

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 810856 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 810856

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D519/04

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 19.03.1981

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 19.03.1981

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 21.09.1981

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

20.03.1980 US 132,246

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Eli Lilly and Company, 307 East McCarty Street, Indianapolis, Ind. 46206, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Miller, Jean Corinne, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Gutowski, Gerald Edward, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Vinka-dimeerin valmistusmenetelmä.

Framställnings-förfarande för en vinka- dimer.

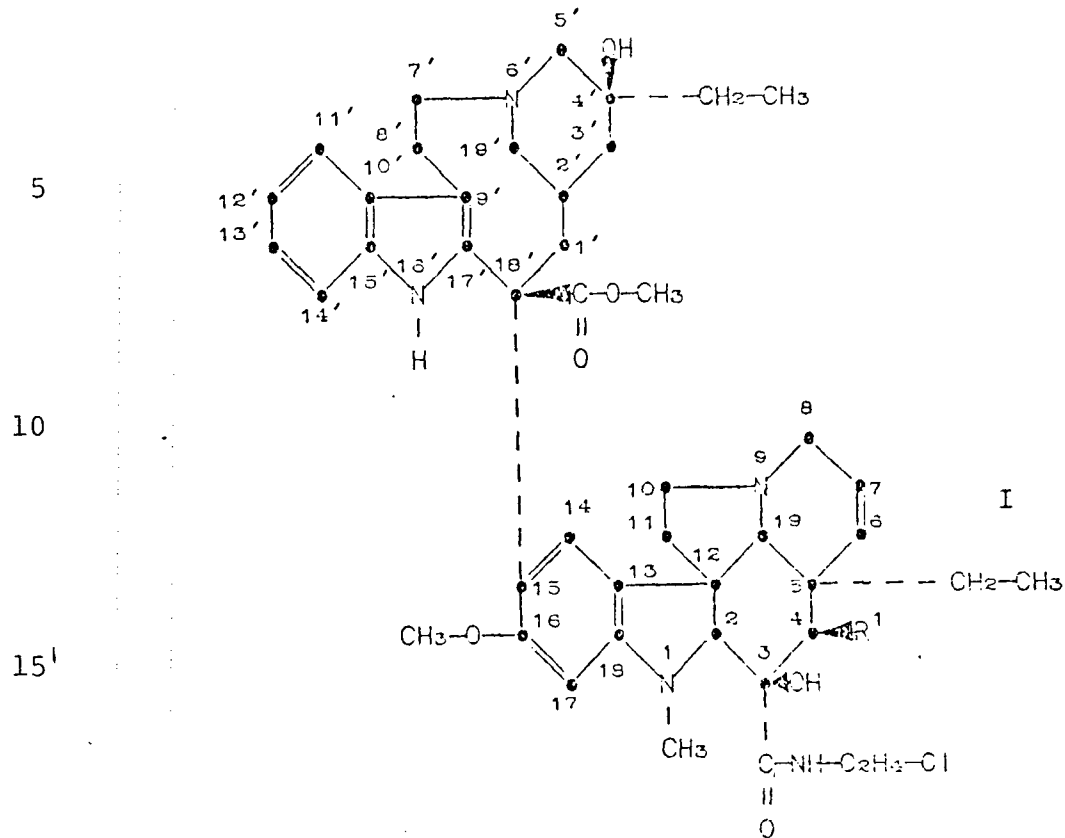
Vinka-dimeerin valmistusmenetelmä

Tämän keksinnön kohteena on vinka-dimeerin, erikoisemmin (VLB- tai 4-desasetyyli VLB) 3-(2-kloorietyyli)karboksiamidin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan valmistusmenetelmä. Tämä vinka-dimeeri on käyttökelpoinen vindesiiniherkkien neoplastisten sairauksien hoidossa nisäkkäissä.

Eräs hiljattaisista ja onnistuneemmista perus vinka-dimeerin muunnelmista on ollut C-3 karboksiamidi- ja karboksihydratsidijohdannaisten valmistaminen. Monet näistä ovat aktiivisia kasvaimia torjuvia aineita. (katso U.S. patentti 4 166 810 ja Conrad et al. J.Med. Chem. 22, 391 (1979).

Vaikka VLB ja jotkut muut antineoplastiset dimeeriset vinka-alkaloidit ovat aktiivisia suuhun annosteltuina, tarvitaan paljon suuremmat annokset, kuin käytettäessä tavanomaisempaa laskimon sisäistä tietä. Kaikista tähän mennessä kokeilluista VLB-johdannaisista vain U.S.patenttien 4 096 148 ja 4 160 767 mukaisilla oksatsolidiinidionijohdannaisilla on suuhun annettuna laskimonsisäisen annoksen aktiivisuutta lähentelevä aktiivisuus samalla annosalueella.

Esillä olevan keksinnön mukaisesti annetaan käytettäväksi menetelmä kaavan



20 mukaisen vinka-dimeerin valmistamiseksi jossa R^1 on OH
tai asetoksiryhmä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä
happoadditiotuola, joka sisältää (VLB tai 4-desasetyy-
li VLB) 3''-(2-kloorietyyli)-3-spiro-5''-oksatsolidiini-2'',
4''-dionin hydrolysoinnin vesiväliaineessa ja kaavan (I)
25 mukaisen yhdisteen talteen ottamisen jako vapaassa emäs-
muodossa tai happoadditiotuolana ja

(a) vapaavalintaisesti kaavan (I) mukaisen yhdis-
teen, jossa R^1 on asetoksiryhmä, deasetyloimisen sellai-
sen kaavan (I) mukaisen yhdisteen tuottamiseksi, jossa
30 R^1 on hydroksiryhmä;

(b) vapaavalintaisesti kaavan (I) mukaisen yhdis-
teen, jossa R^1 on hydroksiryhmä, asetiloimisen sellai-
sen kaavan (I) mukaisen yhdisteen tuottamiseksi, jossa
 R^1 on asetoksiryhmä; ja

(c) vapaavalintaisesti mainitussa hydrolyysissä muodostuneesta vapaasta emäsmuodosta vastaavan happo-additiosuolan muodostamisen.

5 Keksintö antaa myös käytettäväksi toisen menetelmän kaavan (I) mukaisen vinka-dimeerin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan, kuten edellä on määritelty, jossa R^1 on asetoksiryhmä, valmistamiseksi asetyloimalla vastaava kaavan (I) mukainen vinka-dimeeri, jossa R^1 on hydroksiryhmä.

10 Keksintö antaa myös käytettäväksi toisen menetelmän kaavan (I) mukaisen vinka-dimeerin tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan, kuten edellä on määritelty, jossa R^1 on hydroksiryhmä, valmistamiseksi deasetyloimalla vastaava kaavan (I) mukainen vinka-dimeeri, jossa R^1 on asetoksiryhmä.

15 Keksintö antaa myös käytettäväksi vielä menetelmän kaavan (I) mukaisen vinka-dimeerin, kuten edellä on määritelty, valmistamiseksi, jossa (VLB tai 4-desasetyyli) VLB karboksiatsidi saatetaan reagoimaan 2-kloorietyyliamiinin kanssa ja kaavan (I) mukainen yhdiste otetaan talteen joko vapaa emäs- tai happoadditiosuolamuodossa; ja

20 (a) vapaavalintaisesti deasetyloimaan kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 on asetoksiryhmä, sellaisen kaavan (I) mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R^1 on hydroksiryhmä;

25 (b) vapaavalintaisesti asetyloidaan kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 on hydroksiryhmä, sellaisen kaavan (I) mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R^1 on asetoksiryhmä; ja

30 (c) vapaavalintaisesti muodostetaan yllämainitulla reaktiolla saadusta vapaasta emäksestä vastaava happoadditiosuola. Ja lopuksi keksintö antaa myös käytettäväksi vielä menetelmän kaavan (I) mukaisen edellä määritellyn vinka-dimeerin valmistamiseksi, jossa (VLB tai

4-desatetyyli VLB) 3-(2-hydroksietyyli)karboksiamidi
 saatetaan reagoimaan reagenssin kanssa, joka saa aik-
 kan hydroksiryhmän korvauksen kloridilla ja klooriläh-
 teen kanssa ja otetaan kaavan(I) mukainen yhdiste
 5 talteen joko vapaana emäksenä tai happaman suolan muo-
 dossa; ja

(a) vapaavalintaisesti deasetyloidaan kaavan (I)
 mukainen yhdiste, jossa R^1 on asetoksiryhmä kaavan (I)
 mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R^1 on hydroksi-
 10 ryhmä;

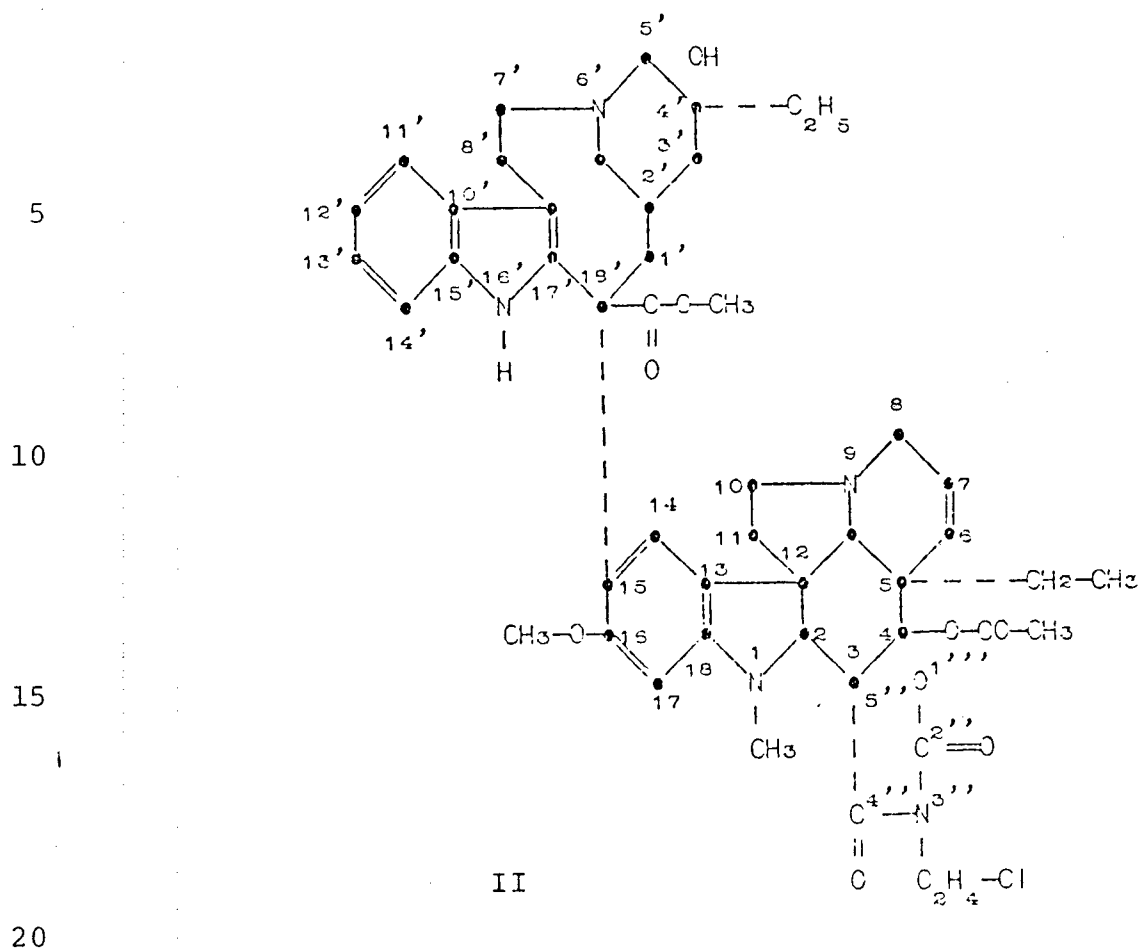
(b) vapaavalintaisesti asetyloidaan kaavan (I)
 mukainen yhdiste, jossa R^1 on hydroksiryhmä. kaavan (I)
 mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R^1 on asetoksiryh-
 mä; ja

15 (c) vapaavalintaisesti muodostetaan edellä esi-
 tetyllä reaktiolla saadusta vapaasta emäksestä vastaa-
 va happoadditiosuola.

Kun R^1 on asetoksiryhmä, yhdiste on nimeltään
 VLB 3-(2-kloorietyyli)karboksiamidi ja kun R^1 on OH,
 20 yhdiste on nimeltään 4-desasetyyli VLB 3-(2-kloorietyy-
 li)karboksiamidi. Yllä esitettyjä vapaita emäksiä käy-
 tetään tavanmukaisesti terapeuttisesti happoadditio-
 suolan muodossa, joka on muodostettu myrkyttömän hapon
 kanssa, edullisesti rikkihapon. Käyttökelpoisiin myr-
 25 kyttömiin happoihin kuuluvat epäorgaaniset hapot kuten:
 kloorivetyhappo, typpihappo, fosforihappo, rikkihappo,
 bromivetyhappo, jodivetyhappo, fosforihapoke ja vastaa-
 vat, samoin kuin myrkyttömien orgaanisten happojen suo-
 lat, joihin kuuluvat alifaattiset mono- ja dikarboksy-
 30 laatit, fenyyli-substituoidut alkaanikarboksylihappo-
 jen, hydroksialkaanikarboksylihappojen ja alkaanidi-
 karboksylihappojen suolat, aromaattiset hapot, ali-
 faattiset ja aromaattiset sulfonihapot, jne. Tällaisiin
 farmaseuttisesti hyväksyttäviin suoloihin kuuluvat tä-
 35 ten sulfaatti, pyrosulfaatti, bisulfaatti, sulfiitti,

bisulfiitti, nitraatti, fosfaatti, monovetyfosfaatti,
 divetyfosfaatti, metafosfaatti, pyrofosfaatti, kloridi,
 bromidi, jodidi, asetaatti, propionaatti, dekanoaatti,
 kaprylaatti, akrylaatti, formiaatti, isobutyraatti,
 5 kapraatti, heptanoaatti, propiolaatti, oksalaatti,
 malonaatti, sukkinaatti, suberaatti, sebasaatti, fuma-
 raatti, maleaatti, butyyli-1,4-dikarboksylaatti, hek-
 syyni-1,6-dikarboksylaatti, bentoaatti, klooribentsoaat-
 ti metyylibentsoaatti, dinitrobentsoaatti, hydroksi-
 10 bentsoaatti, metoksibentsoaatti, ftalaatti, tereftalaat-
 ti, bentseenisulfonaatit, tolueenisulfonaatit, kloori-
 bentseenisulfonaatti, ksyleenisulfonaatti, fenyyliase-
 taatti, fenyylipropionaatti, fenyylibutyraatti, sitraat-
 ti, laktaatti, 2-hydroksi-butyraatti, glykollaatti, ma-
 15 laatti, tartraatti, metaanisulfonaatti, propaanisulfo-
 naatti, naftaleeni-1-sulfonaatti, naftaleeni-2-sulfo-
 naatti ja vastaavat suolat.

Tämän keksinnön mukainen VLB 3-(2-kloorietyyli)
 karboksiamidi voidaan valmistaa U.S.patentin 4 096 148,
 20 esimerkki 4, mukaisesta vastaavasta oksatsolidiinidio-
 nista. Tämä jälkimmäinen yhdiste on rakenteeltaan seu-
 raava:



ja on nimeltään VLB 3"-(2-kloorietyyli)-3-spiro-5"-oksatsolidiini-2",4"-dioni. Vastaavan sulfaattisuolan käsittely vedellä tai laimealla hapolla tai emäksellä tuottaa

25 VLB 3-(2-kloorietyyli)karboksiamidia, toista tämän keksinnön mukaisista yhtisteistä. Tämän jälkimmäinen yhdisteen reaktio laimean emäksen kanssa tuottaa vastaavan 4-desasetyylijohdannaisen, toisen tämän keksinnön mukaisen yhdisteen. Siten oksatsolidiinidionin reaktio laimean emäksen kanssa voi tuottaa lämpötilasta, reaktio-

30 ajasta ja pH:sta riippuen VLB 3-(2-kloorietyyli)karboksiamidia ja C-4 desasetyylijohdannaisista. Karboksiamidituote erotetaan lähtöoksatsolidiinidionista HPLC:llä tai muulla kromatografisella menettelyllä. VLB 3-(2-kloorietyyli)

karboksiamidia luonnehtii parhaiten fysikaalisesti ^{13}C nmr. Seuraava esimerkki kuvaa jälkimmäisen yhdisteen valmistusta käsittelemällä oksatsolidiinidionisulfaattisuolaa vedellä.

5 Esimerkki 1

 Liuos, joka sisälsi 1,3647 g VLB 3'' (2-kloorietyyli)-3-spiro-5''-oksatsolidiini-2'',4''-dionisulfaattia, valmistettiin noin 30 ml:aan vettä: pH = 2,5. Liuos sekoitettiin ympäröivässä lämpötilassa (noin 25°C) noin 2 viikon ajan ja sitten noin 50°C:ssa 24 tunnin ajan. Sittenliuos tehtiin emäksiseksi lisäämällä 14N ammoniumhydroksidin vesiliuosta. Saatu emäksinen liuos uutettiin neljä kertaa samalla tilavuudella metyleenidikloridia. Metyleenidikloridiuutteet yhdistettiin ja liuotin haihdutettiin siitä tyhjössä. Saatu jäännös kromatografoitiin silikageelillä. VLB-3-(2-kloorietyyli)karboksiamidin sisältävät fraktiot yhdistettiin ja liuotin poistettiin haihduttamalla tyhjössä. Saatiin 58 mg saanto puhdasta VLB-3-(2-kloorietyyli)karboksiamidia (4,9 % saanto). Yhdisteen fysikaaliset ominaisuudet olivat seuraavat:

Infrapunaspektri (CHCl_3) huiput kohdilla 3690, 3600, 1735, 1720, 1680, 1615 ja 1500 cm^{-1} .

pKa (66% DMF) 4.7; 7.4

nmr (360 MHz, CDCl_3) δ at .83, .92, 1.33, 2.08, 2.80, 2.83, 3.64, 3.67, 3.80, 3.98, 5.32, 5.56, 5.86, 6.1, 6.62, 7.14, 7.5, 8.06, 10.08.

^{13}C nmr

	Vindoliini osa		Kataranttiini osa	
	Hiili #	ppm	Hiili #	ppm
10	2	84.7	2	131.6
	3	50.4	3	48.2
	5	50.4	5	55.8
15	6	45.1	6	28.8
	7	53.4	7	117.0
	8	122.5	8	129.6
	9	123.4	9	118.5
	10	120.5	10	122.1
20	11	158.2	11	118.8
	12	94.8	12	110.5
	13	152.9	13	135.0
	14	124.4	14	30.2
	15	130.3	15	41.2
25	16	79.6	16	55.7
	17	76.5	17	34.4 ^d
	18	8.4	18	6.9
	19	30.8	19	34.6 ^d
	20	42.5	20	69.6
30	21	65.9	21	64.4

^{13}C nmr (jatkuu)

Vindoliini osa		Katarantiini osa	
	<u>Hiili #</u>	<u>ppm</u>	
5	<u>COOR</u>	170.5	<u>COOR</u> 175.0
	<u>AroCH₃</u>	55.8	<u>COOMe</u> 52.3
	<u>NCH₃</u>	38.6	
	<u>ACMe</u>	21.0	
	<u>COOMe</u>	-	
10	<u>AcCO</u>	172.4	
	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{N} \\ \quad \quad \\ \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \quad \quad \text{Cl} \end{array} $		
15		43.3	
		41.7	

d_j jako voidaan vaihtaa.

- 20 Muita samanlaisia hydrolyysejä suoritettiin seuraavin tuloksin: sekoittaminen 12 päivän ajan pH:ssa 4,2 tuotti 9 % oksatsolidiinidionin muuttumisen 2-kloorietyylikarboksiamidiksi. Sekoittaminen kolmen päivän ajan ympäröivässä lämpötilassa (noin 25°C)
- 25 pH:ssa = 7 tuotti 6 % muuttumisen ja pH:ssa 2 16 % muuttumisen.

Nopeampi menetelmä tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi käyttää julkaisun Conrad et al. (loc.cit.) amidi-atsidisyntheseä. Kuten siinä

30 on esitetty, menetelmä koostuu VLB:n ensin saattamisesta reagoimaan hydratsiinihydraatin kanssa 4-desasetyyli VLB-3-karboksihydratsiin tuottamiseksi, hydratsiinihydraatin ollessa riittävän emäksinen hydrolysoimaan 4-asetoksiryhmän. Hydratsidi muutetaan sitten vastaavaksi

35 atsidiksi typpihapokeen tai nitriitti-ionin vaikutuk-

sesta. Näin muodostunut atsididi reagoi sitten primääris-
 ten tai sekundääristen amiinien kanssa tuottaen 3-karbok-
 siamidia. Ei ollut odotettavissa, että hydratsidiatsi-
 di reaktio olisi toimiva 2-kloorietyyliamidin valmistami-
 5 seksi, koska välituote primäärinen amiini, jonka täy-
 tyy reagoida atsidiryhmän kanssa, on 2-kloorietyyliami-
 ni. Tällaiset amiinit voivat muodostaa sisäisen renkaan
 tuottaen atsiridiineja ja atsiridiinirengas voi aueta
 tuottaen vesiliuoksessa vastaavan 2-hydroksietyyliami-
 10 nin tai 2-hydroksietyyliamidin, kuten tapaus voi olla.
 Siitä huolimatta 4-desasetyyli VLB-3-karboksiatsidin
 reaktio 2-kloorietyyliamiinin kanssa tuottaa 4-desase-
 tyyli VLB-3-(2-kloorietyyli)karboksiamidia tyydyttävän
 saannon, kuten voidaan nähdä seuraavasta esimerkistä.

15 Esimerkki 2

 Liuos, joka sisältää 531 mg 4-desasetyyli VLB
 3-karboksiatsidia, valmistettiin seuraten julkaisun
 Conrad et al. Menetelmää A (loc.cit.) 5 ml:ssa THF. Tä-
 hän liuokseen lisättiin ylimäärä 2-kloorietyyliamiini-
 20 hydrokloridia ja 7 ml trietyyliamiinia. Noin 5-10 mety-
 leenidikloridia lisättiin atsidin liuottamiseksi. Reak-
 tioseosta sekoitettiin noin 72 tunnin ajan ympäröivässä
 lämpötilassa pimeässä, jossa ajassa näytteen TLC ei
 osoittanut täplää, joka vastaisi lähtöainetta. Lisättiin
 25 200 ml vettä. Vesiseos uutettiin sitten neljä kertaa
 200 ml annoksilla metyleenidikloridia. Metyleenidikloridi-
 uutteen yhdistettiin ja yhdistetyt uutteen pestiin kah-
 desti kyllästetyllä natriumbikarbonaatin vesiliuoksella.
 Sitten metyliinidikloridiliuos kuivattiin ja metyleeni-
 30 dikloridi poistettiin tyhjiössä. Saatiin jäännös, jonka
 muodosti 4-desasetyyli VLB-3-(2-kloorietyyli)karboksiami-
 di painoltaan 458,1 mg (90 % saanto) ja jolla oli seu-
 raavat fysikaaliset ominaisuudet;

Massaspektri: huiput kohdilla 815 ja 779.

Infrapunaspektri (kloroformi):huiput kohdilla 3550, 3470, 3400, 1730, 1665, 1615 ja 740 cm^{-1} .

nmr (CDCl_3): .87, .92, 2,79, 3,41, 3,57,
 5 3,63, 3,72, 3,75, 4,15, 5,75, 6,03, 6,55, 7-8,
 798, 9,6 ppm.

Kolmas tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden syn-
 teesimenetelmä sisältää 4-desasetyyli VLB 3-(2-hydrok-
 sietyyli)karboksiamidin reaktion (julkaisusta Conrad
 10 et al. loc cit.) trifenyylifosfiinin ja hiilitetra-
 kloridin kanssa (katso Downie et al., Chem. Ind., 900
 (1966) tai Weiss ja Snyder, J.Org. Chem., 36, 404
 (1971)). Tässä menetelmässä hydroksiryhmä korvataan
 kloorilla samalla tuotettaessa trifenyylifosfiinioksi-
 15 dia. Tätä menetelmää kuvataan edelleen esimerkissä 3.

Esimerkki 3

Valmistettiin liuos, joka sisälsi 91,9 mg
 4-desasetyyli VLB-3-(2-hydroksietyyli)karboksiamidia
 2 ml:ssa metyleenidikloridia ja 6 ml:ssa hiilitetraklo-
 20 ridia. Lisättiin ylimäärä trifenyylifosfiinia (69,6 mg)
 ja saatua seosta sekoitettiin ympäröivässä lämpötilassa
 (noin 25°C). Useiden tuntien kuluttua oli kolvin lai-
 doille saostunut sakka, sen vuoksi lisättiin edelleen
 4 ml metyleenidikloridia sakan liuottamiseksi. 24 tun-
 25 nin sekoittamisen jälkeen TLC osoitti, että reaktio oli
 oleellisesti täydellinen. 20 ml 1N kloorivetyhapon ve-
 siliuosta lisättiin ja saatu hapan seos uutettiin kol-
 mella 20 ml annoksella metyleenidikloridia. Sitten
 hapan kerros tehtiin emäksiseksi lisäämällä 14N ammo-
 30 niumhydroksidin vesiliuosta ja saatu emäksinen kerros
 uutettiin neljä kertaa 20 ml annoksilla metyleenidiklo-
 ridia. Nämä jälkimmäiset metyleenidikloridiuutteet yh-
 distettiin ja kuivattiin. Luottimen haihdutus tuotti
 81,0 mg 4-desasetyyli VLB 3-(2-kloorietyyli)karboksi-

amidia (90 % saanto). Tämän yhdisteen asetylointi käyt-
tään ylimäärin hapanta anhydridiä metyleenidikloridis-
sa ja sekoittamalla saatua seosta 27 tunnin ajan ympä-
röivässä lämpötilassa (noin 25°C) tuottaa esimerkin l
5 VLB 3-(2-kloorietyyli)karboksiamidia.

VLB 3-(2-kloorietyyli)karboksiamidi on antimi-
toottinen yhdiste, joka vaikuttaa pahanlaatuisten solu-
jen kasvuun epäedullisesti.

Tämä aktiivisuus todettiin mitoottisessa vakio-
10 ehkäisykokeessa, jossa käytettiin kiinalaisen hamsterin
munasoluja. VLB C-3 N-(2-kloorietyyli)karboksiamidin
mitoottinen indeksi oli + (15-25 % ehkäisy) väkevyydel-
lä $2,0 \times 10^{-2}$ mcg/ml (sama kuin VLB:llä).

Tämän keksinnön mukaiset emäkset ja niiden
15 suolat, jotka ovat valmistettavissa tässä esitetyillä
menetelmillä, ovat aktiivisia myös in vivo siirrettyjä
kasvaimia vastaan hiirissä. Tällaisen aktiivisuuden
osoittamiseksi käytettiin järjestelyä, johon kuului
lääkkeen anto vatsakalvon sisäistä tietä tai suuhun,
20 valikoiduilla annostasoilla GLS (Gardnerin lymfosarkoo-
ma), B₁₆ melanoomaa, 755 adenokarsinoomaa ja C₃H maito-
rauhaskarsinoomaa vastaan.

Seuraava taulukko - taulukko 1 - antaa tämän esi-
tyksen tulokset, joissa siirrettyjä kasvaimia kantavia
25 hiiriä käsiteltiin tämän keksinnön mukaisella yhdisteel-
lä. Taulukossa sarake 1 antaa yhdisteen nimen; sarake 2
annetun annoksen ja sarake 3 kasvaimen kasvun (I) eh-
käisyprosentin tai elämän pidentymisen (PL). Seuraavia
annosohjeita käytettiin: joka päivä 7 tai 10 päivän
30 ajan taudin istutuksen jälkeen; ja joka neljäs päivä
(kolme annosta) alkaen kolmantena päivänä taudinistutuk-
sen jälkeen.

Taulukko 1

Yhdisteen nimi	Kas- vain	Annos (mg/kg) ohjeet	Tie	Ehkäisy (I) tai pitkitys (PL) prosentti
VLB 3-(2-kloorie- tyyli)-karboksiami- disulfaatti	B16	2 x 3	PO	43 PL
		3 x 3	PO	42 (1) PL
		4 x 3	PO	77 myrkyllinen PL
		5 x 3	PO	myrkyllinen
		.5 x 3	IP	94, (4) PL
		.6 x 3	IP	64, (2) PL
		.7 x 3	IP	50 (1) PL
		.8 x 3	IP	80 (1) PL
		.8 x 3	IP	94 I
		.7 x 3	IP	86 I
C ₃ H		.65 x 3	IP	77 I
		.55	IP	64

* Sulut sisältävät epämääräisten henkinjääneitten määrän.

Taulukko 1 (jatkuu)

Yhdisteen nimi	Kas- vain	Annos (mg/kg ohjeet	Tie	Ehkäisy (I) tai pitkitys (PL) prosentti
VLB 3-(2-kloorietyy- li)-karboksiamidisul- faatti	C ₃ H	3 X 3	PO	Myrkyllinen
		2.5 X 3	PO	92 I
		2 X 3	PO	53 I
		1.5 X 3	PO	49 I
755	1-1.5 X 3		IP	Myrkyllinen
	0.75 X 3		IP	76 I
	0.5 X 3		IP	26 I
	7.5 X 3		PO	Myrkyllinen
	5 X 3		PO	95 I
	3 X 3		PO	81 I
G.L.S.	2 X 10		PO	Myrkyllinen
	1 X 10		PO	83 I

Käytettäessä tämän keksinnön mukaisia uusia yhdisteitä kasvaimia torjuvina aineina nisäkkäissä voidaan käyttää joko parenteraalista tai suullista annostelutietä. Lääke sekoitetaan tavallisesti farmaseuttisesti sopivaan kantaja-aineeseen. Parenteraalisesti annettaessa laskimonsisäinen tie on edullinen, vaikka pienemmillä nisäkkäillä, kuten hiirillä, voidaan käyttää vatsakalvon sisäistä tietä. Laskimoon annettaessa käytetään isotonisia liuoksia, jotka sisältävät 1-10 mg/ml edellä esitetyn kaavan II mukaisen alkaloidisen emäksen suolaa. Lääkettä annetaan annoksena välillä 0,01-10 mg/kg ja edullisesti välillä 0,05-1 mg/kg nisäkkään ruumiin painosta kerran tai kahdesti viikossa tai joka toinen viikko riippuen sekä lääkkeen aktiivisuudesta että myrkyllisyydestä. Vaihtoehtoinen menetelmä terapeuttiseen annokseen pääsemiseksi perustuu kehon pinta-alalle annoksen ollessa alueella 0,1 - 10 mg/neliömetriä nisäkkään kehon pinta-alaa annettuna joka 7. tai 17. päivä tai kolmesti viikossa. Suuhun annettavaksi sopiva määrä farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa muodostettuna myrkyttömän hapon kanssa, edullisesti sulfaattisuolaa, sekoitetaan tärkkelykseen tai muuhun inerttiin farmaseuttisesti hyväksyttävään täyteaineeseen ja seos sijoitetaan sisäkkäisiin gelatiinikapseleihin, joista kukin sisältää 7,5 - 50 mg aktiivisia aineosia. Samalla tavalla anti-neoplastisesti aktiivinen suola voidaan sekoittaa tärkkelykseen, sideaineeseen ja voiteluaineeseen ja seos puristaa tableteiksi, joista jokainen sisältää 7,5 - 50 mg suolaa. Tabletit voidaan varustaa uralla, jos pienempiä tai jaettuja annoksia aiotaan käyttää. Laskimoon annettaessa käytetään isotonisia liuoksia, jotka sisältävät 1-10 mg/ml myrkyttömää suolaa ja lääke annetaan suhteessa 0,01 - 1 mg/kg ja edullisesti 0,1-1 mg/kg nisäkkään ruumiin painosta kerran tai kahdesti viikossa

tai joka toinen viikko. Suullinen annos on 2-10 kertainen verrattuna laskimoannokseen, jolloin alemmat annokset tehoavat suurimpaan osaan kasvaimista.

Kuten olisi odotettavissa, tämän keksinnön mukaiset yhdisteet eroavat kasvaimientorjunta spektriensä suhteen VLB:n, l₁-triootidiiniin ja binfridiiniin d₁-prkytrid-
 5 tä samalla tavalla kuin noiden yhdisteiden kasvaimien torjunta spektrit eroavat toisistaan keskenään toisen lääkkeen ollessa tehokkaampi tiettyjä kasvaimia tai
 10 kasvainluokkia vastaan ja vähemmän tehokas toisia vastaan. Kuitenkin käytettäessä tämän keksinnön mukaisia (2-kloorietyyli)karboksiamideita kliinisesti kasvainopin tutkija antaisi yhtä niistä aluksi samaa tietä samassa sideaineessa ja saman tyyppisiin kasvaimiin kuin
 15 käytetään kliinisesti vindesiiniä, leurokristiiniä ja VLB. Erot annostasossa perustuisivat tietysti suhteelliseen kasvainopilliseen tehoon ja myrkyllisyyteen.

VLB 3-(2-kloorietyyli)karboksiamidin ja sen 4-desasetyylijohdannaisen suullisen aktiivisuuden korkea
 20 aste tekee niistä erikoisen haluttavia kasvainopillisia aineita käytettäväksi ihmisillä ja sopivia ehdokkaita kliiniseen tutkimukseen. Tällaisia kliinisiä tutkimuksia suoritetaan yleensä menetelmän mukaan, jota on ehdottanut S.K. Carter kappaleessa nimeltään "Study Design
 25 Principles for the Clinical Evaluation of New Drugs as Developed by the Chemotherapy Programme of the National Cancer Institute", joka löytyy sivuilta 242-289 uudesta kirjasta "The Design of Clinical Trials in Cancer Therapy", toimittanut Maurice Staquet (Futura Publishing
 30 Co., New York, 1973). Yllä mainittu kappale viittaa kymmeneen "merkki"kasvaimiin, jotka National Cancer Institute on esittänyt niiksi kasvaimiksi, joita vastaan kliiniset tutkimuksen ehdokkaat olisi karsittava. Näihin kuuluvat rinnan adenokarsinooma, paksusuolen
 35 adenokarsinooma, bronkogeeninen karsinooma, haiman ade-

nokarsinoima, munasarjasyöpä, pahanlaatuinen molenooma, akuutti myelosyyttinen leukemia, akuutti lymfosyyttinen leukemia, lymfaattinen sairaus ja pahanlaatuinen gliooma. VLB 3-(2-kloorietyyli)-karboksiamidia kokeil-
 5 taisiin kliinisesti suun kautta näihin kasvaimiin samoin kuin muihin kasvaimiin, joiden tiedetään reagoivan laskimoon annettuun vinkristiiniin, VLB:hen tai vinde-
 siiniin. Sen jälkeen, kun sen tehokkuus, luonne ja sivuvaikutusten määrä jne. on määritetty, lääkettä kokeil-
 10 taisiin kasvaimiin, joihin ei ols terapiaa. Kun alustavat kokeet olisi suoritettu ja tulokset julkaistu, lääkettä käytettäisiin kasvaimiin, jotka ovat herkkiä sen vaikutukselle suhteellisen myrkyttömällä annostasoilla.

Esimerkki 4

15 Parenteraalinen valmistus

Seuraava 4-desasetyyli VLB 3-(2-kloorietyyli) karboksiamidisulfaatin parenteraalinen valmistus suoritetaan käyttäen steriilejä menetelmiä. Mannitolia, U.S.P., 500 g liuoetaan 100 ml:aan steriilisti tislattua pyrogeenitöntä vettä. 4-desasetyyli VLB-3-(2-kloorietyyli)-karboksiamidisulfaattia, 50 mg liuotetaan mannitoliliuokseen. 4-desasetyyli VLB-3-(2-kloorietyyli)karboksiamidiliuos jaetaan 5 ml laajasuisiin ampulleihin, 2 ml ampullia kohti ja uurteiset tulpat työnnetään osit-
 20 tain ampulleihin. Ampullit sisältöineen jäähdytetään -40°C :seen ja sijoitetaan sitten tyhjöuuniin, jossa liuos lyofilisoidaan. Kum ampullin sisältö on rititävän kuiva, uurteiset tulpat työnnetään lopun matkaa ampulleihin ja alumiinikansi puristetaan päälle tulpan
 25 pitämiseksi paikallaan. Ampulli olisi säilytettävä $2-8^{\circ}\text{C}$:ssa stabiilisuuden varmistamiseksi.

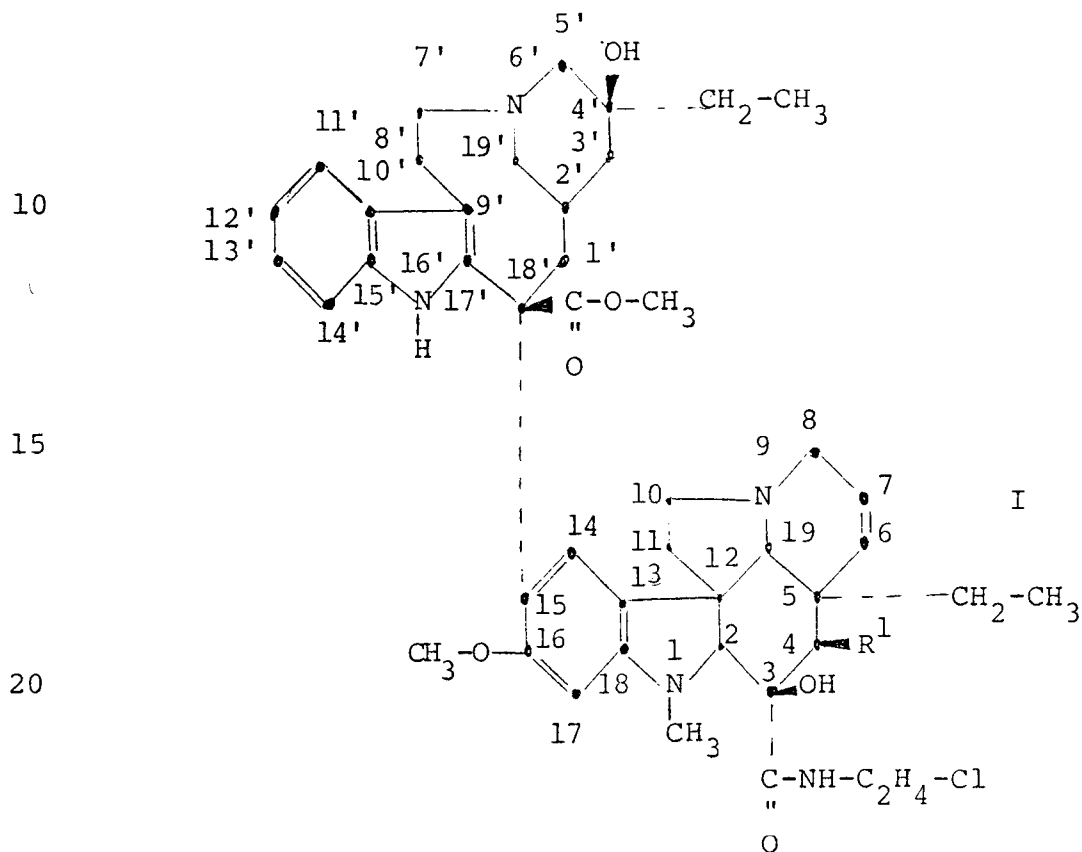
Antineoplastiseen käyttöön tarkoitetun liuoksen valmistamiseksi ampulliin lisätään bakteriostaattista vettä injektiota varten, U.S.P. tai bakteriostaattista

natriumkloridi-injektiota, U.S.P., 2 ml. Ampullia ravistellaan varovaisesti liukenemisen nopeuttamiseksi. Liuos on nyt valmis annettavaksi.

Valmistettaessa parenteraalisia liuoksia käytetään 1-20 kertaa niin paljon mannitolia painosta kuin 4-desasetyyli VLB-3-(2-kloorietyyli)karboksiamidisulfaattia. VLB-3-(2-kloorietyyli)karboksiamidin sulfaattisuola on myös tyydyttävä käytettäväksi parenteraaliseen valmistukseen samoin kuin muut (VLB ja 4-desasetyyli VLB)-3-(2-kloorietyyli)-karboksiamidin farmaseuttisesti hyväksyttävät happoadditiosuolat.

Patenttivaatimus

Menetelmä uuden kaavan I mukaisen terapeuttisesti
 käytettävän (VLB- tai 4-desasetyyli-VLB) 3-(2-kloorietyy-
 5 li)karboksiamidin



25 jossa R¹ on OH tai asetoksiryhmä tai sen farmaseuttises-
 ti hyväksyttävän happoadditiosuolan valmistamiseksi,
 t u n n e t t u siitä, että (A) (VLB tai 4-desasetyyli
 VLB) 3''-(2-kloorietyyli)-3-spiro-5''-oksatsolidiini-2'',4''-
 dioni hydrolysoidaan vesiväliaineessa, tai (B) (VLB tai
 30 4-desasetyyli) VLB-karboksiatsidi saatetaan reagoimaan
 2-kloorietyyliamiinin kanssa, tai (C) (VLB tai 4-desasetyy-
 li VLB) 3-(2-hydroksietyyli)karboksiamidi saatetaan rea-
 goimaan reagenssin kanssa, joka mahdollistaa hydroksiryh-
 män korvauksen kloridilla, ja kloorilähteen kanssa, edul-
 35 lisesti trifenyylifosfiinin ja hiilitetrakloridin kanssa
 ja,

(a) vapaavalintaisesti deasetyloidaan reaktiosta A, B tai C saatu kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 on asetoksiryhmä, kaavan (I) mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R^1 on hydroksiryhmä; tai

5 (b) vapaavalintaisesti asetyloidaan reaktiosta A, B tai C saatu kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R^1 on hydroksiryhmä, kaavan (I) mukaisen yhdisteen saamiseksi, jossa R^1 on asetoksiryhmä; ja

10 (c) vapaavalintaisesti muodostetaan yllä mainituissa reaktioissa saadusta vapaasta emäksestä vastaava happoadditiosuola.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av en vinka-dimer med formeln

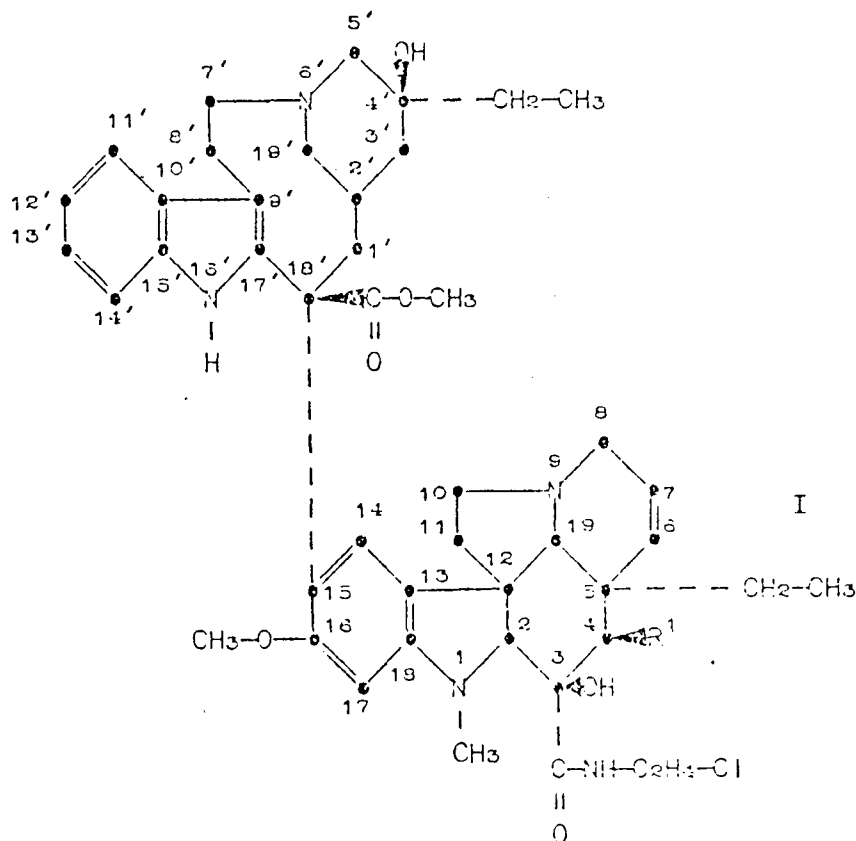
5

10

15

1

20



25 vari R^1 är OH eller acetoxi, eller ett farmaceutiskt godtagbart syraadditionssalt därav, att man i vattenmedium hydrolyserar (VLB eller 4-desacetyl-VLB)-3''-(2-kloretyl)-3-spiro-5''-oxazolidin-2'',4''-dion och tillvaratager föreningen med formeln (I) antingen i fri bas- eller syra-

30 saltform och

a) eventuellt deacetylerar en förening med formeln (I), vari R^1 är acetoxi, för bildande av en förening med formeln (I), vari R^1 är hydroxi;

35 b) eventuellt acetylerar en förening med formeln (I), vari R^1 är hydroxi, för bildande av en förening med formeln (I), vari R^1 är acetoxi; och

c) eventuellt salifierar en fri bas som bildats vid nämnda hydrolys för bildande av motsvarande syrasalt.

2. Förfarande för framställning av ett farmaceutiskt godtagbart syrasalt av en vinka-cimer med formeln (I) enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att motsvarande fria bas salifieras.

3. Förfarande för framställning av en vinka-dimer med formeln (I), eller ett farmaceutiskt godtagbart syrasalt därav enligt patentkravet 1, varvid R^1 är acetoxi, k ä n n e t e c k n a t därav, att man acetylerar motsvarande vinkadimer med formeln (I), vari R^1 är hydroxi.

4. Förfarande för framställning av en vinka-dimer med formeln (I), eller ett farmaceutiskt godtagbart syrasalt därav, enligt patentkravet 1, varvid R^1 är hydroxi, k ä n n e t e c k n a t därav, att man deacetylerar motsvarande vinka-dimer med formeln (I), vari R^1 är acetoxi.

5. Förfarande för framställning av en vinka-dimer med formeln (I) enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man reagerar (VLB eller 4-desacetyl-VLB)-karboxazid med 2-kloretylamin och tillvaratager föreningen med formeln (I) antingen i fri bas- eller syrasaltform; och

a) eventuellt deacetylerar en förening med formeln (I), vari R^1 är acetoxi, för bildande av en förening med formeln (I), vari R^1 är hydroxi;

b) eventuellt acetylerar en förening med formeln (I), vari R^1 är hydroxi, för bildande av en förening med formeln (I), vari R^1 är acetoxi; och

c) eventuellt salifierar en fri bas som bildats vid nämnda hydrolys för bildande av motsvarande syrasalt.

6. Förfarande för framställning av en vinka-dimer med formeln (I) enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k -

n a t därav, att man reagerar VLB eller 4-desacetyl-VLB)-3-(2-hydroxietyl)karboxamid med en reaktant, vilken möjliggör ersättande av hydroxifunktionen med klorid och en klorkälla, och tillvaratager föreningen med formeln (I) antingen i fri bas- eller syrasaltform; och

a) eventuellt deacetylerar en förening med formeln (I), vari R^1 är acetoxi, för bildande av en förening med formeln (I), vari R^1 är hydroxi;

b) eventuellt acetylerar en förening med formeln (I); vari R^1 är hydroxi, för bildande av en förening med formeln (I), vari R^1 är acetoxi; och

c) eventuellt salifierar en fri bas som bildats vid nämnda hydrolys för bildande av motsvarande syrasalt.

7. Förfarande för framställning av en vinka-dimer med formeln (I) enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k - n a t därav, att de använda reaktanterna är trifenylfosfin och koltetraklorid.

8. Vinka-dimer med formeln (I) enligt patentkravet 1 eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav närhelst de framställts genom ett förfarande enligt något av patentkraven 1-7.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI _____

CH _____

DE _____

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE _____

US P 4096 148 (COTD 519/04)

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. suksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen K ja vastataulusta kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

EP

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

29.10.1986

Niklas Hassel

Allekirjoitus