

793/92

55.939/SZE

Eljárás

transz-platina
Új kémiai vegyületek

és ezeket hatóanyagként
tartalmazó
gyógyszerkészítmények
előállítására

30127
KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

JOHNSON MATTHEY PUBLIC LIMITED COMPANY, LONDON, NAGY-BRITANNIA

A bejelentés napja: 1992. 03. 09.

Elsőbbsége: 1991. 03. 09. (91/05037.7),

NAGY-BRITANNIA

K I V O N A T

A találmány szerinti megoldás az (I) általános képletű transz-platina(IV) vegyületekre vonatkozik, amely képletben

az L^1 és L^2 ligandum egyaránt amincsoport, azzal a kikötéssel, hogy L^1 és L^2 közül mindkettő nem NH_3 , és

az X és Y jelentése egyaránt halogénatom, hidroxilcsoport vagy karboxilát-csoport, vagy

Y_2 vagy X_2 és Y_2 dikarboxilát-csoport, továbbá amely képletben az L^1 és L^2 ligandumok a platina atomon egymáshoz viszonyítva transz helyzetben kapcsolódnak.

Ezek a vegyületek meglepően nagy aktivitást mutatnak rákos sejtekkel szemben, ellentétben azzal az eddigi állásponttal, hogy valamennyi transz-platina vegyület ilyen szempontból inaktív.

A találmány tárgyát képezi továbbá a (I) általános képletű transz-platina vegyületek előállítási eljárása, valamint a vegyületet tartalmazó valamennyi gyógyszerkészítmény. A gyógyszerkészítmények a transz-platina(IV) vegyületek mellett gyógyászatilag elfogadott oldószereket vagy hordozóanyagokat tartalmaznak, amelyek önmagukban ismert módon egységnyi adagok formájában kerülnek kiszerezésre.



793/92

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY



A

55.939/SZE

S.B.G. & K.
Budapesti Nemzetközi
Szabadalmi Iroda
H-1061 Budapest, Dalszínház u. 10.
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

3047

Iff. Szentpéteri Ádám
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Budapesti Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja
H-1061 Budapest, Dalszínház u. 10.
Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

NU 207

= 004E 15/00
A 6112 39/295

Eljárás *franz-platina-*
Uj ~~kémiai~~ vegyületek előállítása
és ezeket hatóanyagként
tartalmazó
gyógyszerkészítmények

JOHNSON MATTHEY PUBLIC LIMITED COMPANY, LONDON,

NAGY-BRITANNIA

Feltaláló:

BARNARD Christopher Francis James,
CAVERSHAM, NAGY-BRITANNIA

A bejelentés napja: 1992. 03. 09.

Elsőbbsége: 1991. 03. 09. (91/05037.7),

NAGY-BRITANNIA

A találmány tárgya kémiai vegyületek kifejlesztése, még közelebbről, a találmány rákos sejtek leküzdésére képes új platinatartalmú vegyületekre vonatkozik.

Amióta felfedezték a cisz-[PtCl₂(NH₃)₂] ("ciszplatin") rákos daganat elleni hatását, és annak hatékony gyógyszerként történő alkalmazása széles körben elterjedt rákos megbetegedésben szenvedő paciensek gyógykezelésére, világszerte különböző kutatócsoportok nagyarányú erőfeszítéseket tesznek arra, hogy javított tulajdonságokkal rendelkező új platina vegyületeket állítsanak elő. Amellett, hogy különböző típusú rákos megbetegedésekkel szemben hatásos és/vagy a pácienseken jelentkező csökkentett mellékhatásokkal rendelkező új vegyületek kifejlesztésével próbálkoznak, erőfeszítéseket tesznek olyan vegyületek felkutatására, amelyek olyan rákos sejtvonallakkal szemben aktívak, amelyek a hagyományosan elfogadott rákellenes gyógyszereknek ellenállnak. Abban az esetben, ha a kemoterápiás kezelés során a platinatartalmú vegyület a tumor valamennyi rákos sejtjét nem irtja ki teljes egészében, lehetséges, hogy azok a rákos sejtek, amelyek a platinatartalmú vegyülettel szemben rezisztensek, a tumort újból benépesítik. Ebben az esetben általában szükségszerű, hogy egyéb kezelési módokat, mint például egyéb kemoterápiás hatóanyagok adagolását vagy sugárterápiát alkalmazzunk.

A ciszplatin és a második generációs platina vegyület a carboplatin [Pt(CBDCA)(NH₃)₂], amely képletben CBDCA = 1,1-ciklobután-dikarboxilát, amelyek közül jelen esetben a

cisz-platina(II) vegyületek kerülnek felhasználásra. A transz-platina(II) vegyületekről széles körben ismert, hogy nem rendelkeznek vagy csak igen csekély mértékben rendelkeznek rákos sejtekkel szembeni szelektív aktivitással. A szerkezeti aktivitással kapcsolatos kiterjedt kutatások eredményeként született szakvélemények hatalmas mennyisége mutatja, hogy csupán a cisz vegyületektől várható, hogy szelektív anti-tumor aktivitással rendelkezzenek. Például, a legkorábbi molekulaszervezettől függő aktivitás vizsgálatot Cleare ismertette a Co-ordination Chemistry Reviews, 12, 349, 1974 irodalmi helyen, amely referátum azt mutatja be, hogy az aktív cisz-platina vegyületek, mint például a Ciszplatin transz-izomerjei inaktívak.

Ugyanez ez a szerző 1983-ban ("Structure-Activity Relationships of Anti-tumor Agents"), azaz "A tumor elleni hatóanyagok és a molekulaszervezetből adódó aktivitás összefüggései" című (Ed D N. Reinhardt et al, Martinus Nijhoff Publishers, The Hague (1983)] irodalmi helyen publikált munkája alapján világossá válik, hogy mind a platina(II), mind a platina(IV) vegyületek esetében sok vizsgálati eredmény igazolta, hogy a transz-izomerek inaktívak. Nagyszámú cisz-platina(IV) vegyületet javasoltak, és azok közül néhányat potenciális gyógyászati hatóanyagként is tanulmányoztak. A platina(IV) vegyületek hatásmechanizmusára vonatkozóan általánosan elfogadott elmélet szerint azok a testben a megfelelő platina(II) vegyületté alakulnak, és - amint azt már említettük - a keletkező transz-platina(II)

vegyületek a kívánt aktivitással nem rendelkeznek.

Nagyon sok, a technika állásához tartozó szabadalmi publikáció vonatkozik rákellenes hatású platina vegyületekre. Ezek a publikációk szakemberekhez szólnak, és ebből kifolyólag gyakran pontosan nem kerülnek meghatározásra, hogy ezek a vegyületek valójában cisz-izomerek. A fentiek alapján szakember számára nem lenne kézenfekvő, ha a transz-izomerekről bebizonyosodna, illetve ezekről a transz-izomerekről elvárható lenne, hogy számottevő rákellenes aktivitással rendelkeznek. Ráadásul, szakember világosan látná, hogy az ismertetett szintézis út mindig cisz-izomert szolgáltat.

Kutatásaink során meglepődve azt tapasztaltuk, hogy a transz-platina(IV) vegyületek bizonyos csoportja a rákos sejtekkel végzett vizsgálati eredmények alapján használható aktivitással rendelkezik, és figyelemre méltó aktivitást mutat a ciszplatin-rezisztens sejtvonalakkal szemben. Jóllehet, nem áll szándékunkban ezt a felismerést valamely elmélettel összekötni, azonban valószínűnek látszik, hogy ezek a transz-platina(IV) vegyületek különböző úton-módon hatnak, mint amelyet a cisz-platina(IV) vegyületek esetében lehetségesnek tartanak.

A találmány szerinti megoldás a (I) általános képletű új transz-platina(IV) vegyületekre vonatkozik, amely képletben az L^1 és L^2 ligandum egyaránt amin csoport, azzal a kikötéssel, hogy L^1 és L^2 közül nem mindkettő NH_3 , és

az X és Y jelentése egyaránt halogénatom (különösen klór-atom), hidroxilcsoport vagy karboxilát-csoport, vagy Y_2 vagy X_2 és Y_2 dikarboxilát-csoport,

továbbá amely képletben az L^1 és L^2 ligandumok a platina atomhoz egymáshoz viszonyítva transz helyzetben kapcsolódnak.

Előnyösen, X jelentése klóratom és Y jelentése hidroxil-csoport.

Az előnyös ligandumok körébe tartoznak az $R-NH_2$ általános képletű primer aminok, amely képletben R jelentése aralkil, például benzilamin csoport, vagy R jelentése egyenes szénláncú alkil csoport, például 1 - 10 szénatomos, még előnyösebben 1 - 8 szénatomos alkil csoport, elágazó szénláncú, például 1 - 8 szénatomos alkil csoport, vagy cikloalkil csoport, mint például az 5 - 7 szénatomos cikloalkil csoport, valamint az összekapcsolt cikloalkil, mint például a 2-norbornil-, vagy adamantil-csoport. Az R csoportok közül különösen előnyösek a cikloalkil- vagy a 3 - 7 szénatomból álló elágazó szénláncú alkil csoportok. Szekunder aminok, mint például a dietil-amin, szintén megfelelőek, valamint a terciar-aminok, mint például a kuinuklidin szintén felhasználhatók. A ligandumok a heterociklusos aminok csoportjába is tartozhatnak, ide sorolhatók például a morfolin vagy a piridin.

A találmány szerinti vegyületek előállításai eljárása során a (II) általános képletű transz-platina(II) vegyületet, amely képletében L^1 és L^2 azonosak a fentiekben defi-

niáltakkal, valamint X halogénatom, a kívánt Y csoport leadására képes vegyülettel reagáltatjuk, és abban az esetben, ha az X csoport OH csoportot jelöl, a halogénatomot hidroxilcsoportra cseréljük, valamint ahol Y vagy X és Y karboxilát-csoport, az Y vagy X és Y-al jelölt OH-csoportot a megfelelő vegyülettel acilezzük.

A találmány szerinti előállítási eljárás megvalósítása történhet egy vagy több lépésben. A (II) általános képletű vegyületet főként klóratom leadására képes vegyülettel vagy hidrogén-peroxiddal reagáltathatjuk, annak megfelelően, hogy a (Ia) vagy (Ib) vegyületet kívánjuk előállítani, illetve abban az esetben, amikor Y jelentése karboxilát csoport, a megfelelő (Ib) vegyületnek, például savkloriddal vagy sav-anhidrid felhasználásával történő acilezését hajtjuk végre.

A reakció kényelmes és biztonságos végrehajtása érdekében előnyös, ha a (Ia) vegyület tetraklór formájának előállítása céljából a megfelelő (Ib) vegyületet hidroklor-savval, mint a klorid ion leadására képes vegyülettel kezeljük, noha e célból a (II) általános képletű vegyületek klórgázzal történő oxidációja is alkalmazható.

Az eljárás kivitelezésére alkalmas módon vizes közegben kerül sor, a platina vegyületeket oldat vagy szuszpenzió formájában kívánt esetben legfeljebb 70 °C-os hőmérsékleten és kívánt esetben 1 - 3 órán keresztül reagáltatjuk.

A reakcióelegyet ezt követően betöményítjük, lehűtjük, és a terméket leszűrjük. Mindezeket a hagyományos tisztítási lépések és minőségi analízisek elvégzése követheti.

A fent ismertetett eljárások és eljárásváltozatok a platina vegyületek előállításában tapasztalatokat szerzett vegyészek számára ismertek, akik mindezek alapján képesek arra, hogy az optimális termékek előállítása céljából a különböző reakciókörülmények közül kiválasszák a megfelelőket, ideértve elsősorban az oldószeres és a kémiai reagensek kiválasztását. Tapasztalt platina vegyész számára kézenfekvő, hogy a különböző reagensek és végtermékek oldhatósága és hidrofilitása különbözik egymástól, és a megfelelő oldószerrendszert, reakcióidőt és reakcióhőmérsékleteket fogja kiválasztani.

A transz-platina(II) alapanyagot a (III) általános képletű cisz-platina(II) kiindulási anyag kezelése útján, emelt hőmérsékleten, hidrohalosavval, különösen sósavval történő reagáltatása útján állíthatjuk elő, amely eljárás eredményeként a (II) általános képletű vegyületet és az L¹ és L² aminok savval képezett sóit kapjuk.

A (III) általános képletű vegyületek pedig cisz[PtCl₂(L¹)₂]-nek L² ligandumot tartalmazó amin vegyülettel vizes oldatban vagy egyéb megfelelő, az előzőekben ismertetett oldószerben, emelt hőmérsékleten történő reagáltatása útján állíthatjuk elő.

A találmány szerinti megoldás igen kritikus jellemzője, hogy az L¹ és L² ligandumok egymáshoz viszonyítva transz-helyzetben helyezkedjenek el. A (I) általános képletű vegyületben fennmaradó egyéb csoportok vagy atomok cisz- vagy transz-helyzetűek lehetnek, és úgy gondoljuk, hogy az X és Y

csoportok kapcsolódási helyeit tekintve viszonylag könnyen végrehajtható a helyzeti izomerek izomerizációja.

Ahogy már említettük, a (I) általános képletű vegyületek a szabványi előírásoknak megfelelő in vitro és bizonyos in vivo vizsgálatok szerint olyan hatást fejtenek ki, amelyek alapján azok alkalmasak rákos megbetegedések kezelésére.

A találmány értelmében a találmány tárgyát képező vegyületek gyógyhatású kompozíciók aktív hatóanyagaiként használhatók fel. Ezek a gyógyhatású készítmények a (I) általános képletű vegyületet gyógyszerészetileg elfogadott hordozóhoz vagy oldószerhez hozzákeverve tartalmazzák. A találmány tárgyához tartozik továbbá a (I) általános képletű vegyület rákos megbetegedések kezelésére szolgáló gyógyszerek előállítására történő felhasználása is.

Az aktív hatóanyagok adagolására olyan gyógyszerkészítmények formájában kerülhet sor, amelyek kialakítása önmagában jól ismert alapelvek szerint történik, és amely magában foglalja a vegyület, előnyösen egységnyi dózisának és az adott gyógyszerészetileg elfogadott oldószernek vagy hordozónak a kombinációját. Ezek a készítmények elkészíthetők injekciós oldatok vagy szuszpenziók formájában, kiszerezhetők kapszulákban, tabletták, dragsék vagy egyéb szilárd készítmények alakjában, vagy szájon át történő beadásra alkalmas oldatok vagy szuszpenziók formájában, illetve pesszárriumok vagy kúpok alakjában, vagy az előzőek hosszantartó felszívódást biztosító formáiban. A

felhasználásra alkalmas hígítószer, hordozóanyagok, kötőanyagok és más egyéb komponensek önmagukban a technika állásából ismertek. Kívánatos lehet helyi kezelésre alkalmas valamely kenőcs vagy krém készítmények előállítása is, illetve például bőrön át felszívódó tapaszként is alkalmazható.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmények a hagyományos farmakológiai eljárásoknak megfelelően meghatározott dózisokat tartalmazhatnak, alkalmas módon az emberi szervezetben naponta 0,1 - 100 mg/testtömeg kg dózistartományban alkalmazhatók, a napi dózist egyszerre, vagy számos kisebb egységekre elosztva adagolhatjuk. Az előnyös dózistartomány naponta 1 - 30 mg/testtömeg kg.

A vegyületek önmagukban vagy egyéb más kemoterápiás szerekkel, mint például ciszplatinnal kombinálva alkalmazhatók. Akár az egyszeri kezelést választjuk, akár a folyamatos kezelést alkalmazzuk, illetve a szer adagolása egyéb gyógyszerekkel együttesen végzett terápia részét képezi, minden esetben megszűnnek vagy csökkennek a mellékhatások, illetve növekszik a biológiai felhasználhatóság, ezen túlmenően egyéb más kezelési módokkal, mint például a sugárkezeléssel is kombinálható.

A találmány szerinti megoldást most példák segítségével ismertetjük.

Példák

1. Példa

6,0 g (20 mmól) cisz-[PtCl₂(NH₃)₂]-ből és 120 ml vízből készült szuszpenziót kis feleslegben alkalmazott ciklopentil-aminnal (c-C₅H₉NH₂; 3,5 g, 41 mmól) kezeltünk. Az elegyet kevertük, és 80 - 90 °C hőmérsékletre melegítettük fel 3 órán keresztül. Az oldatot aktívszénnel kezeltük, majd leszűrtük.

A szűrletet koncentrált sósavval kezeltük (körülbelül 25 ml), és 10 órán keresztül enyhén refluxáltattuk. Miután jeges fürdőben lehűttöttük az oldatot, a terméket leszűrtük, és vízzel mostuk, majd ezt követően levegőben és vákuum segítségével megszárítottuk. A kapott terméke mennyisége 6,0 g (81,5 %-os kitermelés).

4,0 g (10,9 mmól) transz-[PtCl₂(NH₃)(c-C₅H₉NH₂)] komplex terméket 80 ml vízben elkevertünk, és hidrogén-peroxidot (30 tömeg %, 6 ml, 52,9 mmól) adtunk hozzá. A szilárd anyag nedvesedésének elősegítésére kevés acetont használtunk fel, majd az elegyet kevertük, és körülbelül 70 °C-os hőmérsékletre melegítettük fel, és ezen a hőmérsékleten tartottuk 1,5 órán keresztül. A szuszpenziót hagytuk szobahőmérsékletre hűlni, majd ezt követően leszűrtük.

A szilárd terméket vízzel, majd ezt követően acetonnal, és végül dietil-éterrel mostuk, majd vákuum segítségével megszárítottuk. A kapott termék mennyisége 3,3 g (75,5 %-os kitermelés).

A transz-[PtCl₂(OH)₂(NH₃)(c-C₅H₉NH₂)] terméket HPLC-és

IR spektrofotometriás és elemi analízis segítségével azonosítottuk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	14,93	3,98	6,97	17,66
talált:	15,28	4,16	6,86	17,91

2. Példa

Az 1. példában leírtak szerint jártunk el, azonban az eljárás első szakaszában ciklohexil-amint használtunk fel. A transz-[PtCl₂(OH)₂(NH₃)-(C-C₆H₁₁NH₂)] terméket HPLC-és, IR spektrofotometriás és elemi analízis segítségével azonosítottuk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	17,13	4,36	6,73	17,05
talált:	17,19	4,11	6,58	17,45.

3. Példa

Az 1. példában leírtak szerint jártunk el, azonban ciklopentil-amin helyett izopropil-amint használtunk fel. A transz-[PtCl₂(OH)₂-(NH₃)((CH₃)₂CHNH₂)] terméket HPLC-és, IR spektrofotometriás és elemi analízis segítségével azonosítottuk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	9,58	3,75	7,45	18,85
talált:	9,43	3,15	7,08	19,40.

4. Példa

Az 1. példában leírtak szerint jártunk el, azzal a kivétellel, hogy a cikloepntil-amin helyett terciér-butil-amin-t használtunk fel. A terméket perhidrátként kristályosítottuk. A terméket IR spektrofotometriás és elemi analízis segítségével azonosítottuk. Az alapkomenst aceton felhasználásával porrá őröltük, és ezt a port azonosítottuk IR spektrofotometriás és elemi analízis segítségével. A terméket transz-[PtCl₂(OH)₂NH₃(t-C₄H₉NH₂)]-ként azonosítottuk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	12,31	4,10	7,18	18,20
talált:	12,10	4,07	6,94	18,29.

5. Példa

1,02 g (2,4 mmól) transz-[PtCl₂(OH)₂NH₃(c-C₆H₁₁NH₂)] komplexet, a 2. példában szereplő eljárással előállított terméket 10 ml ecetsavanhidridben szuszpendáltattuk, és egy héten át kevertettük az oldatot. Az eljárás eredményeként kapott csapadékot leszűrtük, és dietil-éterrel mostuk, majd vákuum alatt szárítottuk. A [PtCl₂(OCOCH₃)₂(NH₃)(c-C₆H₁₁NH₂)] cisz, cisz, transz izomert 68 %-os kitermeléssel nyertük ki. Annak szerkezetét elemi analízis, IR és Raman spektrofotometriás analízis segítségével vizsgáltuk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	24,00	4,40	5,60	14,20
talált:	24,16	4,33	5,52	14,11.

6. Példa

Az 1. példában leírtak szerint jártunk el, azonban az eljárás első lépésében ciklopentil-amin helyett metil-amint használtunk fel. A második lépésben a reakcióelegyet 5 napon keresztül kevertettük szobahőmérsékleten. A transz-
 $-\text{[PtCl}_2(\text{OH})_2\text{NH}_3(\text{MeNH}_2)]$ terméket elkülönítettük, és annak összetételéről és szerkezetéről meggyőződünk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	3,45	2,87	8,05	20,40
talált:	3,20	2,12	7,99	20,54

7. Példa

5 g (16,6 mmól) cisz- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ komplexet 50 ml vízben szuszpendáltunk, és 3,2 g (36 mmól) morfolint adtunk hozzá keverés közben. Az elegyet 75 °C-os hőmérsékletre melegítettük, amíg az összes szilárd anyag fel nem oldódott, majd ezt követően a hőmérsékletet 1 órán keresztül 50 °C-on tartottuk. Az elegyet hagytuk lehűlni szobahőmérsékletre.

50 ml-nyi telített nátrium-klorid-oldatot és koncentrált sósavat (a platinához viszonyítva 4 ekvivalens, 6 ml) adtunk az elegyhez, amelyet ezt követően visszafolyó hűtő alatt 5,5 órán keresztül melegítettünk. Az elegyet 1,5 órán keresztül jeges sófürdő segítségével hűtöttük le, majd a terméket szűrés útján kaptuk. A szilárd anyagot 5 x 15 ml-nyi jeges vízzel mostuk, majd 3 x 20 ml metanollal, végül vákuumban megszáritottuk.

Az alább következő 8. példa második eljárási lépését

követve kaptuk a transz-[PtCl₂(OH)₂NH₃ (morfolin)] terméket, amelyet elválasztottunk, és megvizsgáltuk annak összetételét és szerkezetét.

	C	H	N	Cl
elméleti:	11,88	3,46	6,93	17,57
talált:	11,67	3,31	6,89	17,53.

8. Példa

6 g (20 mmól) cisz-[PtCl₂(NH₃)₂] 100 ml dimetil-acetamid dal képezett oldatát 6,33 g (40 mmól) N-decil-aminnal kezeltünk, és visszafolyó hűtő alatt 1 órán keresztül melegítettünk. Az elegyet ezt követően egészen a kiszáradásig bepároltuk, és a szilárd anyagot 50 ml (1 N) sósav és 50 ml telített nátrium-klorid-oldat elegyében ismételen szuszpendáltattunk. Az elegyet visszafolyó hűtő alatt összesen 25 órán keresztül melegítettük, amely idő alatt további koncentrált sósavat (40 ml) adtunk hozzá. Miután az oldat lehűlt, a t-[PtCl₂(NH₃)(C₁₀H₂₁NH₂)] terméket szűréssel eltávolítottuk, a terméket vízzel mostuk, majd levegőn és végül vákuumban megszáritottuk. A kapott termék mennyisége 3,88 g (43,9 %-os kitermelés).

Ennek a terméknek 3,5 g-jából (7,9 mmól) 10 ml n-heptán segítségével sűrű szuszpenziót készítettünk, amelyet 9 ml 15 tömeg %-os (40 mmól) hidrogén-peroxiddal kezeltünk. Az elegyet visszafolyó hűtő alatt (körülbelül 80 °C hőmérsékleten, összesen 4 órán keresztül) melegítettük. Miután az elegyet egy éjszakán keresztül hagytuk lehűlni, a terméket szűréssel

6. Példa

Az 1. példában leírtak szerint jártunk el, azonban az eljárás első lépésében ciklopentil-amin helyett metil-amint használtunk fel. A második lépésben a reakcióelegyet 5 napon keresztül kevertettük szobahőmérsékleten. A transz-
-[PtCl₂(OH)₂NH₃(MeNH₂)] terméket elkülönítettük, és annak összetételéről és szerkezetéről meggyőződünk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	3,45	2,87	8,05	20,40
talált:	3,20	2,12	7,99	20,54

7. Példa

5 g (16,6 mmól) cisz-[PtCl₂(NH₃)₂] komplexet 50 ml vízben szuszpendáltunk, és 3,2 g (36 mmól) morfolint adtunk hozzá keverés közben. Az elegyet 75 °C-os hőmérsékletre melegítettük, amíg az összes szilárd anyag fel nem oldódott, majd ezt követően a hőmérsékletet 1 órán keresztül 50 °C-on tartottuk. Az elegyet hagytuk lehűlni szobahőmérsékletre.

50 ml-nyi telített nátrium-klorid-oldatot és koncentrált sósavat (a platinához viszonyítva 4 ekvivalens, 6 ml) adtunk az elegyhez, amelyet ezt követően visszafolyó hűtő alatt 5,5 órán keresztül melegítettünk. Az elegyet 1,5 órán keresztül jeges sófürdő segítségével hűtöttük le, majd a terméket szűrés útján kaptuk. A szilárd anyagot 5 x 15 ml-nyi jeges vízzel mostuk, majd 3 x 20 ml metanollal, végül vákuumban megszáritottuk.

Az alább következő 8. példa második eljárási lépését

követve kaptuk a transz-[PtCl₂(OH)₂NH₃ (morfolin)] terméket, amelyet elválasztottunk, és megvizsgáltuk annak összetételét és szerkezetét.

	C	H	N	Cl
elméleti:	11,88	3,46	6,93	17,57
talált:	11,67	3,31	6,89	17,53.

8. Példa

6 g (20 mmól) cisz-[PtCl₂(NH₃)₂] 100 ml dimetil-acetamid-dal képezett oldatát 6,33 g (40 mmól) N-decil-aminnal kezeltünk, és visszafolyó hűtő alatt 1 órán keresztül melegítettünk. Az elegyet ezt követően egészen a kiszáradásig bepároltuk, és a szilárd anyagot 50 ml (1 N) sósav és 50 ml telített nátrium-klorid-oldat elegyében ismételtén szuszpendáltattunk. Az elegyet visszafolyó hűtő alatt összesen 25 órán keresztül melegítettük, amely idő alatt további koncentrált sósavat (40 ml) adtunk hozzá. Miután az oldat lehűlt, a t-[PtCl₂(NH₃)(C₁₀H₂₁NH₂)] terméket szűréssel eltávolítottuk, a terméket vízzel mostuk, majd levegőn és végül vákuumban megszáritottuk. A kapott termék mennyisége 3,88 g (43,9 %-os kitermelés).

Ennek a terméknek 3,5 g-jából (7,9 mmól) 10 ml n-heptán segítségével sűrű szuszpenziót készítettünk, amelyet 9 ml 15 tömeg %-os (40 mmól) hidrogén-peroxiddal kezeltünk. Az elegyet visszafolyó hűtő alatt (körülbelül 80 °C hőmérsékleten, összesen 4 órán keresztül) melegítettük. Miután az elegyet egy éjszakán keresztül hagytuk lehűlni, a terméket szűréssel

elválasztottuk, vízzel mostuk, majd levegőn és végül vákuumban megszárítottuk. A kapott termék mennyisége 1,97 g (52,3 %-os kitermelés). A $\text{transz-[PtCl}_2(\text{NH}_3)(\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{NH}_2)]$ terméket IR spektrofotometriás analízissel azonosítottuk, és annak összetételéről elemi analízis segítségével győződünk meg.

	C	H	N	Cl
elméleti:	25,32	5,91	5,91	14,98
talált:	24,72	5,51	5,84	14,89.

9. Példa

10,0 g (33 mmól) cisz- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ -t és 100 ml vizet tartalmazó szuszpenziót 40 ml etanolban oldott, csekély felesleget jelentő 7,8 g (77 mmól mennyiségű) n-hexil-aminnal ($\text{n-C}_6\text{H}_{13}\text{NH}_2$) kezeltünk. Az elegyet körülbelül 70 °C-os hőmérsékletre melegítettük, és 2 órán keresztül kevertettük. A forró oldatot aktívszénnel kezeltük, majd leszűrtük. A szűrletet hagytuk lehűlni, és a képződött szilárd anyagot szűrővel eltávolítottuk. Az eljárás eredményeként kapott szűrletet bepároltuk, hogy a termék többi részét kinyerjük. A szilárd anyagot kevés acetonnal és dietil-éterrel mostuk, majd levegőn szárítottuk.

A 12,1 g mennyiségű szilárd anyagot 100 ml dimetil-acetamidban oldottuk és 10 ml-nyi (120 mmól) tömény sósavat adtunk hozzá. Az elegyet keverés közben gyenge reflux alatt 1 órán keresztül melegítettük. Az oldatot hagytuk lehűlni, majd leszűrtük. A szűrletet 250 ml vízhez kevertük hozzá, ily módon csapadékot képezve. A terméket szűrővel elválaszt-

tottuk, vízzel mostuk és vákuumban szárítottuk. Az eljárás eredményeként $t\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)(n\text{-C}_6\text{H}_{13}\text{NH}_2)]$ vegyületet kaptunk. A termék mennyisége 7,38 g (58 %-os kitermelés).

3 g (7,8 mmól) $t\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)(n\text{-C}_6\text{H}_{13}\text{NH}_2)]$ képletű komplexet 50 ml dimetil-acetamidban oldottunk fel, amely oldathoz 4,5 ml, 30 tömeg %-os (5 ekvivalens) hidrogén-peroxidot adtunk. Az oldatot körülbelül 90 °C-os hőmérsékletre melegítettük, és ezt követően 70 - 80 °C-on tartottuk 1 órán keresztül. Az elegyet ezt követően 10 °C-ra lehűtöttük egy éjszakán át, majd a terméket szűrővel eltávolítottuk. A szilárd anyagot kétszer vízzel, majd ezt követően alaposan acetonnal mostuk, és végül vákuumban megszártottuk. Az eljárás eredményeként $t\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{OH})_2\text{NH}_3(n\text{-C}_6\text{H}_{13}\text{NH}_2)]$ vegyületet kaptunk. A termék mennyisége 1,5 g (46 %-os kitermelés).

	C	H	N	Cl
elméleti:	17,22	4,82	6,70	16,99
talált:	16,88	4,53	6,51	17,38

$t\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{OH})_2\text{-NH}_3(c\text{-C}_7\text{H}_{13}\text{NH}_2)]$ képletű vegyület előállítására céljából a fent ismertetett eljárást használtuk fel, azonban n-hexil-amin helyett cikloheptil-amint használtunk fel.

	C	H	N	Cl
elméleti:	19,53	4,69	6,51	16,51
talált:	19,59	4,69	6,47	16,79.

10. Példa

6 g (20 mmól) cisz-[PtCl₂(NH₃)₂] képletű vegyület dimetil-acetamidos oldatát 2,92 g (40 mmól) dietil-aminnal kezeltünk, és az elegyet 30 perc alatt 80 °C-os hőmérsékletre melegítettük. Az oldatot aktívszénnel kezeltük és szűrtük. Egy éjszakán át az elegyet hűlni hagytuk, melynek során halványsárga kristályok rakódtak le, amelyeket leszűrtünk, etil-acetáttal mostunk és vákuumban megszárítottunk. A termék második részét körülbelül 50 ml-nyi víz szűrlethez adásával nyertük ki. A kapott termék össz mennyisége 4,8 g (67,4 %-os kitermelés). A t-[PtCl₂(NH₃)(Et₂NH)] képletű termék szerkezetéről NMR spektroszkópia segítségével győződünk meg.

1 g (2,8 mmól) t-[PtCl₂(NH₃)(Et₂NH)] képletű 10 ml-nyi dimetil-acetamidban oldottunk fel, amely oldatot 1,6 ml, 30 tömeg %-os (14 mmól) hidrogén-peroxid oldattal kezeltünk. Az elegyet 5 napon keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, amely idő alatt az összes szilárd anyag feloldódott. Az oldatot 2 x 100 ml-nyi dietil-éterrel, majd 2 x 100 ml-nyi diklór-metánnal extraháltuk, majd ezt követően 250 ml acetonnal kezeltünk. Az oldatot 10 °C-os hőmérséklet alá hűtöttük egy éjszakán keresztül, amikor is sárga kristályok váltak ki. Ezeket leszűrtük, acetonnal és dietil-éterrel mostuk, majd vákuumban megszárítottuk. Az eljárás eredményeként t-[PtCl₂(OH)₂NH₃-(Et₂NH)] képletű vegyülethez jutottunk. A termék mennyisége 0,85 g (49,3 %-os kitermelés).

	C	H	N	Cl
elméleti:	12,31	4,10	7,18	18,21
talált:	12,18	4,04	7,10	18,08.

11. Példa

6 g (20 mmól) ciszplatint és 3,39 g (1 ekvivalens) ezüst-nitrátot 100 ml dimetil-formamidban szobahőmérsékleten sötétben 66 órán keresztül kevertettünk. Az ezüst-klorid csapadékot szűrővel eltávolítottuk, és a szűrletet 2,22 g (20 mmól) quinuklidinhez adtuk. Az oldaton 15 percen keresztül nitrogén-áramot fúvattunk keresztül, és az elegyet 2 napig levegőtől elzárva kevertettük. Az oldatot egészen a kiszáradásig bepároltuk, és a szilárd anyagot 100 ml diklór-metánnal alaposan átmostuk. A szilárd anyagot kétszer metanol oldószerben átkristályosítottuk.

Ezt a cisz-[PtCl(NH₃)₂(quinuklidin)]NO₃ képletű terméket 90 ml vízben oldottuk, az oldatot szűrtük és a szűrletet klorid ion tartalmú anioncserélő oszlopon (DOWEX 1-X8, 20-50 US mesh) vezettük keresztül. Az oldat elúcióját követően fagyasztva szárítással fehér színű cisz-[PtCl(NH₃)₂-(quinuklidin)]Cl szilárd anyaghoz jutottunk. Ez utóbbit 50 ml (6M) sósavban oldottuk, és visszafolyó hűtő alatt 90 percig melegítettük. Az elegyet ezt követően jeges fürdő felhasználásával lehűtöttük, és a terméket szűrővel elválasztottuk. A szilárd anyagot vízzel mostuk, és vákuumban megszáritottuk. Az eljárás eredményeként t-[PtCl₂(NH₃)-(quinuklidin)] termékhez jutottunk. A termék mennyisége 2,16

g (27,4 %-os kitermelés).

A terméket az 1. példában szereplő második eljárási lépésnek megfelelően kezeltük, sorrendben a hidrogén-peroxiddal együttesen történő melegítést követően az oldatot betöményítettük, a kívánt $t\text{-[PtCl}_2(\text{OH})_2\text{NH}_3(\text{quinuklidin})]$ képletű termék előállítására érdekében. A kapott termék mennyisége 0,7 g (29,8 %-os kitermelés).

	C	H	N	Cl
elméleti:	19,63	4,20	6,54	16,59
talált:	19,72	4,07	6,42	16,99.

12. Példa

1,26 g (3,23 mmól) cisz- $[\text{PtCl}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{NH}_2)_2]$ képletű komplexet 30 ml-nyi dimetil-acetamidban oldottunk fel, majd 0,64 g (6,46 mmól) ciklohexil-amint adtunk hozzá. Az elegyet visszafolyó hűtő alatt 5 percig melegítettük, ily módon tiszta, sárga színű oldatot kapva. 30 ml vizet és 10 ml tömény sósavat adtunk hozzá, és az elegyet visszafolyó hűtő alatt 3 órán keresztül melegítettük. Miután az elegyet egy éjszakán át hűlni hagytuk, a terméket szűrővel kinyertük, majd vízzel mostuk, és vákuumban megszáritottuk. A kapott termék mennyisége 0,31 g (22,3 %-os kitermelés).

A kapott $t\text{-[PtCl}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{NH}_2)(\text{c-C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_2)]$ komplex 0,29 g-ját (0,68 mmól) 1 ml-nyi dimetil-acetamidban oldottuk, és 388 μl , 30 (w/v) %-os (3,4 mmól) hidrogén-peroxidot adtunk hozzá. Az elegyet 2 perc alatt 100 °C-os hőmérsékletre fűtöttük fel, majd hagytuk szobahőmérsékletre lehűlni. A

terméket szűrővel választottuk el, és etanollal, majd acetonnal mostuk, és végül vákuumban megszáritottuk. A terméket $t\text{-[PtCl}_2(\text{OH})_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{NH}_2)(\text{c-C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_2)]$ -ként azonosítottuk.

	C	H	N	Cl
elméleti:	23,58	5,24	6,11	15,50
talált:	22,85	5,21	6,03	15,66.

13. Példa

5,22 g (17,4 mmól) ciszplatint 100 ml dimetil-acetamid-ba kevertünk, és 100 °C-ra melegítettük az elegyet. 3,16 g (21 mmól) 1-amino-adamantánt adtunk hozzá, és a keveréket 1 órán keresztül 100 °C-os hőmérsékleten tartottuk. Az oldat lehűlését követően a teljes kiszáradásig bepároltuk azt. Az eljárás eredményeként kapott szilárd anyagot 100 ml telített nátrium-klorid-oldat és tömény 16 ml-nyi (174 mmól) sósav elegyében szuszpendáltattuk, majd 20 ml dimetil-acetamidot adtunk az elegyhez. A keveréket visszafolyó hűtő alatt 12 órán keresztül melegítettük. Az elegy lehűlését követően a terméket szűrővel kinyertük, vízzel és etanollal mostuk, majd vákuumban megszáritottuk. A kapott termék mennyisége 4,53 g (60,0 %-os kitermelés).

Ezt az anyagot körülbelül 200 ml-nyi forró dimetil-acetamidban feloldva átkristályosítottuk, majd lehűtöttük és vízzel kezeltük. A termék mennyisége 2,6 g (34,4 %-os kitermelés).

A termékként kapott $t\text{-[PtCl}_2(\text{NH}_3)(1\text{-amino-adamantán})]$



komplex 0,94 g-ját (2 mmól) 20 ml dimetil-acetamidban elkevertük, és 1,13 ml 30 (w/v) %-os (5 ekvivalens) hidrogén-peroxidot adtunk hozzá. Az elegyet körülbelül 100 °C hőmérsékletre melegítettük 4 óra alatt, az elegyet állni hagytuk, és hagytuk, hogy szobahőmérsékletre hűljön. Körülbelül 40 ml-nyi vizet adtunk hozzá, ily módon kicsapva a terméket, amelyet szűréssel elválasztottunk, vízzel mostunk és vákuumban megszáritottunk. Az eljárás eredményeként t-[PtCl₂(OH)₂NH₃ (1-amino-adamantán)·0,25DMA terméket kaptunk, a termék mennyisége 0,45 g (42,8 %-os kitermelés).

	C	H	N	Cl
elméleti:	26,96	4,90	6,44	14,50
talált:	27,67	4,68	6,13	13,78

Kiindulási anyagok előállítása

1,5 g (3,93 mmól) transz-[PtCl₂(NH₃)(c-C₆H₁₁NH₂)] komplexet 80 ml acetonban szuszpendáltunk, és 2,35 g (15,7 mmól) nátrium-jodidot adtunk hozzá. Az elegyet 2 órán keresztül kevertettük. A nátrium-klorid csapadékot szűréssel eltávolítottuk, és a szűrletet egészen kiszáradásig bepároltuk. A fennmaradó szilárd anyagot alaposan átmostuk vízzel, majd kevés metanollal és végül dietil-éterrel, mielőtt vákuumban megszáritottuk volna. A kapott t-[PtI₂(NH₃)(c-C₆H₁₁NH₂)] termék mennyisége 1,52 g (68 %-os kitermelés).

Ugyanezzel az eljárással állítottuk elő a t-[PtBr₂(NH₃)(c-C₆H₁₁NH₂)] komplexet, azzal az eltéréssel, hogy nátrium-jodid helyett lítium-bromidot alkalmaztunk.

14. Példa

2,52 g (5,7 mmól) cisz-[PtCl(NH₃)₂(quinuklidin)Cl](NO₃) komplexet 30 ml (6M) sósavval kevertünk. Az elegyet 35 órán keresztül 80 - 90 °C hőmérsékleten melegítettük. Miután az elegyet 2 órán keresztül jeges fürdőben hűtöttük, a termék csapadék formájában kivált, amelyet szűréssel elválasztottunk, ezt követően vízzel mostuk, majd vákuumban megszáritottuk. A kapott transz-[PtCl₄(NH₃)(quinuklidin)] termék mennyisége 2,26 g (84 %-os kitermelés).

	C	H	N	Cl
elméleti:	18,07	3,44	6,02	30,51
talált:	17,77	3,08	6,14	30,65.

15. Példa

1 g (2,6 mmól) t-[PtCl₂(NH₃)(c-C₆H₁₁NH₂)] komplexet 30 ml vízben elkevertünk és 1,5 ml, 30 (w/v)%-os (5 ekvivalens) hidrogén-peroxidot adtunk hozzá. Az elegyet 2 órán keresztül 65 °C-os hőmérsékleten kevertettük. 10,5 ml (1 M) sósavat adtunk hozzá, ily módon kezdetben tiszta sárga oldatot kapva. A környezeti hőmérsékleten történő 6 órás keverést követően sárga csapadékot kaptunk. Ezt szűréssel elválasztottuk, majd vízzel háromszor mostuk, és vákuumban megszáritottuk. A kapott t-[PtCl₄(NH₃)(c-(C₆H₁₁NH₂))] termék mennyisége 0,3 g (25,3 %-os kitermelés).

	C	H	N	Cl
elméleti:	15,89	3,53	6,18	31,35
talált:	15,90	3,34	6,08	31,10.

16. Példa

10,0 g (26 mmól) transz-[PtCl₂(NH₃)(c-C₆H₁₁NH₂)] komplexet adtunk 9 g (52 mmól) ezüst-nitrát és 50 ml-nyi víz vizes oldatához. Az elegyet sötétben 3 napon keresztül 70 - 80 °C-os hőmérsékleten kevertettük. A lehűlés eredményeként kapott elegyet leszűrtük, az ezüst-klorid eltávolítása céljából. A szűrletet ioncserélő gyantát tartalmazó oszlopon vezettük keresztül, a nitrát ion eltávolítására (DOWEX SBR anioncserélő gyanta, OH⁻ forma). A kapott oldatot 15 ml, 30 (w/v)%-os ((5 ekvivalens) hidrogén-peroxid oldattal kezeltük, és a környezeti hőmérsékleten 3 napon át kevertettük. A hidrogén-peroxid felesleget Pt fekete hozzáadásával elbontottuk, majd szűrés után az oldatot egészen a kiszáradásig bepároltuk, halványsárga szilárd anyagot kapva. Ezt azután minimális mennyiségű (5 ml) vízben feloldottuk, és 20 ml etanollal ismét lecsaptuk. A krémsárga csapadékot összegyűjtöttük, és vákuumban megszáritottuk. Az eljárás eredményeként transz-[Pt(OH)₄NH₃(c-C₆H₁₁NH₂)] komplexet állítottuk elő.

	C	H	N
elméleti:	19,00	5,31	7,39
talált:	18,55	4,10	6,62.

17. Példa

8,41 g (20 mmól) kálium-tetrakloroplatinát(II)-ot 100 ml vízben oldottunk fel, az oldatot 7,92 g (80 mmól) ciklohexil-aminnal kezeltük, és az oldatot 10 percen keresz-

tül forraltuk. Miután a szilárd anyag lehűlt, szűréssel eltávolítottuk, majd 10 ml dimetil-acetamidban ismételtén szuszpendáltattuk, ezt követően további 8 g (81 mmól) ciklohexil-amint adtunk hozzá. Az elegyet visszafolyó hűtő alatt melegítettük, hogy barna oldatot kapjunk. 25 ml tömény sósavat adtunk hozzá, és a melegítést 4 órán keresztül folytattuk. Miután az elegyet lehűtöttük, a sötét színű szilárd anyagot szűréssel kinyertük, majd vízzel mostuk. A szilárd anyagot 3 x 50 ml-nyi acetonnal extraháltuk, amelyet azt követően 250 ml vízzel kezeltünk, hogy halványsárga csapadék formájában nyerjük ki a terméket. Azt azután szűréssel eltávolítottuk, vízzel mostuk, és vákuumban megszáritottuk. Az eljárás eredményeként kapott $t\text{-[PtCl}_2((\text{C-C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_2)_2)]$ termék mennyisége 1,13 g (12 %-os kitermelés).

Az eljárás eredményeként kapott $t\text{-[PtCl}_2((\text{C-C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_2)_2)]$ komplex 0,75 g-ját (1,6 mmól) 20 ml dimetil-acetamidban oldottuk fel, majd 10 ml 30 (w/v)%-os hidrogén-peroxid oldatot adtunk hozzá. Az elegyet mindaddig melegítettük, ameddig az összes szilárd anyag fel nem oldódott, és halványbarna oldatot nem kaptunk. Az oldat erőteljesen pezgett, és belőle lassan sárga színű szilárd anyag kezdett kiválni. Az oldatot hagytuk kihűlni, majd szobahőmérsékleten állni hagytuk 3 napig. A terméket szűréssel kinyertük, vízzel mostuk és vákuumban megszáritottuk. Az eljárás eredményeként kapott $\text{transz-[PtCl}_2(\text{OH})_2(\text{C-C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_2)_2]$ termék mennyisége 0,58 g (72 %-os kitermelés).

	C	H	N	Cl
elméleti:	28,92	5,62	5,62	14,26
talált:	28,85	5,75	5,57	NA

"NA" = nem áll rendelkezésre adat.

A fenti példákban ismertetésre került eljárásokkal analóg módon előállított további vegyületek a következők:

t-[PtCl₂(OH)₂NH₃(EtNH₂)]

	C	H	N	Cl
elméleti:	6,63	3,31	7,73	19,61
talált:	6,28	2,59	7,72	19,74

t-[PtCl₂(OH)₂(NH₃exo-2-amino-norbornán)]

	C	H	N	Cl
elméleti:	19,63	4,21	6,54	16,59
talált:	19,55	3,96	6,48	16,78

t-[PtCl₂(OH)₂NH₃(piridin)]

	C	H	N	Cl
elméleti:	15,15	2,53	7,07	17,93
talált:	15,94	2,20	6,42	16,87

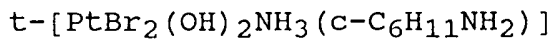
t-[PtCl₂(OH)₂NH₃(PhCH₂NH₂)]

	C	H	N	Cl
elméleti:	19,81	3,30	6,60	16,74
talált:	20,46	3,16	6,30	17,37

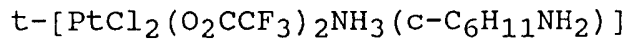
t-[PtCl₂(OH)₂NH₃(quinuklidin)]

	C	H	N	Cl
elméleti:	19,63	4,20	6,54	16,59
talált:	19,72	4,07	6,42	16,99

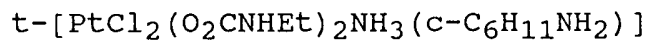
Egyéb fontosabb vegyületek a következők:



	C	H	N	Br
elméleti:	14,26	3,56	5,54	31,66
talált:	14,43	3,47	5,53	31,52

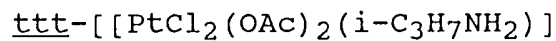
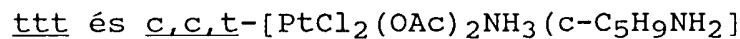


	C	H	N	Cl
elméleti:	19,74	2,63	4,61	11,68
talált:	19,40	2,48	4,55	12,45

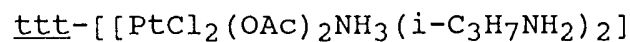


	C	H	N	Cl
elméleti:	25,87	5,02	10,03	12,72
talált:	25,67	5,00	9,69	13,07

Az alábbi komplexeket szintén előállítottuk:



	C	H	N	Cl
elméleti:	23,90	4,78	5,58	14,14
talált:	23,72	4,92	5,55	14,31



	C	H	N	Cl
elméleti:	18,27	3,94	6,09	15,41
talált:	18,16	3,72	5,87	15,42

A találmány tárgyát képező vegyületeket in vitro olyan szűrővizsgálatok során, amelyeket az L.R. Kelland et al., Proc A A C R, 30, 609 (1989) szakirodalmi helyen ismertetés-

re kerülő vizsgálati jegyzőkönyvnek megfelelően végeztünk el, aktívnak találtuk, ezzel bizonyítva azt, hogy rákos sejtek elpusztítására alkalmasak. Majd ezt követően in vivo vizsgálatokat végeztünk. Adj/PC₆ tumoros egerekkel, L1210 nyirokleukémiában szenvedő vagy olyan leukémia fajtában szenvedő egerekkel, amelyek a ciszplatinnal szemben már rezisztensekké váltak. Az Adj/PC₆ vizsgálatokat oly módon végeztük, ahogyan azt P.M. Goddard és mtsai. a sorrendben hatodik NCI-EORTC "Rákos megbetegedések gyógyítására szolgáló új gyógyszerek címmel megrendezésre került 1989-es szimpóziumon előadták, amely a T. A. Connors és munkatársai által a Chem. Biol. Interact 5, 415 (1972) szakirodalmi helyen ismertetett alap eljárás továbbfejlesztett változata. Az L1210 in vivo vizsgálatokat a Cancer Chemotherapy Reports, Part 3, vol 2, (Sept 1972) szakirodalmi helyen ismertetett NCI jegyzőkönyvnek megfelelően folytattuk le, azzal az eltéréssel, hogy állatként DBA/2 egereket használtunk, és az adagolást 1, 5 és 9 naponta végeztük. Az állatokat akkor boncoltuk fel, amikor haldokoltak. A vegyületeket parenterálisan (ip) adagoltuk.

Az Adj/PC₆ vizsgálat során az LD₅₀ és ED₉₀ értékeket mg/testtömeg kg-ban a hagyományos módon határoztuk meg. A terápiás index (TI) kiszámításakor az LD₅₀ és ED₉₀ értékek hányadosait képeztük, a vizsgálati és számítási eredményeket az alábbi táblázatban ismertetjük:

Vegyület	LD50	ED90	TI
2. példa szerinti	8,8	0,76	11,6
3. példa szerinti	18	10,5	1,7
4. példa szerinti	35	4,7	7,4
t-[PtCl ₂ (OH) ₂ NH ₃ (exo-2-aminonorbornán)]	15,5	<6,25	>2,5
7. példa szerinti	82	94	<1

A 2. példa szerinti eljárással előállított vegyületeknek L1210 leukémiával szemben és L1210-es ciszplatin rezisztens leukémia fajtával szemben kifejtett hatását vizsgáltuk egerekben, és meghatároztuk az életben maradás időtartamának növekedését (ILS = increase in life span) azokhoz a kontroll egerekhez képest, amelyek esetében nem alkalmaztuk a hatóanyagot az alábbi képlet szerint:

$$ILS = \frac{T-C}{C} \times 100\%$$

ahol T = az életben maradási napok száma a kezelt egereknél,
és

C = az életben maradási napok száma a kontroll egereknél.

Vegyület	L1210		L1210-rezisztens	
	Adag	ILS	Adag	ILS
2. példa	9 mg/kg	77 %	9 mg/kg	39 %

Amennyiben az ILS értéke nagyobb mint 25 %, ez az

eredmény a szakterületen általánosan elfogadottan igen figyelemre méltó és jelentős.

A 2. példában szereplő vegyület felhasználásával további in vivo vizsgálatokat végeztünk, amelyek során annak érzékeny tumoros sejtvonalakkal szembeni és különböző anti-tumoros platina hatóanyagoknak ellenálló tumoros sejtvonalakkal szembeni aktivitását vizsgáltuk, majd a terápiás indexet (TI) a fentiekben ismertetett módon kiszámítottuk. Összehasonlításként a 2. példában szereplő vegyület cisz-izomerjét azonos módon vizsgáltuk, és az eredményeket az alábbi táblázatban mutatjuk be.

Vegyület	Tumor	LD ₅₀ (mg/kg)	ED ₅₀ (mg/kg)	TI
2. példa	Adj/PC ₆	8,8	0,76	11,6
	Adj/PC ₆ /ciszplatin rez.	10,5	5,6	1,88
	Adj/PC ₆ /iproplatin rez.	8,8	2,6	3,4
	Adj/PC ₆ /tetraplatin rez.	8,8	-	NA
<u>cisz-izomer</u>	Adj/PC ₆	17,5	1,4	13
	Adj/PC ₆ /ciszplatin rez.	8,8	-	NA
	Adj/PC ₆ /iproplatin rez.	8,8	-	NA
	Adj/PC ₆ /tetraplatin rez.	>12,5	12	>1

Megjegyzések: "-" ebben az esetben 90 %-os gátló hatást nem sikerült elérni, a legfeljebb LD₅₀ nagyságú adagokkal;
 "NA" nem áll rendelkezésre adat

A fenti eredmények alapján látható, hogy a transz-izomer megfelelő aktivitással rendelkezik, és aktivitásának spektruma különbözik a cisz-izomerétől, amelynek felismerése szakembertől nem volt elvárható.

Ezen túlmenően vizsgálatokat végeztünk emberi karcinómákból származó sejtvonalak felhasználásával az angliai Sutton rákkutató intézetében ([C A Hills & colleagues, Br J. Cancer 59, 527-534 (1989)]) Az egyrétegű sejteket tripszinnel kezeltük, 96 lyukú mikrotitátor lemezre oltottuk 1×10^4 sejt/200 μ l sűrűségben lyukanként. A sejteket egy éjszakán át inkubáltuk, és a vizsgált vegyületek különböző koncentrációit hozzáadva hármasával a lyukakban lévő sejtekhez, majd 48-96 órán keresztül megfigyeltük a mintákat. Abból a célból, hogy a gyógyszeres kezelésnek kitett sejtek toxicitás vizsgálatát elvégezzük, a sejteket triklórecetsavval vizsgáltuk, azok celluláris protein-tartalmát 1 %-os ecetsavban oldott 0,4 (w/v)%-nyi szulforodamin B (SRB)-vel 30 perces inkubációval megfestettük. A meg nem kötött festékanyagot 1 t%-os ecetsavas mosással eltávolítottuk, a megkötődött festékanyagot pedig 10 nM Trisz pufferrel extraháltuk. Az extrakciós oldatban lévő festék mennyiségét 564 nm-es hullámhosszon történő abszorpció méréssel határoztuk meg.

Az alább bemutatásra kerülő A és B táblázatok adatainak mindegyike ovarialis (petefészek) sejtekre vonatkozik a GCT27^R/GCT27 sejtek kivételével, amelyek testikuláris (here) sejtekre vonatkoznak. Az A táblázatban megadott IC₅₀ értékek

μM -ben értendők. A B táblázatban megadott rezisztencia faktorok a ciszplatinnal szemben rezisztens sejtvonal fajta IC_{50} értékének és a nem rezisztens sejtvonal IC_{50} értékének a hányadosa.

A Táblázat

IC_{50} (μM)

Vegyület	Hx62	SKOV-3	PXN/94	41M ^R	41M	CHI ^R	CHI	A ₂₇₈₀ ^R	A ₂₇₈₀
2. példa	5,9	8,8	3,7	1,8	1,5	2,2	1,4	-	-
3. példa	14	9,2	8,3	4,6	3,2	5,5	2,4	-	-
4. példa	1,8	4,7	3	0,9	1,1	1,6	0,74	-	-
A	5,6	4,4	3,2	1,47	1,4	1,7	1,4	-	-
7. példa	100	47	50	54	26	28,3	17,3	47	10,9
B	10,2	8,2	-	1,35	1,3	1,95	1,12	4,2	1,06
6. példa	110	72	-	33	5,4	30,5	12,5	64	6,2
1. példa	10,2	7,0	-	1,3	1,1	1,9	1,15	5,2	0,95
8. példa	23	25	-	5,3	12	14,6	14	14,1	2,9
10. példa	3,2	12,1	-	0,8	1,8	4,6	3,3	11,6	1,9
11. példa	40	27	-	9,5	14,4	14,3	10,2	16	3,2

("-" nincs adat)

A vegyület: $t\text{-[PtCl}_2(\text{OH})_2\text{NH}_3(\text{exo-2-amino-norbornán})]$

B vegyület: $t\text{-[PtCl}_2(\text{OH})_2\text{NH}_3(\text{PhCH}_2\text{NH}_2)]$

B Táblázat

Rezisztencia faktorok

Sejtvonalak

Vegyület	41M ^R /41M	CHI ^R /CHI	A ₂₇₈₀ ^R /A ₂₇₈₀	GCT27 ^R /GCT27
2. példa	1,2	1,6	7,1	1,8
3. példa	1,4	2,3	ND	ND
4. példa	0,8	2,2	ND	ND
A	1,0	1,2	ND	ND
7. példa	2,1	1,6	ND	ND
B	1,0	1,7	4,0	ND
6. példa	6,1	2,4	10,3	ND
1. példa	1,2	1,7	5,5	ND
Ciszplatin (összehasonlítás)				
	4,7	6,4	15,7	6,2

("ND" nem meghatározott)

A B táblázat adataiból látható, hogy az új, találmány szerinti transz vegyületek azokkal a sejtvonalakkal szemben, amelyek ellen a hagyományos rákellenes gyógyszer, a ciszplatin hatástalan, jelentős aktivitással rendelkeznek.

A 2. példa szerinti eljárással előállított vegyületet egy további in vivo vizsgálatnak vetettük alá, amelynek során az OVCAR-3, egy ovariális karcinóma transzplantátuma ellen alkalmaztuk, amely köztudottan nehezen gyógyítható

tumor, és igen bonyolult kezelési módot igényel. Növekvő dózisok alkalmazása mellett 28 nap elteltével mértük a kezelt egerekben a tumor nagyságát, és összehasonlítottuk annak a kontroll csoportnak a tumor nagyságával, amelyek nem kaptak gyógyszert. A "növekedés késleltetés" mértékét szintén meghatároztuk, amely alapján, összevetve a kontroll csoporttal a kezelt állatok tumora jóval nagyobb időbeli késéssel kétszereződött meg. Ez az ismertetett eljárás megfelel a K. R. Harrap et al, Adv Enzyme Reg. 31, 31-43 (1991) szakirodalmi helyen ismertetett módszernek. A vizsgálati eredmények az alábbiak:

Vegyület	Adag (mg/kg)	T/C (28 nap)	Növekedés késleltetés
2. példa	1	0,80	0,9
	2	0,64	12,0
	4	0,48	16,8
<u>cisz</u> analógok	2	0,636	4,3
	4	0,427	15,2
	8	0,599	5,5

* A 2. példában szereplő vegyület cisz-analógja a $ctc-[PtCl_2(OH)_2NH_3-(c-C_6H_{11}NH_2)]$.

Mindezek alapján látható, hogy a 2. példa szerinti transz-vegyület hatása a dózis nagyságától függ.

Szabadalmi igénypontok

1. transz-platina(IV) (I) általános képletű vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy az (I) általános képletben

az L^1 és L^2 ligandum egyaránt amincsoport, azzal a kikötés-sel, hogy L^1 és L^2 közül mindkettő nem NH_3 , és

az X és Y jelentése egyaránt halogénatom, hidroxilcsoport vagy karboxilát-csoport, vagy

Y_2 vagy X_2 és Y_2 dikarboxilát-csoport, továbbá amely képletben az L^1 és L^2 ligandumok a platina atomon egymáshoz viszonyítva transz helyzetben kapcsolódnak.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a (I) általános képletben X jelentése klóratom.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy az (I) általános képletben Y jelentése klóratom vagy hidroxil csoport.

4. A 3. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a (I) általános képletben Y jelentése hidroxil csoport.

5. Az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy az (I) általános képletben L^1 és/vagy L^2 ligandum $R-NH_2$ primer amin, ahol R egyenes szénláncú alkil csoport vagy elágazó szénláncú alkil- vagy cikloalkil csoport.

6. Az 5. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy az L^1 és/vagy L^2 ligandum $R-NH_2$ primer amin, ahol R jelentése cikloalkil csoport.

7. Az 1. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy
transz- $[PtCl_2(OH)_2(NH_3)(c-C_5H_9NH_2)]$.

8. Az 1. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy
transz- $[PtCl_2(OH)_2(NH_3)(c-C_6NH_{11}H_2)]$.

9. Az 1. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy
transz- $[PtCl_2(OH)_2(NH_3)(CH_3)_2CHNH_2]$.

10. Az 1. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy
transz- $[PtCl_2(OH)_2(NH_3)(CH_3)_3CNH_2]$.

11. Az 1. igénypont szerinti vegyület, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy
transz- $[PtCl_2(OH)_2(NH_3)(c-C_6H_{11}NH_2)]$.

12. transz-platina(IV) tartalmú gyógyszerkészítmény, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy az 1-11. igénypontokban meghatározott vegyületeket gyógyászatilag elfogadott oldószerekkel vagy hordozókkal elegyítve tartalmazza.

13. A 12. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy egységnyi adagokban van kiszerezelve.

14. Eljárás az 1. igénypontban meghatározott (I)

általános képletű vegyület előállítására, a z z a l
 j e l l e m e z v e, hogy a (II) általános képletű transz-
 platina(II) vegyületet, amely képletében L^1 és L^2 azonos az
 1. igénypontban definiáltakkal és X jelentése halogénatom, a
 kívánt Y csoport leadására képes vegyülettel reagáltatjuk,
 és ahol X_2 jelentése $(OH)_2$, a halogénatomokat hidroxil-
 csoportokkal helyettesítjük, valamint ahol a Y vagy X és Y
 karboxilát-csoportok, a megfelelő Y_2 , vagy X_2 és Y_2
 csoportokkal, mint $(OH)_2$ csoportokkal rendelkező megfelelő
 vegyületet acilezzük.

A meghatalmazott:

új. Szertpéteri Ádám
 Szakmai vezető igazgató
 az S.B.C. & M. Nemzeti Szervezközi
 Szakmai Testület tagja
 H-1061 Budapest, Dabányi u. 10.
 Telefon: 153-3733, Fax: 153-3664

L

Adám

793/92

01140

25.09.92

KÖZZÉTÉTEL
ÉLEDMÉNY

1/1

