

PATENTSCHRIFT 150 467

Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(11)	150 467	(44)	02.09.81	Int. Cl. ³ 3(51)	C 07 D 519/04
(21)	AP C 07 D / 217 286	(22)	15.05.79		
(31)	905 667	(32)	15.05.78	(33)	US

-
- (71) siehe (73)
- (72) Conrad, Robert A.; Gerzon, Koert, US
- (73) Eli Lilly and Company, Indianapolis, US
- (74) Patentanwaltsbüro Berlin, 1130 Berlin, Frankfurter Allee 286
-

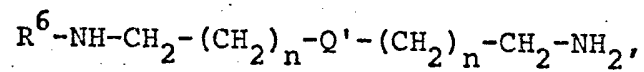
(54) Verfahren zur Herstellung von dimeren Vincaalkaloiden

(57) Verfahren zur Herstellung von Vincaalkaloiden der Formel $R^6-NH-CH_2-(CH_2)_n-Q'-(CH_2)_n-CH_2-NH_2$, in der Q' für S, S-S, O, Se-Se oder $(CH_2)_p$ steht, wobei p 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeutet, n für 0, 1, 2, 3 oder 4 steht und R^6 für den Rest eines Indoldihydroindolalkaloids steht, wie er im Erfindungsanspruch beschrieben ist, durch Umsetzung eines Azids der Formel R^6-N_3 mit einem Diamin der Formel $NH_2-CH_2-(CH_2)_n-Q'-(CH_2)_n-CH_2-NH_2$ im Verhältnis von 1 Mol des Azids je Mol Diamin. Die freien Basen der erhaltenen jeweiligen Verbindungen können gewünschtenfalls in an sich bekannter Weise in übliche pharmazeutisch unbedenkliche Säureadditionssalze überführt werden.

217286 - 1 -

Anwendungsgebiet der Erfindung:

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von
als Zwischenprodukte geeigneten neuen Vincaalkaloiden der
Formel

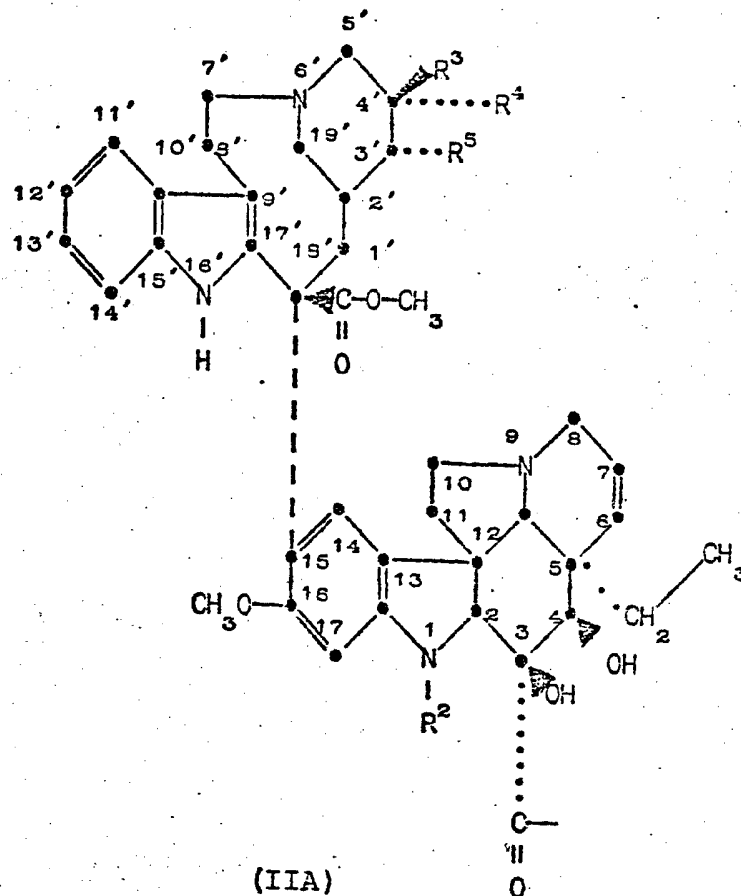


in der

Q' für S, S-S, O, Se-Se oder $(CH_2)_p$ steht,
wobei p 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeutet,

n für 0, 1, 2, 3 oder 4 steht und

R^6 einen Indoldihydroindolrest der Formel



darstellt, worin bedeuten:

R^2 CH_3 oder H,

einer der
Reste

R^3 und R^4 OH oder H oder

R^4 und R^5 zusammen einen alpha-Epoxidring und R^3 C_2H_5 ,

und ihren pharmazeutisch annehmbaren Säureadditionssalzen.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen:

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

Die chemische Modifizierung der *Vinca*alkaloide ist verhältnismäßig begrenzt geblieben. Erstens sind die Molekülstrukturen, um die es sich hier handelt, äußerst kompliziert, weshalb chemische Umsetzungen, durch die nur eine bestimmte funktionelle Gruppe des Moleküls verändert

wird, ohne daß andere Gruppen in Mitleidenschaft gezogen werden, schwierig zu entwickeln sind. Zweitens wurden aus Fraktionen oder Alkaloiden von *Vinca rosea* dimere Alkaloide ohne die erwünschten chemotherapeutischen Eigenschaften gewonnen oder erzeugt, und Strukturermittlungen haben zu dem Schluß geführt, daß diese Verbindungen den wirksamen Alkaloiden sehr nahestehen und sich häufig nur durch die stereochemischen Verhältnisse an einem einzigen Kohlenstoffatom unterscheiden. Somit scheint die neoplastische Wirksamkeit auf ganz bestimmte Strukturen beschränkt zu sein, und die Aussichten, stärker wirksame Arzneimittel durch Modifizierung dieser Strukturen zu erhalten, sind folglich entsprechend gering. Zu den erfolgreichen Modifikationen der physiologisch wirksamen Alkaloide gehören die Herstellung von 6,7-Dihydro-VLB (US-PS 3 352 868) und der Ersatz der Acetylgruppe an C-4 (Kohlenstoffatom 4 des VLB-Ringsystems in der unten angegebenen numerierten Strukturformel) durch höhere Alkanoylgruppen oder anderen Acylgruppen (US-PS 3 392 173). Mehrere dieser Derivate sind in der Lage, die Lebensdauer von Mäusen zu verlängern, die mit P1534-Leukämie beimpft worden sind. Eines der Derivate, bei dem die C-4-Acetylgruppe von VLB durch eine Chloracetylgruppe ersetzt ist, stellt außerdem ein wertvolles Zwischenprodukt für die Herstellung von strukturell modifizierten VLB-Verbindungen dar, bei denen die C-4-Acetylgruppe durch eine N,N-Dialkylglycylgruppe ersetzt ist (vergl. US-PS 3 387 001). Auch C-3-Carboxamid- und -Carboxyhydrazidderivate von VLB, Vincristin, Vincadiolin und anderen Verbindungen sind hergestellt worden und haben sich als wirksame Mittel gegen Tumore erwiesen (BE-PS ^{858 451}~~813 468~~). Diesen Verbindungen kommt außerordentlich große Bedeutung zu, weil sie, zum Beispiel die 3-Carboxami-

de von VLB, gegen Ridgeway-Osteogensarcom und Gardner-Lymphosarcom stärker wirksam sind als VLB, das Grundalkaloid, von dem sie sich herleiten. Bestimmte dieser Amidderivate kommen in ihrer Wirkung gegen diese Tumoren tatsächlich der von Vincristin sehr nahe. 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxamid (Vindesin) befindet sich derzeit in der klinischen Prüfung am Menschen, wo es sich gezeigt hat, daß es eine geringere Neurotoxizität als Vincristin hat und gegen Leukämien, einschließlich solcher, die gegen Vincristin resistent sind, wirksam ist.

° 858 451
Die BE-PS ~~813X168X~~ betrifft bis-Vincadimere mit einer Brückenbindung der Formel $R-NH-CH_2-(CH_2)_n-S-S-CH_2-(CH_2)_n-NH-R$, worin R den Rest eines dimeren C-3-carbonylgruppenhaltigen Vincaalkaloids mit oncolytischer Wirksamkeit bedeutet und n einen Wert von 1 bis 5 hat. Verbindungen mit dieser Struktur stellen das Hauptprodukt der Umsetzung eines Vinca-C-3-carboxazids ($R-N_3$) mit $NH_2-CH_2-CH_2-SH$ dar, und es wird angenommen, daß sie durch Luftoxidation der C-3-Carboxamidoethylmercaptangruppe, wie im Cystein-Cystin-System, entstehen. Diese Oxidation ist selbstverständlich auf die Bildung einer Disulfidbindung aus einem Mercaptoalkylamid beschränkt und entzieht sich einer allgemeinen Anwendbarkeit auf die Synthese anderer bis-Catharanthus-Dimerer mit Brückenbindungen.

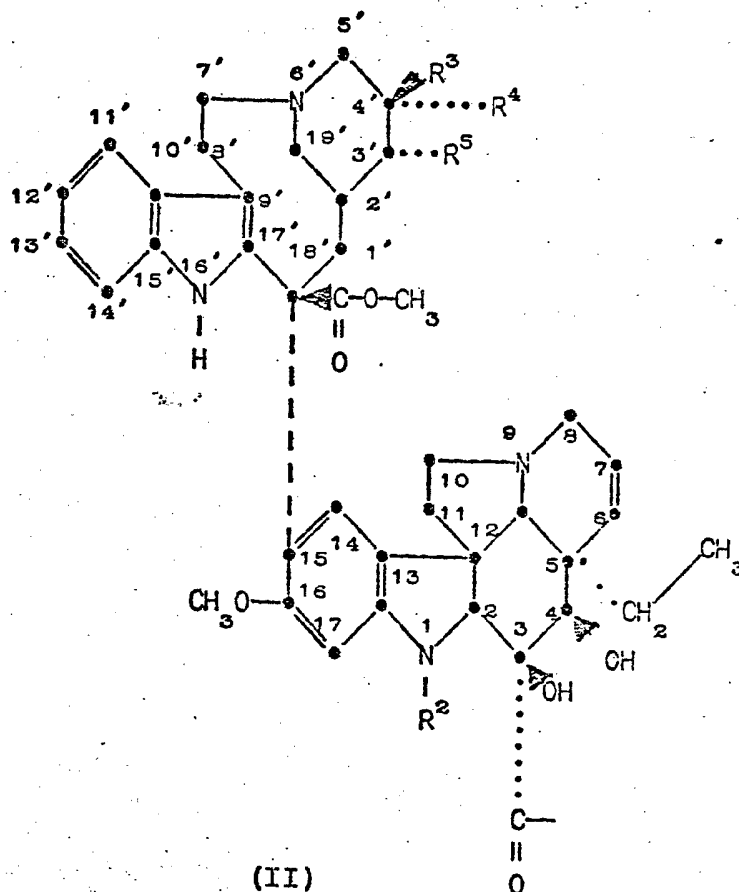
Ziel der Erfindung:

Die bekannten Verfahren zur Herstellung von pharmakologisch wirksamen dimeren Vincaalkaloiden sind in mancher Hinsicht verbesserungsbedürftig, und der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, die Nachteile dieser Verfah-

ren durch Bereitstellung neuer Zwischenprodukte zu beseitigen, aus denen sich in besonders einfacher und wirtschaftlicher Weise pharmakologisch wirksame dimere Vincalalkaloide herstellen lassen.

Darlegung des Wesens der Erfindung:

Diese Aufgabe wird beim Verfahren der eingangs genannten Art erfindungsgemäß nun dadurch gelöst, daß ein Azid der Formel R^6-N_3 , worin R^6 dem Rest eines Indoldihydroindolalkaloids der Formel



entspricht, worin bedeuten:

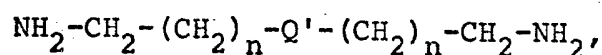
R^2 CH_3 oder H,

einer der
 Reste
 R^3 und R^4 OH oder H und

der andere
 dieser
 Reste C_2H_5 und R^5 H oder

R^4 und R^5 zusammen einen alpha-Epoxidring und $R^3 C_2H_5$,

mit einem Diamin der Formel



worin Q' und n die oben angegebenen Bedeutungen haben, im Verhältnis von 1 Mol R^6-N_3 je Mol Diamin umgesetzt wird, wenn Q' S, S-S, Se-Se, O oder $(CH_2)_p$ bedeutet, und die dabei erhaltenen freien Basen der jeweiligen Verbindungen gewünschtenfalls in an sich bekannter Weise in übliche pharmazeutisch unbedenkliche Säureadditionssalze überführt werden.

Zu den zur Ausbildung pharmazeutisch annehmbarer Säureadditionssalze der erfindungsgemäß erhältlichen Zwischenprodukte geeigneten nichttoxischen Säuren gehören anorganische Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Bromwasserstoffsäure, Iodwasserstoffsäure, salpetrige Säure und phosphorige Säure sowie organische Säuren, wie aliphatischen Mono- und Dicarbonsäuren, phenylsubstituierte Alkansäuren, hydroxysubstituierte Alkansäuren mit einer und zwei Carboxylgruppen, aromatische Säuren und aliphatische und aromatische Sulfonsäuren. Zu solchen pharmazeutisch annehmbaren Salzen gehören somit u.a. die Sulfate, Pyrosulfate, Bisulfate, Sulfite, Bisulfite, Nitrate, Phosphate, Monohydrogenphosphate, Dihydrogenphosphate,

Metaphosphate, Pyrophosphate, Chloride, Bromide, Iodide, Acetate, Propionate, Decanoate, Caprylate, Acrylate, Formiate, Isobutyrate, Caprate, Heptanoate, Propiolate, Oxalate, Malonate, Succinate, Suberate, Sebacate, Fumara-
te, Maleate, Benzoate, Chlorbenzoate, Methylbenzoate, Di-
nitrobenzoate, Hydroxybenzoate, Methoxybenzoate, Phthala-
te, Terephthalate, Benzolsulfonate, Toluolsulfonate, Chlor-
benzolsulfonate, Xylolsulfonate, Phenylacetate, Phenyl-
propionate, Phenylbutyrate, Citrate, Lactate, 2-Hydroxy-
butyrate, Glycollate, Malate, Tartrate, Methansulfonate,
Propansulfonate, Naphthalin-1-sulfonate und Naphthalin-2-
sulfonate.

Zu Beispielen für pharmakologisch wirksame dimere Vincaalka-
loide, die sich aus den vorliegend erhältlichen Zwischen-
produkten herstellen lassen, gehören unter anderem folgen-
de Verbindungen:

bis/ β -(VLB-C-3-carboxyamido)ethyl/sulfid-disulfat,

bis/ γ -(4-Desacetyl-4'-deoxy-VLB-C-3-carboxamido)-
propyl/ether,

1,5-bis(4-Desacetyl-leurosidin-C-3-carboxamido)pentan,

1,2-bis(Leurosine-C-3-carboxamido)ethan,

bis/ γ -(4'-Deoxyleurosidin-C-3-carboxamido)propyl/-
diselenid,

bis/ β -(4'-Deoxyvincristin-C-3-carboxamido)ethyl/sulfid-
disulfat,

bis/ β -(4-Desacetyl-4'-deoxy-1-desmethyl-1-formylleurosidin-C-3-carboxamido)ethyl/ether-disulfat,

tris/ β -(VLB-C-3-carboxamido)ethyl/amin,

N¹-(4-Desacetyl-VLB-3-carbonyl)-N²-(VLB-3-carbonyl)octamethyldiamin,

1,8-bis(4'-Deoxy-VLB-C-3-carboxamido)-octan,

1,11-bis(4-Desacetylvincristin-C-3-carboxamido)undecan,

1,14-bis(4-Desacetylleurosin-C-3-carboxyamido)tetradecan,

N¹-(4'-Deoxyleurosidin-3-carbonyl)-N²-(4'-deoxy-VLB-3-carbonyl)-bis(β -aminoethyl)sulfid,

N¹-(4-Desacetylvincristin-3-carbonyl)-N²-(4-desacetyl-VLB-3-carbonyl)-bis(β -aminoethyl)ether,

N¹-(4-Desacetyl-VLB-3-carbonyl)-N²-(4-desacetylleurosidin-3-carbonyl)-bis(4-aminobutyl)diselenid.

Die erfindungsgemäß erhältlichen Halbamide lassen sich ohne weiteres von etwa gleichzeitig gebildeten Bisamiden trennen und können durch an sich bekannte Maßnahmen gereinigt und identifiziert werden.

Herstellung von Ausgangsmaterialien

4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxhydrazid

VLB wird in wasserfreiem Ethanol mit einem Überschuß

von wasserfreiem Hydrazin in einem verschlossenen Reaktionsgefäß 18 Stunden auf 60°C erwärmt. Nach Abkühlen und Öffnen des Reaktionsgefäßes werden die flüchtigen Bestandteile des Gefäßinhalts durch Verdampfen im Vakuum entfernt. Der 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxhydrazid enthaltende Rückstand wird in Methylendichlorid aufgenommen, und die Methylendichloridlösung wird mit Wasser gewaschen, abgetrennt und getrocknet und durch Verdampfen im Vakuum vom Methylendichlorid befreit. Der Rückstand wird in einer Lösungsmittelmischung aus gleichen Teilen Chloroform und Benzol gelöst und an Kieselgel chromatographiert. Als Elutionsmittel zur Entwicklung des Chromatogramms wird Benzol/Chloroform/Triethylamin verwendet. Bei dieser Chromatographie enthalten die Anfangsfaktionen nicht umgesetzte Ausgangsstoffe und als Nebenprodukt der Reaktion gebildetes 4-Desacetyl-VLB. Weitere Fraktionen enthalten 4-Desacetyl-18'-descarbomethoxy-VLB-C-3-carboxhydrazid (Neuss et al., Tetrahedron Letters, 1968, 783). Die nachfolgenden Fraktionen, die aufgrund ihres Dünnschichtchromatogramms 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxhydrazid enthalten, werden vereinigt und durch Eindampfen im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der so erhaltene Feststoff schmilzt bei 219 bis 220°C unter Zersetzung.

Nach der vorstehend beschriebenen Arbeitsweise kann auch 4-Desacetyl-VLB mit Hydrazin zu 4-Desacetyl-VLB-C₃-carboxhydrazid umgesetzt werden. Auch Leurocristin oder 4-Desacetyl-leurocristin (nach US-PS 3 392 173) kann in wasserfreiem Ethanol mit wasserfreiem Hydrazin zu 4-Desacetyl-1-desformyl-leurocristin-C-3-carboxhydrazid umgesetzt werden, das als amorphes Pulver isoliert wird. 4-Desacetyl-C-3-carboxhydrazide der Deoxy-VLB-Verbindungen, von Leurosidin und Leurosine werden auf analoge Weise hergestellt.

4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxazid

Eine Lösung von 678 mg 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxhydrazid in 15 ml wasserfreiem Methanol wird mit 50 ml 1n wäßriger Salzsäure versetzt und auf etwa 0 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 140 mg Natriumnitrit wird das Reaktionsgemisch 10 Minuten gerührt, wobei die Temperatur bei etwa 0 °C gehalten wird. Bei der Zugabe des Natriumnitrits verfärbt sich die Lösung nach dunkelrotbraun. Dann wird das Reaktionsgemisch durch Zugabe eines Überschusses von kaltem 5-prozentigem wäßrigen Natriumbicarbonat alkalisch gemacht. Die wäßrige Lösung wird dreimal mit Methylenchlorid extrahiert, und das bei der obigen Umsetzung gebildete 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxazid tritt in das Methylenchlorid über, das abgetrennt wird. Die so erhaltene Methylenchloridlösung von 4-Desacetyl-vinblastin-C-3-carboxazid wird ohne weitere Reinigung verwendet.

Die 4-Desacetyl-C-3-carboxazide von 1-Desformylvincristin, Leurosidin, 4'-Deoxy-VLB-"A" und "B" und Leurosin werden in analoger Weise hergestellt.

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele weiter erläutert.

B e i s p i e l 1

Herstellung von (4-Desacetyl-VLB-C-3-N-2(2-aminoethylthio)ethylcarboxamid

8 g 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxhydrazid in wäßriger Salzsäure werden mit Natriumnitrit zu 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxazid umgesetzt. Das als Reaktionsprodukt gebildete Azid wird als Lösung in 400 ml Methylendichlorid isoliert.

Zu 500 ml einer Lösung von 10,8 g Natriummethoxid in Methanol werden 20,5 g Cystamindihydrochlorid gegeben. Das Reaktionsgemisch wird etwa 4 Stunden gerührt, und dann wird das Lösungsmittel durch Verdampfen entfernt. Der Rückstand wird 1 Stunde mit Ether verrührt und filtriert. Das etherische Filtrat wird im Vakuum zur Trockne eingedampft, wodurch 10 g Cystamin als freie Base als öliger Rückstand erhalten werden.

760 mg Cystamin, freie Base, in Methylendichlorid werden zu der Lösung von 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxazid in Methylendichlorid gegeben. Nach Zugabe von 75 ml Tetrahydrofuran wird das Reaktionsgemisch etwa 16 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln gerührt. Dann wird es filtriert, und das Filtrat wird im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der bis/ β -(4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxamido)ethyl/disulfid enthaltende Rückstand wird in Methylendichlorid gelöst, und die Lösung wird mit Wasser gewaschen und getrocknet. Der durch Verdampfen des Methylendichlorids erhaltene Rückstand enthält aufgrund der Dünnschichtchromatographie (TLC) (Methylendichlorid/Methanol/Ethylacetat 1:1:1) zwei Hauptprodukte. Der Rückstand wird dann an Kieselgel unter Verwendung des gleichen Lösungsmittelsystems als Elutionsmittel chromatographiert. Die Fraktionen, die aufgrund ihres TLC bis/ β -(4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxamido)ethyl/disulfid enthalten, werden vereinigt und

durch Verdampfen vom Lösungsmittel befreit. Auch das andere Hauptprodukt der Umsetzung wird abgetrennt und gereinigt und erweist sich als das Reaktionsprodukt von 1 Mol 4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxazid mit Cystamin, 4-Desacetyl-VLB-C-3-N-2-(2-aminoethyldithio)ethylcarboxamid. Höhere Ausbeuten dieses 1:1 Produkts werden durch Umsetzung von 1 Mol des Azids mit 1 Mol Cystamin erhalten. Das so hergestellte bis/ β -(4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxamido)ethyl/disulfid ist mit dem nach BE-PS 813 168 erhaltenen identisch.

Das Disulfat von bis/ β -(4-Desacetyl-VLB-C-3-carboxamido)-ethyl/disulfid wird in Ethanol durch Zugabe stöchiometrischer Mengen 2-prozentiger (Vol./Vol.) ethanolischer Schwefelsäure erhalten. Das Disulfat wird auch durch Titrieren einer Lösung der Base mit 2-prozentiger ethanolischer Schwefelsäure bis zu dem Punkt erhalten, bei welchem eine Probe der Lösung nach Verdünnen mit 5 Volumina Wasser einen pH-Wert im Bereich von 3,0 bis 3,5 hat.

B e i s p i e l 2

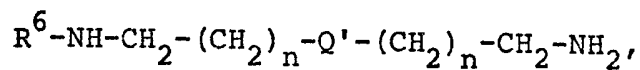
Herstellung von Salzen

Sulfate des obigen Amids werden durch Auflösen des jeweiligen Amids in absolutem Ethanol und Einstellen des pH-Werts der erhaltenen Lösung auf 3,0 bis 3,5 mit 2-prozentiger ethanolischer Schwefelsäure erhalten. Andere Salze, z. B. solche mit anorganischen Anionen, wie Chlorid, Bromid, Phosphat und Nitrat, sowie Salze mit organischen Ionen, wie Benzoat, Methansulfonat, Maleat und Tartrat, werden in analoger Weise hergestellt.

Nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältliche Verbindungen stellen interessante Zwischenprodukte dar, aus denen sich durch weitere Umsetzung mit einem Azid der Formel R^6-N_3 , das dem am jeweiligen Halbamid bereits vorhandenen Rest R^6 entspricht oder das auch davon verschieden sein kann, symmetrisch oder unsymmetrisch substituierte Bisamide, nämlich dimere Vincaalkaloide, herstellen lassen, die über wertvolle pharmakologische Eigenschaften verfügen und die sich beispielsweise als Antitumormittel verwenden lassen. Verbindungen dieser Art sind beispielsweise aus der bereits genannten BE-PS 813 168 bekannt.

Erfindungsanspruch

Verfahren zur Herstellung von Vincaalkaloiden der Formel

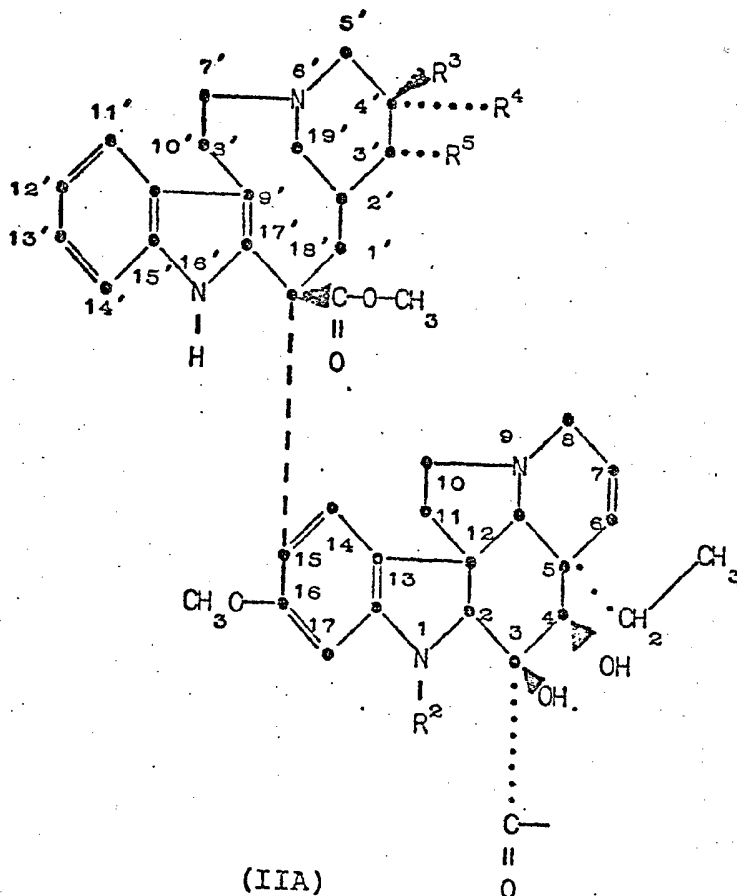


in der

Q' für S, S-S, O, Se-Se oder $(CH_2)_p$ steht, wobei p 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeutet,

n für 0, 1, 2, 3 oder 4 steht und

R^6 einen Indoldihydroindolrest der Formel



darstellt, worin bedeuten:

R^2 CH_3 oder H,

einer der
Reste

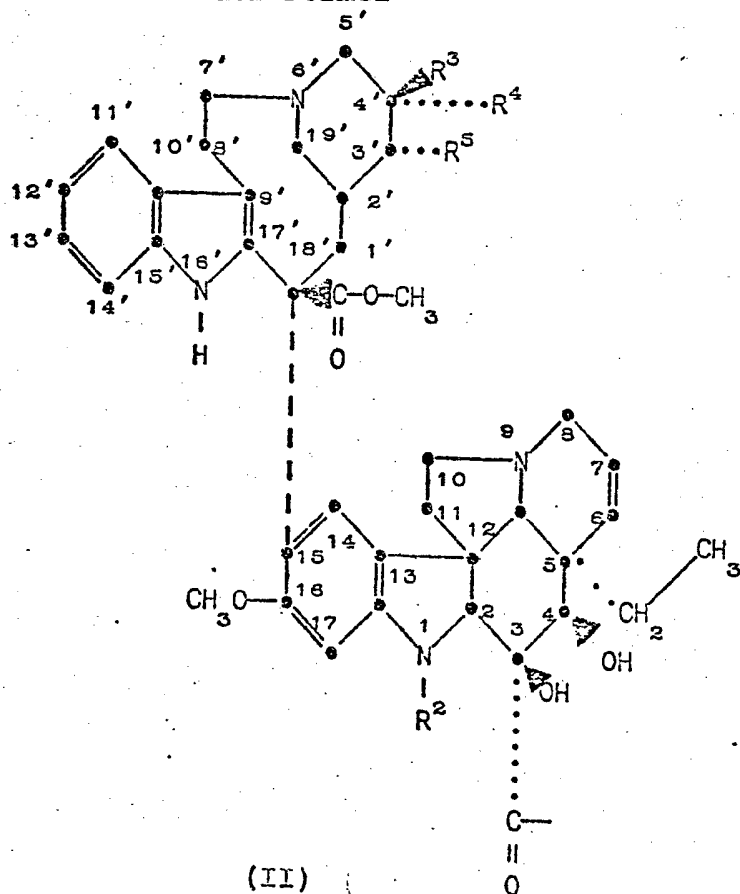
R^3 und R^4 OH oder H und

der andere
dieser
Reste

C_2H_5 und R^5 H oder

R^4 und R^5 zusammen einen alpha-Epoxidring und R^3 C_2H_5 ,

und ihren pharmazeutisch annehmbaren Säureadditionssalzen,
dadurch gekennzeichnet, daß ein
Azid der Formel $R^6\text{-N}_3$, worin R^6 dem Rest eines Indoldi-
hydroindolalkaloids der Formel



entspricht, worin bedeuten:

R^2 CH_2 oder H,

einer der
Reste

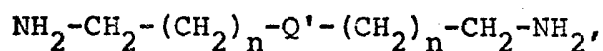
R^3 und R^4 OH oder H und

der andere
dieser
Reste

C_2H_5 und R^5 H oder

R^4 und R^5 zusammen einen alpha-Epoxidring und R^3 C_2H_5 ,

mit einem Diamin der Formel



worin Q' und n die oben angegebenen Bedeutungen haben, im Verhältnis von 1 Mol R^6-N_3 je Mol Diamin umgesetzt wird, wenn Q' S, S-S, Se-Se, O oder $(CH_2)_p$ bedeutet, und die dabei erhaltenen freien Basen der jeweiligen Verbindungen gewünschtenfalls in an sich bekannter Weise in übliche pharmazeutisch unbedenkliche Säureadditionssalze überführt werden.