(19) DANMARK

(12) **PATENTSKRIFT** (11) **166825 B1**

Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: **4264/86**

(51) Int.Cl.5 **C 07 F 15/00**

(22) Indleveringsdag: **05 sep 1986**

(41) Alm. tilgængelig: **07 mar 1987**

(45) Patentets meddelelse bkg. den: **19 jul 1993**

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: **06 sep 1985 JP 60/197097**

(73) Patenthaver: ***SANKYO COMPANY LIMITED; 1-6, 3-chome, Nihonbashi Honcho; Chuo-ku; Tokyo, JP**

(72) Opfinder: **Yukio *Sugimura; JP, Yukiko* Kameyama; JP, Toshihiko *Hashimoto; JP, Fusaaki *Shimizu; JP, Koichi *Kitamura; JP**

(74) Fuldmægtig: **Firmaet Chas. Hude**

(54) Antitumor-platinkomplekser og fremgangsmåde til fremstilling deraf samt farmaceutiske midler indeholdende disse

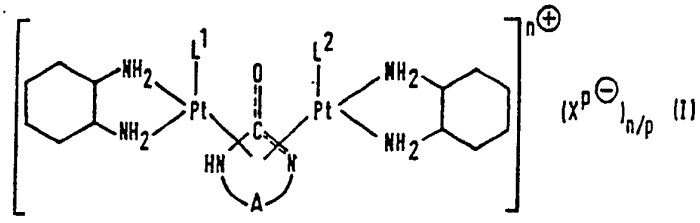
(56) Fremdragne publikationer

---

(57) Sammendrag:

4264-86

Platinkomplekser med formlen(I):



(hvori L^1 og L^2 er ligander, X^{p-} er en anion, og n er 0, 1, 2 eller 3) har antisvulstvirkning og kan fremstilles ved kondensation af et 1,2-diaminocyclohexanplatin(II)kompleks med et cyklisk alkylenurinstof.

DK 166825 B1

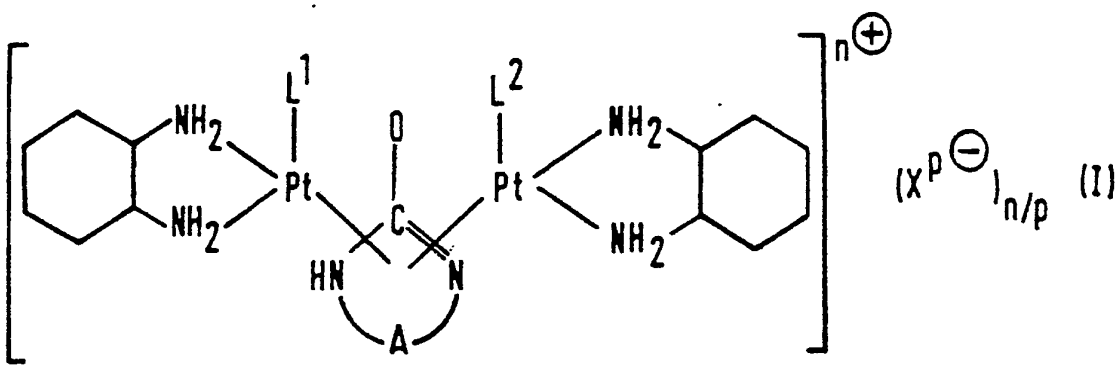
Den foreliggende opfindelse angår en række hidtil ukendte komplekser af 4-koordineret, divalent platin med et cyklisk urinstofderivat. Sådanne komplekser har værdifuld antitumorvirkning med bedre opløselighed end kendte antitumorplatinforbindelser og -komplekser. Opfindelsen angår også en fremgangsmåde til fremstilling af disse komplekser og farmaceutiske midler, der indeholder dem.

Cancersygdomme er et betydningsfuldt lægeligt problem, men er ofte vanskelige at helbrede. Hovedårsagen til dette er, at forskellene mellem tumorceller og normale celler generelt er ekstremt små med det resultat, at forbindelser, som er toksiske over for tumorceller, også er toksiske over for normale celler. Kemoterapibehandlingen af cancersygdomme beror generelt på meget begrænsede forskelle mellem svulstcellers og normale cellers følsomhed over for antitumormidler.

Forskellige platinforbindelser vides at have antitumorvirkninger. Fx har cisplatin [Rosenberg et al., Nature 222, 385 (1965) og The Merck Index, 10. udgave (1983) monografi 2289] med held været benyttet til behandling af svulster, og malonato-(1,2-diaminocyclohexan)platin(II) [fx US-patentskrift nr. 4.169.846 og Kidani et al., Gann, 71, 637-643 (1980)] har været foreslået til sådan anvendelse. Begge de ovennævnte platinkomplekser har en vis strukturel lighed med forbindelserne ifølge opfindelsen. Selv om det strukturelt har mindre lighed med forbindelserne ifølge opfindelsen, er et andet platinkompleks, der for nyligt er blevet tilgængeligt til behandling af svulster, carboplatin [Drugs of the Future, bind 8, nr. 6, s. 489-491 (1983)]. De fleste af de kendte platinkomplekser inklusive de ovenfor omtalte har imidlertid en høj nyretoksicitet og en dårlig opløselighed i vand, hvilket gør det vanskeligt at bringe dem til at indgå i en passende doseringsform.

Der er fundet frem til en hidtil ukendt række platinkomplekser, som har god antisvulstvirkning, men relativt få bivirkninger, såsom nyretoksicitet og benmarvsundertrykkelse, og som har en god opløselighed i vand.

Forbindelserne ifølge opfindelsen er 4-koordinerede, divalente plantinkomplekser med cykliske urinstofderivater med formlen (I):

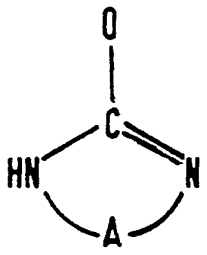


(I)

der er ejendommelige ved, at

A betegner en alkylengruppe med 2 eller 3 carbonatomer,

L^1 og L^2 er ens eller forskellige og hver betegner vand, en nitration, en halogenidion, en perchloration, en sulfation, en carbonation, en hydroxidion, en methoxidion eller en ethoxidion, eller L^1 og L^2 tilsammen betyder en nitration, en chloridion, en sulfation, en hydroxidion, en ethoxidion, en perchloration eller en carbonation eller en gruppe med formlen (II):



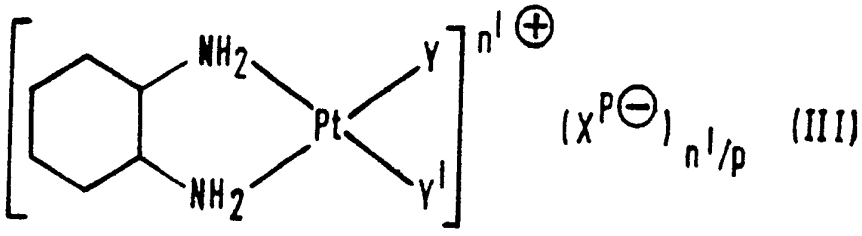
(II)

hvori A er som ovenfor defineret,

X^{p-} betegner en anion med valensen P, og

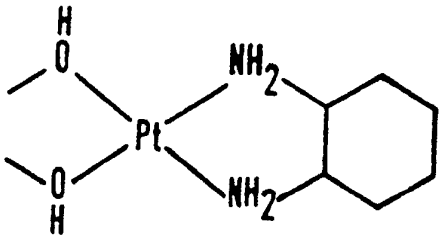
n er 0, 1, 2 eller 3.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved omsætning af et platinkompleks med formlen (III):



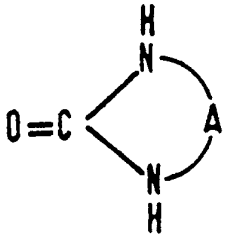
(III)

hvori X^{p-} er som ovenfor defineret,
n' er 0, 1 eller 2, og
Y og Y' er ens eller forskellige og hver betegner vand, en nitration, en hydroxidion eller en perchloration, eller Y og Y' er knyttet til hinanden til dannelse af en sulfat- eller carbonation eller en gruppe med formlen (IV):



(IV)

med en forbindelse med formlen (V):



(V)

hvori A er som ovenfor defineret.

Opfindelsen angår fremdeles et middel omfattende et antitumormiddel og en farmaceutisk acceptabel bærer eller et farmaceu-

tisk acceptabelt fortyndingsmiddel, hvori antitumormidlet er valgt blandt forbindelser med formlen (I).

Forbindelserne ifølge opfindelsen har mindst én ligand, som er et cyklisk urinstofderivat med formlen (II) og afhængigt af betydningerne af L^1 og L^2 kan have to sådanne ligander. I denne ligand eller i disse ligander antages det, at tilknytningen til et af platinatomerne sker via -NH-gruppens nitrogenatom, og at tilknytningen til det andet platinatom sker via nitrogen- eller oxygenatomet i gruppen O----C----N.

Gruppen O----C----N kan betegne en gruppe med formlen $O=C-N^-$ eller $O^--C=N$ eller en resonanshybrid af disse to strukturer, hvori den negative ladning er fordelt gennem gruppen.

A betegner en alkylengruppe med 2 eller 3 carbonatomer, hvilken gruppe kan være en gruppe med lige eller forgrenet kæde. Alkylengruppens to "frie" valenser kan være og er fortrinsvis knyttet til forskellige carbonatomer, eller også kan de være knyttet til det samme carbonatom (i hvilket tilfælde gruppen undertiden omtales som en "alkyliden"-gruppe). Gruppen repræsenteret ved A er fortrinsvis en α,ω-alkylengruppe med en lige kæde indeholdende 2 eller 3 carbonatomer, hvilken kæde er usubstitueret eller har mindst en alkylsubstituent, forudsat at det samlede antal carbonatomer i nævnte kæde og nævnte alkylsubstituent eller -substituenter ikke overstiger 3. Eksempler på sådanne grupper indbefatter:
$-(CH_2)_2-$, $CH_3-CH<$, $-CH(CH_3)CH_2-$ og $-(CH_2)_3-$. Af disse foretrækkes grupperne med formlen $-(CH_2)_2$ og $-(CH_2)_3-$.

Når L^1 eller L^2 betegner en neutral ligand, er denne fortrinsvis et vandmolekyle, H_2O. Når L^1 eller L^2 hver betegner en monovalent eller divalent anion, er denne anions natur ikke afgørende for opfindelsen, forudsat at den resulterende forbindelse er farmaceutisk acceptabel, d.v.s. at den ikke har formindsket virkning (eller uacceptabelt formindsket virkning) eller forøget toksicitet (eller uacceptabelt forøget toksicit-

et) sammenlignet med stamforbindelsen med vand som ligand. Eksempler på sådanne anioner indbefatter sådanne uorganiske anioner som nitrat-, halogenid- (fx chlorid-, bromid- eller jodid-), perchlorat-, sulfat-, carbonat- eller hydroxidanioner, og sådanne organiske anioner som methoxid- eller ethoxidanionerne. Det foretrækkes især, at L^1 og L^2, som kan være ens eller forskellige, hver betegner en nitrat-, chlorid-, hydroxid-, methoxid- eller ethoxidanion eller H_2O. Alternativt kan L^1 og L^2 tilsammen betegne en enkelt af de oven for nævnte anioner, og eksempler på sådanne er de samme som de anførte, når L^1 og L^2 separat repræsenterer sådanne anioner. Foretrukne anioner, som L^1 og L^2 tilsammen kan betegne, indbefatter nitrat-, chlorid-, sulfat-, hydroxid-, methoxid- og ethoxidanioner. Foretrukne er også forbindelserne, hvori L^1 og L^2 tilsammen betegner den ovenfor nævnte gruppe med formlen (II).

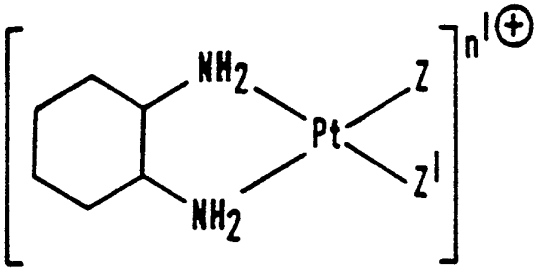
Når forbindelsen ifølge opfindelsen indeholder en anion X^{p-}, er denne anions natur ikke afgørende for opfindelsen, forudsat at den som ovenfor forklaret i relation til L^1 og L^2 er farmaceutisk acceptabel. Eksempler på sådanne anioner, som X^{p-} kan betegne, indbefatter nitrat-, perchlorat-, sulfat- og carbonatanionerne, fortrinsvis nitrat- og sulfatanionerne.

Værdien afhænger fuldstændigt af naturen af liganderne L^1 og L^2, eftersom fire positive ladninger tilvejebringes af de to divalente platinioner, og en enkelt negativ ladning tilvejebringes af gruppen med formlen (II), der er vist i formlen (I), således at der bliver ialt tre positive ladninger tilbage, der skal afbalanceres v.h.a. L^1, L^2 og X^{p-}. Når fx L^1 og L^2 begge betegner monovalente anioner, er n 1. Når L^1 betegner en neutral ligand, og L^2 betegner en monovalent anion, er n 2. Når L^1 og L^2 begge betegner neutrale ligander, er n 3, og når den ene af L^1 og L^2 betegner en divalent anion, og den anden betegner en monovalent anion, er n 0.

Det vil fremgå, at en række forskellige isomerer af forbindelserne ifølge opfindelsen er mulige, afhængigt af konfigura-

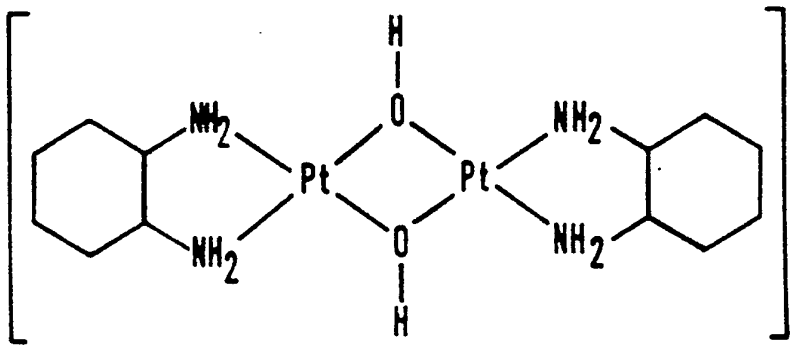
tionen af de to cyclohexandiaminmolekyler i komplekset. Hver cyclohexandiaminligand kan fx være cis-isomeren, trans-isomeren eller en blanding af disse, og de to cyclohexandiaminligander i molekylet kan være den samme isomer eller forskellige isomerer. I tilfælde af trans-isomererne, er optisk aktivitet mulig, og disse isomerer kan være d-enantiomeren, l-enantiomeren eller et racemat.

Forbindelserne ifølge opfindelsen kan syntetiseres ved omsætning af en forbindelse med formlen (III), d.v.s. en forbindelse med formlen (IIIa):



$$(X^{p\ominus})_{n'/p} \qquad \text{(IIIa)}$$

hvori n' og X^{p-} er som ovenfor defineret, og Z og Z' er ens eller forskellige og hver betegner en neutral ligand (fx vand) eller en anion (fx et nitrat, hydroxid eller en perchloratanion) eller Z og Z' er knyttet til hinanden til dannelse af en anion (fortrinsvis en sulfat- eller carbonatanion), eller en forbindelse med formlen (IIIb):



$$(X^{p\ominus})_{2/p}$$

(IIIb)

(hvori X^{p-} er som ovenfor defineret) med den ovenfor nævnte forbindelse med formlen (V).

Foretrukne måder at udføre disse reaktioner på er nedenfor anført som metoderne A, B og C.

Metode A

Cis-dichlor-(1,2-diaminocyclohexan)platin(II) omsættes med 2 ækvivalenter sølvnitrat eller 1 ækvivalent sølvsulfat til opnåelse af en forbindelse med formlen (IIIa), hvori Z og Z' begge betegner vandmolekyler, og XP^- betegner en nitrat- eller sulfatanion, d.v.s. cis-diaqua-(1,2-diaminocyclohexan)platin-(II)nitrat eller -sulfat. Tilsvarende forbindelser med formlen (IIIa), hvori XP^- betegner andre anioner, kan fremstilles ved anvendelse af et andet tilsvarende sølvsalt. Reaktionen udføres fortrinsvis i vandig opløsning. Reaktionstemperaturen er ikke særlig kritisk, og det findes derfor hensigtsmæssigt at udføre reaktionen ved ca. stuetemperatur.

Den resulterende forbindelse med formlen (IIIa) omsættes derpå med det cykliske alkylenurinstofderivat med formlen (V). Det foretrækkes at anvende fra 0,5 til 4 ækvivalenter af nævnte forbindelse med formlen (V) per ækvivalent af nævnte forbindelse med formlen (IIIa). Reaktionen gennemføres fortrinsvis ved ca. neutralitet, og dette kan opnås ved tilsætning af en egnet base. Basens natur er ikke afgørende, forudsat at den ikke generer reaktionen. En passende base er et alkalimetalhydroxid, fx natriumhydroxid, som fortrinsvis anvendes som en ca. 1 N vandig opløsning. Reaktionen vil finde sted over et bredt temperaturinterval, og den nøjagtigt valgte temperatur er ikke særligt afgørende. Det foretrækkes at udføre reaktionen ved en temperatur i intervallet fra 0 til 100°C, mere foretrukket fra stuetemperatur til 60°C og fortrinsvis under omrøring. Den til reaktionen krævede tid kan variere i vidt omfang afhængigt af mange faktorer, især reagensernes natur og reaktionstemperaturen. Ved en temperatur inden for det ovenfor anførte brede interval vil imidlertid et tidsrum fra 1 time til 40 dage normalt være tilstrækkeligt, medens et tidsrum fra 10 timer til 30 dage normalt vil være tilstrækkeligt ved en temperatur i det mere foretrukne interval.

Den således opnåede resulterende forbindelse med formlen (I) kan skilles fra reaktionsblandingen v.h.a. enhver egnet proces. Reaktionsblandingen kan fx koncentreres ved inddampning under formindsket tryk, og et organisk opløsningsmiddel kan derpå tilsættes til udfældning af den ønskede forbindelse med formlen (I). Det organiske opløsningsmiddels natur er ikke afgørende, selv om det foretrækkes at anvende et med vand blandbart organisk opløsningsmiddel, såsom en alkohol (fx methanol, ethanol eller isopropanol) eller en ether (såsom diethylether). Det resulterende præcipitat kan opsamles, fx v.h.a. filtrering, til opnåelse af den ønskede forbindelse med formlen (I). Om ønsket kan dette præcipitat renses yderligere v.h.a. kromatografi, fx ved anvendelse af en ionbytterharpiks, såsom "Diaion" (varemærke) CHP 20P eller "Sephadex" (varemærke).

Metode B

En vandig opløsning af cis-diaqua-(1,2-diaminocyclohexan)platin(II)nitrat fremstilles som beskrevet i metode A, og vandet afdampes derpå under formindsket tryk til opnåelse af cis-dinitrato-(1,2-diaminocyclohexan)platin(II), d.v.s. forbindelsen med formlen (IIIa), hvori Z og Z' begge betegner nitratanioner. Forbindelser, hvori Z og Z' betegner andre anioner, kan fremstilles på tilsvarende måde ud fra andre salte end nitratet. Den resulterende forbindelse suspenderes i vand og omsættes derpå med et cyklisk alkylenurinstof (V) i nærværelse af en base (fortrinsvis natriumhydroxid) på den i metode A beskrevne måde. Forbindelsen (V) anvendes fortrinsvis i en mængde fra 0,5 til 4 ækvivalenter, og basen anvendes fortrinsvis i en mængde på ca. 1 ækv. per ækv. cis-dinitrato-(1,2-diaminocyclohexan)platin(II).

Metode C

En vandig opløsning af cis-diaqua-(1,2-diaminocyclohexan)platin(II)nitrat eller -sulfat fremstilles som beskrevet i metode

A. Et alkalihydroxid (fortrinsvis et alkalimetalhydroxid, såsom natriumhydroxid) sættes til denne vandige opløsning, fortrinsvis i en mængde på et ækv. per ækv. af nitratet eller sulfatet. Man lader derpå den resulterende blanding reagere til opnåelse af den tilsvarene forbindelse med formlen (IIIb), d.v.s. bis[hydroxy-cis-(1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat eller -sulfat. Reaktionstemperaturen er ikke særlig afgørende, og det foretrækkes generelt at udføre reaktionen ved ca. stuetemperatur. Den til reaktionen krævede tid kan variere i vidt omfang, men et tidsrum fra 1 time til 14 timer vil normalt være tilstrækkeligt. Den ønskede forbindelse med formlen (IIIb) opnås derpå ved afdampning af vand fra reaktionsblandingen. En vandig opløsning af produktet opnås (enten ved ufuldstændig fjernelse af vand eller ved tilsætning af vand), og denne omsættes derpå med et cyklisk alkylenurinstofderivat med formlen (V), fortrinsvis i en mængde fra 0,5 til 4 ækv. per ækv. platinkompleks. Reaktionen vil finde sted over et bredt temperaturinterval, men generelt findes det hensigtsmæssigt at anvende en temperatur i intervallet fra stuetemperatur til 50°C. Den til reaktionen krævede tid kan variere i vidt omfang afhængigt af mange faktorer, men især reaktionstemperaturen. Et tidsrum fra 1 til 20 dage vil normalt være tilstrækkeligt. Derefter kan reaktionsblandingen behandles som beskrevet i metode A til opnåelse af den ønskede forbindelse.

Forbindelserne ifølge opfindelsen har udvist fortrinlig antisvulstvirkning, som kan sidestilles med eller er bedre end virkningen af cisplatin og carboplatin. Det har endvidere ganske uventet vist sig, at forbindelserne ifølge opfindelsen endog er effektive over for en cisplatinresistent stamme af museleukæmi L1210. Forbindelserne ifølge opfindelsen viser sig endvidere at have overraskende begrænsede bivirkninger, såsom nyretoksicitet og benmarvsundertrykkelse, og de har en meget høj opløselighed i vand, hvilket gør dem meget lette at administrere.

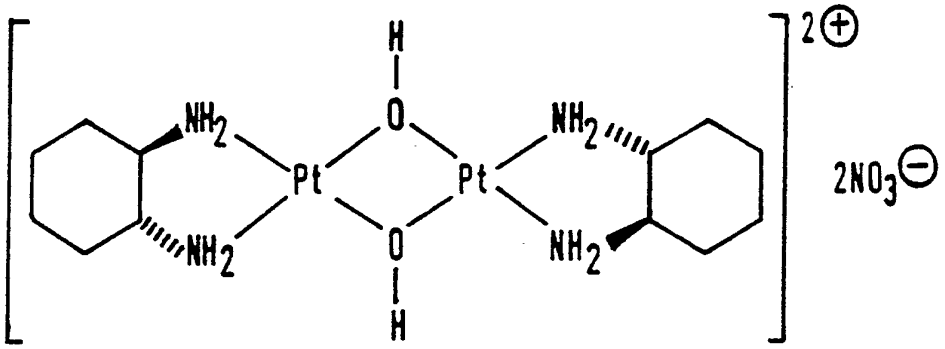
Der er ingen særlig begrænsning med hensyn til administrationsvejen, men til anvendelse som et carcinostatisk middel

administreres platinkomplekserne ifølge opfindelsen fortrinsvis parenteralt, fx som injektioner. Dosen kan variere afhængigt af patientens alder, legemsvægt og tilstand samt af svulstens natur og alvorlighed, men det foretrækkes generelt at administrere forbindelsen i en mængde fra 10 mg til flere g per dag til voksne menneskepatienter, generelt som delte doser.

Opfindelsen illustreres yderligere v.h.a. de følgende eksempler. Fremstilling af et af udgangsmaterialerne, der anvendes i disse eksempler er beskrevet i det følgende fremstillingseksempel.

Fremstilling

bis[hydroxo-cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)plantin(II)]-nitrat



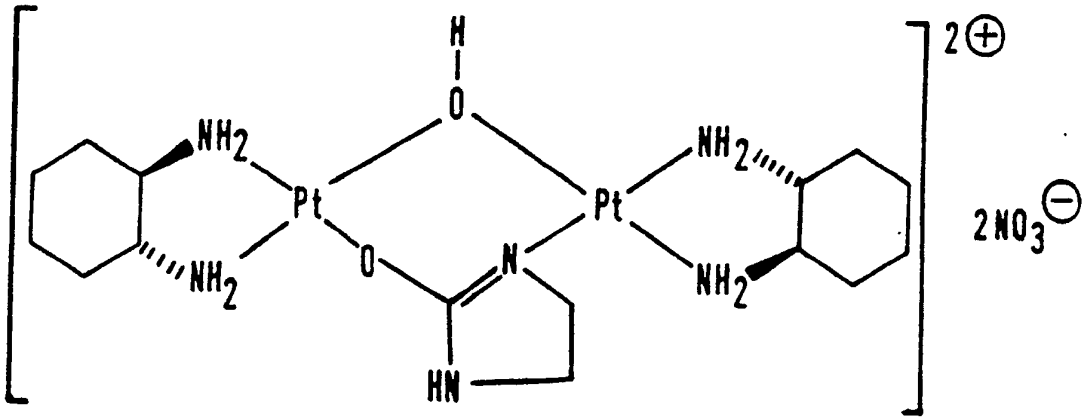
10 g cis-dichlor-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II) blev suspenderet i 200 ml vand, hvorpå 8,55 g sølvnitrat blev sat til suspensionen. Blandingen omrørtes ved stuetemperatur i 5 dage og det uopløselige materiale blev filtreret fra v.h.a. et "Celite" (varemærke) filterhjælpemiddel. Filtratet, som til at begynde med havde en pH-værdi på 2,18, blev indstillet til en pH-værdi på 7,00 ved tilsætning af en 1 N vandig opløsning af natriumhydroxid. Blandingen omrørtes derpå natten over ved stuetemperatur, hvorefter vandet afdampedes under formindsket

tryk, indtil krystaller af titelforbindelsen udfældedes. Den første udfældning resulterede i 7,28 g krystaller. Disse blev fraskilt, og afdampning af vand fortsattes til opnåelse af yderligere 2,38 g krystaller.

Kernemagnetisk resonansspektrum (400 MHz, D_2O)
δ ppm:
0,91 (4H, multiplet);
1,03 (4H, multiplet);
1,33 (4H, multiplet);
1,78 (4H, multiplet);
2,0-2,16 (4H, multiplet).

Eksempel 1

Hydroxo(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat



0,871 g ethylenurinstof blev sat til 270 ml af en vandig opløsning indeholdende 5,5 g bis[hydroxo-cis-(trans(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat, der var fremstillet som beskrevet i eksemplet fremstilling, og den resulterende opløsning omrørtes ved 28°C i 10 dage under en nitrogenstrøm. Ved afslutningen af dette tidsrum frafiltreredes uopløseligt materiale i reaktionsblandingen, og vandet afdampedes derpå under formindsket tryk til koncentrering af den vandige opløsning til et volumen på ca. 10 ml. 100 ml ethanol blev sat til den koncentrerede, vandige opløsning, og det resulterende

præcipitat blev opsamlet ved filtrering. Hele dette præcipitat (1,8 g) blev påført på en kromatografisøjle indeholdende ca. 500 ml "Diaion" CHP 20P-harpiks, og søjlen blev elueret med vand. Eluatet blev frysetørret til opnåelse af 0,6 g af titelforbindelsen som et farveløst pulver.

Ca. 400 ml diethylether blev sat til filtratet, der opnåedes efter fjernelse af præcipitatet af den ovenfor omtalte titelforbindelse. Det resulterende præcipitat (2,4 g) blev påført på den samme søjle indeholdende "Diaion" CHP 20P-harpiks og elueret med vand. Eluatet frysetørredes til opnåelse af yderligere 0,8 g af titelforbindelsen som et farveløst pulver.

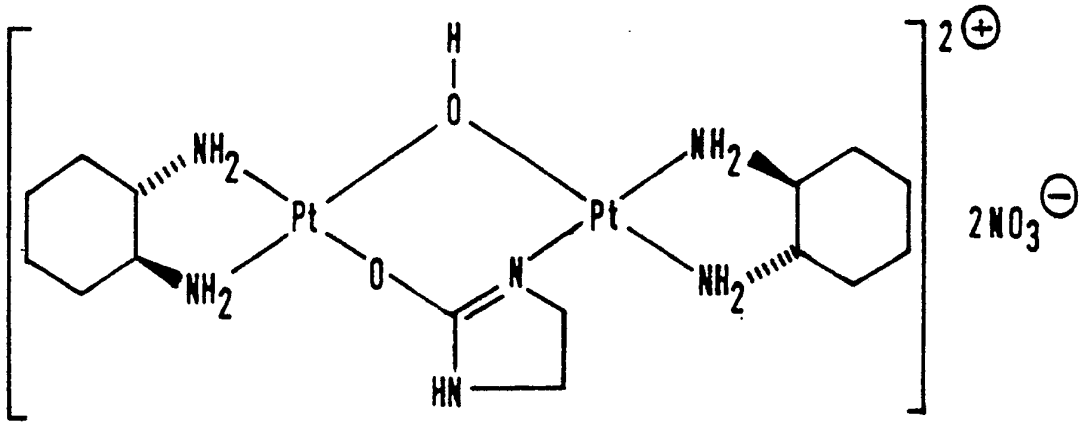
Kernemagnetisk resonansspektrum (400 MHz, D_2O)
δ ppm:
0,93 (4H, triplet),
1,02 (2H, kvartet),
1,06 (2H, dublet),
1,36 (4H, dublet),
1,77-1,83 (4H, multiplet),
2,01 (2H, triplet),
2,07 (1H, triplet af dubletter),
2,10 (1H, triplet af dubletter),
3,17 (2H, multiplet),
3,73 (2H, multiplet).

Infrarødt absorptionsspektrum (KBr) $\nu_{max} cm^{-1}$:
3430, 3200, 3100, 2940, 1693, 1615.

Massespektrum (m/z): 780 ($M-NO_3$), 717 ($780-HNO_3$).

Eksempel 2

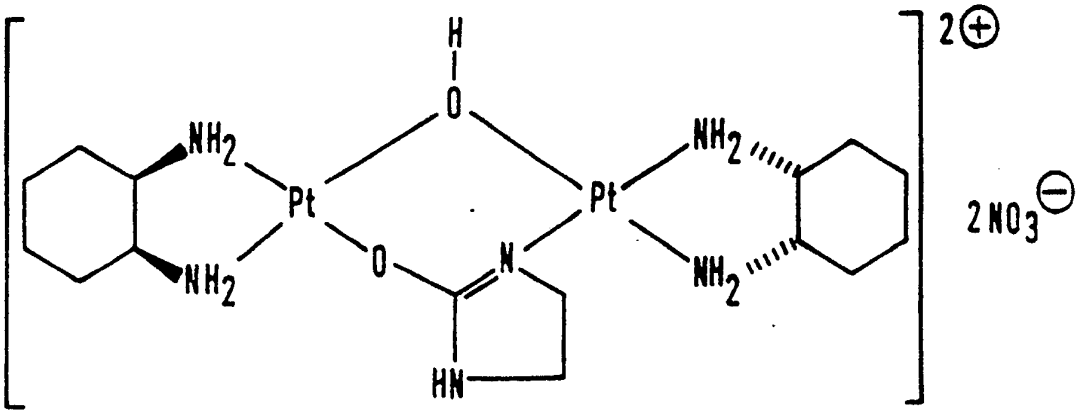
Hyroxo(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat



170 ml af en vandig opløsning indeholdende 3,43 g bis[hydroxo-cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)-platin(II)]nitrat (fremstillet på lignende måde som det i eksemplet Fremstilling beskrevne) og 0,547 g ethylenurinstof blev omsat, og produktet behandledes som beskrevet i eksempel 1 til opnåelse af 0,9 g af titelforbindelsen som et farveløst pulver. Det kernemagnetiske resonansspektrum og det infrarøde spektrum var identiske med spektrerne for det som beskrevet i eksempel 1 opnåede produkt.

Eksempel 3

Hydroxo(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(cis-1,2-diaminocylohexan)platin(II)]nitrat



0,39 g ethylenurinstof blev sat til 200 ml af en vandig opløsning indeholdende 2,79 g bis[hydroxo-cis-(cis-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat (fremstillet på lignende måde som det i eksemplet Fremstilling beskrevne), og den resulterende blanding blev omrørt ved 28°C i 13 dage under en nitrogenstrøm. Det uopløselige materiale i reaktionsblandingen filtreredes fra, og vandet afdampedes derpå under formindsket tryk til inddampning af den vandige opløsning til et volumen på ca. 100 ml. Denne koncentrerede opløsning frysetørredes til opnåelse af et pulver. 4 ml vand og 100 ml ethanol blev sat til pulveret, og uopløseligt materiale opsamledes derpå ved filtrering. 600 ml diethylether blev sat til filtratet, og det resulterende præcipitat opsamledes ved filtrering og blev kombineret med det forinden opsamlede uopløselige materiale. Det resulterende kombinerede pulver blev påført på en søjle indeholdende ca. 500 ml "Diaion" CHP 20P-harpiks og søjlen elueredes med vand. Det resulterende eluat blev frysetørret til opnåelse af titelforbindelsen som et farveløst pulver.

Infrarødt absorptionspektrum (KBr) $\nu_{max}cm^{-1}$:
3430, 3200, 1690, 1615.

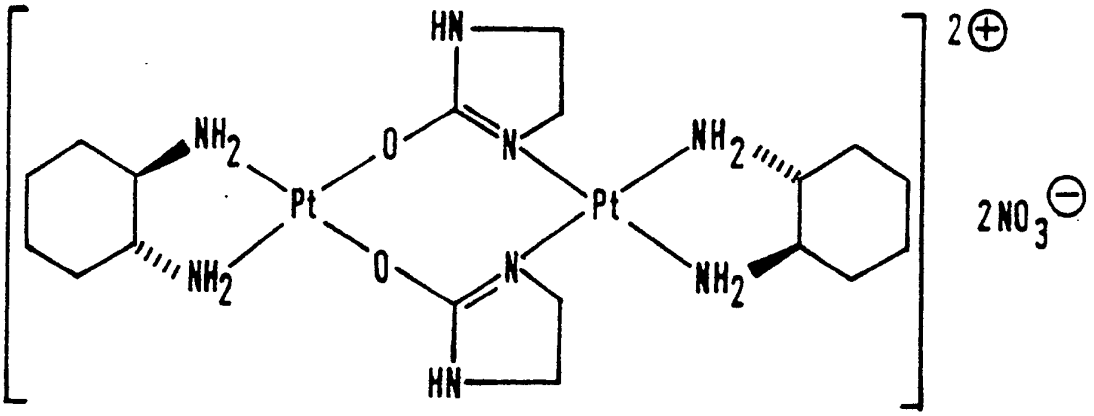
Eksempel 4

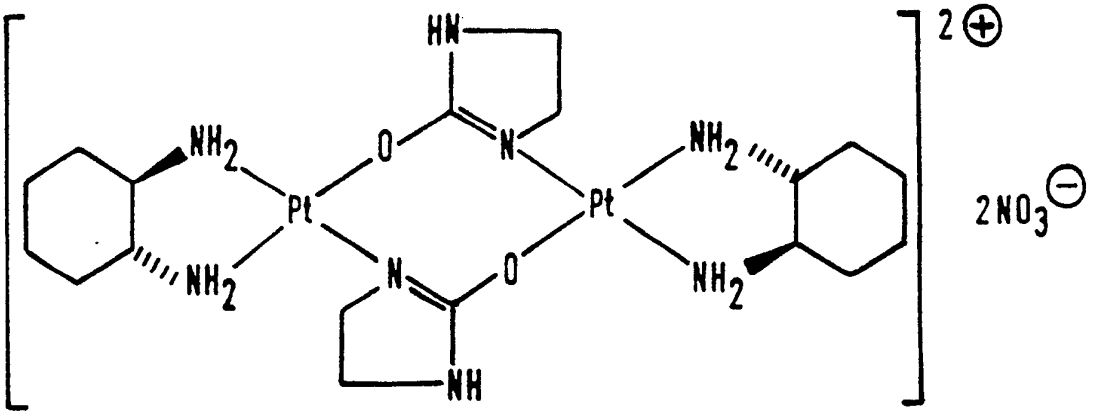
Hydroxo(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat

1,2 g ethylenurinstof blev sat til 150 ml af en vandig opløsning indeholdende 10 mmol cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)diaquaplatin(II)nitrat, og derpå tilsattes en tilstrækkelig mængde 1 N vandig opløsning af natriumhydroxid til indstilling af opløsningen pH-værdi til 7. Opløsningen omrørtes derpå ved 28°C i 10 dage, hvorpå den blev behandlet på samme måde som beskrevet i eks. 1 til opnåelse af 0,8 g af titelforbindelsen. Det kernemagnetiske resonansspektrum og det infrarøde spektrum for det resulterende produkt var identisk med spektrerne for produktet, der blev opnået som beskrevet i eks. 1.

Eksempel 5

Hoved mod hoved bis(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat og hoved mod hale bis(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat





(i) 6,8 g ethylenurinstof blev sat til 400 ml af en vandig opløsning indeholdende 7,51 g bis[hydroxo-cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat (der var fremstillet som beskrevet i eksemplet Fremstilling), og den resulterende blanding omrørtes under opvarmning deraf til 50°C i 16 timer. Ved afslutningen af dette tidsrum blev uopløseligt materiale i reaktionsblandingen filtreret fra, og vandet i filtratet afdampedes under formindsket tryk til opnåelse af ca. 15 ml af en inddampet opløsning. Ca. 100 ml ethanol og ca. 500 ml diethylether blev sat til denne inddampede opløsning, og præci-

pitatet, som dannedes, blev opsamlet ved filtrering. Præcipitatet blev påført på en kromatografisøjle indeholdende ca. 1 l "Diaion" CHP 20P-harpiks og søjlen elueredes med vand. De to isomerer af titelforbindelsen (hoved mod hoved- og hoved mod hale-isomererne) blev elueret separat, og de separate eluater frysetørredes. Der opnåedes 0,9 g isomer (1) fra den første eluering, medens 1,3 g isomer (2) opnåedes fra den anden eluering. Det er indtil videre ikke blevet identificeret, hvilken isomer, der er den ene eller den anden.

Isomer (1)

Kernemagnetisk resonansspektrum (400 MHz, D_2O)
δ ppm:
0,93 (4H, triplet),
1,03 (2H, kvartet),
1,06 (2H, kvartet),
1,37 (4H, dublet),
1,80 (4H, dublet),
2,05 (4H, multiplet),
3,13 (4H, multiplet),
3,62 (4H, multiplet).

Isomer (2)

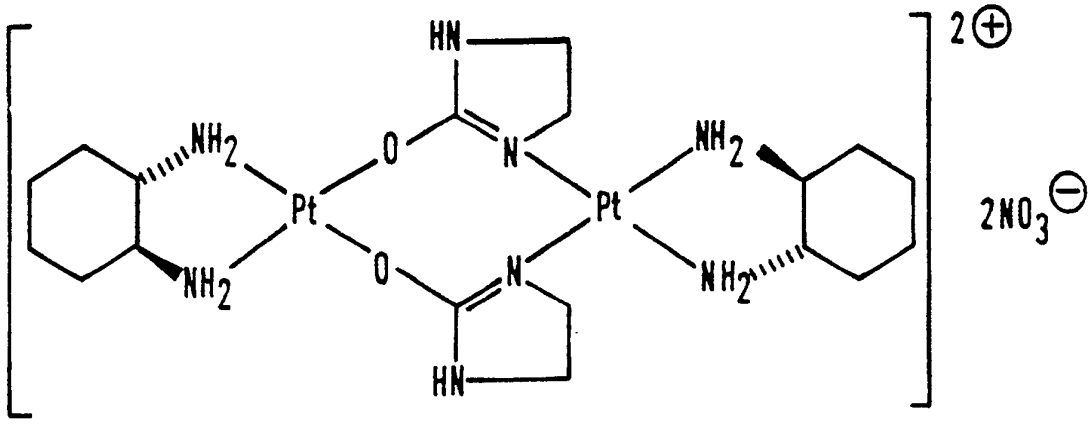
Kernemagnetisk resonansspektrum (400 MHz, D_2O)
δ ppm:
0,95 (4H, triplet),
1,05 (4H, multiplet),
1,35 (4H, dublet),
1,80 (4H, multiplet),
1,99 (1H, multiplet),
2,20 (3H, multiplet),
3,23 (4H, multiplet),
3,90 (4H, multiplet).

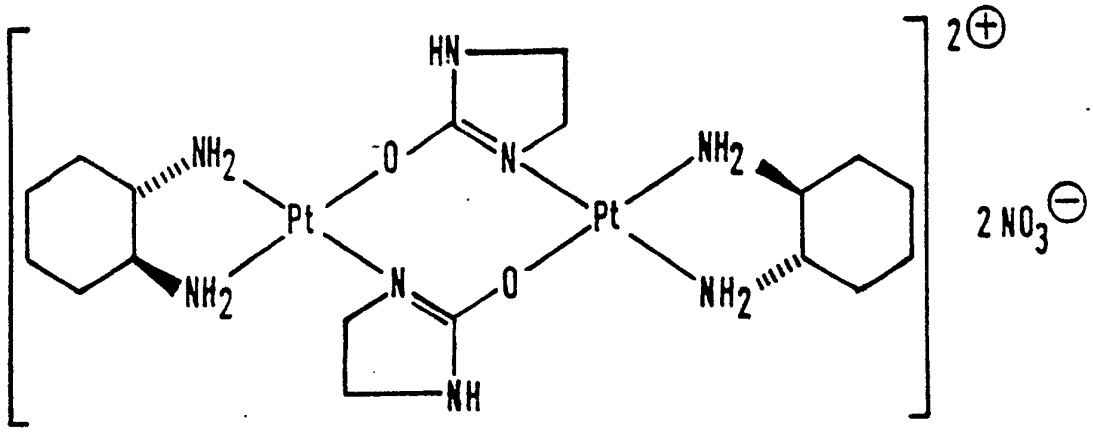
(ii) 0,34 g ethylenurinstof blev sat til 10 ml af en vandig opløsning indeholdende 1 mmol cis-(trans-(1)-diaminocyclo-

hexan)diaquaplatin(II)nitrat, og derpå blev en tilstrækkelig mængde 1 N vandig opløsning af natriumhydroxid tilsat til indstilling af opløsningens pH-værdi til 7. Den resulterende opløsning omrørtes ved 28°C i 1 dag og blev derpå omrørt ved 50°C i 16 timer. Reaktionsblandingen blev derpå behandlet på samme måde som i eks. 5 (i) ovenfor til opnåelse af 0,8 g isormer (1) og 0,12 g isomer (2), der har samme fysiske egenskaber som produkterne ifølge eks. 5 (i).

Eksempel 6

Hoved mod hoved bis(ethylenurinstof-N,O-)-bis[cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat og hoved mod hale bis(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat





(i) Den i eks. 5 (i) beskrevne procedure blev gentaget, men under anvendelse af bis[hydroxo-cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat som udgangsmaterialet, til opnåelse af to isomerer af titelforbindelsen, hvorhos disse isomerers kernemagnetiske resonansspektrer er identiske med spektrerne for de respektive isomerer, der er opnået som beskrevet i eks. 5 (i).

(ii) Den i eks. 5 (ii) beskrevne procedure blev gentaget, men under anvendelse af en vandig opløsning indeholdende 1 mmol cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)diaquaplatin(II)nitrat som udgangsmateriale, til opnåelse af de samme to isomerer, som ovenfor er omtalt i eks. 6 (i).

Eksempel 7

680 mg sølvnitrat opløstes i 14 ml vand, og derpå blev 760 mg cis-dichlor(trans-1,2-diaminocyclohexan)platin(II) sat til opløsningen. Opløsningen blev omrørt natten over ved stuetemperatur, medens den blev beskyttet mod lys v.h.a. aluminiumfolie. Ved afslutningen af dette tidsrum blev det resulterende præcipitat af sølvchlorid filtreret fra, og 344 mg ethylenurinstof blev derpå sat til det resulterende filtrat. En tilstrækkelig mængde 1 N vandig natriumhydroxidopløsning blev derpå sat til blandingen til indstilling af dens pH-værdi til 7. Blandingen omrørtes derpå ved stuetemperatur i 12 timer, hvorpå den blev inddampet ved afdampning under formindsket tryk til opnåelse af 3 ml af en koncentreret vandig opløsning. 70 ml ethanol og 60 ml diethylether blev sat til denne koncentrerede opløsning, og det dannede præcipitat opsamledes ved filtrering til opnåelse af 435 mg af et platin-ethylurinstof-kompleks i form af et farveløst pulver. Dette kompleks er en blanding af dl-forbindelsen svarende til forbindelsen ifølge eks. 1 og dl-forbindelser svarende til de to isomerer af forbindelsen ifølge eks. 5.

Infrarødt absorptionsspektrum (KBr) $\nu_{max}cm^{-1}$:
3200, 3100, 1690, 1630, 1390, 1130.

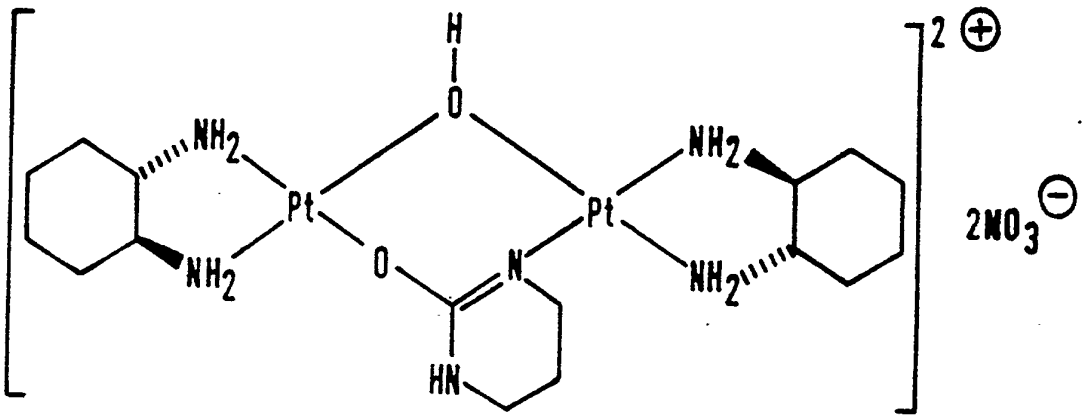
Eksempel 8

312 mg sølvsulfat og 380 mg cis-dichlor(trans-1,2-diaminocyclohexan)platin(II) blev suspenderet i 7 ml vand, og suspensionen omrørtes over et oliebad, som holdtes på en badtemperatur på 50°C i 4 dage, medens reaktionsblandingen beskyttedes mod lys v.h.a. aluminiumfolie. Det udfældede sølvchlorid blev filtreret fra, hvorpå 172 mg ethylenurinstof blev sat til filtratet. En tilstrækkelig mængde 1 N vandig natriumhydroxidopløsning blev tilsat til indstilling af reaktionsblandingens pH-værdi til 7. Blandingen omrørtes derpå ved 50°C i 10 timer. Ved afslutningen af dette tidsrum inddampedes reaktionsblandingen ved afdampning under formindsket tryk til opnåelse af ca. 2 ml af en koncentreret vandig opløsning. 15 ml ethanol og 50 ml diethylether blev sat til denne koncentrerede opløsning til dannelse af et olieagtigt præcipitat. Isopropanol blev sat til det olieagtige præcipitat, og det resulterende pulverformede præcipitat blev derpå opsamlet ved filtrering til opnåelse af 376 mg af sulfatet af et ethylenurinstof-platinkompleks i form af et farveløst pulver. Dette kompleks er en blanding af sulfaterne af dl-forbindelsen svarende til forbindelsen ifølge eks. 1 og af dl-forbindelserne svarende til de to isomerer af forbindelsen ifølge eks. 5.

Infrarødt absorptionsspektrum (KBr) $\nu_{max}cm^{-1}$:
3200, 3080, 1690, 1630, 1180.

Eksempel 9

Hydroxo(propylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat



100 mg propylenurinstof blev sat til en vandig opløsning indeholdende 390 mg bis[hydroxo-cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat (fremstillet på lignende måde som det i eksemplet Fremstilling beskrevne), og man lod den resulterende blanding henstå ved 40°C i en måned. Ved afslutningen af dette tidsrum afdestilleredes vand fra reaktionsblandingen under formindsket tryk, og resten blev påfyldt på en kromatografisøjle indeholdende ca. 50 ml "Diaion" CHP 20P-harpiks. Søjlen elueredes derpå med vand, og eluatet frysetørredes til opnåelse af 302 mg af titelforbindelsen.

Kernemagnetisk resonansspektrum (270 MHz, D_2O)
δ ppm:
0,8-1,3 (8H, multiplet),
1,3-1,6 (8H, multiplet),
1,75-2,0 (4H, multiplet),
2,2-2,45 (2H, multiplet),
2,9-3,0 (2H, multiplet),
3,4-3,5 (2H, triplet).

Biologisk virkning

Ved de følgende forsøg var de benyttede forsøgsdyr 8 til 9 uger gamle hunmus tilhørende CDF_1-stammen, der hver vejede 20-25 g. L1210 standardleukæmicellerne blev leveret af dr. T. Yamamoto fra the Institute of Medical Science, University og

Tokyo, Japan, medens den cisplatinresistente L1210-cellelinie (L1210/CDDP) blev leveret af dr. T. Tashiro fra the Cancer Chemotherapy Centre, Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo, Japan. Den cisplatinresistente cellelinies cisplatinresistensgrad i henseende in vitro følsomhed var 40 gange så stor som L1210-stamcelleliniens følsomhed.

Forsøg 1

CDF_1-mus blev podet intraperitonealt med L1210 celler (10^5 celler/mus). Forbindelsen ifølge opfindelsen (forbindelsen fremstillet som beskrevet i eks. 1) og carboplatin blev hver opløst i 5% v/v vandig mannitol, medens cisplatin blev opløst i en 5% v/v opløsning af mannitol i fysiologisk saltvand. Hvert lægemiddel blev injiceret intraperitonealt på dagene 1 og 4 efter tumorimplantation. Antallet af mus i hver forsøgsgruppe var 6.

Stigningen i levetid (ILS) blev beregnet som følger:

$$ILS\% = [(S_t/S_u) - 1] \times 100$$

hvori:

S_t = vægtet mediantal af dages overlevelse for behandlede mus, og

S_u = vægtet mediantal af dages overlevelse for ubehandlede mus.

Resultaterne er vist i tabel 1.

Forsøg 2

Procedurerne beskrevet i forsøg 1 blev gentaget nøjagtigt med den undtagelse, at tumorcellerne var cisplatinresistente L1210/CDDP celler. Resultaterne er vist i tabel 2.

Tabel 1

Forbindelse	Dosis (mg/kg)	Vægtændring (g) 1)	Med.S.T. (dage) 2)	ILS (%) 3)	Overlevende på dag 42
Ubehandlet kontrol	-	+1.9	8.4	-	0/6
Forbindelse ifølge eks. 1	5	+2.6	9.0	7	0/6
	10	+2.8	11.0	31	0/6
	20	+2.2	16.0	90	0/6
	40	+0.4	35.0	317	2/6
	80	+0.2	>41.7	>396	3/6
	160	-3.0	>41.7	>396	3/6
	240	- (2/6, toksisk)	>41.9	>399	4/6
	320	- (5/6, toksisk)	4.8	-43	0/6
carboplatin	5	+1.3	9.0	7	0/6
	10	+2.0	9.0	7	0/6
	20	+0.8	9.0	7	0/6
	40	+0.4	9.2	10	0/6
	80	-0.5	10.3	23	0/6

Tabel 1 (fortsat)

Forbindelse	Dosis (mg/kg)	Vægtændring (g) 1)	Med.S.T. (dage) 2)	ILS (%) 3)	Overlevende på dag 42
cisplatin	0.625	+1.6	9.1	8	0/6
	1.25	+2.5	9.7	15	0/6
	2.5	+1.7	13.3	58	0/6
	5	-3.5	39.0	364	2/6
	10	-5.5	10.3	23	0/6
		(6/6,)			

Bemærkninger:

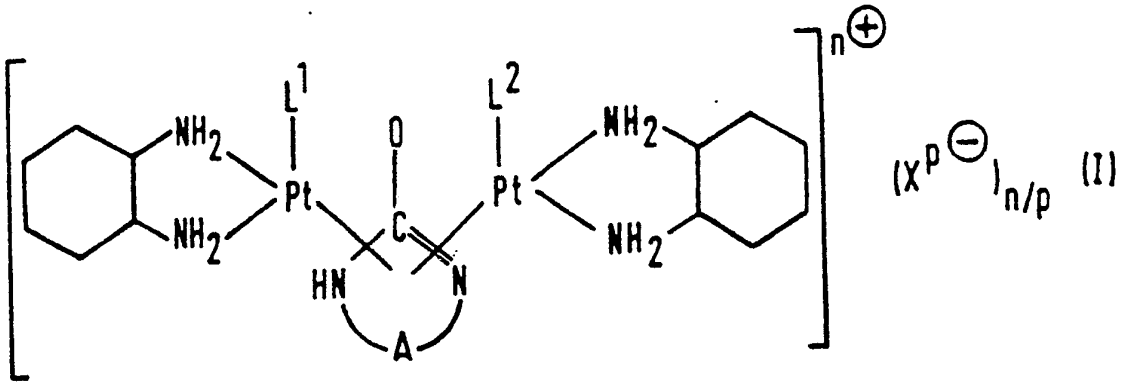
1) Ændring i legemsvægt fra dag 1 til dag 7
2) Middeloverlevelsestid (dage)
3) Stigning i levetid

Tabel 2

Forbindelse	Dosis (mg/kg)	Legemsvægt-ændring fra dag 1 til dag 7	Middelo-verlevel-sestid, dage	ILS(%)	Overleven-de på dag 30
Ubehandlet kontrol	-	+2.6	9.1	-	0/12
Forbindelse ifølge eks. 1	5	+2.4	10.8	19	0/6
	10	+2.3	13.3	46	1/6
	20	+2.2	20.0	120	2/6
	40	-0.3	>30.0	>230	6/6
	80	-0.5	>30.0	>230	6/6
	160	-1.8	>30.0	>230	6/6
carboplatin	30	+1.2	9.9	9	0/6
	60	-0.6	9.8	8	0/6
cisplatin	2.5	+1.0	9.3	2	0/5
	5.0	-1.9	9.9	9	0/6

Patentkrav.

1. Forbindelse med formlen (I):

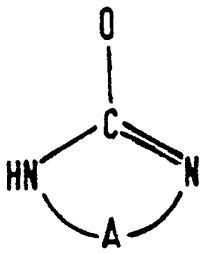


(I)

kendetegnet ved, at

A betegner en alkylengruppe med 2 eller 3 carbonatomer,

L^1 og L^2 er ens eller forskellige og hver betegner vand, en nitration, en halogenidion, en perchloration, en sulfation, en carbonation, en hydroxidion, en methoxidion eller en ethoxidion, eller L^1 og L^2 tilsammen betyder en nitration, en chloridion, en sulfation, en hydroxidion, en ethoxidion, en perchloration eller en carbonation eller en gruppe med formlen (II):



(II)

hvori A er som ovenfor defineret,

X^{p-} betegner en anion med valensen p, og

n er 0, 1, 2 eller 3.

2. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at L^1 og L^2 betegner vand.

3. Forbindelse ifølge kravene 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at XP^- betegner en nitration, en perchloration, en sulfation eller en carbonation.

4. Forbindelse ifølge kravene 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at XP^- betegner en nitration eller en sulfation.

5. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at L^1 og L^2 tilsammen betegner en hydroxidion.

6. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at L^1 og L^2 tilsammen betegner nævnte gruppe med formlen (II).

7. Hydroxo(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat.

8. Hydroxo(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat.

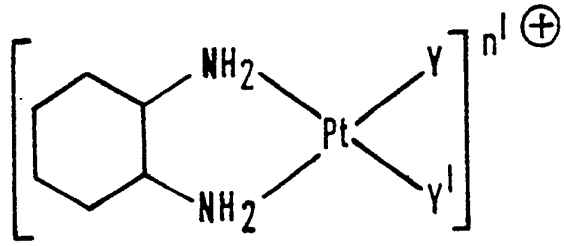
9. Hydroxo(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(cis-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat.

10. Bis(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(l)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat.

111 Bis(ethylenurinstof-N,O)-bis[cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat.

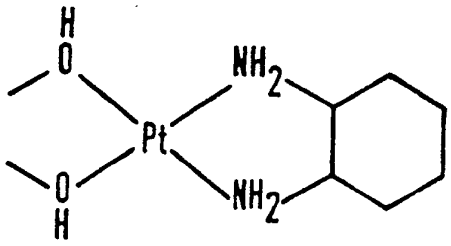
12. Hydroxo(propylenurinstof-N,O-)-bis[cis-(trans-(d)-1,2-diaminocyclohexan)platin(II)]nitrat.

13. Fremgangsmåde til fremstilling af en forbindelse ifølge ethvert af kravene 1 til 12, k e n d e t e g n e t ved, at den omfatter omsætning af et platinkompleks med formlen (III):



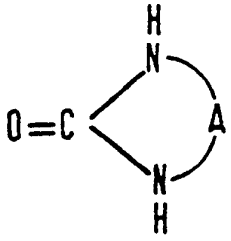
(III)

hvori X^{p-} er som defineret i krav 1,
n' er 0, 1 eller 2, og
Y og Y' er ens eller forskellige og hver betegner vand, en nitration, en hydroxidion eller en perchloration, eller Y og Y' er forbundet med hinanden til dannelse af en sulfat- eller carbonation eller en gruppe med formlen (IV):



(IV)

med en forbindelse med formlen (V):



(V)

hvori A er som defineret i krav 1.

14. Farmaceutisk middel omfattende et antitumormiddel og en farmaceutisk acceptabel bærer eller et farmaceutisk accepta-

belt fortyndingsmiddel, k e n d e t e g n e t ved, at antitumormidlet er mindst én forbindelse ifølge ethvert af kravene 1 til 12.