(19) **Bundesrepublik Deutschland**
**Deutsches Patent- und Markenamt**

(10) **DE 695 31 586 T2** 2004.06.24

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 711 765 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **695 31 586.2**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **95 308 102.3**
(96) Europäischer Anmeldetag: **13.11.1995**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **15.05.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **27.08.2003**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **24.06.2004**

(51) Int Cl.[7]: **C07D 307/92**
**C07D 493/04, C07D 491/04, C07D 498/04, A61K 31/365, A61K 31/415, A61K 31/42**

(30) Unionspriorität:
**9422947 14.11.1994 GB**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, IT, LI, NL, SE**

(73) Patentinhaber:
**Universidad de Salamanca, Salamanca, ES**

(74) Vertreter:
**derzeit kein Vertreter bestellt**

(72) Erfinder:
**Gordaliza, Marina, E-37007 Salamanca, ES; Castro, Maria Angeles, E-37007 Salamanca, ES; San Feliciano, Arturo, E-37007 Salamanca, ES; del Corral, Jose Maria Miguel, E-37007 Salamanca, ES; Lopez, Maria Luisa, E-37007 Salamanca, ES; Faircloth, Glynn T., E-28670 Tres Cantos, ES**

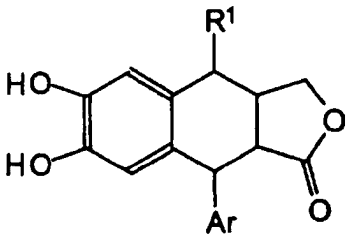
(54) Bezeichnung: **Immmunosuppressive Cyclolignanderivate**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

## Beschreibung

[0001] Gegenstand der Erfindung sind Cyclolignan-Derivate, die Herstellung dieser Derivate und pharmazeutische Zusammensetzungen, die sie enthalten.
[0002] Podophyllotoxin ist ein bekanntes Cyclolignan-Derivat mit antimitotischen und verwandten Aktivitäten, siehe zum Beispiel die Besprechung in US 4567253. Es wurden viele Derivate entdeckt oder synthetisiert, siehe zusätzlich zum Beispiel Acta Chem. Scan. 1993 47: 1190 und Arch. Pharm. (Weinheim) 327, 175 (1994). WO 86/04062 berichtet eine Wirkung von Podophyllotoxin gegen Immunitäts- und Abstoßungsreaktionen.
[0003] Helvetica Chimica Acta, 46 (1), 75(1963) und 47 (6), 164(1964) offenbaren die Verbindungen, die hierin nachstehend als AP-39 und AP-40 definiert sind und ein Verfahren zur Synthese derselben.
[0004] Chem. Pharm. Bull. 40(10), 2720 (1962) offenbart die hierin nachstehend als AP-37 definierte Verbindung und andere Podophyllotoxin-Derivate, von denen angegeben wird, dass sie Antitumoraktivität besitzen. Gemäß diesem Dokument zeigen die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen jedoch weder Inhibition der Tubulin-Polymerisation noch Inhibition der DNA-Topoisomerase II.
[0005] DE-A-3612278 offenbart Epipodophyllotoxin und verwandte Verbindungen zum Gebrauch als antineoplastische Mittel. Die Definition in dieser Veröffentlichung für die Gruppe $R^5$ stimmt nicht mit den erfindungsgemäßen Verbindungen überein.
[0006] J. Pharm. Sci., 75 (11) 1076 (1986) betrifft Podophyllotoxin und seine Thermolyse-Produkte. J. Org. Chem, 54 (18), 4280 (1989) betrifft Intermediärprodukte zur Podophyllotoxin-Synthese. Chem. Abs. 120 235424b (1996) betrifft verschiedene Podophyllotoxin-Derivate mit antineoplastischen und antiviralen Aktivitäten. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 21, 2541 (1993) betrifft die Synthese verschiedener Podophyllotoxin-Derivate.
[0007] Es wurde nun erfindungsgemäß festgestellt, dass die vorstehenden bekannten Cyclolignan-Derivate, wie hierin nachstehend definiert, immunomodulatorische Aktivität besitzen, wie anhand von in vitro-Tests (MLR [gemischte Lymphozytenreaktion]) wie auch in vivo-Tests (GvHR [Transplantat-Wirt-Reaktion] und SG [Transplantatüberleben]) ersichtlich ist.
[0008] Es wird erfindungsgemäß die Verwendung von Cyclolignan-Derivaten der Formel I




(I)

bereitgestellt, worin:
$R^1$ Wasserstoff oder Hydroxy darstellt; und
Ar 3,4,5-Trialkoxyphenol darstellt, worin jeder Alkoxyteil gleich oder verschieden sein kann und jeweils von 1 bis 6 Kohlenstoffatom(e) aufweist;
zur Herstellung einer immunomodulatorischen pharmazeutischen Zusammensetzung.

## BEVORZUGTE AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0009] Die Alkoxygruppen weisen von 1 bis 6 Kohlenstoffatom(e), bevorzugter von 1 bis 4 Kohlenstoffatom(e) auf. Beispiele schließen Methoxy-, Ethoxy-, Propoxy-, Isopropoxy-, Butoxy-, t-Butoxy- und andere Alkoxy-Gruppen ein.
[0010] Die vorliegenden Verbindungen können als optische Isomere existieren und umfassen erfindungsgemäß die einzelnen Isomere und Gemische, einschließlich der diastereomeren oder racemischen Gemische davon. Die Stereochemie der Substituenten kann wie gewünscht ausgewählt werden, und die Gruppe $R^1$ kann zum Beispiel α oder β darstellen.
[0011] Erfindungsgemäß verwendbare individuell bevorzugte Verbindungen schließen folgende ein: AP-37, die 3,4-O-Demethylendesoxypicropodophyllin darstellt; AP-39, die 3,4-O-Demethylenepipodophyllotoxin darstellt; und AP-40, die 3,4-O-Demethylenpodophyllotoxin darstellt.
[0012] Verbindungen der Formel (I), wie vorstehend angemerkt, weisen immunomodulatorische Aktivität auf. Immunosuppressive pharmazeutische Zusammensetzungen, umfassend Verbindungen der Formel (I), wie vorstehend in Verbindung mit einem pharmazeutischen Träger definiert, können demgemäß ohne weiteres vom Fachmann erkannt werden. Diese pharmazeutischen Zusammensetzungen können zum Beispiel zur oralen, parenteralen oder rektalen Verabreichung durch Inkorporation oder geeignete pharmazeutische Träger und optionale Hilfsmittel angepasst werden.
[0013] Die immunosuppressive Aktivität einer erfindungsgemäßen Verbindung ist nachstehend zusammen-

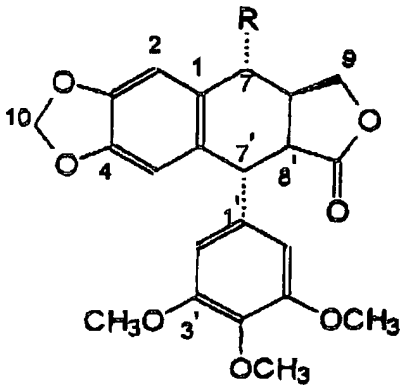
gefasst.

Immunosuppressive Wirkungen mehrerer beispielhafter Cyclolignane

| Verbindung | Dosis[a] | GvHR-Index[b] | SG-Index[c] | Cytotoxizität[d] |
|---|---|---|---|---|
| AP-37 | 0,1 | 58 | -- | >20 |
| AP-39 | 1,5 | -- | 200 | >10 |
| AP-40 | 1,5 | -- | 229 | 0,5 |
| Cyclophosphamid | 200 | 79 | -- | -- |
| Cyclosporin A | 25 | -- | 178[e] | -- |

a. mg/kg/Tag (7 Tage)
b. Reduktion (%) des Milzgewichtes im Vergleich zu nicht behandelten Tieren.
c. Implantatdauer (%) im Vergleich zu nicht behandelten Tieren.
d. $IC_{50}$ (µg/ml) für Affennieren-Fibroblasten.
e. 20% der Tiere in diesem Experiment starben vor Beendigung des Programms (30-tägige Beobachtung).

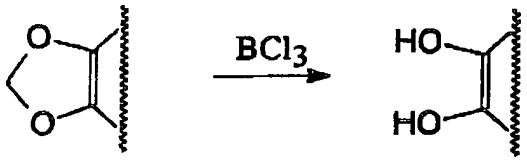
[0014] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können aus Podophyllotoxin und Analoga der Formel




hergestellt werden.

[0015] Siehe zum Beispiel A. W. Fortschritte Chem. Org. Naturstoff 15, 83 (1953), der Podophyllotoxin beschreibt, worin R Hydroxy darstellt und 8'-H für β steht; Desoxypodophyllotoxin, worin R Wasserstoff darstellt und 8'-H für β steht; und Desoxypicropodophyllin, worin R Wasserstoff darstellt und 8'-H für α steht. Siehe auch J. Med. Chem. 29 1547 – 1550 (1986) und Chem. Pharm. Bull. 40 2720 – 2727 (1992).

[0016] Erfindungsgemäße Verbindungen können zum Beispiel gemäß dem folgenden Reaktionsschema hergestellt werden, worin Partialstrukturen wie zutreffend gezeigt sind:




[0017] Andere entsprechende Reaktionsbedingungen können eingesetzt werden.

ERFINDUNGSGEMÄSSES BEISPIEL

[0018] Zum weiteren Verständnis der Erfindung wird das folgende Beispiel lediglich als Erläuterung angegeben.

BEISPIEL

Herstellung von AP-37:

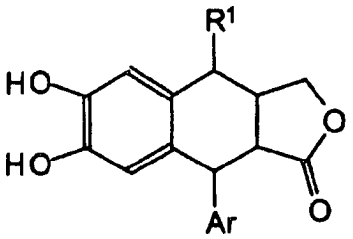
[0019] Einer bei –70° bis –65°C vorgekühlten Lösung aus Bortrichlorid in $CH_2Cl_2$ (1 M, 2 ml) wurde tropfenweise Desoxypicropodophyllin (100 mg) in trockenem $CH_2Cl_2$ (6 ml) zugefügt. Nach weiterem einstündigem

Rühren bei der gleichen Temperatur wurde das Gemisch in Eiswasser gegossen und mit Ethylacetat extrahiert. Der nach Verdampfen des organischen Lösungsmittels erhaltene Rückstand wurde in einem Gemisch aus Wasser: Aceton: Calciumcarbonat (3 ml: 3 ml: 1 g) aufgelöst und 1 Stunde unter Rückfluss erhitzt. Die Suspension wurde mit 2 N HCl angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die Verdampfung des Lösungsmittels ergab 80 mg AP-37.

| | |
|---|---|
| [M+]: | 386 |
| Schmelzpunkt: | 226–228°C (MeOH) |
| $[\alpha]_D(CHCl_3)$: | +46,8° |
| UV $\lambda_{max}$(EtOH)(ε): | 222(23300), 288(7200) |
| IR (KBr): | 3400, 1740, 1600, 1510, 1300, 1110 $cm^{-1}$. |

**Patentansprüche**

1. Verwendung einer Verbindung mit der Formel (I)




(I)

in welcher sind:
$R^1$ Wasserstoff oder Hydroxy;
Ar 3,4,5-Trialkoxyphenyl steht, wobei eine jede Alkoxyhälfte gleich oder verschieden sein kann und von 1 bis 6 Kohlenstoffatomen aufweist,
für die Herstellung einer immunomodulatorischen pharmazeutischen Zusammensetzung.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, bei welcher die Verbindung aus 3,4-O-Demethylendesoxypicropodophyllin besteht.

3. Verwendung gemäß Anspruch 1, bei welcher die Verbindung aus 3,4-O-Demethylenpipodophyllotoxin besteht.

4. Verwendung gemäß Anspruch 1, bei welcher die Verbindung aus 3,4-O-Demethylenpodophyllotoxin besteht.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen