C, i inerte oppløsningsmidler eller suspensjonsmidler. Som oppløsnings- eller dispergeringsmidler kan for eksempel nevnes aromatiske hydrokarboner som benzen, toluen eller xylen; alifatiske ketoner som aceton eller metyletylketon; halogenerte hydrokarboner som kloroform, karbontetraklorid, klorbenzen, metylenklorid; alifatiske etere som butyleter; cykliske etere som tetrahydrofuran eller dioksan; sulfoksyder som dimetylsulfoksyd; tertiære syreamider som for eksempel dimetylformamid, N-metylpyrrolidon, heksametylfosforsyretriamid; alifatiske alkoholer som metanol, etanol, isopropanol, amylalkohol, tert.-butanol, cykloalifatiske hydrokarboner som cykloheksan og lignende. Også vandige blandinger av de nevnte oppløsningsmidler kan anvendes. Hyppig arbeider man ved tilbakeløpstemperaturen for det anvendte oppløsningshenholdsvis dispergeringsmiddel.

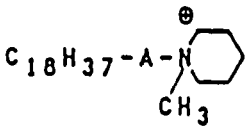
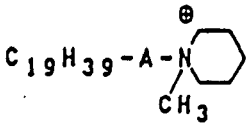
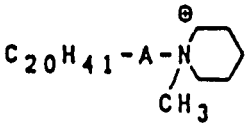
Hyppig anvendes alkyleringsreaksjonskomponentene i overskudd. Alkyleringen kan også gjennomføres i nærvær av tetraalkylammoniumsalter (særlig halogenidene) i kombinasjon med alkalihydroksyder ved temperaturer mellom 0 og 100°C, fortrinnsvis 20 og 80°C, i et aprotisk oppløsningsmiddel eller også i kloroform eller metylenklorid. Som aprotisk

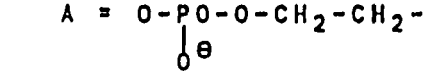
oppløsningsmiddel skal spesielt nevnes tertiære amider (dimetylformamid, N-metylpyrrolidon, dimetylsulfoksyd, acetonitril, dimetoksyetan, aceton, tetrahydrofuran).

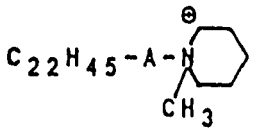
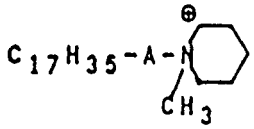
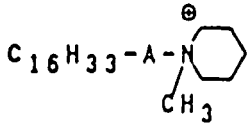
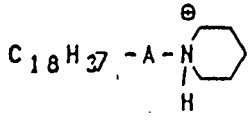
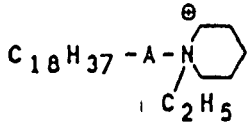
Eventuelt kan man ved alkyleringen også arbeide slik at man først fremstiller en alkaliforbindelse (natrium-, kalium- eller også litiumsalt) av forbindelsen som skal alkyleres, idet man omsetter den i et inert oppløsningsmiddel som dioksan, dimetylformamid, benzen eller toluen med et alkalimetall, alkalihydrid eller alkaliamid (særlig natrium eller natriumforbindelser) eller butyllitium ved temperaturer mellom 0 og 150°C, og deretter tilsetter den alkylerende agens.

I stedet for de angitte alkyleringsmidler kan man også anvende andre i kjemien vanlige kjemisk ekvivalente midler (se for eksempel også L.F. og Mary Fieser "Reagents for Organic Synthesis", John Wiley and Sons, Inc., New York, 1967, bind 1, s. 1303-4 og bind 2, s. 471).

TABELL 1

Stoff	Vekstinhiberingsindeks VII i % in vivo/human KB-tumorcellelinje transplantert på nakne mus	EC_{90} i µg/ml human KB-tumorcellelinje in vitro	Cape-indeks
 D 20133 ifølge oppfinnelsen	121	0,3	403
Forbindelser med lignende struktur			
 D21545	13,7	1,3	10
 D 21033	7	0,3	23

A = 

 D 21052	0	3,2	0
 D 20813	76	2	38
 D 20317	38	1,4	27
 D 20110	25	1	25
 D 20931	13	1	13

303939

	0	>10	0	
D 20680				
	0	> 1	0	
D 19862				
	11	0,31	36	
D 19391				
	0	1	0	
D 20918				
	0	3,1	0	
D 20706				
	20	10	2	
D 20745				

Vekstinhiberingsindeks VII bestemmes på den humane KB-tumorcellelinjen som er transplantert til nakne mus. Vekstinhiberingsindeksen defineres som følger:

$$VII = \frac{M_{kontroll} - M_{behandling} \times 100\%}{M_{kontroll}}$$

for den behandlede gruppe henholdsvis i kontrollgruppen den 14. dag etter behandling, beregnet på verdien på applikasjonsdagen. En VII på over 100% betyr at tumorene er redusert på grunn av behandlingen; en VII på mindre enn 100% viser derimot kun en behandlingsbetinget forsinkelse av tumorveksten i forhold til kontrollene. Jo større VII, jo sterkere altså den antitumorale virkningen for en prøvesubstans.

EC_{90}-verdien bestemmes på den samme cellelinje in vitro. EC_{90} er konsentrasjonen av en antitumorvirksom substans i µg/ml som in vitro hemmer veksten av kreftcellene med 90% sammenlignet med et kontrollforsøk uten tilsetning av antitumorvirksomt stoff.

Cape-indeksen (koeffisient for kreftinhiberende virkning) er en målestokk på den høye selektivitet og spesifisitet for et kjemisk stoff overfor antitumorvirksomme stoffer. Denne Cape-indeks oppnås ved at man dividerer VII-indeksen med EC_{90}-indeksen.

Dette betyr at en virkning i dyret (in vivo) settes i relasjon til virkningen i et in vitro-system. Det har vist seg at jo høyere den derved dannede koeffisient er, jo mer selektivt og virksomt er et stoff i sin antitumorvirkning.

Oppfinnelsens forbindelser viser på KB-tumor (humant carcinom i munnhulen, transplantert subkutant til nakne mus) og på autokton, kjemisk-indusert DMBA-brystkjertelkreft på rotter en god antineoplastisk virkning. For eksempel oppnådde man med en dose på 2 x 316 mg/kg kroppsvekt av oppfinnelsens

forbindelser, inngitt i avstand på en uke, en regresjon av KB-tumoren.

Etter en 14 dagers oral behandling med en oral dose på 21,5 mg/kg kroppsvekt av oppfinnelsens forbindelse daglig regrederte 5 g tung DMBA-tumorer helt til grensen av følbarhet.

Som tabell 1 viser, har altså oppfinnelsens forbindelser i sammenligning med forbindelser med lignende struktur en flere ganger høyere og mer spesifikk antitumorvirkning. Denne effekt var ikke nærliggende.

Oppfinnelsen skal illustreres ved de følgende eksempler.

Eksempel 1

Fremstilling i henhold til den nye metode

Oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]fosfat (nr. D-20133)

Til en omrøringsapparatur settes under nitrogen 9,2 ml (0,1 mol) $POCl_3$ i 50 ml kloroform og avkjøles i isbad til 5°C. 24,3 g (0,09 mol) oktadekanol oppløses i 100 ml kloroform under lett oppvarming og dryppes til sammen med 32 ml (0,40 ml) pyridin ved en temperatur på 5-12°C i 30 minutter. Etter en halv times ytterligere omrøring tilsettes 37,9 (0,12 mol) fast 2-(N-metylpiperidino)-etanol-tosylat og deretter dryppes det til 40 ml pyridin. Temperaturen stiger derved til 15°C. Isbadet fjernes og reaksjonsblandingen omrøres i 2,5 timer ved romtemperatur. For hydrolyse drypper man til 15 ml vann i løpet av 10 minutter. Etter en halv times omrøring blir reaksjonsoppløsningen vasket en gang med 200 ml vann:metanol (1:1), en gang med 200 ml 3%-ig Na_2CO_3:metanol (1:1) og en gang med 200 ml vann:metanol (1:1). Den således vaskede reaksjonsoppløsning tørkes over Na_2SO_4 og dampes inn under vakuum i en rotasjonsfordamper etter tilsetning av litt i-propanol.

Resten omkrystalliseres fra 200 ml butanon. Det vokslignende oppnådde produkt filtreres av og oppløses i 150 ml 96%-ig varm etanol. Bunnfallet filtreres og filtratet avkjøles i 4 timer i kjøleskapet.

Bunnfallet filtreres nok en gang og til filtratet settes det 85 g "Amberlite MB 3". Etter tre timers omrøring blir ionebytteren fjernet og det hele dampet inn under vakuum i en rotasjonsfordamper. Resten omkrystalliseres fra 150 ml butanon. Tørking under vakuum over fosforpentoksyd.

Utbytte: 21,7 g (45.6 mmol, 51%).
Smeltepunkt: 113°C.
Rf-verdi: 0,53 (tynnsjiktkromatogram på kiselgel, elueringsmiddel: metylenklorid:metanol:25%-ig ammoniakk 80:25:5.

Fremstillingen av utgangs-N-metylpiperidino-forbindelsen kan for eksempel skje på følgende måte:
64,59 g (0,50 mol) 2-piperidinoetanol oppløses i 125 ml acetonitril og dertil settes under avkjøling dråpvis en oppløsning av 93,1 g (0,50 mol) 4-toluensulfonsyremetylester i 125 ml acetonitril i løpet av 30 minutter. Man omrører en halv time ved romtemperatur og en halv time under tilbakeløp. Etter avkjøling trekkes oppløsningsmidlet av under vakuum og den gjenværende olje oppløses i 200 ml varm aceton. Ved avkjøling presipiterer produktet krystallinsk. Krystalliseringen fullføres i fryseboks. Etter avsuging vaskes det hele med aceton og tørkes ved 40°C over P_2O_5.

Utbytte: 139 g (0,45 mol, 90%)
2-hydroksyetyl-N-metylpiperidiniumtosylat.

Eksempel 2

Fremstilling ifølge kjent fremgangsmåte

Oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat (nr. D-20133)

20,0 g (44,0 mmol) oktadecyl-2-brometylfosfat og 73 ml (600 mmol) N-metylpiperidin oppvarmes i 3 timer under tilbakeløp. Etter avkjøling dampes det hele inn, resten tas opp i 120 ml metanol og kokes i 3 timer under tilbakeløp etter tilsetning av 17,9 g (62,0 mmol) Ag_2CO_3. Reaksjonsblandingen filtreres varm over et membranfilter og dampes inn. Resten oppløses i 25 ml $CHCl_3$:metanol:25% NH_4OH (80:25:5) og filtreres over et kiselgelsjikt. Filtratet dampes inn, resten røres ut med aceton og suges av. Produktet oppløses i litt CH_2Cl_2 og felles ut med aceton.

Utbytte: 3,50 g (7,38 mmol, 17%) hvitt pulver.
Smeltepunkt: 110-112°C.
Rf-verdi: 0,53, tynnsjiktkromatogram på kiselgel, elueringsmiddel:metylenklorid:metanol:25% ammoniakk 80:25:5

Fremstilling av utgangsforbindelsen:
oktadecyl-2-brometylfosfat:

62,5 g (0,50 mol) 2-brometanol oppløses i 50 ml $CHCl_3$ og det tilsettes 68,7 ml (0,75 mol) $POCl_3$ dråpvis ved romtemperatur. Under argon oppvarmes det hele i 6 timer til 55°C, hvoretter det settes hen over natten. Deretter dampes det hele inn under vakuum og det dannede 2-brometylfosforoksydiklorid destilleres under høyvakuum.

Utbytte: 68,0 g (281 mmol; 57%) 2-brometylfosforoksydiklorid, kokepunkt 58-62°C (0,1 mbar).

44,4 g (0,164 mol) oktadekanol og 60 g (0,249 mol) 2-brometylfosforoksydiklorid oppløses i 250 ml toluen og det tilsettes dråpvis under omrøring 19,8 ml (0,249 mol) pyridin. Etter 4 timers omrøring dampes det hele inn, til resten settes 160 ml H_2O og det oppvarmes i 1,5 timer under tilbakeløp. Den fremdeles varme suspensjon helles på 160 g

is, hvortil det er satt 41,5 ml konsentrert HCl. Det utfelte oktadecyl-2-brometylfosfat suges av og tørkes over P_2O_5.

Utbytte: 64,5 g (0,140 mmol, 86%) oktadecyl-2-brometylfosfat.

Eksempel 3

Fremstilling av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidinoetyl]-fosfat i henhold til kjent fremgangsmåte

Etylenoktadecylfosfat oppløses i 600 ml acetonitril og bringes til reaksjon i autoklav i 24 timer med 125 ml (1,03 mol) N-metylpiperidin ved 80°C. Etter avkjøling åpnes autoklaven og den brune reaksjonsoppløsningen settes i en isboks for krystallisering. Etter avsuging og tørking oppnås det 92 g (193 mmol, 61%) reaksjonsprodukt. Krystallene røres ut med aceton, oppløses i CH_2Cl_2 og kromatograferes på silikagel med $CHCl_3$:metanol:25%-ig NH_4OH (60:40:4, deretter 80:25:5). Fraksjonene som inneholder produktet dampes inn hvorved man oppnår oktadecyl-[2-N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat som hvitt faststoff etter tørking over P_2O_5 under vakuum.

Smeltepunkt: 108-110°C
Rf: 0,53, tynnsjiktkromatogram på kiselgel;
elueringsmiddel: metylenklorid:metanol:25%-ig vandig ammoniakk 80:25:5
Utbytte: 18 g (37,8 mmol, 12%)

Utgangs-etylenoktadecylfosfatet oppnås for eksempel som følger:

85,3 g (315 mmol) oktadekanol oppløses i en tørr omrørings-apparatur i 500 ml tørr eter under N_2 og dertil settes 41 ml (345 mmol) nydestillert N-metylpiperidin. Etter avkjøling til 5°C drypper man under utelukkelse av fuktighet og i løpet av 30 minutter til en oppløsning av50 g (345 mmol) 2-klor-1-okso-1,3,2-dioksafosfolan i 170 ml tørr eter ved 5-10°C.

Etter avsluttet tilsetning omrører man det hele 1 time ved romtemperatur. Under beskyttelsesgass suges det utfelte N-metylpiperidiniumhydroklorid av og filtratet dampes inn ved 30°C badetemperatur under vakuum.

Utbytte: 103 g (284 mmol, 90%) etylenoktdecylfosfat.

Eksempel 4

Fremstilling av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidinoetyl]-fosfat i henhold til kjent fremgangsmåte, metylering.

3,7 g (8,00 mmol) oktadecyl-2-piperidinoetylfosfat og 0,63 ml (10,0 mmol) metyljodid oppløses i 20 ml acetonitril og oppvarmes i en autoklav i 6 timer til 100°C. Det hele avkjøles til romtemperatur, suges av fra det oppnådde bunnfall, oppløses i 140 ml 96%-ig etanol og omrøres i 1,5 timer med 50 g ionebytter "Amberlite MB-3". Etter avfiltrering av ionebyttere dampes det hele inn. Resten røres ut med 20 ml butanon og tørkes ved 40°C under vakuum over P_2O_5.

Utbytte: 0,96 g (2,02 mmol) amorft produkt D-20133.

Utgangsstoffet oppnås for eksempel som følger:

27,3 g (60,0 mmol) oktadecyl-2-brometylfosfat oppløses i 90 ml (900 mmol) piperidin og kokes i 1,5 timer under tilbakeløp. Etter avkjøling dampes det hele inn, resten oppløses i 150 ml metanol, det tilsettes 25,2 g (90,0 mmol) Ag_2CO_3 og kokes i 1,5 timer. Det hele filtreres så varmt over et membranfilter og dampes inn. Den oppnådde svarte oljen kromatograferes på kiselgel med $CHCl_3$:metanol:25%-ig NH_4OH (80:25:5). Fraksjonene som inneholder oktadecyl-2-piperidinoetylfosfat dampes inn og resten omkrystalliseres fra 200 ml butanon.

Utbytte: 13,2 g (28,6 mmol, 48%) oktadecyl-2-piperidinoetyl-fosfat.

Patentkrav

1.
Legemiddel med antineoplastisk virkning, karakterisert ved at det som aktiv bestanddel inneholder oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat.

2.
Fremgangsmåte for fremstilling av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat, karakterisert ved at
n-oktadecylalkohol omsettes i en enkolbemetode med fosforoksyklorid i et inert oppløsningsmiddel, eller også uten oppløsningsmiddel, i nærvær eller fravær av et basisk stoff, det oppnådde produkt omsettes uten isolering og rensing i et inert oppløsningsmiddel med et N-metyl-piperidinoetanolsalt i nærvær av et basisk stoff til fosforsyrediesterkloridet og det oppnådde oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat settes fri ved hydrolyse og isoleres.

3.
Rensemetode for oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat, karakterisert ved at man behandler en oppløsning av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat som er oppnådd på i og for seg kjent måte eller ved fremgangsmåten ifølge krav 2, i et organisk oppløsningsmiddel med en blandesjikt-ionebytter eller etter hverandre med en sur ionebytter og en basisk ionebytter.

4.
Oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat for anvendelse som terapeutisk aktiv bestanddel.

5.
Legemiddel inneholdende oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat ved siden av vanlige bærere og/eller fortynnings- henholdsvis hjelpestoffer.

6.

Fremgangsmåte for fremstilling av et legemiddel, k a r a k t e r i s e r t v e d at oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat forarbeides med vanlige farmasøytiske bærere og/eller fortynningsmidler henholdsvis andre hjelpestoffer til farmasøytiske tilberedninger henholdsvis bringes til en terapeutisk anvendbar form.

7.

Anvendelse av oktadecyl-[2-(N-metylpiperidino)-etyl]-fosfat for fremstilling av legemidler.