



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤① Int. Cl.³: C 07 D 317/10
C 07 D 493/04
A 61 K 31/34

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑪ 641 454

⑳① Gesuchsnummer: 5756/79

⑳② Anmeldungsdatum: 20.06.1979

⑳③ Priorität(en): 20.06.1978 US 917327

⑳④ Patent erteilt: 29.02.1984

④⑤ Patentschrift
veröffentlicht: 29.02.1984

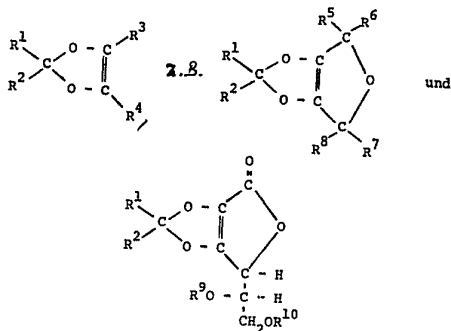
⑦③ Inhaber:
National Foundation for Cancer Research,
Washington/DC (US)

⑦② Erfinder:
Albert Szent-Györgyi, Woods Hole/MA (US)
Gabor B. Fodor, Morgantown/WV (US)

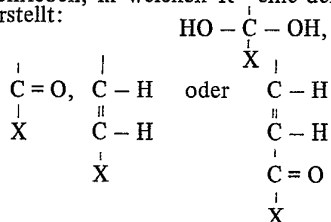
⑦④ Vertreter:
Ritscher & Seifert, Zürich

⑤④ Cyclische Acetale, Verfahren zu ihrer Herstellung und Arzneimittel.

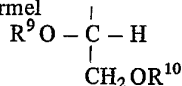
⑤⑦ Neue cyclische Acetale der Formel (1)



werden beschrieben, in welchen R¹ eine der folgenden Gruppen darstellt:



worin R² Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder R¹ ist und R³ bis R¹⁰ Wasserstoff, Alkyl, Cycloalkyl oder Aryl sind; R⁵ und R⁶ können gemeinsam die Gruppe =O darstellen und R⁸ kann der Formel

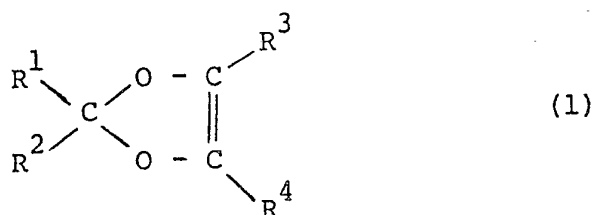


entsprechen; X bedeutet Wasserstoff, Alkyl, Cycloalkyl, Aryl, Hydroxyaryl oder Arylalkyl.

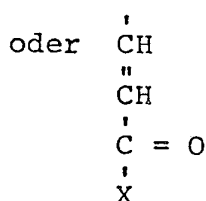
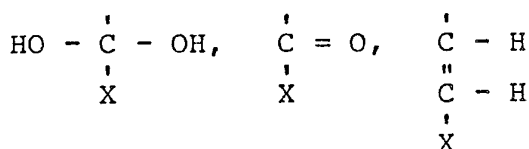
Diese Verbindungen werden durch Vermischen von annähernd äquimolaren Mengen des entsprechenden Aldehydes oder Ketons und einer Endiolverbindung und Reagierenlassen in wässrigem Medium bzw. in wässriger Lösung unter Stickstoffatmosphäre hergestellt. Diese neuen Verbindungen zeigen zytostatische, blutdrucksenkende und analgetische Eigenschaften und sind als solche oder in entsprechenden, die neuen Verbindungen enthaltenden Mitteln zur Behandlung von Krebs bei Tieren und Menschen geeignet.

PATENTANSPRÜCHE

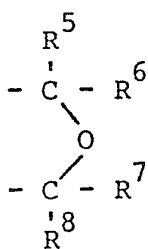
1. Verbindungen der Formel (1)



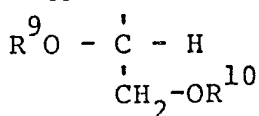
in der R¹ eine der Gruppen



darstellt, R² das Wasserstoffatom oder eine Alkyl- oder Arylgruppe ist oder die für R¹ gegebene Bedeutung hat, R³ und R⁴ jeweils Wasserstoffatome, Alkyl- oder Arylgruppen sind oder gemeinsam eine Gruppe der Formel

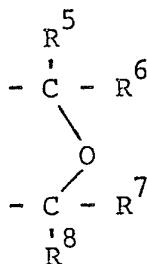


darstellen, in welcher R⁵, R⁶, R⁷ und R⁸ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen sind, oder wobei R⁵ und R⁶ gemeinsam =O darstellen können, oder/und R⁸ eine Gruppe der Formel



darstellen kann, in der R⁹ und R¹⁰ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen bedeuten, und X das Wasserstoffatom, eine Alkyl-, Cycloalkyl-, Aryl-, Hydroxyaryl- oder Arylalkylgruppe ist.

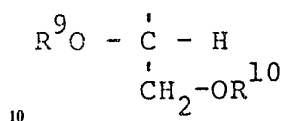
2. Verbindung nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R³ und R⁴ gemeinsam eine Gruppe der Formel



2

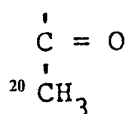
bilden, in der R⁵, R⁶, R⁷ und R⁸ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen sind.

3. Verbindung nach Patentanspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass R⁵ und R⁶ gemeinsam =O darstellen und R⁸ eine Gruppe der Formel



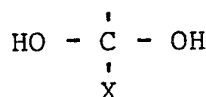
ist, worin R⁹ und R¹⁰ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen bedeuten.

4. Verbindung nach einem der Patentansprüche 1-3, dadurch gekennzeichnet, dass R¹ das Wasserstoffatom und R² die Gruppe



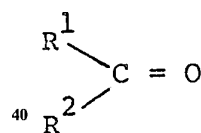
ist.

5. Verbindung nach einem der Patentansprüche 1-3, dadurch gekennzeichnet, dass R² eine Gruppe der Formel

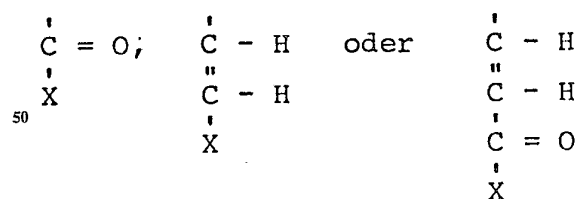


ist.

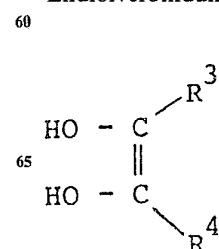
6. Verfahren zur Herstellung von therapeutisch verwendbaren Verbindungen der Formel (1) gemäss Anspruch 1, gekennzeichnet durch Vermischen von (a) Aldehyd oder Keton der Formel



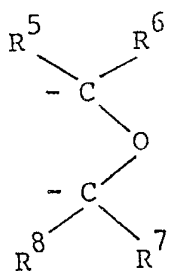
in der R¹ eine Gruppe der Formel $\text{HO} - \text{C} - \text{OH}$, X



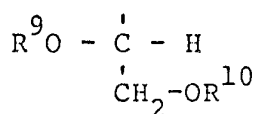
ist, worin X das Wasserstoffatom oder eine Alkyl-, Cycloalkyl-, Aryl-, Hydroxyaryl- oder Arylalkylgruppe bedeutet und R² das Wasserstoffatom oder eine Alkyl- oder Arylgruppe ist oder die für R¹ gegebene Bedeutung hat, und (b) Endiolverbindung der Formel



in der R³ und R⁴ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen sind oder gemeinsam eine Gruppe der Formel

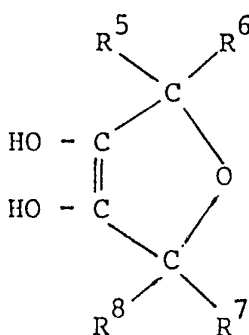


bilden, worin R⁵, R⁶, R⁷ und R⁸ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen sind, wobei R⁵ und R⁶ gemeinsam die Gruppe =O darstellen können und R⁸ eine Gruppe der Formel



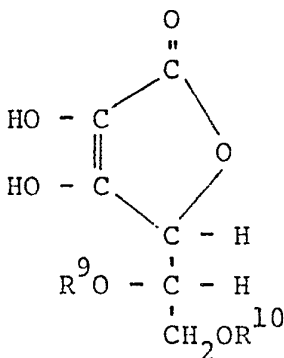
darstellen kann, in der R⁹ und R¹⁰ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen sind, und Reagierenlassen der Verbindungen bei Raumtemperatur unter Inertatmosphäre in einem wässrigen Medium.

7. Verbindung nach Patentanspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Endiolverbindung eine solche der Formel



verwendet wird, in der R⁵, R⁶, R⁷ und R⁸ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen sind, wobei R⁵ und R⁶ zusammen die Gruppe =O darstellen können.

8. Verbindung nach Patentanspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Endiolverbindung eine solche der Formel



verwendet wird, in der R⁹ und R¹⁰ jeweils Wasserstoffatome oder Alkyl- oder Arylgruppen sind.

9. Verfahren nach einem der Patentansprüche 6–8, dadurch gekennzeichnet, dass als Aldehyd Methylglyoxal verwendet wird.

10. Verfahren nach einem der Patentansprüche 6–9,

dadurch gekennzeichnet, dass als Endiolverbindung L-Ascorbinsäure verwendet wird.

11. Arzneimittel, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens eine Verbindung der Formel (1) gemäss Patentanspruch 1 enthält.

12. Arzneimittel nach Patentanspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass es ein zytostatisches oder/und analgetisches oder/und blutdrucksenkendes Mittel ist.

13. Arzneimittel nach Patentanspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass es die Verbindung der Formel (1) gelöst in 10 bis 10 000 Gew.%, bezogen auf das Gewicht der Verbindung, Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung enthält.

Seit vielen Jahren sucht man nach einer wirksamen Behandlung für alle Formen von Krebs. Trotz des grossen Interesses und zahlreicher wichtiger Entdeckungen ist der wesentliche Durchbruch in bezug auf Heilung oder Behandlung von Krebs bisher nicht gelungen.

Nach der von A. Szent-Györgyi stammenden bioelektronischen Theorie der Proteinwechselwirkungen (siehe Szent-Györgyi, «Electronic Biology and Cancer», M. Dekker, New York, 1976) kann Methylglyoxal bei der Steuerung bzw. Unterbindung der Zellteilung wegen seiner Eigenschaften als starker Elektronenakzeptor eine wichtige Rolle spielen. Diese Verbindung tritt aufgrund ihrer aldehydischen Carbonylgruppe durch Angriff auf die primären Aminogruppen der Proteine in Wechselwirkung mit Proteinen. Unabhängig davon, ob diese Theorie tatsächlich zutrifft, kann eine derartige Regulierung der Zellteilung durch Methylglyoxal für die Entwicklung wirksamer chemotherapeutischer Mittel anwendbar sein. Methylglyoxal und die damit verwandten Verbindungen sind jedoch in vivo ausserordentlich labil, und zwar wegen der Wirkung eines Glyoxalase-Enzymsystems, das diese Verbindungen in Gegenwart von reduziertem Glutathion in D-Milchsäure umwandelt. Dementsprechend würde wegen der Wirkung von Glyoxalase jeder In-vivo-Test für die Wirkungen von Methylglyoxal auf die Zellteilung negative Ergebnisse liefern.

Nach Szent-Györgyi kann die bioelektronische Theorie Krebs als eine Störung der elektronischen Konfiguration von Proteinen in Krebszellen (siehe Szent-Györgyi, «The Living State and Cancer», im Druck) erklären; er geht dabei von der Annahme aus, dass Methylglyoxal und verwandte Verbindungen die richtige Proteinkonfiguration wiederherstellen und bewirken, dass die Krebszellen von dem abnormalen Wucherungszustand in den normalen «Ruhezustand» zurückkehren.

Die Verwendung eines von Methylglyoxal abgeleiteten Mittels zur Behandlung verschiedener Krebsformen wurde von Freireich et al. (siehe «Cancer Chemotherapy Reports», Band 16, Seiten 183–186, 1962) untersucht. Diese Autoren berichten über klinische Untersuchungen mit Methylglyoxalbis(guanyldiazon) bei Patienten mit akuter myelocytischer Leukämie und beobachten eine vollständige Remissionsfrequenz von 69% bei dreizehn Patienten, wobei kein Zweifel in bezug auf die Antitumorwirkung dieser Verbindung gelassen wird; insbesondere deuten die Autoren darauf hin, dass alle damals gängigen Therapiemethoden nur eine 13%ig vollständige Remission erzielen konnten.

Ferner enthält die US-PS 2 893 912 Angaben, die zeigen, dass bestimmte cyclische Glyoxalverbindungen, z.B. Cyclohexylglyoxal, Benzylglyoxal usw., eine antivirale Aktivität haben. In Anbetracht von Hinweisen darauf, dass einige Formen von Krebs mit dem Auftreten von viralen Chromo-

somen in Krebszellen zusammenhängen, kann man spekulieren, dass diese Verbindungen möglicherweise zur Vorbeugung, Behandlung und Heilung von viralen Erkrankungen einschliesslich einiger Formen von Krebs anwendbar sind.

In der US-PS 2 927 054 ist die Kondensation bestimmter Zucker, z.B. Glucose, Mannose, Fructose usw., mit einem Aldehyd oder Keton zur Bildung cyclischer Zuckeracetale beschrieben. Der Mechanismus beruht offenbar auf der Eliminierung von Wasser durch Vereinigung des Sauerstoffes der Carboxylgruppe des Aldehyds oder Ketons mit Wasserstoff aus jeder der beiden Hydroxylgruppen des Zuckers. Diese Kondensationsreaktion erfolgt beim Erwärmen der Mischung bis zum Siedepunkt des Aldehyds in Gegenwart eines sauren Acetylierungskatalysators, wobei Bedingungen herrschen, welche die offenkettige Form des Zuckers begünstigen. Die beiden benachbarten Kohlenstoffatome des cyclischen Acetalringes sind benachbarte Kohlenstoffe der aliphatischen Kette des Zuckermoleküls. Einige cyclische Acetalringe dieser Art können an demselben Zuckermolekül gebildet werden, und zwar unter Bildung von polymeren cyclischen Acetalen.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung sind neue Verbindungen, die zytostatische, blutdrucksenkende und analgetische Wirkungen zeigen, und neue Mittel, die zur Behandlung von Krebs und überhöhtem Blutdruck sowie zur Schmerzbekämpfung wirksam sind. Aufgabe der Erfindung ist auch ein Verfahren zur Herstellung von neuen Verbindungen, die sich als bzw. für Antitumormittel, als Mittel zur Verminderung des Blutdruckes und als Analgetika eignen.

In den Zeichnungen zeigen:

Fig. 1 das Kernresonanzspektrum (NMR) von reinem Methylglyoxal,

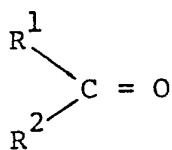
Fig. 2 das NMR-Spektrum von in Deuteriumoxid gelöstem Methylglyoxal,

Fig. 3 das NMR-Spektrum des Produktes (in Aceton D₆) der Reaktion zwischen L-Ascorbinsäure und Methylglyoxal,

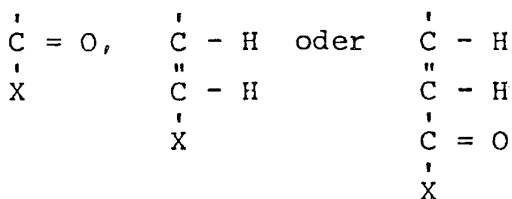
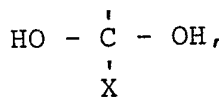
Fig. 4 das NMR-Spektrum des Produktes von Beispiel 3 und

Fig. 5 das Infrarotspektrum des Produktes von Beispiel 3.

Die neuen Verbindungen der Formel (1) gemäss der Erfindung werden hergestellt durch Vermischen von vorzugsweiser annähernd gleichen Mengen eines Aldehyds oder Ketons der Formel



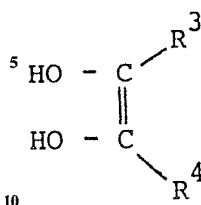
in welcher R¹ eine der Gruppen



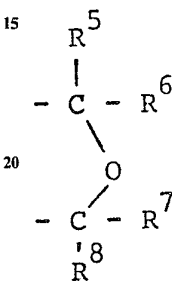
ist, worin X Wasserstoff, Alkyl, Cycloalkyl, Aryl, Hydroxyaryl oder Arylalkyl bedeutet und R² Wasserstoff, Alkyl,

4

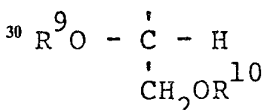
Aryl oder R¹ bedeutet, und einer Endiolverbindung der Formel



worin R³ und R⁴ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl sind oder zusammen die Gruppe

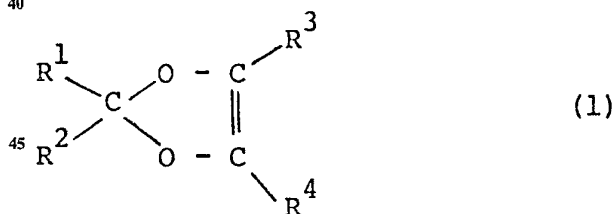


bilden, in der R⁵ bis R⁸ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl sind oder in der R⁵ und R⁶ gemeinsam die Gruppe -C=O bilden können und R⁸ eine Gruppe der Formel

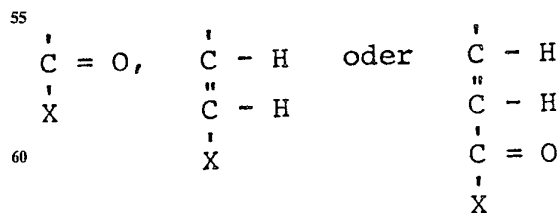
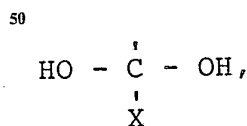


sein kann, in der R⁹ und R¹⁰ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl sind, und Reagierenlassen der Komponenten und Inert-, 2,3-Stickstoffatmosphäre bei Raumtemperatur in wässrigem Medium, z.B. während etwa einer Stunde.

Die neuen cyclischen Acetale sind Verbindungen der Formel (1)

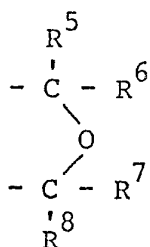


in der R¹ bedeutet:



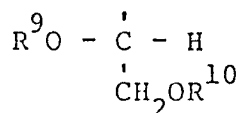
in welchen X Wasserstoff, Alkyl, Cycloalkyl, Aryl, Hydroxyaryl oder Arylalkyl ist, R² Wasserstoff, Alkyl, Aryl oder R¹ ist und R³ und R⁴ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl sind.

Neue cyclische Acetale gemäss der Erfindung sind auch solche, bei welchen R³ und R⁴ gemeinsam die Gruppe



bilden, in der R⁵ bis R⁸ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl sind.

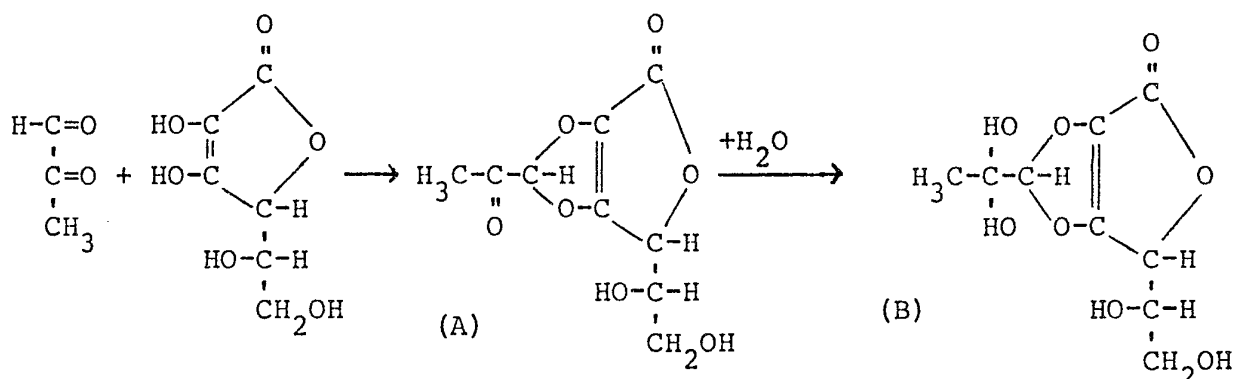
Zur Erfindung gehören auch Verbindungen, bei welchen die obigen Gruppen R⁵ und R⁶ zusammen die Gruppe =O bilden, sowie Verbindungen, bei welchen R⁸ die Gruppe



ist, worin R⁹ und R¹⁰ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl sind.

Zur Erfindung gehören auch die hydratisierten Formen der oben beschriebenen neuen Verbindungen.

Wenn die Reaktionskomponenten gereinigtes Methylglyoxal und L-Ascorbinsäure sind, ist die Umsetzung an der Abnahme der Reduktionseigenschaften von L-Ascorbinsäure gegenüber Jod bis auf etwa 5% des ursprünglichen Wertes erkennbar. Das gereinigte Reaktionsprodukt kann durch



Die ketonische Carbonylgruppe (A) unterliegt einer Hydratation (bis etwa 90%) unter Bildung des Produktes der Struktur (B). Die Erfindung ist nicht auf irgendeinen bestimmten Reaktionsmechanismus beschränkt. Die Reaktion kann über die Umsetzung zwischen Methylglyoxal-monohydrat und L-Ascorbinsäure oder zwischen Methylglyoxal und L-Ascorbinsäure verlaufen, welches letztere Produkt dann hydratisiert wird.

Die Elementaranalyse dieses Produktes (AM) ergab folgende Werte (%):

Analyse berechnet für C₉H₁₂O₈:

Ber.: C 43,55, H 4,84, O 51,61

Gef.: C 43,91, H 5,93, O 51,16.

Ähnliche NMR- und IR-Analysen wurden mit Verbindungen durchgeführt, die aus anderen erfindungsgemäss anstelle von Methylglyoxal verwendbaren Aldehyden oder Ketonen erhalten wurden, und mit Verbindungen, die aus anderen erfindungsgemäss anstelle von L-Ascorbinsäure verwendbaren Endiolen hergestellt wurden. In allen Fällen stimmten die NMR- und IR-Spektren mit der cyclischen Acetalstruktur der Produkte überein.

Es ist überraschend und unerwartet, dass die erfindungsge-

Verdampfen im Vakuum und folgender Säulenchromatographie oder azeotroper Destillation erhalten werden. Das hydratisierte Produkt wird kurz als AM bezeichnet.

Es ist zu bemerken, dass gereinigtes Methylglyoxal durch technisch erhältliches Methylglyoxal mit oder ohne Polymerisations-Inhibitoren ersetzt werden kann, und dass dieses Produkt hydratisiertes oder oligomeres Methylglyoxal enthalten kann.

Es wurden Kernresonanzspektren (NMR) für reines Methylglyoxal (Fig. 1), für in Deuteriumoxid gelöstes Methylglyoxal (Fig. 2) und für AM-Monohydrat (Fig. 3) aufgenommen. Auch das IR-Spektrum von AM-Monohydrat wurde aufgezeichnet. Das NMR-Spektrum zeigte zwei unterschiedliche Methylprotonenresonanzen, von denen eine für ein Methylketon (bei δ 2,2) zu erwarten war und die zweite einem hydratisierten Methylketon (bei δ 1,8) zugeschrieben werden kann. Der Vergleich der Fig. 2 und 3 zeigt, dass die durch das Aldehydproton von Methylglyoxal bedingte Absorption offensichtlich in den Acetalbereich (δ 4,0-4,5) verschoben worden ist. Die Integration zeigt ein 1:1- (oder 4:4)-Verhältnis der gesamten L-Ascorbinsäure zu den gesamten Methylglyoxal-C-H-Protonen.

Aus diesen Daten kann man schliessen, dass die enolischen Hydroxylgruppen (in den Stellungen 2 und 3) der Ascorbinsäure mit der Aldehyd-Carboxylgruppe von Methylglyoxal unter Bildung eines cyclischen Acetals wie folgt reagiert haben:

Die Umsetzung in wässriger Lösung abläuft. Allgemein ist bekannt, und war auf diesem Gebiet der organischen Chemie zu erwarten, dass Acetalisierungs- und Ketalisierungsreaktionen ein nicht-wässriges Medium benötigen. Ferner ist überraschend, dass die hier erläuterten Aldehyde und Ketone selektiv an den 2,3-Hydroxylgruppen der L-Ascorbinsäure reagieren, da alle bekannten Acetale von L-Ascorbinsäure von den 5,6-Hydroxylgruppen gebildet werden.

Das erfindungsgemässe Verfahren wird anhand der folgenden Herstellungsbeispiele erläutert.

Beispiel 1

100 g L-Ascorbinsäure wurden unter Stickstoffatmosphäre in 400 ml sauerstofffreiem destilliertem Wasser gelöst. 205 ml Methylglyoxal (40%ige wässrige Lösung, erhältlich von der Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee, Wisconsin) wurden zu der L-Ascorbinsäurelösung gegeben und die Mischung bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre während etwa 1 Std. stengelassen. Nach Durchspülen des Schnellverdampfers mit Stickstoff wurde die Mischung bis zur Gewichtskonstanz bei Raumtemperatur durch Verdampfen von Wasser befreit und ergab 130 g fahlgelbe klebrige Masse. Dieses Produkt wurde punktförmig auf Dünnschichtchromatographieplatten aus Cellulose aufgetragen und in eine Kammer gebracht, die Ethylacetat:Benzol (2:3) als Lösungs-

mittel enthält. Das Methylglyoxal stieg mit der Lösungsmittelfront auf. Das Produkt hatte einen Rf-Wert von etwa 0,3; die Ascorbinsäure chromatographierte nicht.

Beim Titrieren mit Jodlösung zeigte das Produkt die Anwesenheit von 5% Ascorbinsäure oder dessen entsprechendem Äquivalent an reduzierender Substanz.

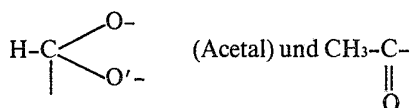
Beispiel 2

1,52 g (0,01 Mol) Phenylglyoxalmonohydrat wurden zu einer Lösung von 1,76 g (0,01 Mol) L-Ascorbinsäure in 50 ml Wasser gegeben und unter Stickstoffatmosphäre 1 Std. gerührt. Danach wurde das Ganze unter Vakuum bis zur Trockenheit eingedampft. Alternativ kann das Produkt auch gefriergetrocknet werden. Das Produkt wurde dann wie in Beispiel 1 isoliert. Das NMR-Spektrum des Hauptprodukts zeigt Absorption bei etwa δ 4,0–4,5, was charakteristisch ist für das Acetal-C-H. Das IR-Spektrum zeigt zwei unterschiedliche Carbonyle, eines von einem Lacton und ein anderes von einer Aroylcarbonylgruppe. Beim Titrieren wurde ein etwa 50%iger Jodverbrauch festgestellt, was auf eine Teilreaktion der freien Endiolgruppen hindeutet.

Beispiel 3

2-Methyl-2,5-dimethoxy-2,5-dihydrofuran (2,5-Dimethoxy-2,5-dihydrofuran) wurde nach den Angaben von Clauson-Kaas und Limborg (Act. Chem. Scand., 1:619, 1977) synthetisiert. 10 g dieses Materials wurden unter Stickstoffatmosphäre zu einer wässrigen Lösung von L-Ascorbinsäure (5 g/25 ml Wasser) gegeben. Nach 10 min wurde eine fahlgelbe Lösung erhalten. Wasser wurde über Nacht durch Vakuumverdampfung bei Raumtemperatur entfernt. Beim Titrieren wurde kein Jodverbrauch festgestellt, was darauf hindeutet, dass die 2,3-Hydroxylgruppen der L-Ascorbinsäure reagiert haben. Das Rohprodukt zeigte zwei Flecken (Rf 0,65 und 0,3) auf Dünnschichtchromatographieplatten aus Silicagel bei Verwendung von Chloroform:Methanol (9:1) als Lösungsmittel.

Ein NMR-Spektrum bei 60 Megahertz (Fig. 4) in Aceton-d zeigte das Vorhandensein von H-C=C-H (Vinyl),



(Methylcarbonyl) Protonen zusätzlich zu Signalen für die C₄-, C₅- und C₆-Protonen von L-Ascorbinsäure. Das IR-Spektrum (in Nujolmull, Fig. 5) deutete auf das Vorhandensein mehrerer Hydroxylgruppen und auf zwei unterscheidbare Carbonylgruppen hin.

Beispiel 4

Nach der in Beispiel 2 erläuterten Methode wurden 5,6 g (0,1 Mol) Acrolein zu einer wässrigen Lösung (20 ml) von 20 g L-Ascorbinsäure gegeben. Unmittelbar nach Verschwinden des öligen Acroleins trennte sich ein farblos Niederschlag des Monoacetals ab. Dieser wurde abfiltriert und in an sich üblicher Weise als 2,3-Monoacetal von L-Ascorbinsäure und Acrolein identifiziert.

Beispiel 5

Das in Beispiel 1 erhaltene gelbe Produkt wurde in wenig Ethylacetat:Benzol (2:3) gelöst und auf eine Chromatographiesäule aufgebracht, die DEAE-Cellulose (Dienthylaminoethylcellulose) als Adsorbens enthielt. Während das Ethylacetat:Benzol (2:3)-Lösungsmittel durch die Kolonne geführt wurde, bewegte sich langsam ein schmales Band des gelben Produktes in der Säule nach unten. Das Produkt wurde in einem geringen Filtratvolumen gesammelt.

Beispiel 6

Das gemäss Beispiel 1 erhaltene gelbe Produkt wurde in wenig Ethylacetat gelöst und auf «Celite» (Kieselgur) adsorbiert und getrocknet. Das getrocknete «Celite»-Pulver wurde zur Entfernung von überschüssigem Methylglyoxal mit Chloroform gewaschen. Das Produkt wurde dann mit Ethylacetat aus dem «Celite» eluiert.

Beispiel 7

13 g des gemäss Beispiel 1 erhaltenen gelben Produktes wurden in 200 ml Ethylacetat gelöst und das Lösungsmittel bei Raumtemperatur abgedampft. Überschüssiges Methylglyoxal wurde als azeotrope Mischung entfernt. Alternativ kann Chloroform oder Wasser anstelle von Ethylacetat verwendet werden. Das Methylglyoxal im Ethylacetat wurde als 2,4-Dinitrophenylhydrazon gefällt und in einer Menge von etwa 8% festgestellt.

Weitere Untersuchungen des gemäss den Beispielen 5 oder 6 und folgender Verdampfung gereinigten Produktes zeigten:

(a) dass das Produkt hygroskopisch ist und zur Bildung einer amorphen Masse neigt;

(b) dass das Produkt 5–8% Ascorbinsäure (auf Basis des Jodverbrauches) enthält, und

(c) dass bei Umsetzung mit überschüssigem 2,4-Dinitrophenylhydrazin das 2,4-Dinitrophenylhydrazon von Methylglyoxal während einer Zeitspanne von 4–5 Tagen gebildet wird; aus der Bildung von 2,4-Dinitrophenylhydrazon ergibt sich ein Molverhältnis L-Ascorbinsäure:Methylglyoxal im Produkt von 1:1.

Beispiel 8

Die Arbeitsweise der Beispiele 1 und 5 wurde unter Verwendung von frisch destilliertem Methylglyoxal wiederholt. Das nach der chromatographischen Reinigung erhaltene Produkt war ein farbloses weisses Pulver, das weniger hygroskopisch war als das Produkt von Beispiel 5.

Zur Erläuterung der pharmakologischen Eigenschaften dienen die folgenden Anwendungsbeispiele:

(I) 0,25 ml einer 2,5%igen wässrigen Lösung des Produktes von Beispiel 6 wurden intraperitoneal (i.p.) zweimal täglich an schweizerische Albinomäuse (jeweils 25 g) verabreicht. Es wurden keine Anzeichen für Toxizität beobachtet.

Eine einzige Injektion pro Tag von 0,25 ml einer 5,0%igen wässrigen Lösung des Produktes von Beispiel 7 führte zu Gewichtsverlust, Diarrhoe und schliesslich zum Tod.

(II) 20 schweizerischen Albinomäusen (jeweils 25 g) wurden 4×10^6 Zellen Ehrlich-Karzinom injiziert. Weiteren 20 Tieren wurden in ähnlicher Weise 4×10^6 Sarcoma-180 Zellen injiziert. Am folgenden Tag erhielt die Hälfte der Tiere zwei Injektionen (i.p.) von 0,25 ml einer 2,5%igen wässrigen Lösung des Produktes von Beispiel 7. Die Injektionen wurden täglich wiederholt. Am 8. Tag wurden die Tiere getötet und die Peritonealhöhle jedes Tieres mit 20 ml physiologischer Kochsalzlösung (0,9%) gewaschen. Die Waschlösungen wurden vereinigt und zentrifugiert und das Sedimentvolumen gemessen. Dieses Sediment enthielt die gebildeten malignen Zellen. Tabelle I gibt die Ergebnisse der Summierung der Zellvolumina wieder, die aus den Peritonealhöhlungen von 20 Mäusen erhalten wurden. Abgesehen von schwachen Blutungen in der Peritonealhöhle der behandelten Tiere wurden weder Gewichtsverluste noch toxische Symptome beobachtet.

Tabelle I

Injizierte Zellen	unbehandelt	behandelt
Ehrlich-Karzinom	1,27*	0,14
Sarcoma-180	1,46	0,05

*Summe der Volumina an gewonnenen Zellen in ml

(III) Sieben Patienten mit verschiedenen Krebsformen in fortgeschrittenen Stadien wurden durch orale Verabreichung von viermal täglich 250 mg Substanz (AM) in Orangensaft oder durch intravenöse (i.v.) Verabreichung von 1 mg AM/ml 0,9% Kochsalzlösung mit einer Gesamttagesdosis von 1 g behandelt. Vor der Verabreichung wurde eine vollständige klinische Untersuchung durchgeführt. Während der Infusionszeit wurden Puls, Temperatur und Blutdruck überwacht. Ferner wurden die üblichen biochemischen und hämatologischen Untersuchungen sowie Tests auf Leberfunktion, Urinzusammensetzung, Blutzucker, Serumenzyme und Blutproteine nach Bedarf vor, während und nach der Verabreichung des Behandlungsmittels durchgeführt. Der Tumor wurde soweit möglich durch Palpation, Röntgenaufnahmen und Fotografie gemessen.

Patient A – weiblich, Alter 40 Jahre:

Histologische Diagnose:

undifferenziertes Karzinom der rechten Niere mit Metastasen.

Vorherige Behandlung:

Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin, 5-Fluoruracil, Steroide, Warfarin-Natrium. Drei Abläufe mit Teilremission nur nach dem ersten und zweiten Ablauf.

Status bei Beginn der AM-Therapie:

Patient sehr krank, dyspnoisch, Husten, Schmerzen im Magen- und Brustbereich; Abdominaltumor fixiert (R) 12 × 8 cm; Virchow-Drüsen 4 × 2 cm fixiert; ulzerierende Verletzungen an der Kopfoberseite, 1 × 1 und 1 × 2 cm; Sekundäreffekte an der Lunge ausweislich Röntgenbild.

Dosis:

1 Gramm (g) i.v. während 24 Std. am Tag Null, 1 g i.v. während 24 Std. am Tag 2; 1 g oral während 24 Std. am Tag 4, 5 und 8; 1 g i.v. während 24 Std. an den Tagen 15–21 – fortlaufend.

Ergebnisse: Merkliche klinische Besserung der Atmung innerhalb von 12 Std. Schmerzfrei nach 24 Std. Virchow-Drüsen nach 48 Std. frei von tiefen Strukturierungen; Entzündung um Drüse fehlend. Kopfverletzungen trocken und verkrustet (heilend), keine Entzündung der Umgebung. Blutdruck ab Beginn ständig fallend von 130/90 auf 75/50 am Tag 3. Hämoglobinwert fiel während der ersten 24 Std. von 12,5 g auf 9,0 g. Anzeichen von kongestivem Herzversagen mit Ödem im Knöchel- und Kreuzbeinbereich. Lungen im Basisbereich dumpf. Keine Dyspnoe – langsame Besserung bei Beendigung der i.v.-Therapie. Drei Einheiten Blut verabreicht. Abdominale Distension und Diarrhoe. Tag 15: i.v. erneut begonnen; keine Besserung während der ersten 24 Std., dann langsame Besserung während der nächsten 24 Std. Schmerzfrei und freie Atmung. Abdominale Distension abnehmend, Diarrhoe beendet; i.v. fortgesetzt. Virchow-Drüsen wieder frei von tiefem, an der Haut fixiertem Gewebe. Abdominaltumor 10 × 6 cm. Röntgen nach Lund: keine Veränderung der Tumorgroße, aber Grenzlinie schärfer.

Biochemie und Hämatologie:

abnormale Befunde bei Hydroxybutyrat-Dehydrogenase,

alkalische Phosphatase; Serumalbumin; Blutzucker.

Patient B – weiblich, Alter 56 Jahre:

Histologische Diagnose:

5 Adenocarcinom des Grimmdarmes mit Metastasen in der Leber.

Vorherige Behandlung:

Chirurgische Resektion, Colostomie. 5-Fluoruracil, Levamisol, Cyproheptadin, Warfarin-Natrium.

10 Status bei Beginn der AM-Therapie:

Patient stark gelbsüchtig; Übelkeit, Erbrechen. Leber 5 cm unter der Rippengrenze hart und knotig. Aszites mit bilateraler pleuraler Effusion; Leberfunktionstest abnormal.

Dosis:

15 oral 1 g in 24 Std.

Ergebnisse: Erbrechen beendet, sonst keine Veränderungen; akutes kongestives Herzversagen nach 24 Std. – Tod. Keine Veränderung der Hämoglobinwerte.

Biochemie und Hämatologie:

abnormale Befunde bei Bilirubin, Aspartat-Transaminase, Alanin-Transaminase, alkalische Phosphatase, Leukozytenzahl.

25

Patient C – weiblich, Alter 46 Jahre:

Histologische Diagnose:

Intraduktcarzinom der Brust; Stufe IV; Knochenmetastasen.

Vorherige Behandlung:

30 Kombinierte cyclische Chemotherapie mit Cyclophosphamid, 5-Fluoruracil, Adriamycin und Methotrexat. Tiefe

Röntgenbestrahlung der Sekundäreffekte am Rückgrat;

Hyperthermie durch Radiofrequenzbehandlung (RF).

Status bei Beginn der AM-Therapie:

35 Metastasen an der Leber und den Knochen, starke

Schmerzen; Erleichterung durch Morphin.

Dosis:

1 g i.v. während 24 Std. am Tag Null und Tag 2.

40

Ergebnisse: Schmerzfrei 6 Std. nach Infusionsbeginn;

Wiederkehren der Schmerzen während 12 Std. nach Beendigung der Infusion am Tag Null. Wiederholte Infusion erzeugte schmerzfreie Periode während 24 Std. nach Infusion. Keine toxischen Effekte. Keine Wirkungen auf Hämoglobin.

45

Biochemie und Hämatologie:

abnormale Befunde der Blutsenkung.

50

Patient D – weiblich, Alter 43 Jahre:

Histologische Diagnose:

fortgeschrittenes undifferenziertes Karzinom der Brust mit Mehrfachmetastasen.

Vorherige Behandlung:

55 Tiefe Röntgentherapie. Cyclische Chemotherapie. Warfarin-Natrium; RF-Hyperthermie.

Status bei Beginn der AM-Therapie:

Sekundäreffekte an den Knochen, der Lunge und der Leber.

Rückenschmerzen und Schweratmigkeit. Ulzerierende

60

Läsionen der Brustwand 5 × 6 cm und 2 × 2 cm.

Dosis:

1 g i.v. in 6 Std. am Tag Null und Tag 7.

65

Ergebnisse: Erleichterung der Schmerzen und der Dyspnoe; keine Schmerzmittel erforderlich ab Tag Null; keine Wirkung auf sichtbaren Tumor; ausserordentliche Müdigkeit; Blutdruck fiel am Tag Null von 130/80 auf

100/60; Wiederanstieg am Tag 1 auf 130/80; erneutes Abfallen am Tag 7 von 130/90 auf 100/70.

Biochemie und Hämatologie:
abnormale Werte der Hydroxybutyrat-Dehydrogenase und der Milchsäure-Dehydrogenase.

Patient E – weiblich, Alter 40 Jahre:

Histologische Diagnose:

rezidives Melanom; metastatisch.

Vorherige Behandlung:

B.C.G.-Levamisol, D.T.I.C.; chirurgische Exzision mit Blockdissektion; RF-Hyperthermie.

Status bei Beginn der AM-Therapie:

grosse, teilweise nekrotische Läsionen 14 × 10 cm an der Leiste (L) mit Sinussekretion von 100+ ml täglich; Schmerzen.

Dosis:

1 g während 6 Std. am Tag Null.

1 g während 6 Std. am Tag 5.

1 g während 6 Std. am Tag 9.

Ergebnisse: Schmerzfrei am Ende der ersten Infusion; Ausfluss am Sinus stoppte am Ende der Infusion am Tag Null; keine Änderung der Tumorgrosse, aber langsame Abnahme der Hautentzündung; Wiederauftreten der Schmerzen am Tag 7 und 8. Erbrechen nach Infusion am Tag 5. Extreme Müdigkeit an den Tagen 6 bis 9. Blutdruck stabil.

Biochemie und Hämatologie:

Abnormale Befunde bei Blutkreatinin, Aspartat-Transaminase, Alanin-Transaminase, Hydroxybutyrat-Dehydrogenase, Lactat-Dehydrogenase und alkalischer Phosphatase.

Patient F – weiblich, Alter 53 Jahre:

Histologische Diagnose:

Adenocarcinom der Brust mit Hirnmetastasen; rezidierend.

Vorherige Behandlung:

chirurgische Resektion der Hirnmetastasen; Kobaltbestrahlungstherapie; cyclische kombinierte Chemotherapie.

Status bei Beginn der AM-Therapie:

Unwohlsein mit Kopfschmerzen und stossartigen Erbrechenerscheinungen durch erhöhten Interkraniatdruck; Papilloedem, multiple spinale Metastasen; Schmerzen.

Dosis:

1 g i.v. während 24 Std. am Tag Null, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 fortgesetzt.

Ergebnisse: Erbrechen stoppte am Tag 2. Schmerzverminderung, aber Schmerzen bei Drehbewegung im Lumbareich. Papilloedem abnehmend; Kopfschmerzen am Tag 5 verschwunden. Keine Nebenwirkungen; Patient klar und zuversichtlich am Tag 7. Blutdruck gleichbleibend.

Biochemie und Hämatologie:

8

abnormale Befunde der alkalischen Phosphatase und des Serumalbumins.

Patient G – männlich, Alter 73 Jahre:

5 Histologische Diagnose:

Schuppiges Zellkarzinom der Lunge; inoperabel; chronische Bronchitis und Emphysem.

Vorherige Behandlung:

RF-Hyperthermie.

10 Status bei Beginn der AM-Therapie:

Karnofsky O verschlechternd; starke Dyspnoe; Brustschmerzen durch Schmerzmittel vermindert.

Dosis:

15 1 g i.v. in 24 Std.

Ergebnisse: Abgesehen von der Abnahme der Brustschmerzen während 24 Std. keine Wirkung; Befinden des Patienten verschlechterte sich zunehmend, und er starb am
20 Tag 3. Hämoglobinwerte stabil.

Biochemie und Hämatologie:

abnormale Befunde bei Leukozyten; Blutsenkung, Blutharnstoff, Serumnatrium, Serumchlorid, Serumcalcium,

25 Aspartat-Transaminase, Alanin-Transaminase, alkalischer Phosphatase.

Die oben beschriebenen klinischen Untersuchungen zeigen, dass AM für die Behandlung verschiedener Formen
30 von Krebs nützlich ist. Die kontinuierliche intravenöse Verabreichung hemmt die Tumoraktivität und führt zu einer allgemeinen Rückbildung der Krankheit. Ausserdem sind die erfindungsgemässen Verbindungen zur Verminderung von Blutüberdruck und zur Schmerzbekämpfung verwendbar.

35 Es ist bekannt, dass die rasche Wucherung von Krebszellen zu einer Ansammlung von toxischen Produkten in den Geweben um den Tumor und durch den ganzen Körper führt; man kann annehmen, dass diese toxischen Produkte die allgemeinen Schmerzen, die bei vielen Krebsformen auftreten, verursachen. Die beobachtete allgemeine Schmerzverminderung bei den Patienten in den klinischen Tests erfindungsgemässer Mittel kann durch die Unterbrechung der Bildung dieser toxischen Stoffwechselprodukte bedingt sein.

Die Wirkungsweise der erfindungsgemässen Verbindungen in bezug auf zytostatische, blutdrucksenkende und schmerzvermindernde Wirkungen ist zurzeit noch nicht geklärt; die empirische Beobachtung, dass die Zellen bei Einwirkung dieser Verbindungen zu wuchern aufhören, rechtfertigt aber bereits jetzt die Verwendung dieser Stoffe zur
45 Behandlung von derartigen schweren, bisher nicht behandelbaren und häufig tödlichen Krankheiten wie Krebs. Nach Abklärung der Wirkungsweise dieser Mittel und der Bestimmung ihrer Sicherheit können die Mittel auch zur Behandlung von hohem Blutdruck und zur Schmerzbekämpfung verwendet werden.
55

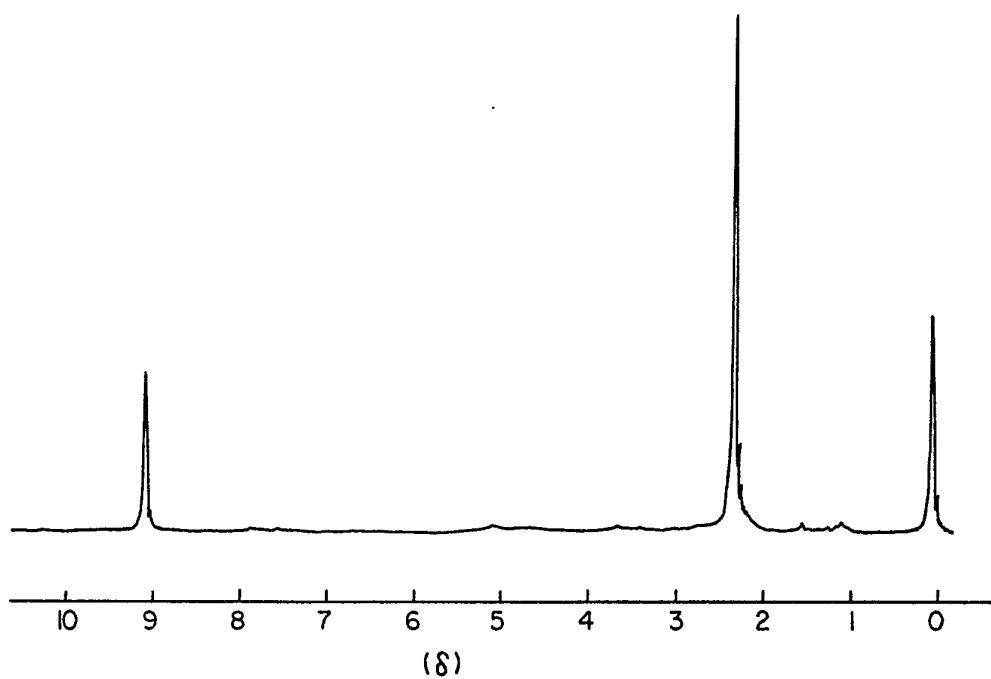


FIG. 1

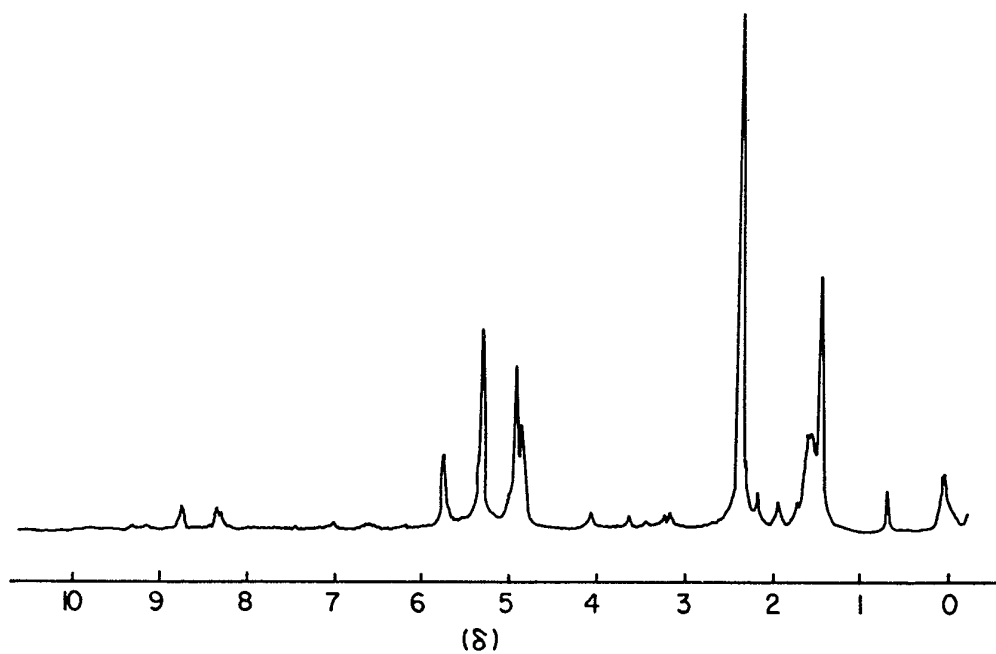


FIG. 2

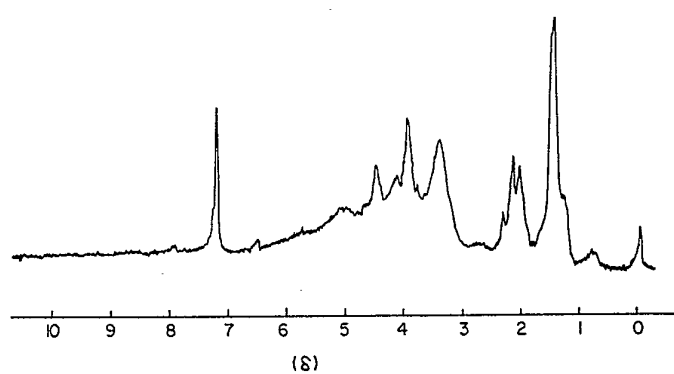


FIG. 3

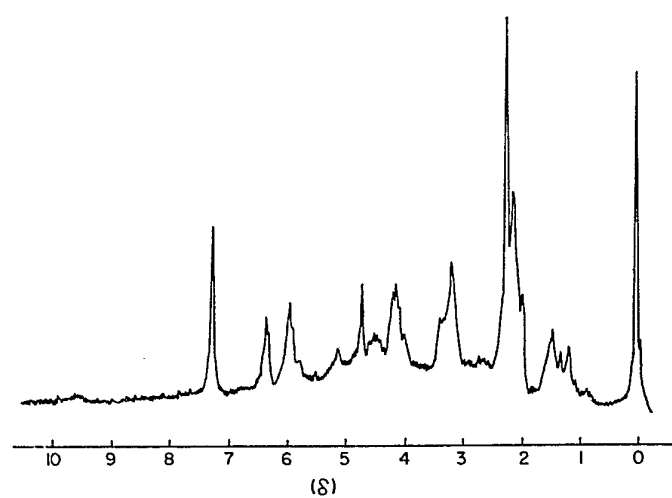


FIG. 4

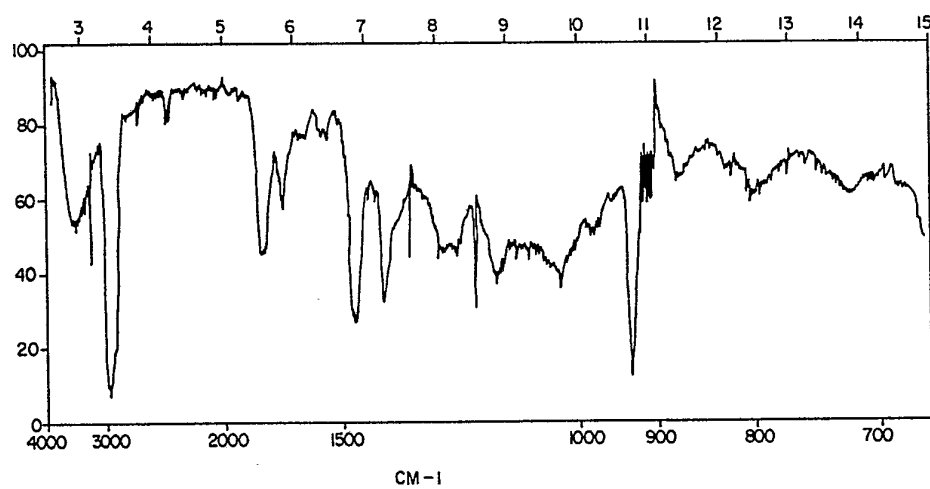


FIG. 5