



F 1000104373B



SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 104373 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

14.01.2000

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07D 491/22 ; A61K 31/435

// C07D 491/22, 317:00, 221:00, 209:00, 221:00,
311:00

(21) Patentihakemus - Patentansökning

924878

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

28.10.1992

(24) Alkuperäpäivä - Löpdag

28.10.1992

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

30.04.1993

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

29.10.1991 US 784275 P

28.01.1992 US 826729 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •Glaxo Inc., Five Moore Drive, Research Triangle Park, NC 27709, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Luzzio, Michael Joseph, 15 Gatlin Court, Durham, NC 27707, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 •Besterman, Jeffrey M., 1439 Sedwick Road, Durham, NC 27713, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

3 •Evans, Michael G., 401 Hillsboro, Pittsboro, NC 27312, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

4 •Myers, Peter Leslie., 3801 Sweeten Creek Road, Chapel Hill, NC 27514, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Leitzinger Oy

Ruoholahdenkatu 8, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä valmistaa farmaseuttisesti käyttökelpoisia 7-aminosubstituoituja 10,11-metyleenidioksi- tai 10,11-etyleenidioksi-kamptotekini johdannaisia

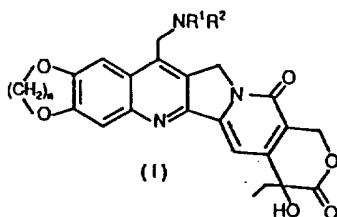
Förfarande för att framställa farmaceutiskt användbara 7-aminosubstituerade 10,11-metylendioxi- eller 10,11-etylendioxi-kamptotekinderivat

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI B 89932 (C 07D 491/22), US A 4894456 (A 61K 31/47), US A 4981968 (C 07D 491/22), US A 5049668 (A 61K 31/47),
Journal of Medicinal Chemistry 34 (1991):1 p. 98-107

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena on menetelmä valmistaa vesiliukoisia, kaavan (I) mukaisia kamptotekini johdannaisia



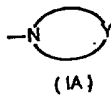
jossa n on kokonaisluku 1 tai 2; ja

i) R¹ ja R² ovat toisistaan riippumatta vety, alempi alkyylili, C₃₋₇-sykloalkyyli, C₃₋₇-sykloalkyyli-alempi alkyylili, alempi

alkenyylili, hydroksi-alempi alkyylili, alempi alkoksi-alempi alkyylili;

ii) R¹ on vety, alempi alkyylili, C₃₋₇-sykloalkyyli, C₃₋₇-sykloalkyyli-alempi alkyylili, alempi alkenyyli, hydroksi-alempi alkyylili tai alempi alkoksi-alempi alkyylili, ja R² on -COR³, jossa R³ on vety, alempi alkyylili, perhalogeeni-alempi alkyylili, C₃₋₇-sykloalkyyli, C₃₋₇-sykloalkyyli-alempi alkyylili, alempi alkenyyli, hydroksi-alempi alkyylili, alempi alkoksi, alempi alkoksi-alempi alkyylili; tai

iii) R¹ ja R² otettuna yhdessä yhdistävän tyyden kanssa muodostavat kaavan IA mukaisen tyydyttyneen, 3 - 7 atomia sisältävän heterosyklisen ryhmän



104373

jossa

Y on O, S, CH₂ tai NR⁴

jossa R⁴ on väte, alempi alkyyl, perhalogeeni-alempi alkyyl, aryyli, aryyli, joka on substituoitu yhdellä tai usealla alemmalla alkyyl-, halogeeni-, nitro-, amino-, alempi alkyyl-amino-, perhalogeeni-alempi alkyyl-, hydroksi-alempi alkyyl-, alempi alkoksi-, alempi alkoksi-alempi alkyyliryhmällä; tai -COR⁵,

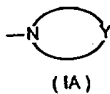
jossa R⁵ on väte, alempi alkyyl, perhalogeeni-alempi alkyyl, alempi alkoksi, aryyli, aryyli, joka on substituoitu yhdellä tai usealla alempi alkyyl-, perhalogeeni-alempi alkyyl-, hydroksi-alempi alkyyl-, alempi alkoksi-alempi alkyyliryhmällä; ja niiden farmaceuttisesti hyväksyttävät suolat.

Uppfinningen avser ett förfarande för framställning av vattenlösliga kamptotesinderivat med formeln (I), där n är heltalet 1 eller 2; och

i) R¹ och R² är oberoende av varandra väte, lägre alkyl, C₃₋₇-cykloalkyl, C₃₋₇-cykloalkyl-lägre alkyl, lägre alkenyl, hydroxi-lägre alkyl, lägre alkoxi-lägre alkyl;

ii) R¹ är väte, lägre alkyl, C₃₋₇-cykloalkyl, C₃₋₇-cykloalkyl-lägre alkyl, lägre alkenyl, hydroxi-lägre alkyl eller lägre alkoxi-lägre alkyl, och R² är -COR³, där R³ är väte, lägre alkyl, perhalogen-lägre alkyl, C₃₋₇-cykloalkyl, C₃₋₇-cykloalkyl-lägre alkyl, lägre alkenyl, hydroxi-lägre alkyl, lägre alkoxi, lägre alkoxi-lägre alkyl; eller

iii) R¹ och R² tagna tillsammans med det förenande kvävet bildar en mättad, 3 - 7 atomer innehållande heterocyklisk grupp



där

Y är O, S, CH₂ eller NR⁴

där R⁴ är väte, lägre alkyl, perhalogen-lägre alkyl, aryl, aryl, som är substituerad med en eller flera lägre alkyl-, halogen-, nitro-, amino-, lägre alkyl-amino-, perhalogen-lägre alkyl-, hydroxi-lägre alkyl-, lägre alkoxi-, lägre alkoxi-lägre alkylgrupper; eller -COR⁵,

där R⁵ är väte, lägre alkyl, perhalogen-lägre alkyl, lägre alkoxi, aryl, aryl, som är substituerad med en eller flera lägre alkyl-, perhalogen-lägre alkyl-, hydroxi-lägre alkyl-, lägre alkoxi-lägre alkylgrupper; och deras farmaceutiskt godtagbara salter.

Menetelmä valmistaa farmaseuttisesti käyttökelpoisia 7-aminosubstituoituja 10,11-metyleenidioksi- tai 10,11-etyleenidioksi-kamptotekiinijohdannaisia
 Förfarande för att framställa farmaceutiskt användbara 7-aminosubstituerade 10,11-metylendioxi- eller 10,11-etylendioxi-kamptotekinderivat

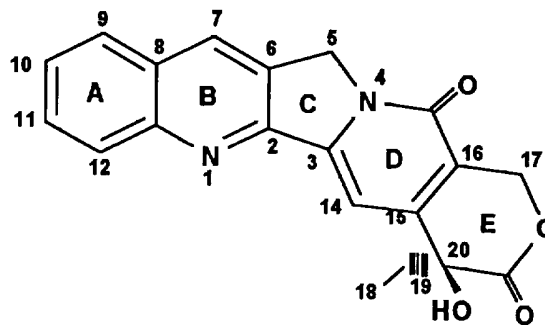
5

Tämä keksintö koskee menetelmää valmistaa farmaseuttisesti käyttökelpoisia 7-aminosubstituoituja 10,11-metyleenidioksi- tai 10,11-etyleenidioksi-kamptotekiinijohdannaisia.

10 Kamptotekiini, luonnollisesti esiintyvä, sytotoksinen alkaloidi on topoisomeraasi I-inhibiittori ja voimakas kasvaintenvastainen aine. Sen eristi ensin kiinalaisen kasvin, *Camptotheca accuminata*'n lehdistä ja kuoresta Wall, et al. (J. Am. Chem. Soc. 88 (1966) 3888).

15 Kuten kuvataan, on kamptotekiini fuusioitunut rengasjärjestelmä, joka koostuu kinoliinista (A ja B), joka on fuusioitunut pyrrolidiinirenkaaseen (C), joka on fuusioitunut α -pyridonirenkaaseen (D), joka puolestaan on fuusioitunut laktonirenkaaseen (E).

20



25

KAMPTOTEKIINI

Siinä on 20-asemassa asymmetrinen hiili, joka tekee kaksi enantiomeeristä muotoa mahdolliseksi. Luonnollisesti esiintyvä yhdiste on kuitenkin edellä esitettyssä "S"-konfiguraatiossa.

30

Sytotoksisia aineita käytetään sen kasvainten kontrollointiin tai poistamiseen, ts. ne ovat kemoterapeuttisia aineita. Kamptotekiinin sytotoksisen aktiivisuu-

den ajatellaan liittyvän suoraan kamptotekiinin tehoon topoisomeraasi-inhibiittorina. [Yksityiskohtaisia kuvauksia varten topoisomeraasin toiminnasta katso teoksia A. Lehninger, Principles of Biochemistry, 813, Worth Publishers, New York (1982); L.F.Liu, "DNA Topoisomerases", CRC Critical Review in Biochemistry, 15 (1983) 1- 24 ja H Vosberg, "DNA Topoisomerases: Enzymes that Control DNA Conformation", Current Topics in Microbiology and Immunology, 19, Springer-Verlag, Berlin (1985).] Erityisesti kamptotekiinin on osoitettu olevan tehokas esimerkiksi hoidettaessa leukemiaa (L-1210) ja määrättyjä kiinteitä kasvaimia laboratorioeläimissä, katso julkaisuja Chem. Rev. 23 (1973) 385; ja Cancer Treat. Rep. 60 (1967) 1007.

Epäonneksi kamptotekiinin lupaus kliinisellä tasolla tehokkaana kasvaimenvastaisena aineena ei ole täysin täytynyt. Kamptotekiini on oleellisen ei-liukoinen fysiologisesti yhteensopiviin vesipohjaisiin väliaineisiin, ja se on modifioitava sen tekemiseksi riittävän liukoiseksi patenteraaliseen antoon, joka on edullinen kasvaimenvastainen hoitotapa. Se voidaan tehdä liukoiseksi muodostamalla sen natriumsuolan, ts. avaamalla laktonin natriumhydroksidilla (katso F.M. Muggia, et al., Cancer Chemotherapy Reports osa 1, 56 (1972) 515). Kuitenkin, M.C. Wani, et al., J. Med. Chem. 23 (1980) 554, kuvasi, että E-renkaan α -hydroksilaktoniryhmä on kasvaimenvastainen aktiivisuuden ehdoton vaatimus.

Tekniikan tasolla on esimerkkejä kamptotekiinin modifikaatioista ja johdannaisista, jotka on valmistettu sen vesiliukoisuuden parantamiseksi. Vaikka useat näistä johdannaisista olivat aktiivisia in vitro ja varhaisissa eläinkokeissa, joissa käytettiin leukemia (L-121)-malleja, ne tuottivat pettymyksen kroonisissa eläinmalleissa, joissa istutettiin kiinteitä kasvaimia.

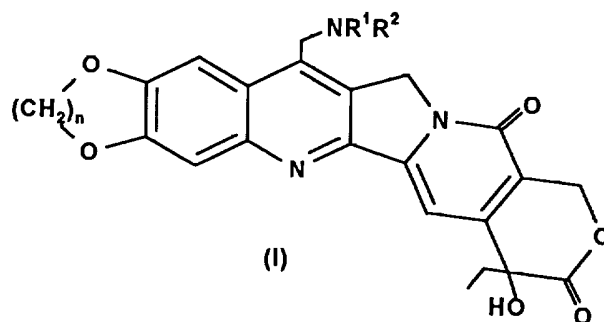
Miyasaka, et al., US-patenttijulkaisu 4399282, kuvaa ryhmän kamptotekiinijohdannaisia, jotka on substituoitu 7-asemaan mm. hydroksimetyyllillä ja alkoxsimetyyllillä. Lisäksi Miyasaka et al., US-patenttijulkaisussa 4399276, kuvaa kamptotekiini-7-aldehydin ja määrättyt sen sukuiset aldehydijohdannaiset kuten asetaalit, oksiimit ja hydratsonit. Läheisemmässä menneisyydessä

Vishnuvajjala, et al., US-patenttijulkaisussa 4943579, kuvasi sarjan vesiliukoisia kamptotekiinijohdannaisia, joissa oli substituentteja A-renkaassa, samoin kuin Boehm, et al., EP-patenttijulkaisu 0321122A2. Muita esimerkkejä kamptotekiinijohdannaisista ovat mm. Miyasaka, et al., US-patenttijulkaisut 4473692 ja 4545880; ja W. Kingsbury, et al., J. Med. Chem. 34 (1991) 98. Missään näistä viitteistä ei kuvattu yhdisteitä, joilla on suurempi kasvaimenvastainen aktiivisuus kuin kamptotekiinilla itsellään.

Wani ja apulaiset kuvasivat, että 10,11-metyleenidioksimkamptotekiini on tehokkaampi kuin substituuton kamptotekiini (katso M.C. Wani, et al., J. Med. Chem. 29 (1986) 2358, ja 30 (1987) 2317). Sen vesiliukoisuus on kuitenkin yhtä huono kuin kamptotekiinin, mikä rajoittaa sen kliinistä käyttökelpoisuutta vakavasti.

Olemme nyt keksineet kamptotekiinin vesiliukoisia johdannaisia, joilla on hyvä toposiomeraasi I-estoaktiivisuus in vitro ja vaikuttava kasvaimenvastainen aktiivisuus vi vivo.

Keksinnön mukaan saadaan kaavan I mukaisia kamptotekiinianalogeja



jossa

n on kokonaisluku 1 tai 2; ja

30 i) R¹ ja R² ovat toisistaan riippumatta vety, C₁₋₆-alkyyli tai hydroksi-C₁₋₆-alkyyli;

ii) R¹ on vety ja R² on -COR³,

jossa R³ on trifluori-C₁₋₆-alkyyli; tai

iii) R^1 ja R^2 otettuna yhdessä yhdistävän typhen kanssa muodostavat atsetidiiniin, pyrrolidiiniin, piperidiiniin, morfoliiniin, tiomorfoliiniin tai piperatsiiniin, joka piperatsiini on mahdollisesti N-substituoitu alemmalla alkyylillä, fenyyli, joka fenyyli voi olla substituoitu trifluori- C_{1-6} -alkyyli- tai C_{1-6} -alkoksiryhmällä; tai
5 -COR⁵, jossa R⁵ on C_{1-6} -alkoksi,
ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja tai solvaatteja.

Farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ovat ei-rajoitavasti mm. suolat epäorganisten happojen kanssa, kuten hydrokloridi, sulfaatti, fosfaatti, difosfaatti,
10 hydrobromidi ja nitraatti, tai suolat orgaanisen hapon kanssa, kuten aseaatti, malaatti, maleaatti, fumaraatti, tartraatti, sukkiinaatti, sitraatti, laktaatti, metaanisulfonaatti, p-tolueenisulfonaatti, palmoaatti, salisylaatti ja stearaatti. Muut hapot, kuten oksaalihappo, vaikka eivät itsekään ole farmaseuttisesti hyväksyttäviä, voivat olla käyttökelpoisia välituotteina keksinnön mukaisten yhdisteiden
15 ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen saamisessa.

Raktonirengas, rengas E, voidaan avata alkalimetalli- tai maa-alkalimetalliemäksillä, esimerkiksi natriumhydroksidilla tai kalsiumhydroksidilla muodostamaan kaavan I mukaisen yhdisteen vastaavan avoimen E-rengasmuodon
20 alkalimetalli- tai maa-alkalimetallisuoloja. Paremmasta vesiliukoisuudestaan johtuen avoin E-rengasmuoto voidaan puhdistaa edullisesti tavanomaisilla uudelleenkiteytystekniikoilla. Niinpä mainittua avointa E-rengasmuotoa voidaan käyttää sitten välituotteena kaavan I mukaisten yhdisteiden muodostamiseksi, esimerkiksi käsittelemällä hapolla, esimerkiksi suolahapolla, ja tuottaa
25 täten kaavan I mukaisten yhdisteiden puhdasta muotoa.

Kuten edellä mainittiin, kamptotekiiniryhmässä on asymmetrinen hiiliatomi
20-asemassa tehden mahdolliseksi kaksi enantiomeeristä muotoa, ts. "R"- ja "S"-konfiguraatiot. Tähän keksintöön luetaan mukaan molemmat enantiomeeriset muodot ja näiden muotojen kaikki yhdistelmät. Yksinkertaisuuden vuoksi,
30 kun rakennekaavoissa ei kuvata erityistä konfiguraatiota 20-asemassa, ymmärretään, että esitetään sekä enantiomeeriset muodot että niiden seokset. Ellei toisin ole mainittu, terminologiasopimus "(R,S)", merkitsee R- ja S-enantiomee-

rien raseemista (suunnilleen yhtä suuret osat) seosta, kun taas "(R)" ja "(S)" merkitsevät optisesti oleellisen puhtaita R- ja S-enantiomeerejä, vastaavasti. Keksintöön luetaan mukaan myös muut kaavan I mukaisen yhdisteen muodot, kuten solvaatit, hydraatit, polymorfit ja vastaavat.

5

Tässä käytetään käsite "alempi" alkyyliin ja alkoksiin viitattaessa tarkoittaa 1 - 6 hiiltä, ja tarkoittaa alkenyyliin viitattaessa 3 - 6 hiiltä (sillä ehdolla, että kaksoissidos ei ole kiinnittynyt hiileen, joka on kiinnittynyt typeen). Käsite "perhalogeeni" tarkoittaa, että kaikki vedyt on korvattu halogeenillä, esimerkiksi perhalogeeni-alempi alkyyli, esimerkiksi trifluorimetyyli. Käsite "aryyli" tarkoittaa fenyyliä tai naftyyliä.

Erityisiä kaavan I mukaisia yhdisteitä ovat:

15 Esim.

numero

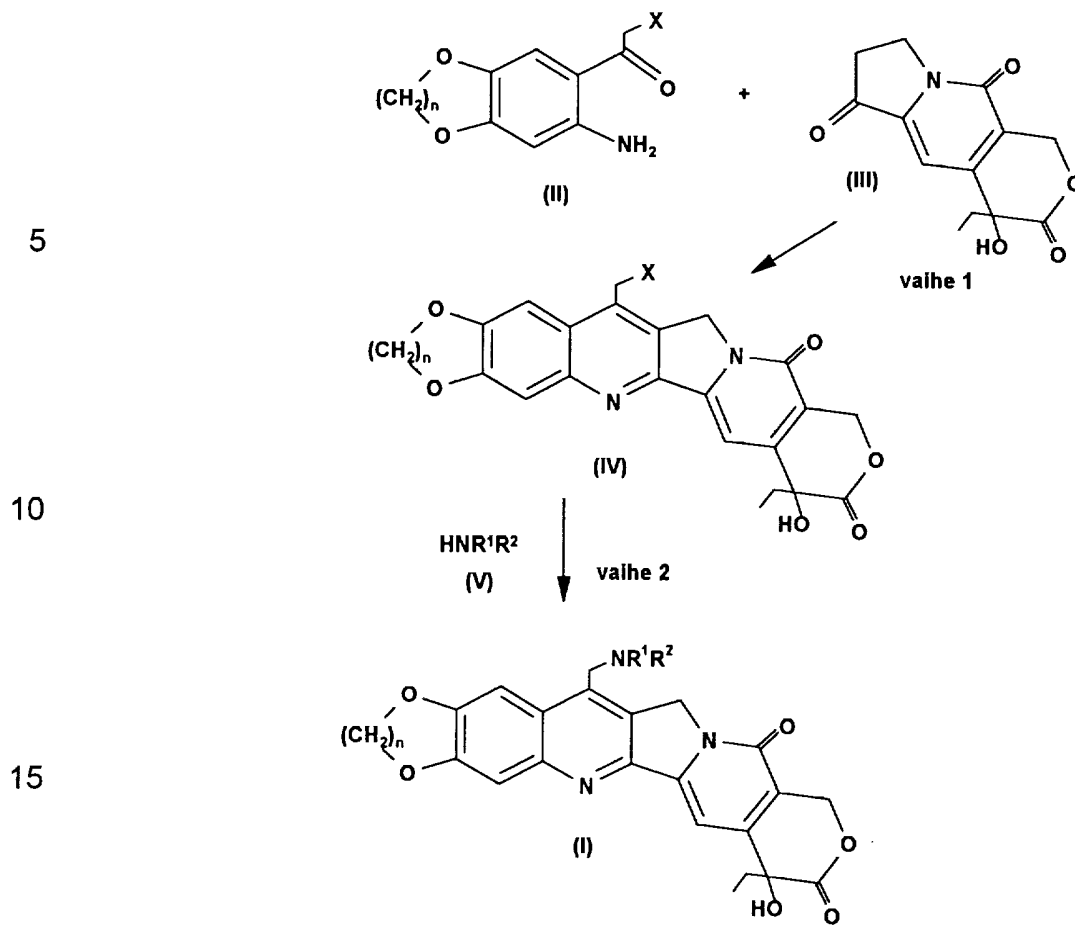
Yhdisteen nimi

-
- | | |
|----|--|
| 20 | <ol style="list-style-type: none"> 1. 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 2. 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, 3. 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 4. 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, 5. 7-morfolinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 6. 7-morfolinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, 7. 7-pyrrolidinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 8. 7-pyrrolidinometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 9. 7-piperidinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 10. 7-(4-metyylipiperatsinometyyleeni)-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 11. 7-(4-metyylipiperatsinometyyleeni)-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, 12. 7-dietyyliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, 13. 7-dietyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, 14. 7-dietyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, |
|----|--|

15. 7-N-metyylietanoliaminometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini,
16. 7-N-metyylietanoliaminometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini,
- 5 17. 7-dietanoliaminometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini,
18. 7-dietanoliaminometyyleeni-10,11-etyleendioksi-20(S)-kamptotekiini,
19. 7-atsetidinometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini,
20. 7-atsetidinometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini,
21. 7-tiomorfolinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini,
- 10 22. 7-atsetidinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini,
23. 7-(4-metyylipiperatsinometyyleeni)-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini,
24. 7-trifluoriasetamidometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini,
25. 7-trifluoriasetamidometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini,
- 15 26. 7-aminometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinidihydrokloridi,
27. 7-aminometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinidihydrokloridi,
28. 7-tert-butylioksikarbonylipiperatsinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini,
- 20 29. 7-piperatsinometyyleeni-10,11-eetyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinitrifluorietikkahapposuola,
30. 7-(α,α,α -trifluori-m-tolyyli)piperatsinometyyleeni-10,11-etyleendioksi-20(S)-kamptotekiini,
31. 7-(2-metoksifenyylipiperastino)metyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini ja
- 25 32. 7-fenyylipiperatsinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini.

Yhdisteiden valmistaminen

- 30 Yleisen menetelmän (A) mukaisesti kaavan I mukaiset yhdistelmät voidaan valmistaa alla kaavion I vaiheessa 2 esitetyllä menetelmällä:



KAAVIO I

20

Kaavion I vaiheessa 1 kaavan II mukainen yhdiste, jossa X on poistuva ryhmä (määriteltynä teoksessa J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 3. painos, s. 179, John Wiley & Sons, New York (1985)), esimerkiksi halogeeni, esimerkiksi kloori, voidaan saattaa reagoimaan kaavan III mukaisen yhdisteen kanssa menetelmällä, joka kuvataan US-patenttijulkaisussa 4894456 (tämän jälkeen '456), julkaistu 16. tammikuuta 1990, Wall et al., joka liitetään tähän viitteeksi, jolloin saadaan kaavan IV mukainen yhdiste.

25

30

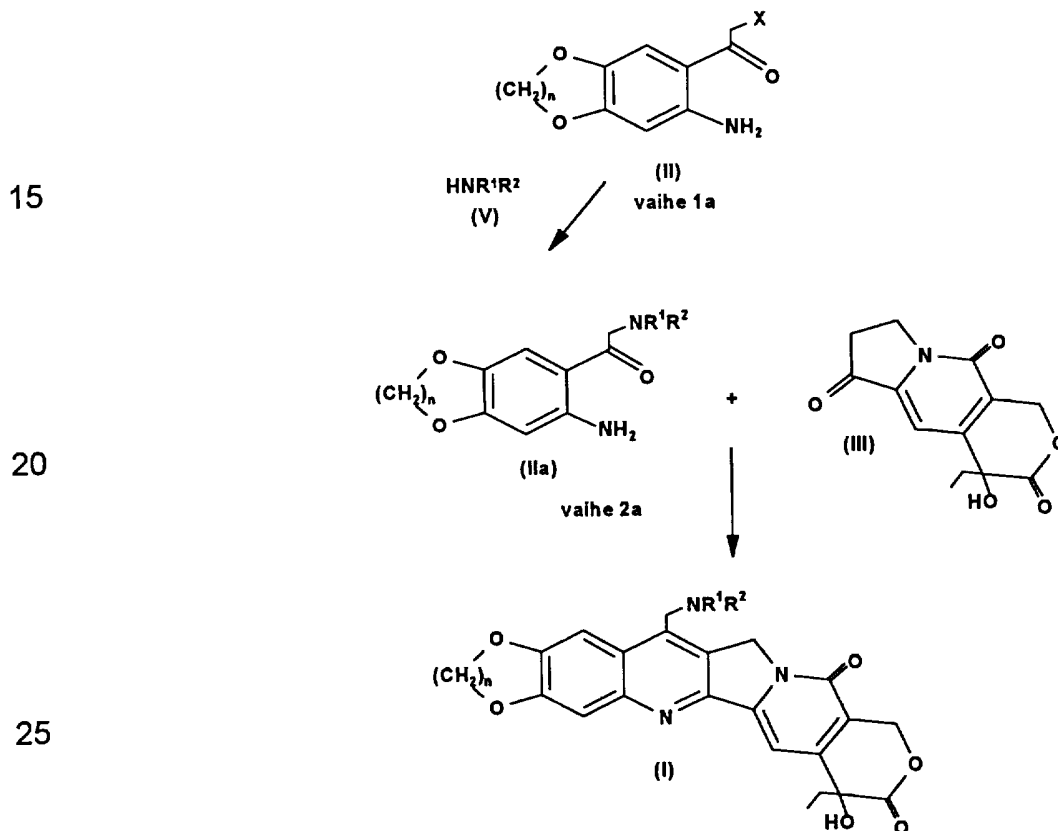
Vaiheessa 2 (Yleinen menetelmä A) kaavan IV mukaiset yhdisteet voidaan muuttaa kaavan I mukaisiksi yhdisteiksi syrjäyttämällä poistuvan ryhmän, X, kaavan V mukaisella yhdisteellä, jossa R^1 ja R^2 ovat kaavalle I määritellyt. Tämä syrjäytysreaktio voidaan suorittaa sopivasti liuotinjärjestelmässä, esimerkiksi vedessä, C_{1-4} -alkanilissa, C_{2-4} -alkyleenidiolissa, 1-hydroksi-2-metok-

sietaanissa, dimetyyliasetamidossa (DMAC), N-metyylipyrrolidinonissa, dimetyyliformamidissa (DMF), tetrahydrofuraanissa (THF), dimetyylisulfoksidissa (DMSO), tolueenissa tai näiden liuottimien seoksessa amiinin, ts. kaavan V mukaisen yhdisteen ylimäärän läsnä ollessa, emäksen, esimerkiksi kalium-

5 karbonaatin kanssa tai ilman.

Tämä menetelmä on erityisen käyttökelpoinen valmistettaessa kaavan I mukaisia yhdisteitä, jossa kumpikaan ryhmistä R^1 ja R^2 ei ole vety.

10 Toisen yleisen menetelmän (B) mukaisesti kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa alla kaavion 1A vaiheessa 2a esitetyllä menetelmällä:



KAATIO 1A

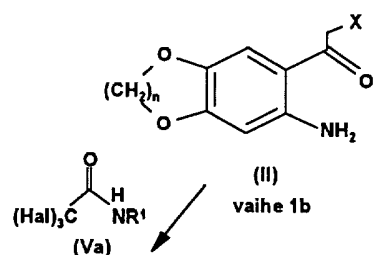
30 Vaiheessa 1a kaavan V mukainen yhdiste saatetaan reagoimaan kaavan II mukaisen yhdisteen kanssa, jolloin saadaan kaavan IIA mukainen yhdiste, jossa R^1 ja R^2 ovat kaavan I mukaisille yhdisteille määritellyt. Tämä reaktio

voidaan suorittaa samanlaisissa olosuhteissa kuin yleiselle menetelmälle (A) (Kaavio 1, vaihe 2) kuvattiin.

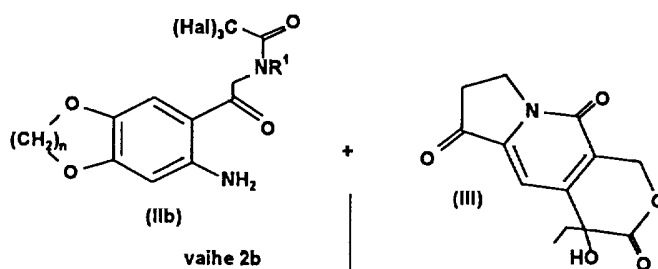
Vaiheessa 2a (yleinen menetelmä B) kaavan IIA mukainen yhdiste saatetaan reagoimaan kaavan III mukaisen yhdisteen kanssa samalla lailla kuin esitettiin edellä kaavion 1 vaiheessa 1, jolloin saadaan kaavan I mukainen yhdiste.

Menetelmän (B) erityisessä suoritusmuodossa kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa alla kaaviossa IB esitetyllä menetelmällä:

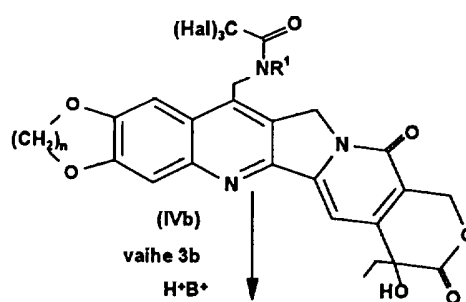
10



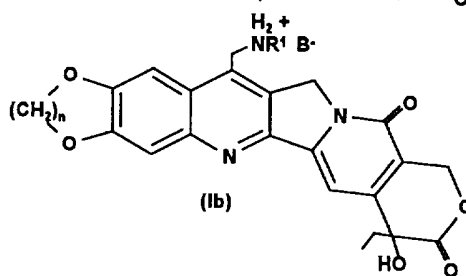
15



20



25



30

KAAVIO IB

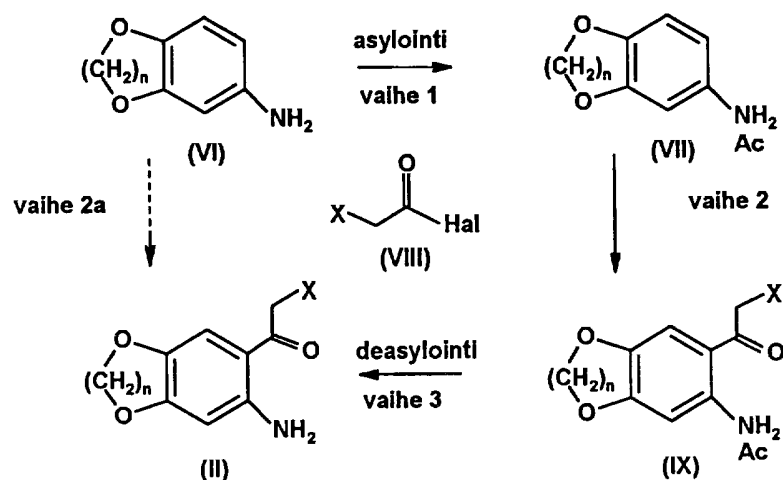
Vaiheessa 1b kaavan Va mukainen yhdiste (jossa "Hal" on halogeeni, ts. fluori, kloori, bromi tai jodi), esimerkiksi trifluoriasetamidi, saatetaan reagoimaan kaavan II mukaisen yhdisteen kanssa poolisessa, aproottisessa liuotuksessa, esimerkiksi asetonitrilissä, emäksen läsnä ollessa, joka on liukoinen pooliseen, aproottiseen liuottimeen, esimerkiksi cesiumkarbonaattia, jos liuotin on asetonitriliä, jolloin saadaan kaavan IIb mukainen yhdiste.

Vaiheessa 2b kaavan IIb mukainen yhdiste saatetaan reagoimaan kaavan III mukaisen yhdisteen kanssa samalla tavalla kuin esitetään kaavion 1 vaiheessa 1, jolloin saadaan kaavan IVb mukainen yhdiste.

Vaiheessa 3b kaavan IVb mukainen yhdiste käsitellään hapolla H^+B^- , kuten mineraalihapolla, esimerkiksi suolahapolla, jolloin saadaan kaavan Ib mukainen yhdiste, ts. kaavan I mukaisen yhdisteen suola. Kaavan Ib mukainen yhdiste voidaan käsitellä emäksellä tekniikan tason vakiomenetelmän mukaisesti, jolloin saadaan vastaava vapaa emäs. Vapaa emäs voidaan sitten vaadittaessa muuttaa tavanomaisella tavalla farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

Tämä varamenetelmä on erityisen käyttökelpoinen valmistettaessa kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa sekä R^1 että R^2 ovat vety tai R^2 on vety.

Kaavan II mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa kaaviossa II esitetyllä menetelmällä:



KAAVIO II

Kaavion II vaiheessa 1 kaavan VI mukainen yhdiste saatetaan reagoimaan asylointireagenssin, esimerkiksi C_{2-5} -alkaanihappohalogenidin tai C_{2-5} -alkaanihappoanhydridin, esimerkiksi asetyylikloridin tai etikka-anhydridin kanssa heikon emäksen, esimerkiksi kaliumkarbonaatin, esimerkiksi kaliumkarbonaatin
5 läsnä ollessa poolisessa, aprottisessa liuotimessa, esimerkiksi kloroformissa, jolloin saadaan kaavan VII mukainen yhdiste, jossa Ac on C_{2-5} -asyyliryhmä.

Vaiheessa 2 kaavan VII mukainen yhdiste saatetaan reagoimaan kaavan VIII mukaisen yhdisteen kanssa, jossa X on kaavan IV mukaiselle yhdisteelle määritetty poistuva ryhmä, ja Hal on halogeeni, metallihalogenidin, esimerkiksi sinkkikloridin läsnä ollessa poolisessa, aprottisessa liuotimessa, esimerkiksi nitrometaanissa, jolloin saadaan kaavan IX mukainen yhdiste. Kaavan VIII mukainen yhdiste voi olla esimerkiksi halogeeniasetyylihalogenidi, esimerkiksi klooriasetyylikloridi, tai halogeeniasetonitrili, esimerkiksi klooriasetonitrili.

15

Vaiheessa 3 kaavan II mukainen yhdiste muodostetaan poistamalla asyyliryhmän, Ac, kaavan IX mukaisesta yhdisteestä, ts. deasyloimalla tekniikan tasolla tunnetuilla menetelmillä, kuten sellaisilla, jotka esitetään käsikirjassa T. Green, Protective Groups in Organic Chemistry, luku 7, John Wiley, New York (1981).

20 Esimerkiksi kaavan IX mukaista yhdistettä voidaan kuumentaa refluksoiden konsentroidussa suolahapossa, ja tulokseksi saatu suola säätää neutraaliin pH-arvoon emäksellä, esimerkiksi natriumhydroksidilla, jolloin saadaan kaavan II mukainen yhdiste.

25 Kaavion II vaiheessa 2a, kun kaavan VI mukainen yhdiste on etyleenidioksiyhdiste, ts. n on 2, se voidaan saattaa reagoimaan suoraan kaavan VIII mukaisen yhdisteen kanssa, suojaamatta ensin aminoryhmää asyloimalla, jolloin saadaan kaavan III mukainen vastaava yhdiste.

30 Vaihtoehtoisesti kaavan II mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa menetelmällä, joka kuvataan julkaisussa: T. Sugasawa, et al.; J. Org. Chem. 44 (1979) 578.

Kaavan III mukainen yhdiste voidaan valmistaa menettelytavalla, joka kuvataan Wall, et al.:n patenttijulkaisussa '456, palstalla 11, alkaen riviltä 30. Kaaviosta 1 ilmenee, että kaavan III mukainen yhdisteen asymmetrisen hiilen konfiguraatio määrää kaavan I mukaisten yhdisteiden konfiguraation. Kaavan
 5 III mukainen raseeminen yhdiste voidaan resolvoida kummaksikin enantiomeereistään menetelmällä, jonka on kuvannut Wani, et al., US-patenttijulkaisussa 5053512 (tämän jälkeen "512"), joka liitetään tähän viitteeksi.

Kaavojen II, IIA ja IV mukaiset uudet välituoteyhdisteet kuuluvat keksinnön
 10 suoja-alaan.

Yleisen menetelmän (D) mukaisesti kaavan I mukainen yhdiste voidaan muuttaa keksinnön mukaiseksi toiseksi yhdisteeksi tavanomaisia menettelytapoja käyttämällä.

15

Siten esimerkiksi kaavan I mukainen yhdiste, jossa yksi tai usea ryhmistä R^1 ja R^2 on vetyatomi, voidaan alkyloida tavanomaisia tekniikkoja käyttämällä. Reaktio voidaan suorittaa käyttämällä sopivaa alkylointireagenssia kuten alkyylihalogenidi, alkyylitosylaatti tai dialkyylisulfaatti. Alkylointireaktio voidaan suorittaa
 20 sopivasti orgaanisessa liuottimessa kuten amidi, esimerkiksi dimetyyliformamidi, tai eetteri, esimerkiksi tetrahydrofuraani, edullisesti emäksen läsnäollessa. Sopiviin emäksiin luetaan mukaan esimerkiksi alkalimetallihydridit kuten natriumhydridi, alkalimetallikarbonaatit kuten natriumkarbonaatti, tai alkalimetallialkoksidit kuten natrium- tai kaliummetoksidi, -etoksidi tai -t-butoksidi.
 25 Alkylointireaktio suoritetaan sopivasti lämpötilassa 25 - 100°C.

30

Vaihtoehtoisesti kaavan I mukainen yhdiste, jossa yksi tai usea ryhmistä R^1 ja R^2 on vetyatomi, voidaan muuttaa toiseksi kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi pelkistävällä alkyloinnilla. Pelkistävä alkylointi sopivalla aldehydillä tai ketonilla
 voidaan suorittaa käyttämällä maa-alkalimetalliborohydridiä tai -syaaniborohydridiä. Reaktio voidaan suorittaa vesipohjaisessa tai vedettömässä väliaineessa, sopivasti alkoholissa, esimerkiksi metanolissa tai etanolissa tai eetterissä, esimerkiksi dioksaanissa tai tetrahydrofuraanissa, mahdollisesti veden

läsnä ollessa. Reaktio voidaan suorittaa sopivasti lämpötilassa alueella 0 - 100°C, edullisesti 5 - 50°C.

Vaihtoehtoisesti kaavan I mukaiset yhdisteet jossa R¹ on hydroksialkyyli-ryhmä,
5 voidaan valmistaa pelkistämällä kaavan I mukaisen yhdisteen, jossa R² on ryhmä COR³, jossa R³ on alempi alkoksiryhmä. Pelkistys voidaan suorittaa sopivasti käyttämällä sopivaa hydridipelkistysreagenssia, esimerkiksi litium-aluminiumhydridiä tai litiumtrietyliborohydridiä sopivassa liuottimessa kuten eetteri, esimerkiksi dietyylieetteri, tetrahydrofuraani tai dioksaani, tai hiilivety
10 kuten tolueni. Reaktio suoritetaan sopivasti lämpötilassa -78 - 100°C, edullisesti noin 0°C:ssa.

Toisen yleisen menetelmän (E) mukaisesti kaavan I mukainen yhdiste tai sen suola voidaan valmistaa alistamalla kaavan I mukaisen suojatun johdannaisen
15 tai sen suolan reaktiolle suojarahmian tai -ryhmien poistamiseksi.

Siten aikaisemmassa vaiheessa kaavan I mukaisen yhdisteen tai sen suolan valmistuksessa voi olla välttämätöntä ja/tai toivottavaa suojata molekyylissä
20 yksi tai usea herkkä ryhmä ei-toivottujen sivureaktioiden välttämiseksi.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistuksessa käytettyjä suojarahmia voidaan käyttää tavanomaisella tavalla. Katso esimerkiksi 'Protective Groups in Organic Chemistry', toimittaja J.F.W. McOmie (Plenum Press 1973) tai
25 'Protective Groups in Organic Synthesis', kirjoittanut Theodora W Greene (John Wiley and Sons 1981).

Tavanomaisiin aminosuojaryhmiin luetaan mukaan esimerkiksi aralkyyli-ryhmät, kuten bentsyyli-, difenyyylimetyyli- tai trifenyyylimetyyli-ryhmät; ja asyyli-ryhmät kuten N-bentsyylioksidikarbonyyli tai t-butoksidikarbonyyli. Siten yleisen kaavan I
30 mukaiset yhdisteet, jossa yksi tai usea ryhmistä R¹ ja R² on vety, voidaan valmistaa poistamalla suojaus vastaavasta suojatusta yhdisteestä.

- Hydroksiryhmät voidaan suojata esimerkiksi aralkyyli ryhmällä kuten bentsyyli-, difenyyli- tai trifenyylimetyyli- tai asyyli-ryhmillä, asyyli-ryhmillä kuten asetyyli-, piisuojarahmillä, kuten trimetyylisilyyli- tai t-butyylimetyylisilyyli-ryhmät, tai tetrahydropyraanijohdannaisina.
- 5 Kaikkien läsnä olevien suojaryhmien poistaminen voidaan suorittaa tavanomaisia menettelytapoja käyttämällä. Siten esimerkiksi aralkyyli-ryhmä kuten bentsyyli, voidaan lohkaista hydrogenolyysillä katalysaattorin (esimerkiksi Pd/C) läsnä ollessa; asyyli-ryhmä kuten N-bentsyylioksidikarbonyyli voidaan poistaa
- 10 hydrolyysillä esimerkiksi vetybromidilla etkka- tai pelkistämällä, esimerkiksi katalyyttisellä hydrogenoinnilla; piisuojarahmit voidaan poistaa esimerkiksi käsittelemällä fluoridi-ionilla tai hydrolyysillä happamissa olosuhteissa; tetrahydropyraaniryhmät voidaan lohkaista hydrolyysillä happamissa olosuhteissa.
- 15 Kuten ymmärretään, voi missä hyvänsä edellä kuvatuista yleisistä menetelmistä (A) - (D) olla välttämätöntä tai toivottavaa suojata kaikki molekyylissä olevat suojaryhmät juuri kuvatulla tavalla. Siten reaktiovaihe, johon liittyy yleisen kaavan I mukaisen suojatun johdannaisen tai sen suolan suojauspoisto, voidaan suorittaa seuraavaksi minkä hyvänsä edellä kuvatuista menetelmistä
- 20 (A) - (D) jälkeen.
- Siten keksinnön edelleen erään näkökannan mukaisesti seuraavat reaktiot voidaan, mikäli välttämätöntä ja/tai haluttaessa, suorittaa missä hyvänsä järjestyksessä minkä hyvänsä menetelmistä (A) - (D) jälkeen
- 25 (i) kaikkien suojaryhmien poistaminen; ja
(ii) kaavan I mukaisen yhdisteen tai sen suolan muuttaminen farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolakseen.
- 30 Kun on toivottavaa eristää keksinnön mukainen yhdiste suolana, esimerkiksi happoadditiosuolana, tämä voidaan saavuttaa käsittelemällä kaavan I mukaisen vapaan emäksen sopivalla hapolla, edullisesti ekvivalentilla määrällä, tai kreatiinisulfaattilla sopivassa liuottimessa (esimerkiksi vesipohjainen etanoli).

Yhtä hyvin kuin että käytetään viimeisenä päävaiheena valmistusjaksossa, voidaan edellä ilmaistuja yleisiä menetelmiä keksinnön mukaisten yhdisteiden valmistukseen käyttää myös toivottavien ryhmien lisäämiseen vaaditun yhdisteen valmistuksen välivaiheessa. Sen vuoksi olisi ymmärrettävä, että reaktio-

5 den jakso pitäisi valita tällaisissa monivaiheisissa menetelmissä jotta reaktio-olosuhteet eivät vaikuttaisi molekyyllissä läsnä oleviin ryhmiin, jotka ovat toivottavia lopputuotteessa.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden biologinen aktiivisuus vaikuttaa perustuvan

10 S-enantiomeeriin, ja R-enantiomeerilla on vähän tai ei lainkaan aktiivisuutta. Siten kaavan I mukaisen yhdisteen S-enantiomeeri on yleensä edullinen R:n ja S:n seokseen kuten raseemiseen seokseen verrattuna. Jos R-enantiomeeria kuitenkin haluttaisiin, esimerkiksi kontrollitutkimuksiin tai muiden yhdisteiden synteysiin, se voitaisiin valmistaa sopivasti edellä olevalla menetelmällä käyttäen R-enantiomeeriä kaavan III mukaisesta yhdisteestä, jotka valmistetaan

15 '512:n esitysten mukaisesti.

Kaavan I mukainen yhdiste, joka valmistetaan kaavion I, IA tai Ib mukaisella reaktiolla, voidaan puhdistaa tekniikan tason tavanomaisilla menetelmillä,

20 esimerkiksi kromatografialla, tislauksella tai kiteyttämällä.

Lohkaistavan kompleksin in vitro-määrittäminen

Alla taulukossa A olevat tiedot osoittavat kaavan I mukaisten yhdisteiden suhteellisen topoisomeraasityypin I estävän aktiivisuuden. Tämä määrittäminen, joka

25 suoritettiin menetelmällä, joka kuvataan julkaisussa: Hsiang, Y, et al., J. Biol. Chem. 260 (1985) 14873-14878, korreloi hyvin topoisomeraasi-inhibiittorien, esimerkiksi kamptotekiinin ja sen analogien in vivo-kasvaimenvastaisen aktiivisuuden kanssa syövän eläinmalleissa. Katso julkaisuja: Hsiang et al. Cancer

30 Research 49 (1989) 4385-4389; ja Jaxel et al., Cancer Research 49 (1989) 1465-1469.

Ne yhdisteet, joilla on havaittavissa oleva aktiivisuus konsentraatioilla yli 2000 nM ("+" taulukossa A), pidetään heikosti/kohtuullisen aktiivisina, kun taas sellaiset, jotka ovat aktiivisia konsentraatioilla alle 500 nM ("++++" taulukossa A) ovat hyvin aktiivisia. Käsite "IC₅₀" tarkoittaa kaavan I mukaisen yhdisteen konsentraatiota, jolla 50 % DNA-substraatista on miehitetty topoisomeraasilla.

TAULUKKO A

10 Kaavan I mukaisten yhdisteiden topoisomeraasi-inhibitioaktiivisuus lohkaistava kompleksi-määrityksessä

	Esimerkki numero	Isomeerinen suhteellinen muoto IC ₅₀ *
	2	(S) ++++
15	6	(S) ++++
	11	(S) ++++
	1	(R,S) ++++
	17	(R,S) ++++
	5	(R,S) ++++
20	4	(S) +++
	9	(R,S) +++
	10	(R,S) +++
	13	(R,S) +++
	16	(R,S) ++
25	7	(R,S) ++
	15	(R,S) ++
	16	(R,S) ++
	19	(R,S) ++
	8	(R,S) +
30		

* IC₅₀-alue

	<u>Symboli</u>	<u>nM</u>
	++++	<~500
	++++	<~1000>~500
5	++++	<~2000>~1000
	++++	>~2000

Myös kaavan IV mukaisilla yhdisteillä on keksitty olevan hyvä topoisomeraasi I-inhibitioaktiivisuus.

10

Ihmisen kasvainsenograftit

Viime vuosina paljaisiin hiiriin heteroistutettuja ihmisen kasvainsenografteja on käytetty laajalti syöpäkemoterapeuttisten aineiden kasvaimenvastaisen aktiivisuuden määrittämiseksi. Katso Giovanella, B.C., Stehlin, Jr. J.S., Shepard, R.C. ja Williams, Jr. L.J., "Correlation between response to chemotherapy of human tumors in patients and in nude mice", *Cancer* 52 (1983) 1146-1152; Boven, E. ja Winograd, B, toimittajat *The Nude Mouse in Oncology Research* CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, (1991); ja Fiebig, H.H., "comparison of tumor response in nude mice and in patients", *Human Tumour Xenografts in Anticancer Drug Development*, Winograd, B., Peckham, M.J. ja Pinedo, H.M., toimittajat, E.S.O. Monographs, Springer, Heidelberg, 25 (1988).

Yleensä ihmisen kasvainsenografteilla ei säily ainoastaan histologiset, bioke-
mialliset ja antigeeniominaispiirteet, vaan myös alkuperän kasvainkudoksen kemosenitiivisyys (Boven, et al., yllä). Pitkälliset tutkimukset ovat tuottaneet todisteita siitä, että ihmisen kasvainsenografteilla säilyy nämä alkuperäiset kasvainominaisuudet, mukaan lukien biologinen ei-stabiilisuus, kuten tiedetään tapahtuvan potilaan kasvaimissa (Boven, et al., yllä). Mikä tärkeintä, useimmat tutkijat ovat kuvanneet, että lääkkeen vaikutuksilla ihmiskasvainsenografteihin ja kliinisillä tuloksilla ihmispotilailla on hyvät korrelaatiot (Giovanella, et al., ja Fiebig edellä).

Ihmisen paksusuolen ja peräsuolen adenokarsinooma HT-29-ksenograffin
in vivo-määrittäminen

Naaraspuolisia NU/NU-hiiriä painoltaan 21 ± 2 g käytetään tähän modifioituun
5 versioon testistä, joka kuvataan julkaisussa: B.C. Giovanella, et al.; Science
246 (1989) 1046. Kontrolli- ja testieläimet injisoidaan ihonalaisesti lapaluun-
alaiselle alueelle suspensiolla, jossa on 10^6 elävää HT-29 ihmisen paksusuo-
len kasvainsolua päivänä 0. Kasvaimet saavat kasvaa 2 viikon ajan ennen
lääkkeen antamista. Kullakin lääkkeellä valitaan useita annoksia perustuen
10 sen in vitro-aktiivisuuteen topoisomeraasi I:tä vastaan. Kukin annostusryhmä
sisältää 8 eläintä. Testiyhdisteet valmistetaan joko 0,1 M asetaattipuskuriin,
pH 5 (väliaine "a"), tai 87,5 %:iin fosfaattipuskuroitua suolaliuosta,
12,375 %:iin dimetyylisulfoksidia ja 0,125 %:iin Tween 80:tä (tavaramerkki
yhtiöstä ICI America polyoksietyleenisorbitaanimonoleaatile) (väliaine "b"),
15 ja niitä annetaan ihonalaisesti kahdesti viikossa 5 viikon ajan alkaen 14. päi-
vänä. Annokset annetaan mg/kg-pohjalta kunkin häkin keskimääräisen kehon-
painon mukaisesti.

Kasvaimen paino lasketaan kasvaimen kahdesta mittaharppimittauksesta käyt-
20 tämällä kaavaa: kasvaimen paino = pituus x leveys² + 2 yksikössä mm. Kulla-
kin eläimellä kasvaimen painoa tarkkaillaan kokeen ajan. Tulokset esitetään
kullekin ryhmälle suhteena keskimääräisestä kasvaimen painosta välittömästi
5 viikon käsittelyn jälkeen (päivä 50) jaettuna keskimääräisellä kasvaimen
painolla välittömästi ennen käsittelyä (päivä 14). Tulokset esitetään taulukossa
25 B. Kummallakin väliainekontrollilla suhde on noin 20, ilmaisten että kasvaimen
paino kasvoi kokeen suorituksen aikana lääkehoidon puuttuessa suunnilleen
20-kertaiseksi. Vastakohtava suhde 1 ilmaisee kasvaimen kehityksen pysähty-
misen, kun taas suhde alle 1 ilmaisee kasvaimen taantumisen. Siten yhdisteet
4 ja 6 aiheuttivat kasvaimen kehityksen pysähtymisen, kun taas yhdisteet 11 ja
30 23 aiheuttivat kasvaimen taantumisen. Kasvaimenvastaisen aktiivisuuden
kriteeri on kasvaimen kasvun ainakin 50-% esto 5 viikon annostelun jälkeen
(päivä 50), antaen suhteen pienempi tai yhtä suuri kuin 10.

TAULUKKO B

Optimaalinen annos in vivo-kasvaimenvastainen aktiivisuus

5	<u>Yhdiste</u>	<u>(mg/kg)</u>	(kasvaimen paino _{päivä 50} + <u>kasvaimen paino_{päivä 14}</u>)
	kontrolli (väliaine yksinään)	--	20,0 ^a , 21,8 ^b
10	2	0,8	1,8 ^b
	4	7,0	1,3 ^a , 1,0 ^b
	6	1,0	1,0 ^b
	11	9,0	0,6 ^a
	14	2,0	2,0 ^a
15	20	1,5	1,5 ^a
	22	12,0	1,6 ^a
	23	3,0	0,5 ^a

a. väliaine, jossa on 0,1 M asetaattipuskuria, pH 5.

20 b. väliaine, jossa on 87,5 % fosfaattipuskuroitua suolaliuosta, 12,375 % dimetyylisulfoksidia ja 0,125 % Tween 80:tä.

Käyttökelpoisuus

25 Tällaisen aktiivisuuden valossa kaavan I mukaiset yhdisteet ovat aktiivisia nisäkäs(-, mukaan lukien ihmisten) kasvainten ja syöpämäisten kasvu- ja kasvainten vastaan, kuten suuontelon ja nielun (huuli, kieli, suu, nielu), ruokatorven, mahalaukun, ohutsuolen, paksusuolen, peräsuolen, maksan, sappitiehyiden, haiman, kurkunpään, keuhkojen (mukaan lukien "non-small cell"-keuhkosyövän), luun, sidekudoksen, ihon, paksusuolen, rinta-, kohdunkaulan, corpus endometrium, munasarjan, eturauhasen, kiveksen, virtsarakon, munuaisten ja muiden virtsatiekudosten, silmän, aivojen ja keskushermoston, kilpirauhasen ja muun umpieritysrauhanen, leukemiat (imusolun, jyvässolun, mo-

nosyytin), Hodginsintauti, ei-Hodginsintauti-imukudoskasvain, multipplei myelooma ja vastaavat. Käsitteitä "kasvain", "syöpä" ja "syöpämäiset kasvut" käytetään tässä synonyyminomaisesti.

- 5 Kaavan I mukaisen yhdisteen määrä, joka vaaditaan jotta se olisi tehokas kasvaimenvastaisena aineena, vaihtelee hoidettavan yksittäisen nisäkkään mukaan, ja riippuu viime kädessä lääkärin tai eläinlääkärin harkinnasta. Huomioon otettavia seikkoja ovat mm. hoidettava tila, antoreitti, formulaation luonne, nisäkkään kehonpaino, pinta-ala, ikä ja yleistila, ja erityinen annettava
- 10 yhdiste. Sopiva tehokas kasvaimenvastainen annos on kuitenkin alueella noin 0,1 - noin 200 mg/kg kehonpainoa päivässä, edullisesti alueella noin 1 - noin 100 mg/kg kehonpainoa päivässä. Koko päivittäisannos voidaan antaa yhtenä
- 15 ainoana annoksena, useina annoksina, esimerkiksi 2 - 6 kertaa päivässä, tai laskimonsisäisellä infuusiolla valittua kestoja varten. Edellä mainitun alueen ylittävät ja alittavat annokset kuuluvat keksinnön suoja-alaan ja voidaan antaa yksittäiselle potilaalle haluttaessa ja tarvittaessa.

- 20 Esimerkiksi 75-kg nisäkkäälle annosalue olisi noin 75 - noin 7500 mg/päivä, ja tyypillinen annos olisi noin 800 mg/päivä. Mikäli määrätään erillisiä moninkertaisia annoksia, niin hoito olisi tyypillisesti 200 mg kaavan I mukaista yhdistettä annettuna neljästi päivässä.

Formulaatiot

- 25 Keksinnön mukaiset lääketieteelliseen käyttöön tarkoitetut formulaatiot käsittävät aktiivista yhdistettä, ts. kaavan I mukaista yhdistettä, yhdessä hyväksyttävän väliaineensa ja mahdollisesti muiden terapeuttisesti aktiivisten valmistusaineiden kanssa. Väliaineen on oltava farmaseuttisesti yhteensopivaa siinä mielessä, että se on yhteensopivaa formulaation muiden valmistusaineiden kanssa
- 30 sa eikä ole haitaksi sen vastaanottajalle.

Sen vuoksi tämä keksintö antaa edelleen käyttöön farmaseuttisen formulaation, joka sisältää kaavan I mukaista yhdistettä yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävän väliaineensa kanssa.

- 5 Formulaatioita ovat mm. sellaiset, jotka sopivat oraaliseen, rektaaliseen, vaginaaliseen, transdermaaliseen tai parenteraaliseen (mukaan luettuna ihonalaiseen, lihaksensisäiseen ja laskimonsisäiseen) antoon. Edullisia ovat sellaiset, jotka soveltuvat oraaliseen tai parenteraaliseen antoon.
- 10 Formulaatiot voidaan tarjota sopivasti yksikköannosmuodossa, ja nämä voidaan valmistaa millä hyvänsä farmasian alalla hyvin tunnetuista menetelmistä. Kaikkiin menetelmiin liittyy vaihe, jossa aktiivinen yhdiste saatetaan väliaineen yhteyteen, joka käsittää yhtä tai useaa lisävalmistusainetta. Yleensä formulaatiot valmistetaan saattamalla aktiivisen yhdisteen tasaisesti ja intiimisti kosketuksiin nestemäisen väliaineen ja hienojakoisen kiinteän väliaineen kanssa ja sitten, mikäli välttämätöntä, tuotteen muotoilun haluttuun yksikköannosmuotoon.

20 Keksinnön mukaiset formulaatiot, jotka soveltuvat oraaliseen antoon, voidaan tarjota erillisinä yksikköinä kuten kapselit, lääkepussit, tabletit tai imeskelytabletit, jotka kukin sisältävät ennaltamäärätyn määrän aktiivista yhdistettä; jauheina tai rakeina; tai suspensiona tai vesipohjaisena liuoksena tai vedettömänä liuoksena, esimerkiksi siirappina, eliksiirinä, emulsiona tai lääkekerta-annoksena.

25

Tabletti voidaan valmistaa puristamalla tai muottipuristamalla, mahdollisesti yhden tai usean lisävalmistusaineen kanssa. Puristetut tabletit voidaan valmistaa puristamalla sopivassa koneessa aktiivinen yhdiste, joka on vapaasti valuvassa muodossa, esimerkiksi jauhetta tai rakeita, mahdollisesti sekoitettuna lisävalmistusaineiden kanssa, esimerkiksi sideaineiden, voiteluaineiden, inerttien laimennusaineiden, pinta-aktiivisten aineiden tai dispergoimisaineiden. Muottipuristetut tabletit voidaan valmistaa muottipuristamalla sopivassa ko-

30

neessa jauhetun aktiivisen aineen seosta minkä hyvänsä sopivan väliaineen kanssa.

5 Siirappi tai suspensio voidaan valmistaa lisäämällä aktiivinen yhdiste sokerin, esimerkiksi sakkaroosin konsentroituu vesiliuokseen, johon voidaan lisätä myös mitä hyvänsä lisävalmistusaineita. Tällaisia/tällainen lisävalmistusaine(ita) voi(vat) olla mm. makuaine, aine, joka hidastaa sokerin kiteytymistä, tai aine, joka lisää minkä hyvänsä muun valmistusaineen liukoisuutta, esimerkiksi polyhydristä alkoholia, esimerkiksi glyserolia tai sorbitolia.

10

Rektaaliseen tai vaginaaliseen antoon tarkoitetut formulaatit voidaan tarjota puikkoina tavanomaisen väliaineen kanssa, esimerkiksi kaakaovoin tai Whitesol S55:n (tavaramerkki yhtiöstä Dynamine Nobel Chemical, Saksa, peräpuikkoperusaineelle).

15

Transdermaaliseen antoon keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan formuloida voiteiksi, geeleiksi, ihovoiteiksi tai huuhtelunesteiksi, tai ihon läpi vapauttavaksi laastariksi. Tällaiset koostumukset voidaan formuloida esimerkiksi vesi- tai öljypohjaisen perusaineen kanssa lisäten sopivia sakeutus-, geeliyttämis-, emulgointi-, stabilointi-, dispergoimis-, suspendoimis- ja/tai väriaineita.

20

Parenteraaliseen antoon tarkoitetut formulaatit sisältävät sopivasti aktiivisen yhdisteen steriiliä vesipohjaista valmistetta, joka on edullisesti isotonista vastaanottajan veren kanssa. Tällaiset formulaatit käsittävät sopivasti kaavan I mukaisen yhdisteen farmaseuttisesti ja farmakologisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan liuosta tai suspensiota, joka on isotonista vastaanottajan veren kanssa. Tällaiset formulaatit voivat sisältää sopivasti tislattua vettä, 5 % dekstroosia tislatussa vedessä tai suolaliuoksessa, ja kaavan I mukaisen yhdisteen farmaseuttisesti ja farmakologisesti hyväksyttävää happoadditiosuolaa, jolla on 25 sopiva liukoisuus näihin liuottimiin, esimerkiksi hydrokloridia. Käyttökelpoiset formulaatit käsittävät myös konsentroituja liuoksia tai kiinteitä aineita, jotka sisältävät kaavan I mukaista yhdistettä, ja jotka antavat sopivalla liuottimella laimennettaessa edellä kuvatun, parenteraaliseen antoon sopivan liuoksen.

30

- Edellä mainittujen valmistusaineiden lisäksi keksinnön mukaiset formulaatiot voivat lisäksi sisältää yhtä tai useaa mahdollista lisävalmistusainetta, joita käytetään farmaseuttisten formulaatioiden alalla, esimerkiksi laimennusaineita, puskurointiaineita, aromiaineita, sideaineita, pinta-aktiivisia aineita, sakeutus-
- 5 aineita, vioiteliaineita, suspendoimisaineita, säilöntäaineita (mukaan luettuna hapetuksenestoaineet) ja vastaavat.

Esimerkit

- 10 Seuraavat esimerkit kuvaavat tämän keksinnön näkökantoja, mutta niitä ei pitäisi ymmärtää rajoittaviksi. Näissä esimerkeissä käytetyt symbolit ja yleiset tavat ovat yhdenmukaisia nykyajan kemiallisessa kirjallisuudessa, esimerkiksi julkaisussa Journal of the American Chemical Society käytettyjen kanssa. Tässä käytettäessä käsite "huoneenlämpötila" tarkoittaa noin 25°C.

15

Esimerkki 1

7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini

(Yhdiste 1)

20

(A) 3,4-metyleenidioksisetanilidi

25

Kaupallisesti saatavaan 3,4-metyleenidioksidianiliiniin (17,0 g, 124 mmol) ja natriumkarbonaattiin (15,5 g, 136 mmol) kloroformissa (90 ml) 5°C:ssa lisätään sekoittaen tipoittain asetyylikloridia (8,8 g, 124 mmol). Reaktio saa lämmitä huoneenlämpötilaan, ja sekoittamista jatketaan noin 18 tuntia. Reaktioseos pestään kahdesti noin 50 ml:lla 1N HCl:ää, ja orgaaninen kerros kuivataan (MgSO₄), ja liuotin poistetaan, jolloin saadaan ruskeaa kiinteää ainetta. Uudelleenkiteytetään vedestä käsitellen aktiivihiehellä, jolloin saadaan 3,4-metyleenidioksisetanilidia (9,4 g, 42,1 % teoreettisesta) vaaleanruskeana kiinteänä aineena.

30

Alkuaineanalyysi: (C₉H₉NO₃)

	% C	% H	% N
Saatu:	60,34	5,04	7,79
Laskettu:	60,33	5,06	7,82

5 (B) 2'-asetyyliamino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenoni

Seokseen, jossa on sinkkikloridia (24,3 g, 178,3 mmol) ja klooriasetyylikloridia (16,1 ml, 202,1 mmol) nitrometaanissa (85 ml), typen alla, huoneenlämpötilassa, lisätään sekoittaen tipoittain 3,4-metyleenidioksisetanilidia (8,96 g, 50,0 mmol) nitrometaanissa (15 ml). Sitten tätä seosta sekoitetaan refluksoiden 1,5 tunnin ajan, annetaan jäähtyä huoneenlämpötilaan, kaadetaan jäihin, uutetaan metyleenikloridilla, joka sitten poistetaan haihduttamalla, jolloin saadaan ruskeaa kiinteää ainetta. Tämä kiinteä aine uudelleenkiteytetään etyyli-
 15 2'-asetyyliamino-4',5'-metyleenidioksi-2-kloori-asetofenoni (831,3 mg, 6,5 % teoreettisesta) keltaisina kiteinä.
¹H-NMR (CDCl₃): δ 8,45 (s, 1H); 7,2 (s, 1H); 6,09 (s, 2H); 4,65 (s, 2H); 2,25 (s, 3H).

20 (C) 3,4-metyleenidioksipivaloyyliamini

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1(A) menetelmällä paitsi, että asetyylikloridin sijasta käytetään ekvivalenttia 2,2-dimetyylipropanoyylikloridimäärää.

25 (D) 2'-pivaloyyliamino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenoni

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1(B) menetelmällä paitsi, että 3,4-metyleenidioksisetanilidin sijasta käytetään ekvivalenttia 3,4-metyleenidioksi-pivaloyyliamini-

30

(E) 2'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenoni

2'-asetyyliamino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenoniin (0,9 g, 3,53 mmol) tai ekvivalenttiin määrään 2'-pivaloyyliamino-4',5'-metyleenidioksi-2-kloori-
 5 asetofenonia etanolissa (60 ml) noin 5°C:ssa lisätään tipoitain konsentroitua HCl:ää (12,5 ml, 149,7 mmol). Sitten reaktioseosta kuumennetaan refluksoiden noin tunnin ajan, kaadetaan sitten 2N NaOH/jäähän (80 ml/60 g) ja pestään etyyliasetaatilla (3 x 70 ml). Orgaaniset osat yhdistetään ja pestään suolaliuok-
 10 sellalla (50 ml), kuivataan (vedetön natriumsulfaatti) ja konsentroidaan tyhjössä, jolloin saadaan vihertävänkeltaista kiinteää ainetta. Tämä kiinteä aine uudelleenkiteytetään etyyliasetaatii/heksaanista, käsitellään aktiivihiehillä, jolloin saadaan 2'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenoni (0,39 g, 52 % teoreettisesta).

Alkuaineanalyysi: (C₉H₈NO₃Cl)

15	% C	% H	% N
Saatu:	50,66	3,80	6,47
Laskettu:	50,60	3,77	6,56

(F) 5'(R,S)-1,5-diookso-(5'-etyyli-5'-hydroksi-2'H,5'H,6'H-6-oksoopyrano)[3',4'-f]]-
 20 $\Delta^{6,8}$ -tetrahydroindolitsiini ja 5'(S)-1,5-diookso-(5'-etyyli-5'-hydroksi-2'H,5'H,6'H-6-oksoopyrano)[3',4'-f]] $\Delta^{6,8}$ -tetrahydroindolitsiini (kaavan III mukaiset yhdisteet)

Nämä yhdisteet, joita kutsutaan tämän jälkeen nimillä "trisyklinen ketoni (R,S)" ja "trisyklinen ketoni (S)", vastaavasti, tai yhteisesti nimellä "kaavan III mukainen yhdiste", valmistetaan menetelmällä, jonka Wani et al. kuvaa patenttijulkaisussa '512. Huomaa, että myös vastaava R-enantiomeeri voidaan valmistaa patenttijulkaisun '512 menetelmällä.
 25

(G) 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini
 30

Noudattaen kamptotekiinille patenttijulkaisussa '512 kuvattua yleistä menetelmää 4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenonia sekoitetaan refluksoituvassa tolueenissa (50 ml) trisyklisen ketonin (R,S) (256,3 mg, 0,97 mmol) kanssa

Dean-Stark-loukun alla puolen tunnin ajan. Sitten reaktio jäädytetään, ja kiinteä aine suodatetaan ja pestään tolueenilla ja etanolilla, jolloin saadaan 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini (408,5 mg, 68,8 %).

- 5 ^1H 300 NMR (DMSO- d_6): δ 7,72 (s, 1H); 7,55 (s, 1H); 7,2 (s, 1H); 6,34 (s, 2H); 5,42 (s, 2H); 5,32 (s, 2H); 5,24 (s, 2H); 1,85 (m, 2H); 0,88 (t, 3H).

Nominaalinen massaspektri M+1:

Laskettu: 441

Saatu: 441

10

(H) 7-dimetyyliaminometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini

- Sekoitettuun seokseen, jossa on 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-(R,S)-kamptotekiinia (0,11 g, 0,25 mmol) ja kaliumkarbonaattia (346 mg, 0,5 mmol) dimetyyliformamidissa (DMF) (1 ml), lisätään dimetyyliamiinia (6,1 ml, 0,5 mmol) 3,73-mg/ml liuoksen muodossa tetrahydrofuraanissa noin 5°C:ssa. Reaktioseos suljetaan turvallisesti, annetaan lämmetä huoneenlämpötilaan, sekoitetaan noin 15 tuntia, ja suodatetaan sitten kiinteän aineen poistamiseksi. Suodos konsentroidaan haihduttamalla tyhjässä, ja tulokseksi saatu kiinteä
- 20 aine trituroidaan asetonitriilillä ja suodatetaan. Suodos konsentroidaan haihduttamalla tyhjässä, jolloin saadaan paksu jäännös. Jäännös liuotetaan pienimpään mahdolliseen määrään kloroformia, ja kromatografoidaan 30 g:lla flash-laatuista silikageeliä eluoiden peräkkäisillä erillä, jotka ovat 250 ml etyyliasettaattia, sen jälkeen 250 ml 9:1 etyyliasettaatti/isopropanolia, lopuksi 250 ml
- 25 4:1 etyyliasettaatti/isopropanolia. Kerättiin fraktioita ja seurattiin TLC:llä (5 % metanoli/etyyliasettaatti) ja visualisoitiin UV-lampulla. Sopivat fraktiot yhdistettiin, konsentroidtiin ja kuivattiin tyhjässä, jolloin saatiin 7-dimetyyliaminometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini (6,0 mg, 4,7 %). Tämä yhdiste karakterisoitiin asetaattisuolanaan. sp. >250°C

30 Alkuaineanalyysi: (C₂₄H₂₃N₃O₃·C₂H₄O₂)

	% C	% H	% N
Saatu:	61,64	5,17	8,73
Laskettu:	61,29	5,34	8,25

(I) Avoin E-rengasmuoto

- Osan (H) yhdiste käsitellään ekvivalenttimäärällä natriumhydroksidia vastaavan avoimen E-rengasmuodon muodostamiseksi. Viimeksi mainitun käsittely
 5 suolahapon ekvivalentilla määrällä sulkee E-renkaan ja muodostaa uudelleen osan (H) yhdisteen.

Esimerkki 2

- 10 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini
 (Yhdiste 2)

(A) 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini

- 15 Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 menettelytavalla, paitsi että osassa (G) käytetään trisyklisen ketonin (R,S) sijasta trisyklisen ketonin (S) ekvivalenttia määrää.

sp. >250°C

- 20 (B) 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 osan (H) menettelytavalla paitsi, että 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin sijasta käytetään
 25 esimerkin 2 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

sp. >250°C

Nominaalinen massaspektri M+1:

Laskettu: 450

Saatu: 450

30

Esimerkki 37-dimetyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini(Yhdiste 3)

5

(A) 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 menettelytavalla, paitsi että osissa (A) ja (C) käytetään 3,4-metyleenidioksaniliinin sijasta 3,4-etyleenidioksaniliinin ekvivalenttia määrää.

10

High Resolution-massaspektri M+1:

Laskettu: 455,1009

Saatu: 455,1005

15 (B) 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 osan (H) menettelytavalla paitsi, että 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

20 High Resolution-massaspektri M+1:

Laskettu: 464,1821

Saatu: 464,1833

Esimerkki 4

25

7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini(Yhdiste 4)

(A) 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini

30

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 menettelytavalla, paitsi että osissa (A) ja (C) käytetään 3,4-metyleenidioksaniliinin sijasta 3,4-etyleenidioksaniliinin

ekvivalenttia määrää, ja osassa (G) käytetään trisyklisen ketonin (R,S) sijasta trisyklisen ketonin (S) ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri M+1:

Laskettu: 455,1009

5 Saatu: 455,1000

(B) 7-dimetyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 osan (H) menettelytavalla paitsi, että
10 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 464,1821

Saatu: 464,1811

15

Esimerkki 5

7-morfolinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini

(Yhdiste 5)

20

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään morfoliinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 3 osan (B) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-

25 20(R,S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 506,1942

Saatu: 506,1925

Esimerkki 67-morfolinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 6)

- 5 Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään morfoliinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 4 osan (B) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.
- 10 High Resolution-massaspektri:
Laskettu: 506,1942
Saatu: 506,1929

Esimerkki 7

15

7-pyrrolidinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini (Yhdiste 7)

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään pyrrolidiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 3 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 490,1978

25 Saatu: 490,1988

Esimerkki 87-piperidinometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini (Yhdiste 8)

30

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään piperidiinin ekvivalenttia määrää.

Nominaalinen massaspektri M+1:

Laskettu: 490

Saatu: 490

¹H-300 NMR (DMSO-d6): δ 7,95 (s, 1H); 7,62 (s, 1H); 7,29 (s, 1H); 6,35 (s, 2H); 5,49 (s, 2H); 5,41 (s, 2H); 4,85 (leveä s, 2H); 1,9-0,7 (m, 11H).

5

Esimerkki 9

7-piperidinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini (Yhdiste 9)

10 Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään piperidiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 3 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

15 High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 504,2127

Saatu: 504,2129

Esimerkki 10

20

7-(4-metyylipiperatsinometyyleeni)-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini (Yhdiste 10)

25 Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään 4-metyylipiperatsiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 3 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

30 Laskettu: 519,2236

Saatu: 519,2246

Esimerkki 117-(4-metyylipiperatsinometyyleeni)-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini
(Yhdiste 11)

5

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään 4-metyylipiperatsiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään

10 esimerkin 4 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidi-

oksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

sp. 261 - 264°C

Nominaalinen massaspektri M+1:

Laskettu: 519

Saatu: 519

15

Esimerkki 127-dietyyliaminometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini
(Yhdiste 12)

20

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 menettelytavalla, paitsi että dimetyyliamiinin sijasta käytetään dietyyliamiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 2

25 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(S)-

High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 478,1978

Saatu: 478,1963



Esimerkki 137-dietyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini
(Yhdiste 13)

5

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että di-metyyliamiinin sijasta käytetään dietyyliamiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 3 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-

10 20(R,S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 492,2134

Saatu: 492,2140

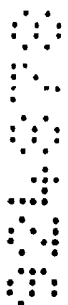
15 Esimerkki 147-dietyyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 14)

20 Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että di-metyyliamiinin sijasta käytetään dietyyliamiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 4 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

25 Laskettu: 492,2134

Saatu: 492,2122



Esimerkki 157-N-metyylietanoliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini
(Yhdiste 15)

5

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että di-metyyliamiinin sijasta käytetään N-metyylietanoliamiinin ekvivalenttia määrää.
High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 480,1771

10 Saatu: 480,1776

Esimerkki 167-N-metyylietanoliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini
(Yhdiste 16)

15

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että di-metyyliamiinin sijasta käytetään N-metyylietanoliamiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 3 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

20

High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 494,1927

Saatu: 494,1929

25

Esimerkki 177-dietanoliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini
(Yhdiste 17)

30

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään dietanoliamiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään

esimerkin 3 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 524,2024

5 Saatu: 524,2026

Esimerkki 18

7-dietanoliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini

10 (Yhdiste 18)

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään dietanoliamiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään

15 esimerkin 4 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

sp. 230 - 233°C.

Nominaalinen massaspektri M+1:

Laskettu: 524

20 Saatu: 524

Esimerkki 19

7-atsetidinometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini

25 (Yhdiste 19)

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään atsetidiinin ekvivalenttia määrää.

sp. >250°C.

30 Nominaalinen massaspektri M+1:

Laskettu: 462

Saatu: 462

Esimerkki 207-atsetidinometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(s)-kamptotekiini (Yhdiste 20)

- 5 Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 menettelytavalla paitsi, että osassa (G) käytetään trisyklisen ketonin (R,S) sijasta trisyklisen ketonin (S) ekvivalenttia määrää ja osassa (H) käytetään dimetyyliamiinin sijasta atsetidiinin ekvivalenttia määrää.

High Resolution-massaspektri:

- 10 Laskettu: 462,1665
Saatu: 462,1667

Esimerkki 21

- 15 7-tiomorfolinometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 21)

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään tiomorfoliinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin 4 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

- 20 sp. 249 - 252°C.

Nominaalinen massaspektri M+1:

- 25 Laskettu: 522
Saatu: 522

Esimerkki 227-atsetidinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 22)

- 30

Käytetään samaa menettelytapaa kuin esimerkin 1 osassa (H) paitsi, että dimetyyliamiinin sijasta käytetään atsetidiinin ekvivalenttia määrää ja 7-kloorimetyyli-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiinin sijasta käytetään esimerkin

kin 4 osan (A) mukaisesti valmistetun 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää.

sp. 208 - 210°C (hajoaa)

Low Resolution-massaspektri: 476,2 (elektronisuihku).

5

Esimerkki 23

7-(4-metyylipiperatsinometyyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini
(Yhdiste 23)

10

Tämä yhdiste valmistetaan esimerkin 1 menettelytavalla paitsi, että osassa (G) käytetään trisyklisen ketonin (R,S) sijasta trisyklisen ketonin (S) ekvivalenttia määrää ja osassa (H) käytetään dimetyyliamiinin sijasta 4-metyylipiperatsiinin ekvivalenttia määrää.

15 High Resolution-massaspektri:

Laskettu: 505,2083

Saatu: 505,2087

Esimerkki 24

20

7-trifluoriasetamidometyyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini
(Yhdiste 24)

(A) 2'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-trifluoriasetamidoasetofenoni

25

Trifluoriasetamidia (227 mg, 2 mmol) lisätään liukseen, jossa on cesiumkarbonaattia (1,63 g, 5 mmol) vedettömässä asetonitrilissä (15 ml) huoneenlämpötilassa typen alla. Sitten lisätään 2'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenonia, ja seos sijoitetaan 30 min ajaksi etukäteen kuumennettuun öljyhautteeseen, joka on säädetty 90°C:seen. Reaktioseos jäähdytetään huoneenlämpötilaan ja kaadetaan suoraan silikageelikerrokseen (15 g), joka on sintteröidyssä lasisuppilossa. Silikageeli pestään kahdesti EtOAc:llä, ja haihtuvat ainekset yhdistetyistä pesuista poistetaan tyhjässä. Jäännöksen triturointiin

30

käytetään dietyylieetteriä, jolloin saadaan vaaleanoranssia kiinteää ainetta, joka kerätään suodattamalla ja kuivataan tyhjössä.

(498 mg, 86 %). Sp. = 219 - 220°C.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 4,44 (d, 2H); 5,96 (s, 2H); 5,96 (s, 2H); 6,35 (s, 1H); 7,21 (s, 1H); 7,40 (bs, 2H); 9,59 (t, 1H).

Nominaalinen massa MH⁺ (m/z):

Laskettu: 291

Saatu: 291

10 (B) 2'-amino-4',5'-etyleenidioksi-2-trifluoriasetamidoasetofenoni

Tämä yhdiste valmistetaan samalla menetelmällä kuin edellä paitsi, että 2'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenonin sijasta käytetään 2'-amino-4',5'-etyleenidioksi-2-klooriasetofenonin ekvivalenttia määrää. Eristetään

15 vihreää kiinteää ainetta 74-% saannolla. Sp. = 154 - 155°C.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4,08 (m, 2H); 4,13 (m, 2H); 4,60 (d, 2H); 6,0 (bs, 2H); 6,08 (s, 1H); 7,04 (s, 1H); 7,60 (t, 1H).

Nominaalinen massa MH⁺ (m/z):

Laskettu: 305

20 Saatu: 305

(C) 10,11-etyleenidioksi-7-trifluoriasetamidometyleeni-20(S)-kamptotekiini

2'-amino-4',5'-etyleenidioksi-2-trifluoriasetamidoasetofenonia (71 mg,

25 0,234 mmol), trisyklistä ketonia (S) (61 mg, 0,234 mmol) ja vedetöntä tolueenia (2,0 ml) yhdistetään 60°C:ssa typen alla. Lisätään katalyyttinen määrä sekä

jääetikkaa että p-tolueenisulfonihappomonohydraattia ennen reaktiolämpötilan kohottamista refluksointilämpötilaan. Reaktiota refluksoidaan 16 tunnin ajan ja jäähdytetään sitten ympäristön lämpötilaan. Vihertävänkeltaista kiinteää ainet-

30 ta kerätään suodattamalla, pestään etanolilla ja dietyylieetterillä, ja kuivataan tyhjössä. (101 mg, 84 %) Sp. = 249°C.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): δ 0,91 (t, 3H); 1,91 (m, 2H); 4,40 (s, 4H); 4,83 (d, 2H); 5,39 (s, 2H); 5,41 (s, 2H); 6,48 (s, 1H); 7,22 (s, 1H); 7,58 (s, 1H); 7,77 (s, 1H); 10,20 (t, 1H).

Nominaalinen massa MH^+ (m/z):

5 Laskettu: 532
Saatu: 532

Esimerkki 25

10 7-trifluoriasetamidometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini
(Yhdiste 25)

Tämä yhdiste valmistetaan edellä olevan esimerkin 24 menetelmällä paitsi, että 2'-amino-4',5'-etyleenidioksi-2-trifluoriasetamidoasetofenonin sijasta käytetään 2'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-trifluoriasetamidofenonin ekvivalenttia määrää. Eristetään vihertävänkeltaista kiinteää ainetta 15-% saannolla.
sp. = 238°C (hajoaa).

15 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 0,91 (t, 3H); 1,95 (m, 2H); 4,92 (s, 2H); 5,38 (s, 2H); 5,40 (s, 2H); 6,28 (s, 2H); 6,49 (s, 1H); 7,13 (s, 1H); 7,58 (s, 1H); 7,78 (s, 1H);
20 10,21 (t, 1H).

Nominaalinen massa MH^+ (m/z):

Laskettu: 518
Saatu: 518

25 Esimerkki 26

7-aminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinidihydrokloridi
(Yhdiste 26)

30 7-trifluoriasetamidometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiiniä (65 mg, 0,12 mmol) kuumennetaan 20 min ajan avoimessa astiassa 105°C:seen 2N suolahapon vesiliuoksessa (1,2 ml). Haihtuvat aineet poistetaan tyhjässä, ja jäännös trituroidaan etyyliasetaatilla ja kerätään suodattamal-

la. Kirkkaankeltainen kiinteä aine pestään etyyliasetaatilla (3 ml), etanolilla (2 ml) ja dietyylieetterillä (2 ml) ja kuivataan tyhjöissä, jolloin saadaan 62 mg (100 %). sp. >300°C.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 0,90 (t, 3H); 1,95 (m, 2H); 4,41 (s, 4H); 4,61 (d, 2H); 5,40 (s, 2H); 5,45 (s, 2H); 7,24 (s, 1H); 7,60 (s, 1H); 7,81 (s, 1H); 8,40 (bs, 2H).

Nominaalinen massa MH⁺ (m/z):

Laskettu: 436

Saatu: 436

10

Esimerkki 27

7-aminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinidi-hydrokloridi (Yhdiste 27)

15

Tämä yhdiste valmistetaan edellä olevan esimerkin 26 menetelmällä paitsi, että 7-trifluoriasetamidometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin sijasta käytetään 7-trifluoriasetamidometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin ekvivalenttia määrää. Eristetään kullankeltaista kiinteää ainetta kvantitatiivisella saannolla. Sp. = 270°C (hajoaa).

20

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,90 (t, 3H); 1,9 (m, 2H); 4,6 (m, 2H); 5,4 (s, 2H); 5,5 (s, 2H); 6,3 (s, 2H); 7,2 (s, 1H); 7,6 (s, 1H); 7,9 (s, 1H); 8,4 (bs, 2H).

Nominaalinen massa MH⁺ (m/z):

Laskettu: 422

25

Saatu: 422

Esimerkki 28

7-tert-butyylisikarbonyylipiperatsinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 28)

30

(S)-(-)-10,11-etyleenidioksi-7-kloorimetyylkamptotekiinin (35,8 mg, 78,7 x 10⁻³ mmol) liuokseen -50°C:ssa lisättiin tipoitain tert-butyli-1-piperatsiinikarboksy-

laattia (34,6 mg, 186×10^{-3} mmol) N,N-dimetyyliformamidissa (DMF) (0,45 ml). Tummanruskeaa reaktioseosta sekoitettiin -50°C :ssa 10 min ajan, annettiin lämmetä 0°C :seen. Lisättiin vielä tert-butyyl-1-piperatsiinikarboksylaattia (8 mg, 43×10^{-3} mmol) DMF:ssä (0,2 ml), ja seos sai lämmetä ympäristön lämpötilaan. Seosta sekoitettiin vielä 90 min, ja liuotin poistettiin kiertohaihduttimella, jolloin saatiin raakatuote ruskeana jäännöksenä. Puhdistettiin silikageelikromatografialla (eluiden 100-% etyyliasetaatilla), jolloin saatiin 20,7 mg (saanto 58 %) tuotetta vaaleankeltaisena kiinteänä aineena.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1,04 (t, 3H, $J=7$); 1,45 (s, 9H); 1,87 (m, 2H); 2,46 (s, 4H); 3,41 (s, 4H); 3,94 (s, 2H); 4,43 (s, 4H); 5,29 (s, 2H); 5,30 (s, 1H, $J=16$); 5,75 (s, 1H, $J=16$); 7,59 (s, 1H); 7,65 (s, 1H); 7,73 (s, 1H).

Nominaalinen massaspektri MH^+ (m/z): 605.

Esimerkki 29

15

7-piperatsinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini trifluorietikkahapposuola (Yhdiste 29)

7-tert-butyyl-ioksidikarbonyylipiperatsinometyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiiniin (16,7 mg, $27,6 \times 10^{-3}$ mmol) liuokseen kuivassa CH_2Cl_2 :ssa (5,0 ml) 0°C :ssa lisättiin trifluorietikkahappoa (0,5 ml). Tummankeltainen liuos sai lämmetä ympäristön lämpötilaan, ja sekoitettiin 14 tunnin ajan. Seos konsentroidiin kiertohaihduttimella, ja jäännös puhdistettiin käänteisfaasi-HPLC:llä (Rainin Dynamax 60A-kolonne, eluiden 49:10:2,5:1 vesi/asetonitriili/THF/trifluorietikkahapolla), jolloin saatiin tärkeimmän UV-aktiivisen huipun (tarkkailu 254 nm:llä) konsentroidin ja lyofilisoinnin jälkeen 21,7 mg tuotetta keltaisena höytymäisenä jauheena.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): δ 0,88 (t, M, $J=7$); 1,87 (m, 2H); 2,60-2,80 (m, 4H); 3,00-3,20 (bs, 4H); 5,29 (s, 2H); 5,41 (s, 2H); 6,5 (bs, 1H); 7,25 (s, 1H); 7,56 (s, 1H); 7,80 (s, 1H); 8,50 (bs, 2H).

Nominaalinen massaspektri (M+1): 505.

sp.: 315°C (hajoaa)

Esimerkki 307-(α,α,α -trifluori-m-tolyyli)piperatsinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 30)

5

7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiinin (5,2 mg, $11,4 \times 10^{-3}$ mmol) liuos vedettömässä DMSO:ssa (200 μ l) lisättiin tipoitain 0°C:ssa olevaan liuokseen, jossa oli 1-(α,α,α -trifluori-m-tolyyli)piperatsiinia (10 μ l, 53×10^{-3} mmol) vedettömässä tolueenissa (500 μ l). Tummanruskeaa seosta sekoitettiin 0°C:ssa 90 min ajan, ja annettiin lämmetä ympäristön lämpötilaan. Liuotin poistettiin kiertohaihduttimella, ja pumpattiin edelleen suurtyhjössä, jolloin jäljelle jäi raakatuote, joka puhdistettiin silikageelikromatografialla (eluoiden 100-% etyyliasetaatilla ja sen jälkeen 6:5:1 etyyliasetaatti/kloroformi/metanolilla), jolloin saatiin 3,7 mg (saanto 50 %) tuotetta vaaleankeltaisena kiinteänä jäännöksenä.

10

15

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ 0,90 (t, 3H, J=7); 1,95 (q, 2H, J=7); 2,60-2,70 (m, 4H); 3,20-3,30 (m, 4H); 4,10 (s, 2H); 4,50 (s, 4H); 5,30 (s, 2H); 5,45 (s, 2H); 6,55 (s, 1H); 7,40 (t, 1H, J=7); 7,60 (s, 1H); 7,85 (s, 1H).
Nominaalinen massaspektri (M+1): 649.

20

Esimerkki 317-(2-metoksifenyylipiperatsino)metyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 31)

25

Liuokseen, jossa oli 2-metoksifenyylipiperatsiinia (17,9 μ l, 102×10^{-3} mmol) vedettömässä tolueenissa (1 ml) 0°C:ssa, lisättiin liuos, jossa oli 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiiniä (10 mg, 22×10^{-3} mmol) DMSO:ssa (200 μ l). Tummaa seosta sekoitettiin 0°C:ssa 10 min ajan, ja annettiin lämmetä ympäristön lämpötilaan ja sekoitettiin 3 tuntia. Reaktioseos konzentroitettiin kiertohaihduttimella, ja jäännösluotin poistettiin pumppaamalla suurtyhjössä, jolloin saatiin raakatuote. Puhdistettiin silikageelikromatografialla (eluoiden 1:1 heksaani/etyylisasetaatilla, sen jälkeen 6:5:1 etyyliasetaatti/kloro-

30

formi/metanolilla), jolloin saatiin 3,4 mg (saanto 25 %) tuotetta keltaisena kiinteänä aineena. :

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,05 (t, 3H, J=7); 1,90 (m, 2H); 2,75 (bs, 4H); 3,10 (bs, 4H); 3,75 (s, 1H); 3,85 (s, 3H); 4,01 (bs, 2H); 5,35 (s, 1H); 5,30 (d, 1H, J=18); 5,35 (s, 1H); 5,75 (d, 1H, J=18); 6,80-7,00 (m, 4H); 7,60 (s, 1H); 7,65 (s, 1H); 7,75 (s, 1H).

Nominaalinen massaspektri (M+1):

Laskettu: 611

Saatu: 611.

10

Esimerkki 32

7-fenyylipiperatsinometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini (Yhdiste 32)

15

Liukseen, jossa oli fenyylipiperatsiinia (15,6 µl, 102 x 10⁻³ mmol) vedettömässä tolueenissa (1 ml) 0°C:ssa, lisättiin liuos, jossa oli 7-kloorimetyyli-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiiniä (10,6 mg, 22 x 10⁻³ mmol) DMSO:ssa (300 µl). Tummaa seosta sekoitettiin 0°C:ssa 10 min ajan, ja annettiin lämmitä ympäristön lämpötilaan ja sekoitettiin 3 tuntia. Seos konsentroitettiin kiertohäiduttimellä, ja jäännösluotinta poistettiin edelleen pumppaamalla suurtyhjössä, jolloin saatiin raakatuote tummana jäännöksenä. Puhdistettiin silikageelikromatografialla (eluoiden 1:1 heksaani/etyyliasetaatilla, sen jälkeen 6:5:1 etyyliasetaatii/kloroformi/metanolilla), jolloin saatiin 3,6 mg (saanto 30 %) tuotetta keltaisena kiinteänä aineena.

25

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,00 (t, 3H, J=7); 1,90 (m, 2H); 2,75 (bs, 4H); 3,20 (bs, 4H); 3,75 (s, 1H); 4,05 (s, 2H); 4,45 (bs, 4H); 5,35 (s, 2H); 5,30 (d, 1H, J=18); 5,35 (s, 2H); 5,75 (d, 1H); 6,80-7,00 (m, 3H); 7,20-7,35 (m, 2H); 7,60 (s, 1H); 7,65 (s, 1H); 7,80 (s, 1H).

30 Nominaalinen massaspektri (M+1): 581.

Esimerkki 332'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-dimetyyliaminoasetofenoni

- 5 2'-asetyyliamino-4',5'-metyleenidioksi-2-klooriasetofenoni, joka on valmistettu esimerkin 1 osassa (B), saatetaan reagoimaan dimetyyliamiiniylimäärän kanssa samanlaisissa olosuhteissa kuin esimerkin 1 osassa (H) esitetään, jolloin saadaan 2'-asetyyliamino-4',5'-metyleenidioksi-2-dimetyyliaminoasetofenoni, josta puolestaan poistetaan suojaus esimerkin 1 osan (E) menetelmällä, jolloin
- 10 saadaan 2'-amino-4',5'-metyleenidioksi-2-dimetyyliaminoasetofenoni.

Nominaalinen massaspektri M+1:

Laskettu: 223

Saatu: 223

15 Esimerkit 34 - 38

Seuraavat kaavan I mukaiset yhdisteet valmistetaan menetelmätavalla, joka esitetään kaaviossa I, IA tai IB esimerkeille 1 - 32 analogisella tavalla käyttäen kaavojen II, III, IV ja V mukaisia sopivia välituoteyhdisteitä.

20

34 7-(metyyli-2-metoksietyyliaminometyleeni)-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini,

35 7-sykloheksyyliaminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R)-kamptotekiini,

25 36 7-(2-butenyyli)aminometyleeni-10,11-metyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini,

37 7-sykloheksyyliaminyliaminometyleeni-10,11-etyleenidioksi-20(R)-kamptotekiini ja

38 7-tiatsolidinometyleeni-10, 11-metyleenidioksi-20 (R, S)-kamptotekiini.

30

Esimerkki 39Farmaseuttiset formulaatit

5 (A) Transdermaalinen järjestelmä

	<u>Valmistusaineet</u>	<u>Määrä</u>
	Aktiivinen yhdiste	600,0 mg
	Silikonineste	450,0 mg
10	Kolloidinen piidioksidi	25,0 mg

Silikonineste ja aktiivinen yhdiste sekoitetaan yhteen, ja kolloidinen piidioksidi saatetaan reagoimaan viskositeetin lisäämiseksi. Sitten materiaali annostellaan kuumalla suljettavalla polymeerilaminaatilla, joka koostuu seuraavista:

- 15 irrotettavasta polyesterisuojakerroksesta, ihokontaktitarrasta, joka koostuu silikoni- tai akryylipolymeereistä, kontrollimembraanista, joka on polyolefiinia (esimerkiksi polyeteeniä), polyvinyylisetaattia tai polyuretaania, ja läpäisemättömästä taustamembraanista, joka koostuu polyesterimultilaminaatista. Kuvattu järjestelmä on 10-cm² laastari.

20

(B) Oraalinen tabletti

	<u>Valmistusaineet</u>	<u>Määrä</u>
	Aktiivinen yhdiste	200,0 mg
25	Tärkkelys	20,0 mg
	Magnesiumstearaatti	1,0 mg

- 30 Aktiivinen yhdiste ja tärkkelys granuloidaan veden kanssa ja kuivataan. Magnesiumstearaatti lisätään kuivattuihin rakeisiin, ja seos sekoitetaan läpikotaisin. Sekoitettu seos puristetaan tabletkiksi.

(C) Peräpuikko

	<u>Valmistusaineet</u>	<u>Määrä</u>
	Aktiivinen yhdiste	150,0 mg
5	Teobromiininatriumsalisylaatti	250,0 mg
	Witepsol S55	1725,0 mg

Ei-aktiiviset valmistusaineet sekoitetaan ja sulatetaan. Sitten aktiivinen yhdiste jaetaan sulatettuun seokseen ja annetaan jäähtyä.

10

(D) Injektio

	<u>Valmistusaineet</u>	<u>Määrä</u>
	Aktiivinen yhdiste	20,0 mg
15	Puskurointiaineet	tarpeen mukaan
	Propyleeniglykoli	0,4
	Injektioon tarkoitettua vettä	0,6 ml

Aktiivinen yhdiste ja puskurointiaineet liuotetaan propyleeniglykoliin noin 50°C:ssa. Sitten lisätään sekoittaen injektioon tarkoitettu vesi, ja tulokseksi saatu liuos suodatetaan, täytetään ampulliin, suljetaan ja steriloidaan autoklaivoimalla.

20

(E) Kapseli

25

	<u>Valmistusaineet</u>	<u>Määrä</u>
	Aktiivinen yhdiste	200,0 mg
	Laktoosi	450,0 mg
	Magnesiumstearaatti	5,0 mg

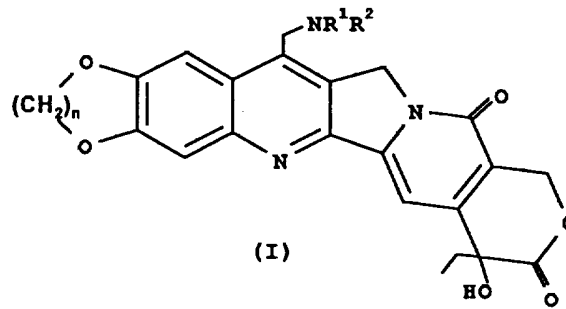
30

Hienojakoinen aktiivinen yhdiste sekoitetaan laktoosin ja stearaatin kanssa ja pakataan gelatiinikapseliin.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä valmistaa farmaseuttisesti käyttökelpoisia 7-aminosubstituoituja
 5 10,11-metyleenidioksi- tai 10,11-etyleenidioksi-kamptotekiinijohdannaisia, joilla
 on kaava (I)

10



jossa

15 n on kokonaisluku 1 tai 2; ja

i) R¹ ja R² ovat toisistaan riippumatta vety, C₁₋₆-alkyyli tai hydroksi-C₁₋₆-alkyyli;

ii) R¹ on vety ja R² on -COR³,

20 jossa R³ on trifluori-C₁₋₆-alkyyli; tai

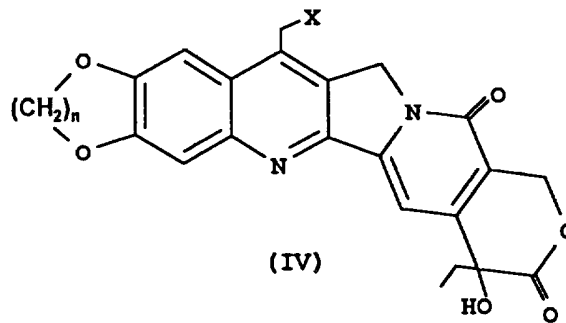
iii) R¹ ja R² otettuna yhdessä yhdistävän typen kanssa muodostavat atsetidiini-, pyrrolidiinin, piperidiinin, morfoliinin, tiomorfoliinin tai piperatsiinin, joka piperatsiini on mahdollisesti N-substituoitu alemmalla alkyyllillä, fenyylillä, joka
 25 fenyylillä voi olla substituoitu trifluori-C₁₋₆-alkyyli- tai C₁₋₆-alkoksiryhmällä; tai
 -COR⁵, jossa R⁵ on C₁₋₆-alkoksi

ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja tai solvaatteja, **tunnettu** siitä,
 että

30

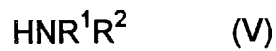
a) saatetaan kaavan (IV) mukainen yhdiste

5



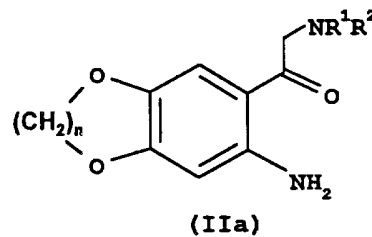
jossa X on halogeeni, reagoimaan kaavan (V) mukaisen yhdisteen kanssa

10



jossa R¹ ja R² tarkoittaa samaa kuin kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä; tai

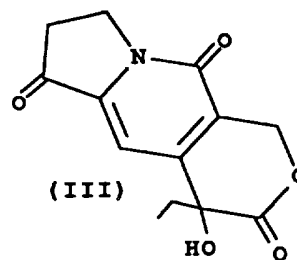
15 b) saatetaan kaavan (IIa) mukainen yhdiste



20

jossa R¹ ja R² tarkoittaa samaa kuin kaavan (I) mukaisessa yhdisteessä, reagoimaan kaavan (III) mukaisen yhdisteen kanssa

25



30

ja tarvittaessa ja/tai haluttaessa saatetaan näin saatu yhdiste yhteen tai useampaan lisäreaktioon, joita ovat

i) muunnetaan saatu kaavan (I) mukainen yhdiste tai sen suola tai suojattu johdos toiseksi kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi, edullisesti alkyloimalla tai pelkistämällä ja/tai

- ii) minkä tahansa suojaavan ryhmän poistaminen ja/tai
- iii) kaavan (I) mukaisen yhdisteen tai sen suolan muuntaminen sen fysiologisesti hyväksyttäväksi suolaksi tai solvaatiksi.

5 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä valmistaa 7-(4-metyylipiperatsiinometyleeni)-10,11-etyleenidioksi-20(R,S)-kamptotekiini, **tunnettu** siitä, että käytetään vastaavia lähtöaineita.

10 3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä valmistaa 7-(4-metyylipiperatsiinometyleeni)-10,11-etyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, **tunnettu** siitä, että käytetään vastaavia lähtöaineita.

15 4. 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä valmistaa 7-(4-metyylipiperatsiinometyleeni)-10,11-metyleenidioksi-20(S)-kamptotekiini, **tunnettu** siitä, että käytetään vastaavia lähtöaineita.

5. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että vaiheessa (a) reaktio suoritetaan liuotinsysteemissä ylimäärän kaavan (V) mukaisen yhdisteen läsnäollessa.

20

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että se lisäksi käsittää vaiheen, jossa saatu kaavan (I) mukainen yhdiste tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai solvaattia sekoitetaan farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan kanssa.

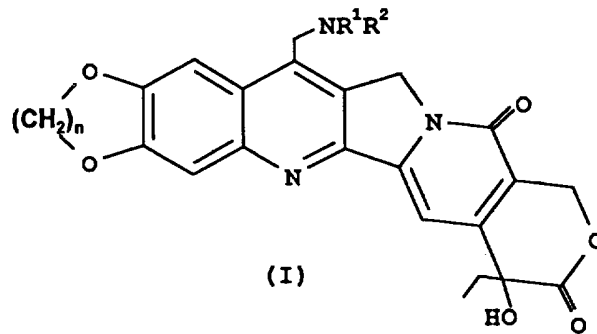
25

7. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava (I) ja jolla on R-konfiguraatio.

Patentkrav

1. Förfarande för att framställa farmaceutiskt användbara 7-aminosubstituerade 10,11-metylendioxi- eller 10,11-etylendioxi-kamptotekinderivat med
5 formeln (I)

10



där

n är heltalet 1 eller 2; och

15

i) R^1 och R^2 är oberoende av varandra väte, C_{1-6} -alkyl eller hydroxi- C_{1-6} -alkyl;

ii) R^1 är väte och R^2 är $-COR^3$,
där R^3 är trifluor- C_{1-6} -alkyl; eller

20

iii) R^1 och R^2 tillsammans med det förenande kvävet bildar azetidin, pyrrolidin, piperidin, morfolin, tiomorfolin eller piperazin, vilken piperazin eventuellt är N-substituerad med lägre alkyl, fenyl, vilken fenyl kan vara substituerad med en trifluor- C_{1-6} -alkyl- eller C_{1-6} -alkoxigrupper; eller $-COR^5$, där R^5 är C_{1-6} -alkoxi,

25

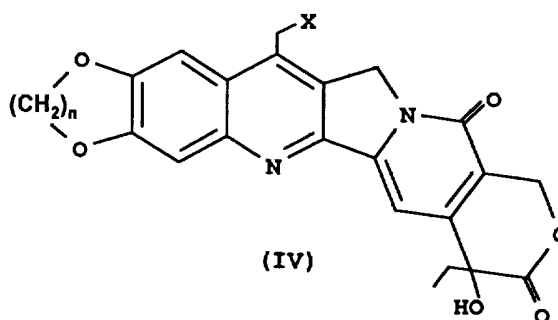
och deras farmaceutiskt acceptable salter eller solvater, **kännetecknat** därav,
att

a) en förening med formeln (IV)

30

51

5



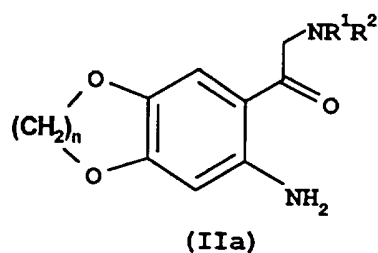
där X är halogen, omsätts med en förening med formeln (V)



där R^1 och R^2 avser det samma som i föreningen med formeln (I); eller

b) en förening med formeln (IIa)

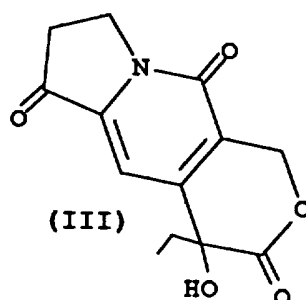
15



20

där R^1 och R^2 avser det samma som i föreningen med formeln (I), omsätts med en förening med formeln (III)

25



30 och om så erfordras och/eller vid behov underkastas den så erhållna föreningen en eller flera tillägsreaktioner, som är

- i) omvandling av en erhållen förening med formeln (I) eller dess salt eller skyddade derivat till en annan förening med formeln (I), företrädesvis genom alkylering eller reducering, och/eller
- ii) eliminering av vilken som helst skyddgrupp och/eller
- 5 iii) omvandling av en förening med formeln (I) eller dess salt till dess fysiologiskt godtagbara salt eller solvat.

2. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av 7-(4-metylpiperazino-
metylen)-10,11-etylendioxi-20(R,S)-kamptotesin, **kännetecknat** därav, att
10 motsvarande utgångsämnen används.

3. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av 7-(4-metylpiperazino-
metylen)-10,11-etylendioxi-20(S)-kamptotesin, **kännetecknat** därav, att
motsvarande utgångsämnen används.

15

4. Förfarande enligt patentkravet 1 för framställning av 7-(4-metylpiperazino-
metylen)-10,11-metylendioxi-20(S)-kamptotesin, **kännetecknat** därav, att
motsvarande utgångsämnen används.

20 5. Förfarande enligt patentkraven 1 eller 2, **kännetecknat** därav, att i steget
(a) utförs reaktionen i ett lösningsmedelssystem i närvaro av ett överskott av
en förening med formeln (V).

25 6. Förfarande enligt patentkravet 1, **kännetecknat** därav, att en erhållen
förening det därtill omfattar steget där med formeln (I) eller dess farmaceutiskt
godtagbar salt eller solvat blandas med en farmaceutiskt godtagbar bärare.

7. Förfarande enligt något av föregående patentkrav, **kännetecknat** därav, att
en förening med formeln (I), som uppvisar R-konfiguration, framställs.

30