



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

215 967 B

(21) A bejelentés ügyszám: P 93 02540
(22) A bejelentés napja: 1992. 03. 09.
(30) Elsőbbségi adatok:
07/665,954 1991. 03. 08. US
07/827,302 1992. 01. 29. US
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/US 92/01606
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 92/15300

(51) Int. Cl.⁶

C 07 D 221/08
C 07 D 403/14
C 07 D 413/14
A 61 K 31/435

(40) A közzététel napja: 1995. 07. 28.
(45) A megadás meghirdetésének a dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1999. 03. 29.

(72) Feltaláló:

Krapcho, A. Paul, Shelburne, Vermont (US)

(73) Szabadalmaz:

The University of Vermont, Burlington, Vermont
(US)

(74) Képvisező:

ADVOPATENT Szabadalmi Iroda, Budapest

(54)

**Eljárás 6,9-bisz(helyettesített amino)-benzo[g]izokinolin-5,10-
dion-származékok és e vegyületeket hatóanyagként tartalmazó gyógyászati
készítmények előállítására**

KIVONAT

A találmány szerinti (I) általános képletű vegyületek – szabad bázisok vagy gyógyszerészeti szempontból elfogadható savakkal képezett sóik formájában – citosztatikus és tumorellenes hatásúak. A képletben

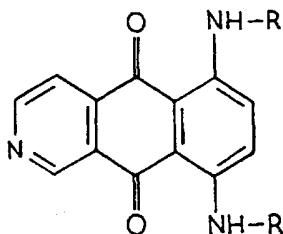
R jelentése a molekula mindkét helyén azonosan 2–7 szénatomos alkilcsoport, amely –OR₁- vagy –NR₂R₃-csoporttal van helyettesítve, és ezekben

R₁ jelentése hidrogénatom, vagy –S(O₂)–R₅ általános képletű csoport, vagy hidroxi-(1–7 szénatomos alkil)-csoport,

R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, vagy adott esetben –OH-csoporttal vagy –OR₅ általános képletű csoporttal helyettesített 1–7 szénatomos alkilcsoport, –COR₅- vagy –COOR₅-csoport, vagy

R₂ és R₃ a szomszédos nitrogénatommal együtt egy pirrolidino-, morfolino- vagy aziridinocsoportot képez,

R₅ jelentése 1–7 szénatomos alkilcsoport.



(I)

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű 6,9-bisz(helyettesített amino)-benzo[g]izokinolin-5,10-dion-származékok előállítására. Ezek a 6,9-helyettesítőként (szubsztituált alkil)-amino-csoportokat tartalmazó származékok *in vitro* és *in vivo* tumorelleses aktivitással rendelkeznek, ezért a találmány kiterjed az ilyen vegyületeket hatóanyagként tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására is.

A korábbiakban beszámoltak már néhány olyan 1,4-bisz[(amino-alkil)-amino]-antracén-9,10-dion-származékról, amelyek a klinikai kipróbálás során tumorelleses aktivitást mutattak. Különösen érdekesnek bizonyult ezek közül az ametantrone néven ismertté vált 1,4-bisz{[2-(2-hidroxi-etil-amino)-etil]-amino}-antracén-9,10-dion és a mitoxantrone nevet kapott 5,8-dihidroxi-1,4-bisz{[2-(2-hidroxi-etil-amino)-etil]-amino}-antracén-9,10-dion. [Zee-Cheng *et al.*, *J. Med. Chem.*, (1978), 21, 291–4; Cheng *et al.*, „Progress in Medicinal Chemistry”, Ellis, G. P. and West, G. B., eds.; Elsevier: Amsterdam, 1983, pp 20, 83 és az ott található hivatkozások]. A mitoxantrone széles spektrumú oncolyticus ágens, amelynek aktivitása az antraciklin antibiotikum doxorubicin hatásához hasonló. A klinikai vizsgálatok azt mutatták, hogy a mitoxantrone különösen jónak ígérkező hatással rendelkezik az előrehaladott mellrák, az akut leukémia és lymphoma kezelésében [Legha, *Drugs of Today*, (1984), 20, 629]. Jóllehet az állatkísérletek azt mutatták, hogy a doxorubicinhez viszonyítva a vegyület kisebb cardiotoxicitással rendelkezik, bizonyos klinikai cardiotoxicitás a mitoxantrone esetében is megfigyelhető volt, leginkább az olyan betegeknek, akiket korábban már doxorubicinnel kezeltek [R. Stuart Harris *et al.*, *Lancet*, (1984), 219, és az ott található hivatkozások].

Az ametantrone esetében arról számoltak be, hogy a vegyület – állatokban – körülbelül tízszer kevésbé hatásos és cardiotoxikus, mint a mitoxantrone. Mivel csak a mitoxantrone-nál figyelnek meg késleltetett toxicitást azt követően, hogy a két hatóanyagot azonos tumorelleses hatású dózisokban ip. (intraperitonealis) úton nemrákos patkányoknak beadják, arra lehet következtetni, hogy az utólagos elhalálozások a mitoxantrone-ban jelen lévő 5,8-dihidroxiszubsztitúcióval lehetnek kapcsolatban [Corbett *et al.*, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, (1981), 6, 161].

Ezen túlmenően a mitoxantrone-nak és az ametantrone-nak egyaránt jelentős myelodepresszív toxicitása van, és mindkét vegyület keresztrezisztenciát mutat az olyan szövettípusok sejtjeivel szemben, amelyek a glikoprotein P túlzott felszabadulása (overexpression) által a doxorubicinnel szemben rezisztenciát fejlesztenek ki. Az ilyen rezisztencia (amelyet „multidrug”-rezisztenciának is neveznek) számos tumorelleses antibiotikum, köztük az amsacrine és a podophyllotoxin-származékok esetén fellép, s a szolid tumoroknak az említett antibiotikumokkal végzett kezelésében tapasztalható terápiás sikertelenségeknek egyik fő okát képezi.

Az előbbieket miatt szükség van olyan új, antracén-dion tumorelleses ágensek felkutatására, amelyek a mi-

toxantrone-nál nagyobb terápiás indexszel rendelkeznek, s hatásosan gátolják vagy késleltetik az olyan szolid tumorok növekedését, amely tumorok a kemoterápiás kezeléssel szemben ellenállóbbak (ilyen például a tüdő-, mell- és vastagbél-tumorok), valamint hatékonyak a multidrugrezisztenciát kifejlesztő szövettípusú tumorral szemben.

Az antracéndionok biztonságosabb, aktív analógjainak kutatása során már tanulmányozták az olyan vegyületeket, amelyek az antracén-9,10-dion-mag különböző helyzeteiben hidroxiszubsztituenseket és/vagy (amino-alkil)-amino-oldalláncokat hordoznak, jelentős hatásnövekedést azonban nem tapasztaltak [Cheng *et al.*, *Drugs of the Future*, (1983), 8, 229].

Aza- és diaza-antracén-9,10-dion-származékokat ismertetett Potts [Potts *et al.*, *Synthesis*, (1983), 31], amilyen például a 6,9-bisz(etoxi-karbonil-amino)-benzo[g]kinolin-5,10-dion (1), a 6,9-bisz(etoxi-karbonil-amino)-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (2) és a 6,9-bisz(etoxi-karbonil-amino)-benzo[g]kinazolin-5,10-dion (3). Jóllehet ezekről a vegyületekről mint a tumorelleses hatású 1,4-bisz[(amino-alkil)-amino]-antracén-9,10-dion-származékok rokonvegyületeiről számoltak be, semmiféle tumorelleses hatást nem írtak le egyik vegyület esetében sem. A mitoxantrone-nal szerkezeti hasonlóságot mutató 1-[(amino-alkil)-amino]-6,9-dihidroxi-benzo[g]izokinolin-5,10-dion-származékokat (4) DNS-„beszűrőként” (intercalator) ismertettek a közelmúltban, anélkül azonban, hogy bármilyen *in vitro* vagy *in vivo* tumorelleses hatásról említést tettek volna [Croisy-Delcey *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, (1988), 23, 101–106].

Az 5a–d általános képletű 6,9-bisz[(amino-alkil)-amino]-benzo[g]kinolin-5,10-dion-származékokat (lásd az I. Ábrát) a következő szakirodalmi helyen írták le: *J. Med. Chem.* (1985), 28, 1124–1126. A vegyületeket mint 5,8-bisz-[(amino-alkil)-amino]-1-aza-antracéndion-származékokat nevezték el.

Amint az az I. táblázatban látható, az 5a és az 5b vegyület kevésbé cardiotoxikus, mint a megfelelő 6a és 6b analóg. Ezenfelül az 5a vegyület, amely *in vitro* valamelyest cardiotoxikus, *in vivo* inaktív, s a 6a karbociklusos analógnál kevésbé aktív és kevésbé potens.

I. táblázat

Az ismert, 5 és 6 általános képletű vegyületek tumorelleses hatása murine L 1210 sejtvonalon

	in vitro	in vivo	
	LD ₅₀ (µg/ml)	dózis (mg/kg)	T/C
5a	0,16	50	130
5b	2,4	100	toxikus
5c	1,7		
6a	0,08	30	150
6b	0,30		

[Forrás: *J. Med. Chem.*, (1985), 28, 1124–1126]

Jóllehet egy heteroatomnak a bevitelle szokásos eljárásnak tekinthető a gyógyszerkémiaiában, ennek hatását minden egyes esetben külön meg kell vizsgálni.

Az antracén-dionok aza-analógjainak az esetében a korábbi szakirodalom alapján egyértelműen megállapítható, hogy egy nitrogénatomnak az antracén-dion-vázba történő beépítése hátrányosan befolyásolja a tumor-ellenes aktivitást. Tény, hogy az aza-szubsztituált antracén-dion-származékok kevésbé cardiotoxikusak, mint a megfelelő antracén-dion-származékok, mimellett *in vivo* inaktívak.

Ennek alapján a szakember számára nem tűnik járható útnak heteroatomok beépítése az antracén-dion-vázba, annak érdekében, hogy hatásosabb tumorelleses ágenseket nyerjen.

Jól ismert, hogy a tumorelleses ágens mitoxantrone [J. Med. Chem., (1978), 21, 291–294] felismeréséhez számos analóg vegyület tesztelését végezték el, murine (patkány/egér) leukémia P388 sejtvonal kísérleti modellt alkalmazva. Ennek a modellnek az alapján következtetni lehet a humán szervezetekben várható tumorelleses aktivitásra, legalábbis a tumorelleses antibiotikumok ugyan-ezen osztálya esetében. Számos további, klinikailag aktív tumorelleses antibiotikum, például a *n*-amsacrine és a doxorubicin hat a murine leukémia P388 és L1210 sejtvonalra.

Ezen túlmenően a mitoxantrone igen jó aktivitást mutat más, jelentős kísérleti tumorokban, amilyen például a murine Lewis-tüdőcarcinoma, valamint az MX1 humán emlőcarcinoma.

Azt találtuk, hogy a találmány szerinti 6,9-bisz[(helyettesített alkil)-amino]-benzo[g]izokinolin-5,10-dion-vegyületek tumorelleses ágensekként hatásosak. Ezek a származékok rendkívül jó hatással rendelkeznek a murine leukémia L1210 és P388 sejtvonallal, a Lewis-tüdőcarcinomával és az MX1 humán emlőcarcinomával szemben.

A találmány szerint – szabad bázisok vagy ezek gyógyszerészeti szempontból elfogadható savakkal képezett sóinak formájában előállítható – vegyületek (I) általános képletében

- R jelentése a molekula mindkét helyén azonosan 2–7 szénatomos alkilcsoport, amely –OR₁- vagy –NR₂R₃-csoporttal van helyettesítve, és ezekben
- R₁ jelentése hidrogénatom vagy –S(O₂)–R₅ általános képletű csoport vagy hidroxil-(1–7 szénatomos alkil)-csoport,
- R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, vagy adott esetben –OH-csoporttal vagy –OR₅ általános képletű csoporttal helyettesített 1–7 szénatomos alkilcsoport, –COR₅- vagy –COOR₅-csoport, vagy
- R₂ és R₃ a szomszédos nitrogénatommal együtt egy pirrolidino-, morfolino- vagy aziridinocsoportot képez,
- R₅ jelentése 1–7 szénatomos alkilcsoport.

A találmány kiterjed az (I) általános képletű vegyületek nem toxikus gyógyászati vagy állatgyógyászati szempontból elfogadható savakkal képezett sóinak az előállítására is. Ilyenek a következő szerves és szervetlen

savakkal alkotott addíciós sók; szervetlen savak: hidrogén-klorid, hidrogén-bromid, kénsav, foszforsav, pirofoszforsav; szerves savak: ecetsav, propionsav, citromsav, benzoésav, tejsav, maleinsav, fumársav, borostyánkősav, borkősav, glutaminsav, aszparaginsav, glukonsav, aszkorbinsav, és ezekhez hasonlóak.

A fentebb említett szénatomos alkilcsoportok előnyös példái közé tartozik a metilcsoport, etilcsoport, *n*-propil-csoport, *szek*-propil-csoport, *n*-butil-csoport, *szek*-butil-csoport, *terc*-butil-csoport, *n*-pentil-csoport, valamint az *n*-hexil-csoport.

Különösen előnyösek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyekben R jelentése egy olyan szubsztituált 2–7 szénatomos alkilcsoport, amely a következő csoportból kerül kiválasztásra:

- (CH₂)_p–NH₂ általános képletű csoport, amelyben p értéke 2, 3 vagy 4;
- (CH₂)_p–NR₂R₃ általános képletű csoport, amelyben p értéke a fenti, és R₂ és R₃ jelentése 1–6 szénatomos alkilcsoport vagy R₁ és R₂ a nitrogénatommal együtt egy 1-pirrolidino- vagy 4-morfolinocsoportot képez;
- (CH₂)_p–NR₂R₃ általános képletű csoport, amelyben p értéke a fenti, R₂ jelentése hidrogénatom és R₃ jelentése 1–6 szénatomos alkilcsoport;
- (CH₂)_p–NH–(CH₂)_q–OH általános képletű csoport, amelyben p és q értéke egymástól függetlenül 2, 3 vagy 4 egész szám;
- (CH₂)_p–OH általános képletű csoport, amelyben p értéke a fenti;
- (CH₂)_p–O–(CH₂)_q–OH általános képletű csoport, amelyben p és q értéke a fenti.

A találmány szerinti előnyös vegyületek egyedi példái a következők:

- 6,9-bisz{[2-(amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(4'-morfolino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(dimetil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(dimetil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(di/*szek*-propil/-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(1'-pirrolidino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(1'-aziridino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(metánszulfonil-oxi)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[4-(amino)-butil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[3-(amino)-propil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;
- 6,9-bisz{[2-(2-hidroxi-etil/-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion;

6,9-bisz {[3-(dimetil-amino)-propil]-amino}-benzo-
[g]izokinolin-5,10-dion;
6,9-bisz {[2-(hidroxi)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-
5,10-dion;
6,9-bisz {[2-(2-hidroxi-etoxi)-etil]-amino}-benzo[g]izo-
kinolin-5,10-dion;
6,9-bisz {[2-(metil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izoki-
nolin-5,10-dion;
6,9-bisz {[2-(etil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokino-
lin-5,10-dion;
6,9-bisz {[2-(*n*-propil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izo-
kinolin-5,10-dion;
6,9-bisz {[2-(*szek*-propil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]-
izokinolin-5,10-dion;
6,9-bisz {[2-(2-amino-2,2-dimetil)-etil]-amino}-benzo[g]-
izokinolin-5,10-dion.

Az (I) általános képletű vegyületeket a találmány
szerint úgy állíthatjuk elő, hogy

- a) piridin-3,4-dikarbonsavanhidridet 1,4-difluor-ben-
zollal reagáltatunk, és az így kapott (8a) és (8b)
képletű ketosavak elegyét felemelt hőmérsékleten
füstölő kénsavval ciklizáljuk, és a kapott (II) ké-
pletű difluoridot egy (III) általános képletű aminnal –
ahol R jelentése egyezik a fent megadottal – rea-
gáltatjuk; és kívánt esetben a kapott olyan (I) általá-
nos képletű vegyületről, ahol $-NR_2R_3$ jelentésében
 R_2 jelentése $-COOR_5$ -csoport és R_3 jelentése hidró-
génatom vagy 1–7 szénatomos alkilcsoport, a
 $-COOR_5$ -csoportot eltávolítjuk.
- b) az R helyén $-(CH_2)_p-NH-(CH_2)_q-OH$ -csoportot
tartalmazó (I) általános képletű vegyületek – ahol p
és q értéke egymástól függetlenül 2, 3 vagy 4 – elő-
állítására egy, az R helyén $-(CH_2)_p-OS(O_2)-R_5$ -
csoportot tartalmazó – ahol R_5 és p jelentése egye-
zik a fent megadottal – (I) általános képletű vegyü-
letet egy (IV) általános képletű vegyülettel – ahol q
jelentése egyezik a fent megadottal, E jelentése a
hidroxilcsoport átmeneti megvédésére alkalmas
csoport, előnyösen trialkil-szilil-, dialkil-aril-szilil-,
formil- vagy acetilcsoport – reagáltatunk és az E
védőcsoportot eltávolítjuk, vagy
- c) az R helyén $-(CH_2)_p-NR_3COR_5$ -csoportot tartal-
mazó (I) általános képletű vegyületek – ahol R_3 , R_5
és p jelentése egyezik a fentebb megadottal – előál-
lítására egy R helyén $-(CH_2)_p-NHR_3$ -csoportot tartal-
mazó (I) általános képletű vegyületet – ahol p és
 R_3 jelentése a fentivel egyező – a kívánt $-COR_5$
acilcsoport bevitelére alkalmas reakcióképes sav-
származékkal, előnyösen savkloriddal vagy savan-
hidriddel acilezzünk, vagy
- d) az R helyén $-(CH_2)_p-OS(O_2)-R_5$ -csoportot tartal-
mazó (I) általános képletű vegyületek – ahol p és R_5
jelentése egyezik a fentebb megadottal – előállítá-
sára egy R helyén $-(CH_2)_pOH$ -csoportot tartalmazó
(I) általános képletű vegyületet egy, az $-S(O_2)-R$
szulfonilcsoport – ahol R_5 a fent megadott jelentésű
– bevitelére alkalmas szulfonilezőszerrel, előnyö-
sen szulfonil-kloriddal reagáltatunk, vagy
- e) az R helyén $-(CH_2)_p-NH-(CH_2)_q-OR_5$ -csoportot
tartalmazó (I) általános képletű vegyületek – ahol R_5 ,

p és q jelentése egyezik a fentebb megadottal – előál-
lítására egy R helyén $-(CH_2)_p-OS(O_2)-R_5$ -csoport-
ot – ahol R_5 a fenti jelentésű – tartalmazó (I) általá-
nos képletű vegyületet egy $R_5-O-(CH_2)_q-NH_2$ általá-
nos képletű aminnal – ahol R_5 és q a fenti jelentésű-
ek – reagáltatunk,

és kívánt esetben

- (i) a fenti módon kapott (I) általános képletű vegyületet
ennek gyógyászati szempontból elfogadható savad-
dációs sójává alakítjuk át.

A (II) képletű vegyület és a (III) általános képletű
vegyület reakcióját általában a (III) általános képletű
vegyület sztöchiometrikus mennyiségének vagy enyhe
moláris feleslegének jelenlétében oldószerben – ami-
lyen például a metilén-klorid, kloroform, 1,1,1-triklór-
etán, dimetoxi-etán, tetrahidrofuran, dimetil-szulfoxid,
N,N-dimetil-formamid, piridin, pikolin vagy ezek keve-
réke – vagy adott esetben oldószerként magát a (III)
általános képletű vegyületet alkalmazva, adott esetben
egy szerves bázis – amilyen például egy alkálifém-
vagy alkáliföldfém-karbonát vagy -hidrogén-karbonát
– vagy szerves bázis – amilyen például egy trialkil-
amin – jelenlétében 0 °C és az oldószer forráspontja
közötti hőmérséklet-tartományban végezzük.

Előnyösen a reakciót oldószerben, például piridin-
ben, kloroformban vagy dimetil-szulfoxidban hajtjuk
végre, miközben a (II) képletű vegyület 1 ekvivalensnyi
mennyiségére számítva 2–10 ekvivalens mennyiségű
(III) általános képletű vegyületet alkalmazunk, és a hő-
mérsékletet szobahőmérséklet és 50 °C között tartjuk.

Amennyiben a kívánt (I) általános képletű vegyület-
ben R jelentése egy $-(CH_2)_p-NH-(CH_2)_q-OH$ általá-
nos képletű hidroxi-alkil-amino-alkil-csoport, amely-
nek képletében p és q értéke a fentiekben meghatározott,
a terméket úgy állíthatjuk elő, hogy egy olyan (I) álta-
lános képletű vegyületet, amelyben R jelentése
 $-(CH_2)_p-OS(O_2)R_5$ általános képletű csoport, egy (IV)
általános képletű vegyülettel – a (IV) általános képlet-
ben E jelentése hidroxivédő csoport, így például trialkil-
szilil-csoport, (dialkil)-aril-szilil-csoport, formilcsoport,
acetilcsoport – reagáltatunk, majd a reakciót követően
kívánt esetben a védőcsoportot eltávolítjuk.

Amennyiben a kívánt (I) általános képletű vegyület-
ben R jelentése egy $-(CH_2)_p-NR_2R_3$ általános képletű
csoport, amelyben az R_2 és az R_3 egyikének jelentése
hidrogénatom és a másik jelentése 1–6 szénatomos alkil-
csoport, a terméket úgy állíthatjuk elő, hogy a (II) képletű
vegyületet egy (V) általános képletű, monovédett
diaminnal – az (V) általános képletben R_3 jelentése hid-
rogénatom vagy 1–6 szénatomos alkilcsoport, p értéke és
 R_5 jelentése a fentiekben az (I) általános képletben meg-
határozott – reagáltatjuk, s az így nyert (Ia) általános
képletű vegyületből – az (Ia) általános képletben R' je-
lentése $-(CH_2)_p-N(COOR_5)R_3$ általános képletű csoport
– ezt követően eltávolíthatjuk a $-COOR_5$ védőcsoportot.

A fentiekben említett védőcsoportok eltávolításáról
részletes ismertetés található a következő szakirodalmi
helyen: Green, T. W., Wuts, P. G. M., „Protective
Groups in Organic Synthesis”, second Edition, John
Wiley and sons, (1991).

A (II) képletű 6,9-difluor-benzo[g]izokinolin-5,10-diont többlépéses eljárással állíthatjuk elő, amely magában foglalja az 1,4-difluor-benzol-piridin-3,4-dikarbonsavanhidriddel végzett Friedl–Crafts-féle acilezést, s ennek a reakciónak az eredményeképpen a (VIIa) és (VIIb) képletű szerkezetekkel rendelkező vegyületekhez jutunk.

Ezt követően a (VIIa) és a (VIIb) képletű vegyületeket füstölő kénsavban (30% SO₃) hozzávetőleg 140 °C hőmérsékleten gyűrűzárási reakcióba vesszük, s így a (II) képletű vegyületet nyerjük.

A (III), (IV) és (V) általános képletű vegyületek ismertek, kereskedelmi forgalomban hozzáférhetők vagy ismert eljárásokkal előállíthatók.

Például az (V) általános képletű vegyületeket előállíthatjuk a következő szakirodalmi helyeken ismertett eljárásoknak megfelelően: *Synth. Commun.*, (1990), 20, 2559 és *J. Med. Chem.*, (1990), 33, 97.

A találmány szerinti vegyületek biológiai aktivitásának értékelését az U.S. National Cancer Institute által kidolgozott előírásoknak megfelelően „*in vitro*” és „*in vivo*” végeztük.

A találmány szerinti vegyületek *in vitro* cytotoxikus aktivitásának meghatározását egy metasztatikus csomóból izolált humán vastagbél (colon) adenocarcinoma sejtvonal (Lovo) és egy olyan alvonal (subline) alkalmazásával végeztük, amely alvonal számos tumorelles ágenssel, köztük a doxorubicinnel, VP-16-tal és a vincristine-nel szemben jelentős rezisztenciával rendelkezik. Ez az alvonal (amelyet Lovo/DX névvel láttak el) a doxorubicin csökkentett akumulációját és egy protein túlzott felszabadulását (over-expression) mutatja [Grandi, M., Geroni, C., Giuliani, F. C., *British J. Cancer*, (1986), 54, 515]. A vegyületek tesztelését mitoxantrone-nal, ametantrone-nal és doxorubicinnel összehasonlítva az MTT vizsgálati módszernek megfelelően végeztük [Mosman, T., „Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay”, *J. Immunol. Methods*, (1983), 65, 55–63; Green, L. M., „Rapid colorimetric assay for cell viability; application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines”, *J. Immunol. Methods*, (1984), 70, 257–268]. Az adatokat a II. Táblázatban mutatjuk be.

Általában a jellegzetes, találmány szerinti vegyületek a Lovo sejtvonalon azonos cytotoxicitásúak voltak, mint az ametantrone és a mitoxantrone; a legnagyobb cytotoxicitást (felülmúlva a mitoxantrone-ét) a kísérleti rész 4. példájában ismertetett 10a. számú vegyület, a 6,9-bisz{[2-(dimetil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion mutatta. Amikor az ametantrone-t vagy a mitoxantrone-t a Lovo/DX sejtvonalon teszteltük, az előbbi sorrendnek megfelelően 101,2 és 29,0 értékű rezisztenciaindexet találtunk, ami azt mutatja, hogy ez az alvonal a mitoxantrone-nal és az ametantrone-nal szemben valóban jelentős rezisztenciával rendelkezik [a rezisztenciaindex (R.I.) a rezisztens sejtvonal IC₅₀-értékének az érzékeny sejtvonal IC₅₀-értékére vonatkoztatott arányként definiálható].

Másrészt, ha a jellegzetes, találmány szerinti vegyületeket azonos rezisztens alvonalon teszteltük, a mito-

xantrone-nal és az ametantrone-nal semmiféle keresztrezisztencia nem fordult elő, amint az megfigyelhető a kísérleti részt 4., 22., 5., 8. és 7. példában ismertetett (az előbbi sorrendnek megfelelő) 10a., 12c., 10b., 10e. és 10d. számú vegyületek esetén. Ezek a vegyületek általában ugyanolyan IC₅₀-értékeket mutattak ezen a rezisztens alvonalon, mint amelyet az ametantrone az érzékeny Lovo sejtvonalon. Különösen a 10a. számú vegyület volt aktívabb, mint a mitoxantrone a Lovo/DX sejtvonalon.

Ezek az *in vitro* adatok arra utalnak, hogy a jellegzetes, találmány szerinti vegyületek jól alkalmazhatók annak érdekében, hogy a tumorrezisztencia mechanizmusa által szabályozott multidrugrezisztenciát legyőzhessük.

Az *in vitro* cytotoxikus értékelést elvégeztük L 1210 murine leukémia sejteken is a fent említett sejteket alkalmazva, amelyeket szuszpenziós tenyészetekben tartottuk fenn (McCoy's 5A médium, amely 10% lószérumot, glutamint, penicillint és streptomycint tartalmazott), 10% szén-dioxidot és 90% levegőt tartalmazó nedvesített körülmények között, 37 °C hőmérsékleten tenyésztve. A vegyületeket feloldottuk dimetil-szulfoxidban, majd megfelelő koncentrációkban hozzáadtuk a szuszpendált sejtekhez. 72 órányi folyamatos kezelés után egy Coulter Counter sejtszámláló segítségével meghatároztuk a sejtkoncentrációt, és a következő egyenlet alapján számítottuk a növekedésgátlást:

$$\% \text{-os növekedésgátlás} = 1 - (\text{kezelt sejtek száma/csak DMSO-ban lévő sejtek száma}) \times 100$$

A növekedésgátlási adatokból számított IC₅₀-értékeket a III. táblázatban mutatjuk be, összehasonlítva a technika állásából ismert 5a. számú vegyület megfelelő értékével (az 5a. számú vegyület szerkezete az I. Ábrán látható).

A találmány szerinti jellegzetes vegyületek *in vivo* biológiai aktivitásának tanulmányozását P 388 és L 1210 murine leukémia modellek alkalmazásával végeztük.

A P 388 murine leukémia sejteket intraperitoneálisan (ip.) és intravénásan (iv.) CD2F1 egerekbe injektáltuk. A kezelést körülbelül 24 órával a tumortranszplantációt követően kezdtük el, és a hatóanyag dózisokat – az előre meghatározott előírásoknak megfelelően – intraperitoneálisan (P388 ip./ip.) vagy intravénásan (P388 iv./iv.) juttattuk be, általában háromnapos (P388 ip./ip.) vagy négynapos (P388 iv./iv.) időintervallumokban. A vizsgálatokat 60 napon keresztül végeztük, s feljegyeztük valamennyi állat esetében az elhullás időpontját. A %-os T/C-értékeket minden egyes csoport esetén az átlagos életbenmaradási idő (mean survival time; MST) alapján a következő összefüggés figyelembevételével határoztuk meg:

$$T/C\% = [(\text{kezelt MST}) / (\text{kontroll MST})] \times 100$$

Például két jellegzetes, találmány szerinti vegyület, nevezetesen a 12. példában ismertetett 6,9-bisz{[2-(amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10i. számú vegyület) éppúgy, mint annak dimaleátsója (10i. maleát) és a 4. példában ismertetett 6,9-bisz{[(2-dimetil-

amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10a. számú vegyület) a P 388 iv./iv. modellben a mitoxantrone-ét felülmúló aktivitást mutat. A 12. példában leírt, találmány szerinti 10i. számú vegyület, valamint annak hidrokloridsója (10i·HCl) és dimaleátsója (10i·maleát) a P 388 ip./ip. modellben is jobbnak bizonyult, mint a mitoxantrone. Ezen túlmenően a fenti, találmány szerinti jellegzetes vegyületek jól tolerálható, széles dózistartományban antileukémiás hatást is mutattak, különösen olyan dózisok mellett, amelyek valamivel kisebbek voltak, mint a még elviselhető legnagyobb dózis; ez azt jelezte, hogy a vegyületek a mitoxantrone-hoz képest előnyösebb terápiás indexszel rendelkeznek. Az így kapott eredményeket a későbbi IV. és az V. Táblázatban ismertetjük.

A találmány szerinti, jellegzetes vegyületek tumorellenes hatását L 1210 murine leukémia modellen is értékeltük.

Az L 1210 leukémias sejteket intraperitonealisan (ip.) CDF1 egerekbe injektáltuk, majd a kezelést körülbelül 24 órával a tumortranszplantáció után kezdtük el. A hatóanyagok dózisait – az előre meghatározott előírásoknak megfelelően – intraperitonealisan, szokásosan négynapos intervallumokban adtuk be. A vizsgálatokat 60 napon keresztül végeztük, s feljegyeztük valamennyi állat esetében az elhullás időpontját. A %-os T/C-értékeket minden egyes csoport esetén az átlagos életbenmaradási idő (mean survival time; MST) alapján a következő összefüggés figyelembevételével határoztuk meg:

$$T/C\% = [(kezelt\ MST)/(kontroll\ MST)] \times 100$$

Az eredményeket a VI. és a VII. Táblázatban tüntettük fel.

A VI. Táblázat adatai alapján nyilvánvaló, hogy a jellegzetes, találmány szerinti vegyületek <nevezetesen a 4. példa szerinti 10a. számú vegyület, a 12. példa szerinti 10i·HCl vegyület és a 17. példa szerint előállított 10i. számú vegyület, azaz a 6,9-bisz{[2-(2-hidroxi-etil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion> dimaleátsót antileukémiás hatása – meglepő módon – jelentősen felülmúlja az ismert 5a. számú vegyület hatását.

A VII. Táblázat adataiból látható, hogy a mitoxantrone és a 10i·HCl vegyület összehasonlítása alapján a találmány szerinti vegyület egészen kiváló antileukémiás hatással rendelkezik.

A találmány szerinti vegyületek szolid tumorokkal szembeni aktivitását a murine Lewis-tüdőcarcinoma és a humán emlőcarcinoma MX-1 modellek alkalmazásával demonstráltuk. Ezek a tumormodellek nyolc transzplantált tumor olyan paneljében találhatók, amelyet a U.S. National Cancer Institute-ban a klinikailag megfelelő tumorelles ágensek kiválasztásához ellenőrző (screen) panelként alkalmaznak [R. K. Y. Zee Cheng and C. C. Cheng, „Screening and evaluation of anticancer agents”, *Meth. and Find. Expl. Clin. Pharmacol.*, (1988), 10 (2), 67–101]. Példaként a VIII. Táblázatban bemutatjuk az előbbi két szolid tumorral szemben az egyik jellegzetes találmány szerinti vegyület (nevezetesen a 12. példa szerinti 10i·maleát vegyület, azaz a 6,9-bisz{[2-(amino)-

etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion·dimaleát) aktivitását.

Mivel a jellegzetes, találmány szerinti vegyületek jó eredményeket mutattak az *in vivo* murine P 388 és L 1210 leukémia, a murine Lewis-tüdőcarcinoma és a humán emlőcarcinoma MX-1 modellekkel szemben, s amint azt a fentiekben már említettük, ez jó előjelnek tűnik az eredményes humán alkalmazás szempontjából, az itt ismertetett vegyületek feltehetően hatásosak lesznek a humán leukémiákkal és szolid tumorokkal szemben is.

A találmány szerinti vegyületek gyógyászati készítmények aktív komponenseként az emlősökben előforduló rákos megbetegedések visszafejlődésének kiváltására és/vagy átmeneti enyhítésére alkalmazhatók, a hatóanyagokat testsúlykilogrammonként körülbelül 1 mg és körülbelül 0,4 g közötti tartományban alkalmazva. Az előnyös dózis naponként és testsúlykilogrammonként körülbelül 1 mg és körülbelül 50 mg közötti értékű. Az egységadagokat úgy lehet alkalmazni, hogy egy körülbelül 70 kg testsúlyú személy 24 órás időtartam alatt körülbelül 70 mg és körülbelül 3,5 g közötti mennyiségű hatóanyagot kapjon. A dozírozás során figyelembe lehet venni az esetleges más jellegű kezelést, például a sugárterápiát.

A gyógyászati készítményeket tabletták, kapszulák, gélkapszulák, kúpok, liofilizált porok és intravénás beadásra alkalmas oldatok formájában készíthetjük el.

A következőkben nem korlátozó jellegű példákkal illusztráljuk a találmányt. A vonatkozó (általános) képleteket az I., II., III. és IV. Ábrán tüntettük fel, adott esetben megadva az egyes származékok vegyületszámát és változó helyettesítőit is.

1. példa

Piridin-3,4-dikarbonsavanhidrid (7)

Piridin-3,4-dikarbonsav (15,0 g; 0,09 mol) és ecetsavanhidrid (30 ml) keverékét 2 órán keresztül visszafolyatás közben forraltuk. Az ecetsavanhidrid feleslegét desztillációval eltávolítottuk, majd a termék anhidridet szublimációval [123 °C hőmérsékleten és 400 Pa (3 Hgmm) nyomáson] tisztítottuk, s így a 7. számú vegyület fehér, szilárd anyagként 10,1 g (76%) mennyiségben nyertük.

Olvadáspont: 74–76 °C.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 9,39 (s, 1H), 9,24 (d, 1H), 7,94 (d, 1H).

2. példa

4-(2',5'-Difluor-benzoil)-nikotinsav (8a) és

3-(2',5'-difluor-benzoil)-izonikotinsav (8b)

A 7. számú vegyület (5,0 g; 0,033 mol) és 1,4-difluor-benzolban lévő alumínium-klorid (17,5 g; 0,131 mol) keverékét olajfürdőn 110 °C hőmérsékleten 22 órán keresztül melegítettük. Az 1,4-difluor-benzol feleslegét desztillációval eltávolítottuk. A maradékot jégfürdőben lehűtöttük, majd jeges víz (75 ml) és koncentrált sósav (6,3 ml) hozzáadásával kvencseltük. A kicsapódott szilárd anyagot kiszűrtük és szárítottuk. Így 7,7 g (87%) fehér port nyertünk. Az anyag acetonitril és víz elegyből kristályosítható.

Olvadáspont: 214–217 °C.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 9,15 (s), 8,90 (d), 8,80 (d), 7,90 (d), 7,5 (m), 7,4 (m).

Elementáranalízis $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{F}_2\text{NO}_3$ összegképletre (%):

számított: C 59,32; H 2,69; N 5,32;

talált: C 59,03; H 2,55; N 5,18.

3. példa

6,9-Difluor-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (9)

A 8a. és 8b. számú ketosavkeveréket (3,0 g; 0,011 mol) füstölő kénsvan (7,5 ml; 30% SO_3) olajfürdőn 135–140 °C hőmérsékleten 3 órán keresztül melegítettünk. Miután szobahőmérsékletre hűtöttük, a keveréket jégre (200 ml) öntöttük és nátrium-hidrogén-karbonáttal semlegesítettük. A metilén-kloriddal végzett extrakció eredményeképpen a 9. számú vegyületet sárga, szilárd anyag formájában, 2,0 g mennyiségben (72%) nyertük.

Olvadáspont: 199–200 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 9,54 (s, 1H), 9,12 (d, 1H), 8,03 (d, 1H), 7,57 (m, 2H).

Elementáranalízis $\text{C}_{13}\text{H}_5\text{F}_2\text{NO}_2$ összegképletre (%):

számított: C 63,67; H 2,04; N 5,71;

talált: C 63,86; H 1,66; N 5,39.

4. példa

6,9-Bisz{[2-(dimetil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]-izokinolin-5,10-dion (10a)

A 6,9-difluor-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (9) (20 mg; 0,08 mmol) és *N,N*-dimetil-etilén-diamin (0,8 mmol; 0,8 ml 1 M piridines oldat) keverékét szobahőmérsékleten 48 órán keresztül kevertettük. A piridin legnagyobb részét bepárlással eltávolítottuk, a maradékhoz dietil-étert adtunk, majd a 10a. számú terméket szűrővel kinyertük. Így 24 mg (79%) anyagot kaptunk.

Olvadáspont: 167–168 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,06 (széles t, 1H), 10,97 (széles t, 1H), 9,63 (s, 1H), 8,92 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,32 (m, 2H), 3,54 (q, 4H), 2,7 (t, 4H), 2,38 (s, 12H).

Tömegspektrum m/z (relatív intenzitás): 381

(2,0, M^+), 59 (5,4), 59 (100).

UV λ_{max} (2-metoxi-etanol): 580 (éles, 6200), 614 (10 600), 661 (12 700).

Elementáranalízis $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_2$ összegképletre (%):

számított: C 66,12; H 7,13; N 18,36;

talált: C 66,22; H 7,10; N 18,20.

5. példa

6,9-Bisz{[2-(diethyl-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10b)

N,N-Diethyl-etilén-diamin (684 mg; 5,9 mmol) piridinnel (2 ml) készült oldatát hozzáadtuk a 9. számú vegyület (202 mg; 0,82 mmol) és piridin (2 ml) keverékéhez. A bíborszínű keveréket szobahőmérsékleten kevertettük 48 órán keresztül (ennél a pontnál a vékonyréteg-kromatogram egyetlen kék komponenst mutatott; szilikagél, 5 térfogat% metanol kloroformban). A bázis feleslegét és a piridint lassú nitrogéngáz-átáramoltatás mellett bepárlással eltávolítottuk. Az így nyert nyers anyagot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. Miután jeges vizet adtunk a maradékhoz, a szilárd anyagot ki-

szűrtük és szárítottuk. Így 330 mg (84%) mennyiségben nyertük a kívánt terméket.

Olvadáspont: 142–144 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,10 (t, 1H), 11,00 (t, 1H), 9,60 (s, 1H), 8,92 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,25 (m, 3H), 3,50 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 2,35 (m, 3H), 1,10 (m, 12H).

Elementáranalízis $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_2$ összegképletre (%):

számított: C 68,62; H 16,00; N 7,31;

talált: C 67,95; H 16,05; N 7,28.

6. példa

6,9-Bisz{[2-(diizopropil)-amino-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10c)

N,N-Diizopropil-etilén-diamint (588 mg; 4,1 mmol) adtunk a 9. számú vegyület (100 mg; 0,41 mmol), metanol (1 ml) és víz (1 ml) keverékéhez. A keveréket szobahőmérsékleten 88 órán keresztül kevertettük, majd jeges vízre öntöttük. A kék precipitátumot szűrővel kinyertük. A szilárd anyagot szilikagélén oszlopkromatográfiás úton tisztítottuk. Eluensként kezdetben kloroformot, majd 2 térfogat% metanolt tartalmazó kloroformot, végül 20 térfogat% metanolt tartalmazó kloroformot alkalmaztunk. Az utóbbi eluensek bepárlásával 163 mg (81%) mennyiségben nyertük a 10c. számú terméket.

Olvadáspont: 134–136 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 10,95–11,20 (m, 2H), 9,63 (s, 1H), 8,92 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,33 (m, 2H), 3,45 (2q, 4H), 3,10 (h, 4H), 2,82 (t, 4H), 1,08 (d, 24H).

Elementáranalízis $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_2$ összegképletre (%):

számított: C 70,55; H 8,78; N 14,19;

talált: C 69,23; H 8,71; N 13,43.

7. példa

6,9-Bisz{[2-(1'-pirrolidino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10d)

1-(2-Amino-etil)-pirrolidin (690 mg; 6,0 mmol) piridinnel (2 ml) készült oldatát hozzáadtuk a 9. számú vegyület (202 mg; 0,82 mmol) piridinnel (2 ml) készült oldatához. A keveréket 49 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük. A bázis feleslegét és a piridint lassú nitrogéngáz-átáramoltatás mellett bepárlással eltávolítottuk. Az így nyert nyers anyagot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. Miután jeges vizet adtunk a maradékhoz, a ragadós szilárd anyagot elkülönítettük. A terméket kloroformmal (3×35 ml) extraháltuk, az extraktumot vízmentes nátrium-szulfát felett szárítottuk és a kloroformot rotációs vákuumbepárlóval eltávolítottuk. Ily módon a címvegyületet 260 mg (73%) mennyiségben nyertük. A szilikagélén 5 térfogat% metanolt tartalmazó kloroformmal végzett vékonyréteg-kromatográfia egyetlen kék foltot eredményezett.

Olvadáspont: 141–142 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,15 (t, 1H), 11,00 (t, 1H), 9,65 (s, 1H), 8,90 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,35 (m, 2H), 3,65 (m, 4H), 2,90 (m, 4H), 2,70 (m, 8H), 1,85 (m, 8H).

Elementáranalízis $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_2$ összegképletre (%):

számított: C 69,26; H 7,21; N 16,15;

talált: C 69,02; H 7,25; N 16,00.

Maleátsó. Nitrogénatmoszféra alatt maleinsav (271 mg; 2,34 mmol) etanollal (5 ml) készült oldatát hozzáadtuk a 10d. számú vegyület (450 mg; 1,04 mmol) etanollal (20 ml) készült, kevertetett szuszpenziójához. Miután a keveréket 2 órán keresztül kevertettük, dietil-étert adtunk lassan hozzá, majd a precipitátumot kiszűrtük, és vákuum alatt 40 °C hőmérsékleten szárítottuk. A 10d. számú vegyület higroszkópos dimaleátsóját 580 mg mennyiségben kaptuk.

Olvadáspont: 164–166 °C.

Elementáranalízis $C_{33}H_{39}N_5O_{10} \cdot H_2O$ összegképletre (%):
számított: C 57,96; H 6,04; N 10,24;
talált: C 57,85; H 5,99; N 10,14.

8. példa

6,9-Bisz{[2-(4'-morfolino)-etil]-amino}-benzo[g]-izokinolin-5,10-dion (10e)

4-(2-Amino-etil)-morfolin (220 mg; 1,7 mmol) piridinnel (2 ml) készült oldatát hozzáadtuk a 9. számú vegyület (102 mg; 0,42 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatához. A bíborszínű keveréket 120 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük. A bázis feleslegét és a piridint lassú nitrogén-gáz-átáramoltatás mellett bepárlással eltávolítottuk, és a maradékot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. A keveréket felvettük kloroformban, majd szűrtük. A kloroform eltávolításával 140 mg (72%) mennyiségű kék, szilárd anyaghoz jutottunk, amely a vékonyréteg-kromatogramon (szilikagél, metanol/kloroform 25:75 térfogatarányú keveréke néhány csepp vizes ammónium-hidroxid-oldattal) egyetlen kék foltot adott.

1H -NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 11,015 (m, 1H), 10,90 (m, 1H), 9,62 (d, 1H), 8,90 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,25 (m, 2H), 3,80 (m, 8H), 3,55 (m, 4H), 2,75 (t, 4H), 2,50 (m, 8H).

Elementáranalízis $C_{25}H_{31}N_5O_4$ összegképletre (%):
számított: C 64,22; H 6,68; N 11,98;
talált: C 63,95; H 6,78; N 11,89.

9. példa

6,9-Bisz{[2-(1'-aziridino)-etil]-amino}-benzo[g]-izokinolin-5,10-dion (10f)

A 4. példa szerinti eljárást ismételtük meg oly módon, hogy a 9. számú vegyületet *N*-(2-amino-etil)-aziridinnel reagáltattuk, majd a piridin elpárologtatását követően kapott maradékot szilikagélén végzett oszlop-kromatográfiával tisztítottuk.

A 10 térfogat% metanolt tartalmazó kloroformmal eluált legnagyobb kék sávot összegyűjtöttük és bepároltuk. A metilén-klorid és ligroin elegyéből végzett kristályosítás sötétkék, szilárd anyagot eredményezett.

Olvadáspont: 100–103 °C.

1H -NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 11,23 (széles, 1H), 11,15 (széles, 1H), 9,73 (s, 1H), 8,91 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 3,69 (q, 4H), 2,60 (t, 4H), 1,85 (m, 4H), 1,24 (m, 4H).

Tömegspektrum m/z (relatív intenzitás):

377 (100, M^+), 278 (72,7), 56 (12,6).

Elementáranalízis $C_{21}H_{23}N_5O_2$ összegképletre (%):
számított: C 66,82; H 6,14; N 18,55;
talált: C 66,50; H 6,00; N 18,20.

10. példa

6,9-Bisz{[2-(*N*-*terc*-butoxi-karbonil/-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10g)

A 9. számú vegyület (0,10 g; 0,41 mmol) és *N*-(*terc*-butoxi-karbonil)-etilén-diamin [*Synth. Comm.*, (1990), 20, 2559; 0,65 g; 4,10 mmol] piridinnel (4,0 ml) készült oldatát 24 órán keresztül kevertettük szobahőmérsékleten. Víz (20 ml) hozzáadása a 10g. számú vegyületet eredményezte, amelyet kiszűrtünk, mostuk vízzel, majd megszáritottuk. A nyers terméket 0,17 g mennyiségben (80%) nyertük. Ennek olvadáspontja 213–216 °C volt. A kloroform és szén-tetraklorid elegyéből végzett kristályosítás sötétkék, szilárd anyagot eredményezett. Olvadáspont: 215–216 °C.

1H -NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 11,07 (széles, 1H), 10,96 (széles, 1H), 9,49 (s, 1H), 8,90 (d, 1H), 7,99 (d, 1H), 7,32 (s, 2H), 5,30 (széles, 2H), 3,58 (m, 4H), 3,47 (m, 4H), 1,56 (s, 18H).

Tömegspektrum m/z (relatív intenzitás):

525 (100, M^+), 339 (51,9), 57 (87,7).

Elementáranalízis $C_{27}H_{35}N_5O_6$ összegképletre (%):

számított: C 61,70; H 6,73; N 13,32;
talált: C 61,18; H 6,29; N 12,88.

25 11. példa

6,9-Bisz{[2-(*N*-*terc*-butoxi-karbonil/-*N*-metil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10h)

6,9-Difluor-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (0,29 g; 1,18 mmol) adtunk *N*-(*terc*-butoxi-karbonil)-*N*-metil-etilén-diamin (0,824 g; 4,73 mmol) [*J. Med. Chem.*, (1990), 33, 97] száraz piridinnel (5 ml) készült, kevertetett oldatához. A reakciókeveréket nitrogénatmoszférában 24 órán keresztül kevertettük szobahőmérsékleten, majd további 8 órán keresztül 50 °C hőmérsékleten. Az oldószert csökkentett nyomás alatt eltávolítottuk, majd az így nyert kék színű maradékot felvettük metilén-kloridban (50 ml), majd az oldatot 5 tömeg%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal (2 $\times$ 30 ml) és vízzel (30 ml) mostuk. Az egyesített szerves fázisokat vízmentes nátrium-szulfát felett szárítottuk, és az oldószert csökkentett nyomás alatt eltávolítottuk.

A kék színű maradékot oszlop-kromatográfiás úton tisztítottuk (szilikagél, 230–400 mesh, 50 g, eluensként metilén-klorid:etil-acetát:metanol 93:5:2 térfogatarányú elegyet alkalmazva). Ennek eredményeképpen 400 mg mennyiségben (61%), kék színű kristályok formájában nyertük a kívánt terméket, amelyet metilén-klorid és hexán elegyéből átkristályosítottunk.

Olvadáspont: 161,5–162,5 °C.

1H -NMR ($CDCl_3$) δ (ppm): 1,49 (s, 18H), 2,94 (s, 6H), 3,45–3,75 (m, 8H), 7,25–7,55 (m, 2H), 8,12 (d, 1H), 8,95 (d, 1H), 9,62 (s, 1H), 10,95–11,23 (m, 2H, D_2O -val lecserélhető [deuterálható]).

55 12. példa

6,9-Bisz{[2-(amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10i)

A 9. számú difluoridból: Nitrogénatmoszféra alatt 1,2-diamino-etánt (8,72 ml; 130,5 mmol) adtunk a 9. számú vegyület (4,00 g; 16,3 mmol) piridinnel (80 ml)

készült, kevertetett oldatához. Az enyhén exoterm reakciót úgy biztosítottuk, hogy egy 20 °C hőmérsékletű vízfürdővel hűtve szabályoztuk a reakcióelegy hőmérsékletét. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 34 órán keresztül kevertettük, majd 30 percen át –5 °C hőmérsékleten hűtöttük. A szilárd anyagot nitrogénáram alatt szívással elkülönítettük, és egy éjszakán át vákuum alatt 30 °C hőmérsékleten szárítottuk. Az így nyert nyers terméket oly módon kristályosítottuk át, hogy az anyagot feloldottuk 40 °C hőmérsékletű metanolban (20 ml), majd metilén-klorid (100 ml) és *n*-hexán (300 ml) hozzáadásával ismételtelen kicsaptuk. Így módon a 10i. számú vegyületet 5,12 g mennyiségben kék, szilárd anyag formájában állítottuk elő.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 11,10–11,30 (2m, 2H), 9,53 (s, 1H), 8,93 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,35 (m, 2H), 3,55 (q, 4H), 3,10 (t, 4H).

HPLC: Lichrosper 100 RP18, 5 µm; eluens: nátrium-heptánszulfonát 2 g/l víz:acetonitril:dioxán 75:20:5 térfogatarányú elegyben; pH 3 (foszforsavval); λ=245 nm; áramlási sebesség: 1 ml/perc; R_T=8,80 perc.

Maleátsó:

Nitrogénatmoszféra alatt a 10i. számú szabad bázist 10 percig tartó, 50 °C hőmérsékleten végzett melegítés közben feloldottuk etanol (170 ml) és metanol (30 ml) elegyében, majd az oldathoz maleinsav (2,87 g; 24,6 mmol) etanollal (30 ml) készült oldatát adtuk. A keveréket további 5 percen keresztül 50 °C hőmérsékleten melegítettük, majd hagytuk szobahőmérsékletre hűlni, és ezt követően 2 órán át 4 °C hőmérsékleten tartottuk. A csapadékot nitrogénáram alatt szivattással elkülönítettük, és vákuum alatt 40 °C hőmérsékleten szárítottuk. A nyers dimaleátot 5,75 g mennyiségben nyertük.

A nyers termék (5,71 g) vízzel (90 ml) készült, 50 °C-on kevertetett szuszpenziójához addig csepegtettünk etanolt (körülbelül 300 ml), amíg a szuszpenzió teljes egészében oldatba ment át, majd további etanolt (400 ml) adtunk hozzá, és a keveréket hagytuk szobahőmérsékletre hűlni. A kivált csapadékot 12 óra elteltével leszivattuk, mostuk etanollal (15 ml) és dietil-éterrel (10 ml), majd vákuum alatt 30 °C hőmérsékleten 5 órán keresztül szárítottuk. Így a 10i. számú vegyület dimaleátsóját 4,22 g mennyiségben állítottuk elő.

Olvadáspont: 176–178 °C-on összehúzódás, 245 °C hőmérsékletig nem olvad meg.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ (ppm): 10,92 (széles, 1H), 10,87 (széles, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,01 (m, 1H), 8,08 (m, 1H), 7,59 (s, 2H), 6,03 (s, 4H), 3,76 (széles, 4H), 3,08 (m, 4H).

UV: 1,528 mg vízben (50 ml), nm (E 1%): 641 (271), 597 (245), 313 (98), 273 (257), 246 (479).

Elementáranalízis C₁₇H₁₉N₅O₂ · 2 C₄H₄O₄ · 1,5 H₂O összegképletre (%):

számított: C 51,37; H 5,17; N 11,98;
talált: C 51,31; H 4,99; N 11,93.

Hidrokloridsó:

a) A 10i. számú aminból: A nyers amin kloroformos oldatán hidrogén-klorid-gázt buborékolattunk keresztül addig, amíg az oldat kék színe eltűnt. A szilárd anya-

got kiszűrtük és szárítottuk. Sötétkék, higroszkópos, szilárd anyagot kaptunk.

Olvadáspont: 209–212 °C.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ (ppm): 10,91 (széles 2H), 9,44 (s, 1H), 9,01 (d, 1H), 8,23 (széles, 4H), 8,09 (d, 1H), 7,74 (s, 2H), 3,84 (m, 4H), 3,02 (m, 4H).

Elementáranalízis C₁₇H₁₉N₅O₂ · 2 HCl · 4 H₂O összegképletre (%):

számított: C 44,94; H 6,43; N 15,41;
talált: C 44,52; H 5,29; N 14,53.

A szabad amin az NMR-mintához adott szilárd kálium-karbonáttal regenerálható. Az ¹H-NMR-analízis jelzi a szabad amin jelenlétét.

b) A 10g. számú vegyület *t*-Boc (*tert*-butoxi-karbonil) analógjának védőcsoport-eltávolításával: A 10g. számú vegyület (0,160 g; 0,30 mmol) száraz kloroformmal (10 ml) készült oldatán 30 percen keresztül hidrogén-klorid-gázt buborékolattunk keresztül. A sötétkék, szilárd anyagot kiszűrtük és szárítottuk. Így módon a terméket 0,115 g (95%) mennyiségben nyertük. A vegyület szerkezetét ¹H-NMR spektroszkópiai úton, hasonló módon határoztuk meg, mint a 10i. számú vegyület hidrokloridsóját.

Olvadáspont: 213–215 °C.

25

13. példa

6,9-Bisz[[2-(acetil-amino)-etil]-amino]-benzo[g]-izokinolin-5,10-dion (10j)

A 9. számú vegyület és 1,2-diamino-etán alkalmazásával megismételtük a 12. példa szerinti eljárást, majd a nyers reakciókeveréket szilikagéloszlopra vittük. Az oszlopra ecetsavanhidridet (30 ml) vittünk fel, majd a rendszert 15 percen keresztül állni hagytuk. A metanol-kloroform 1:4 térfogatarányú eluenssel nyert legnagyobb, kék frakció tartalmazta a 10j. számú terméket. Kloroform és metanol elegyből kristályosítva a vegyületet 0,240 g (35%) mennyiségű kék, szilárd anyagot kaptunk.

Olvadáspont: 155–156 °C.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ (ppm): 11,12 (t, 1H), 11,02 (t, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,95 (d, 1H), 8,15 (széles, 2H), 8,03 (d, 1H), 7,62 (s, 2H), 3,57 (m, 8H), 1,83 (s, 6H).

Tömegspektrum m/z (relatív intenzitás) 409 (2,5, M⁺), 337 (6,4), 86 (100).

Elementáranalízis C₁₂H₂₃N₅O₄ összegképletre (%):
számított: C 61,60; H 5,67; N 17,10;
talált: C 61,37; H 5,42; N 16,89.

14. példa

6,9-Bisz[[2-(metil-amino)-etil]-amino]-benzo[g]izokinolin-5,10-dion trihidroklorid (10k)

A 6,9-bisz[[2-(*N*-*tert*-butoxi-karbonil)-*N*-metil-amino)-etil]-amino]-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10h) (440 mg; 0,795 mmol) kloroformmal (40 ml) készült oldatához etanolos hidrogén-klorid-oldatot (6,7 N; 2,0 ml) adtunk. A reakciókeveréket nitrogénatmoszféra alatt 24 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd a képződött sötétzöld kristályokat szűrővel kinyertük, mostuk abszolút etanollal, és vákuumban 40 °C hőmér-

sékleten szárítottuk. A tiszta terméket 945 mg (94%) mennyiségben nyertük.

Olvadáspont: 188 °C bomlás (DSC-vel meghatározva).

¹H-NMR (D₂O) δ (ppm): 2,75 (s, 6H), 3,30–3,45 (m, 4H), 3,80–3,95 (m, 4H), 7,38 (s, 2H), 8,17 (d, 1H), 8,85 (d, 1H), 9,27 (s, 1H).

UV: 1,07 mg vízben (20,0 ml), nm (E 1%): 641 (290), 597 (276), 313 (106), 273 (278), 247 (486).

HPLC (Lichrosper 100 RP18, 5 μm; eluens: K₂HPO₄ 25 mM, n-C₇H₁₅SO₃Na 2 mg/ml víz: acetonitril:dioxán 80:15:5 térfogatarányú elegyben, pH 2,7 (HClO₄-val beállítva); λ=245 nm; áramlási sebesség: 1 ml/perc; R_T=20,11 perc.

Elementáranalízis

C₁₉H₂₆Cl₃N₅O₂·2 H₂O összegképletre (%):

számított: C 46,51; H 6,03; N 14,14;

talált: C 45,75; H 6,06; N 14,04.

15. példa

6,9-Bisz[(2-hidroxi-etil)-amino]-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (11a)

A 9. számú difluoridot (1,0 g; 4,1 mmol) és 2-amino-etanol (2,5 g; 40,8 mmol) piridinben (7 ml) szobahőmérsékleten 18 órán keresztül kevertettük. A keveréket vízre (50 ml) öntöttük, majd a 11a. számú vegyületet kiszűrtük és szárítottuk. Szárítás után a terméket 1,26 g (94%) mennyiségben nyertük. A 236–239 °C olvadáspontú nyers terméket metanoltól átkristályosítva sötétkék tűs kristályok formájában kaptuk az anyagot.

Olvadáspont: 237–239 °C.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ (ppm): 11,28 (t, 1H), 11,19 (t, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,94 (d, 1H), 8,03 (d, 1H), 7,56 (s, 2H), 5,01 (t, 2H), 3,69 (m, 4H), 3,54 (m, 4H).

Elementáranalízis C₁₇H₁₇N₃O₄ összegképletre (%):

számított: C 62,38; H 5,25; N 12,83;

talált: C 62,21; H 5,12; N 12,50.

16. példa

6,9-Bisz[(2-metánszulfonil-oxi-etil)-amino]-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (11b)

A 11a. számú vegyület (0,30 g; 0,92 mmol) száraz piridinnel (4 ml) készült oldatát nitrogénatmoszféra alatt szobahőmérsékleten 10 percen keresztül kevertettük. Metánszulfonil-kloridot (0,24 g; 2,07 mmol) adtunk hozzá, majd a keveréket 20 percen keresztül kevertettük. A reakciókeveréket jeges vízben (20 ml) kvencseltük, majd a szilárd anyagot kiszűrtük. A kloroform és ligroin elegyből végzett kristályosítás eredményeképpen 0,294 g (66%) mennyiségben kék, szilárd anyagot nyertünk.

Olvadáspont: 116–118 °C.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 10,98 (széles, 2H), 9,59 (s, 1H), 8,97 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,34 (d, 1H), 4,50 (t, 4H), 3,83 (q, 4H), 3,09 (s, 6H).

Elementáranalízis C₁₉H₂₁N₃O₈S₂ összegképletre (%):

számított: C 47,20; H 4,39; N 8,69;

talált: C 46,80; H 4,32; N 8,48.

17. példa

6,9-Bisz[{2-/(2-hidroxi-etil)-amino}-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10l)

a) A 11b. számú mezilátból

5 A 11b. számú vegyület (0,40 g; 0,83 mmol) és 2-(trimetil-szilil-oxi)-etil-amin (2,21 g; 16,5 mmol) piridinnel (5,0 ml) készült oldatát nitrogénatmoszféra alatt szobahőmérsékleten 48 órán keresztül kevertettük. A piridint nitrogénáram alatt eltávolítottuk, majd a maradékot felvettük metilén-kloridban. Ezt az oldatot telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal mostuk, majd nátrium-szulfát felett szárítottuk. Az oldószer eltávolítását követően kék színű olaj maradt vissza, amelyet vákuum alatt egy éjszakán keresztül szárítottunk.

10 A szilikagél oszlopkromatográfia eredményeképpen (a Si-O kötés felnyílását követően) a 10l. számú terméket nyertük. A vegyület elúcióját trietil-amin:metanol:kloroform 1:5:5 térfogatarányú eleggyel végeztük. A bepárlás után olaj formájában kaptuk a 10l. számú terméket.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 11,19 (széles, 1H), 11,06 (széles, 1H), 9,46 (s, 1H), 8,83 (d, 1H), 7,98 (d, 1H), 6,98 (s, 2H), 3,82 (m, 4H), 3,52 (m, 4H), 3,07 (m, 4H), 2,96 (m, 4H).

25 UV (2-metoxi-etanol): 570 (éles, ε=7200), 612 (ε=13 200), 658 (ε=14 000).

b) A 9. számú difluoridból

Nitrogénatmoszféra alatt 0 °C hőmérsékleten 2-[(2-hidroxi-etil)-amino]-etil-amin (6,19 ml; 61,2 mmol) adtunk a 9. számú vegyület (1,00 g; 4,08 mmol) piridinnel (30 ml) készült, kevertetett szuszpenziójához.

Egy óra elteltével a reakciókeveréket hagytuk felmelegedni szobahőmérsékletre, majd ezen a hőmérsékleten hagytuk három órán keresztül. A reakciókeveréket 100 g szilikagélen oszlopkromatografáltuk, először kloroform:metanol 90:10, majd kloroform:metanol 85:15, végül kloroform:metanol:ammónium-hidroxid 85:15:1 térfogatarányú eleggyel végzett elúciót alkalmazva. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat összeöntöttük, az oldószereket eltávolítottuk, és a maradékot 95 g szilikagélen ismételt oszlopkromatográfias úton tisztítottuk, eluensként olyan kloroform:metanol:conc. ammónium-hidroxid oldószerelegyet használva, amelynek összetételét 95:5:0 térfogatarányról fokozatosan 80:20:2 térfogatarányra változtattuk. A végső tisztítást I fokozatú bázisos alumínium-oxiddal (25 g) töltött kromatográfias oszlopon végeztük, eluensként metilén-klorid:etanol 96:4 térfogatarányú oldószerelegyet alkalmazva. Az így nyert 500 mg tömegű maradékot etanol (0,5 ml) és metilén-klorid (10 ml) elegyből kristályosítva 142 mg mennyiségben kaptuk a kívánt 10l. számú vegyületet.

Maleátsó: A 10l. számú szabad amin (138 mg; 0,334 mmol) nitrogénatmoszféra alatt feloldottuk etanolban (6 ml), majd maleinsav (87 mg; 0,75 mmol) etanollal (3 ml) készült oldatát adtuk hozzá szobahőmérsékleten. Miután a keveréket 3 órán keresztül 4 °C hőmérsékleten tartottuk, a kék kristályokat nitrogénáram alatt leszívattuk, mostuk etanollal (1 ml) és dietil-éterrel (2 ml), majd vákuum alatt 40 °C hőmérsékleten szárítottuk.

tottuk. A 10l. számú vegyület dimaleátsóját 160 mg mennyiségben kaptuk.

Olvadáspont: 132–133 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ (ppm): 10,94 (széles, 1H), 10,88 (széles, 1H), 9,47 (s, 1H), 9,02 (d, 1H), 8,60 (széles, 2H), 8,09 (d, 1H), 7,63 (s, 2H), 6,01 (s, 4H), 5,32 (széles, 2H), 3,89 (m, 4H), 3,71 (m, 4H), 3,26 (m, 4H), 3,12 (m, 4H).

UV 1,355 mg vízben (25 ml): nm (E 1%): 641 (220), 598 (208), 312 (85), 272 (221), 246 (406).

Elementáranalízis $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 2 \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ összegképletre (%):

számított: C 52,52; H 5,57; N 10,64;

talált: C 52,49; H 5,56; N 10,61.

18. példa

6,9-Bisz{[2-(2-metoxi-etil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10m)

A 11b. számú vegyület (0,15 g; 0,21 mmol) és 2-metoxi-etil-amin (0,47 g; 6,20 mmol) piridinnel (2,0 ml) készült oldatát nitrogénatmoszféra alatt szobahőmérsékleten 48 órán keresztül kevertettük. A piridint és az amin feleslegét vákuum alatt eltávolítottuk. A maradékot feloldottuk metilén-kloridban, az oldatot mostuk telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd nátrium-szulfát felett szárítottuk. Az oldószer eltávolítását követően a maradékot szilikagélén, oszlopkromatográfiás úton tisztítottuk, 1:1 térfogatarányú metanol-kloroform elegy eluensként történő alkalmazásával. A vegyületet etanol és pentán keverékéből kristályosítottuk. Így 0,091 g (66%) mennyiségben nyertük a 10m. számú vegyületet.

Olvadáspont: 174–175 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,08 (széles, 1H), 10,97 (széles, 1H), 9,56 (s, 1H), 8,90 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,31 (s, 2H), 3,62 (m, 8H), 3,43 (m, 6H), 3,08 (t, 4H), 2,94 (t, 4H), 2,66 (széles s, 2H).

Tömegspektrum m/z (relatív intenzitás): 441 (100, M^+), 354 (57,4), 266 (50,5).

Elementáranalízis $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_4$ összegképletre (%):

számított: C 62,57; H 7,09; N 15,86;

talált: C 62,51; H 6,92; N 15,47.

19. példa

6,9-Bisz{[2-(2-hidroxi-etoxi)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (11c)

A 9. számú vegyület (100 mg; 0,41 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatához hozzáadtuk 2-(2-amino-etoxi)-etanol (446 mg; 4,25 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatát. A keveréket szobahőmérsékleten 45 órán keresztül kevertettük. Az amin feleslegét és a piridint lassú nitrogéngázáram mellett eltávolítottuk, és a maradt szilárd anyagot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. A szilárd anyaghoz hideg, telített nátrium-klorid-oldatot adtunk, és a terméket kloroformmal (6×25 ml) kiextraháltuk. Az extraktumokat magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd rotációs vákuumbepárlón bepároltuk. A 11c. számú terméket 140 mg (82%) mennyiségben nyertük.

Olvadáspont: 97–99 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,15–11,35 (2m, 2H), 9,60 (s, 1H), 8,85 (d, 1H), 8,08 (d, 1H), 7,30 (m, 2H), 3,85 (m, 8H), 3,57–3,75 (2M, 9H), 2,75–3,25 (széles s, 1H).

5

20. példa

6,9-Bisz{[3-(amino)-propil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (12a)

1) Szabad amin: a 9. számú vegyület (300 mg; 1,22 mmol) kloroformmal (6 ml) készült oldatához 1,3-diamino-propán (870 mg; 11,76 mmol) kloroformmal (3 ml) készült oldatát adtuk. A bíborszínű keveréket szobahőmérsékleten 166 órán keresztül kevertettük. A keveréket szűrtük, és a sókat kloroformmal mostuk.

15 Az oldószer rotációs vákuumbepárló segítségével eltávolítottuk, és a maradékot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. Ily módon a 12a. számú vegyületet 290 mg (93%) mennyiségben nyertük. A vékonyréteg-kromatogram egyetlen kék foltot mutatott (szilikagél; eluens: 25 térfogat% metanol és 75 térfogat% kloroform, néhány csepp vizes ammónium-hidroxid-oldattal).

20 Olvadáspont: 105 °C (meglágyul); 112–115 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ (ppm): 11,15 (m, 1H), 11,05 (m, 1H), 9,45 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 8,0 (d, 1H), 7,55 (széles s, 2H), 3,55 (széles m, 4H), 4,65 (t, 4H), 3,75 (t, 4H), 1,75 (t, 4H).

25

Elementáranalízis $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$ összegképletre (%):

számított: C 64,57; H 6,56; N 19,81;

talált: C 65,00; H 6,50; N 19,78.

30

2) Maleátsó: A 12a. számú vegyület (100 mg; 0,28 mmol) metanollal (2 ml) és etil-acetáttal (2 ml) készült oldatához maleinsav (110 mg; 0,86 mmol) metanollal készült oldatát adtuk. További etil-acetát hozzáadására kék precipitátum vált ki, amelyet kiszűrtünk és vákuum alatt szárítottunk. A terméket 120 mg (79%) mennyiségben nyertük.

35

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ (ppm): 11,10 (t, 1H), 11,00 (t, 1H), 9,45 (s, 1H), 8,95 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,75 (széles, 4H), 7,60 (s, 2H), 6,0 (s, 4H), 3,60 (m, 4H), 2,95 (t, 4H), 1,95 (m, 4H).

40

Elementáranalízis $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_6$ összegképletre (%):

számított: C 58,84; H 5,80; N 14,92;

talált: C 58,75; H 5,70; N 14,85.

45 21. példa

6,9-Bisz{[4-(amino)-butil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (12b)

1) Szabad amin: a 9. számú vegyület (319 mg; 1,3 mmol) kloroformmal (6 ml) készült oldatához 1,4-diamino-bután (960 mg; 10,9 mmol) kloroformmal (6 ml) készült oldatát adtuk. A bíborszínű reakciókeveréket szobahőmérsékleten 217 órán (9 napon) keresztül kevertettük. A kicsapódott sókat szűréssel eltávolítottuk, és a szűrletet lassú nitrogéngázáram alatt bepároltuk. A 12b. számú szabad amin 400 mg (80%) mennyiségben nyertük. Vékonyréteg-kromatográfia (szilikagél; eluens: 25 térfogat% metanol és 75 térfogat% kloroform, néhány csepp vizes ammónium-hidroxid-oldattal).

60

Olvadáspont: 80 °C (meglágyul); 90–92 °C.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 11,15 (m, 1H), 11,05 (m, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 8,0 (d, 1H), 7,5 (széles s, 2H), 3,45 (széles m, 4H), 2,60 (m, 4H), 1,70 (m, 4H), 1,45 (m, 4H).

Elementáranalízis $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_2$ összegképletre (%):

számított: C 66,12; H 7,13; N 18,36;

talált: C 64,26; H 6,95; N 17,42.

2) *Maleátsó*: A 12b. számú vegyület (124 mg; 0,40 mmol) metanollal (6 ml) és etil-acetáttal (2 ml) készült oldatához maleinsav (116 mg; 1 mmol) etil-acetáttal (4 ml) készült oldatát adtuk. Kék színű olaj vált ki, és a keveréket egy éjszakára hűtőszekrénybe helyeztük. Az oldószerket dekantálással eltávolítottuk, majd a visszamaradt szilárd anyagot etil-acetáttal nagyon alaposan átmostuk. Így 125 mg (63%) mennyiségben egy nagyon higroszkópos, szilárd anyaghoz jutottunk.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 11,20 (m, 1H), 11,10 (m, 1H), 9,45 (s, 1H), 8,95 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,70 (széles s, 4H), 6,00 (s, 4H), 3,55 (m, 4H), 2,85 (m, 4H), 1,70 (m, 8H).

Elementáranalízis $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_{10}$ összegképletre (%):

számított: C 56,76; H 5,75; N 11,41;

talált: C 53,65; H 6,10; N 10,05.

22. példa

6,9-Bisz{[3-(dimetil-amino)-propil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (12c)

A 9. számú vegyület (100 mg; 0,41 mmol) piridinnel (2 ml) készült oldatához 3-dimetil-amino-propilamin (700 mg; 6,9 mmol) piridinnel (2 ml) készült oldatát adtuk. A reakciókeveréket szobahőmérsékleten 120 órán keresztül kevertettük. A diamin feleslegét és a piridint lassú nitrogéngázáram alatt eltávolítottuk, majd a maradékot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. A maradékot hideg vízhez adtuk, és kloroformmal (4×20 ml) extraháltuk. Az extraktumot nátrium-szulfát felett szárítottuk, és rotációs vákuumbepárlón betöményítettük. A kék színű, szilárd anyagot oszlopkromatográfiás úton, szilikagélen tisztítottuk. A kezdeti eluens 10 térfogat% metanol/90 térfogat% kloroform volt, majd az elúciót 25 térfogat% metanol/75 térfogat% kloroform összetételű eleggyel folytattuk. A termék lehajtásához a 25 térfogat% metanol/75 térfogat% kloroform eluenshez kevés vizes ammónium-hidroxid-oldatot adtunk. Az utóbbi oldószerleggyel nyert frakciókat bepárolva 92 mg (55%) mennyiségben kaptuk a kívánt, 12c. számú vegyületet.

Olvadáspont: 107–109 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,00–11,20 (2m, 2H), 9,63 (s, 1H), 8,93 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,37 (s, 2H), 3,55 (q, 4H), 2,55 (m, 4H), 2,35 (s, 12H), 2,00 (m, 4H).

23. példa

6,9-Bisz{[2-(etil-amin)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10n)

A 9. számú vegyület (98 mg; 0,40 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatához *N*-etil-etilén-diamin (400 mg; 4,5 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatát adtuk. A reakciókeveréket szobahőmérsékleten 66 órán ke-

resztül kevertettük. A diamin feleslegét és a piridint lassú nitrogéngázáram alatt eltávolítottuk, majd a maradékot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. Kloroformot adtunk hozzá, majd a kloroformos oldatot két alkalommal hideg vízzel mostuk. A kloroformos extraktumot magnézium-szulfát felett szárítottuk, és az oldószert rotációs vákuumbepárló segítségével eltávolítottuk. A kapott kék színű, szilárd anyagot oszlopkromatográfiás úton, szilikagélen tisztítottuk. A kezdeti eluens 5 térfogat% metanol/95 térfogat% kloroform összetételű volt. A metanol arányát fokozatosan 5 térfogat%-ra, 10 térfogat%-ra, majd 50 térfogat%-ra növeltük a kloroformban. A kívánt termék elúciójához 50 térfogat% metanol/48 térfogat% kloroform/2 térfogat% ammónium-hidroxid-oldat összetételű oldószerlegyet alkalmaztunk. Az oldószerket eltávolítását követően 32 mg mennyiségben (21%) nyertük a 10n. számú terméket.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,10 (m, 1H), 11,00 (m, 1H), 9,6 (s, 1H), 8,9 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,3 (m, 2H), 3,55 (m, 4H), 3,0 (t, 4H), 2,8 (q, 4H), 1,15 (t, 6H).

24. példa

25 6,9-Bisz{[2-(propil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10o)

A 9. számú vegyület (98 mg; 0,40 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatához *N*-propil-etilén-diamin (403 mg; 4,0 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatát adtuk. A reakciókeveréket szobahőmérsékleten 24 órán keresztül kevertettük. A diamin feleslegét és a piridint lassú nitrogéngázáram alatt eltávolítottuk, majd a maradékot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. A maradékhoz jeges vizet adtunk, és a vizes fázist kloroformmal (5×40 ml) extraháltuk. Az extraktumot magnézium-szulfát felett szárítottuk, és rotációs vákuumbepárlón a kloroformot eltávolítottuk. A kék színű, szilárd anyagot oszlopkromatográfiás úton, szilikagélen tisztítottuk. A kezdeti eluens 5 térfogat% metanol/95 térfogat% kloroform volt, majd a metanol mennyiségét fokozatosan 10 térfogat%-ra, 20 térfogat%-ra, 30 térfogat%-ra, 40 térfogat%-ra és 50 térfogat%-ra növeltük. A kívánt vegyület elúciójához 60 térfogat% metanol/40 térfogat% kloroform összetételű, kevés ammónium-hidroxid-oldatot tartalmazó oldószerlegyet alkalmaztunk. Az eluens eltávolítását követően 50 mg (30%) mennyiségben nyertük a kívánt, 10o. számú vegyületet.

Olvadáspont: 105–106 °C.

50 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,15 (m, 1H), 11,05 (m, 1H), 9,6 (s, 1H), 8,9 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,3 (m, 2H), 3,6 (m, m, 4H), 3,0 (t, 4H), 2,75 (t, 4H), 1,6 (m, 4H, szuperponált H_2O -csúcs), 0,95 (t, 6H).

25. példa

6,9-Bisz{[2-(izopropil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion (10p)

50 A 9. számú vegyület (110 mg; 0,45 mmol) piridinnel (1 ml) készült oldatához *N*-izopropil-etilén-diamin (450 mg; 4,5 mmol) piridinnel (2 ml) készült oldatát ad-

tuk. Azonnali permanganátszerű színeződést kaptunk. A reakciókeveréket szobahőmérsékleten 40 órán keresztül kevertettük. A diamin feleslegét és a piridint lassú nitrogéngázáram alatt eltávolítottuk, majd a maradékot egy éjszakára vákuum alá helyeztük. A maradékhoz kloroformot (20 ml), majd azt követően jeges vizet adtunk. Azután, hogy a vizes fázis megkékült, ezt a réteget kloroformmal (4×25 ml) extraháltuk. Az egyesített extraktumokat magnézium-szulfát felett szárítottuk, és a kloroformot rotációs vákuumbepárlón eltávolítottuk. A kapott kék színű, szilárd anyagot oszlopkromatográfiás úton, szilikagélén tisztítottuk. A kezdeti eluens kloroform volt, majd metanolt adtunk hozzá, a metanol mennyiségét fokozatosan 2 térfogat%-ra, 5 térfogat%-ra, 10 térfogat%-ra, 20 térfogat%-ra, 40 térfogat%-ra és 50 térfogat%-ra növeltük a kloroformban. A kívánt vegyület elúciójához 50 térfogat% metanol/49 térfogat% kloroform/1% ammónium-hidroxid-oldat összetételű oldószerelegyet alkalmaztunk. Az eluens eltávolítását követően 56 mg (30%) mennyiségben nyertük a kívánt, 10p. számú vegyületet.

Olvadáspont: 136–137 °C.

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 11,1 (t, 1H), 11,0 (t, 1H), 9,6 (s, 1H), 8,9 (d, 1H), 8,1 (d, 1H), 7,30 (m, 2H), 3,6 (m, 4H), 3,0 (t, 4H), 2,9 (m, 2H), 1,05 (d, 6H).

26. példa

In vitro biológiai értékelés: MTT-vizsgálat humán vastagbél adenocarcinoma Lovo sejteken

Az MTT-vizsgálatot a következő szakirodalmi helyeken megadottak szerint végeztük: Mosmann, T., *J. Immunol. Methods*, (1983), 65, 55–63 és Green, L. M., *J. Immunol. Methods*, (1984), 70, 257–268.

Közvetlenül az alkalmazást megelőzően a vegyületeket és a referenciaként választott standardokat megfelelő oldószerben feloldjuk, majd ezt követően a komplett tenyésztőmédiumban további hígítást végzünk. A humán vastagbél adenocarcinoma Lovo sejteket és a doxorubicinnel szemben rezisztens alvonalat (Lovo/DX) (2,5·10⁴ sejt/ml) 96 lyukú mikrolemezre helyezjük, és 24 órán keresztül a tenyésztőmédiumban preinkubáljuk. Ez után az idő után a sejteket 144 órán keresztül kezeljük a hatóanyagokkal, majd hozzáadjuk a tiazo-lilkék-tetrazólium-bromid-oldatot (MTT-oldatot). A fel-lülúszót eltávolítjuk, és a formazánkristályok szolubi-lizálása céljából 150 µl dimetil-szulfoxidot adunk hozzá. Mikrolemez-leolvasó segítségével 570 nm hullám-hosszon leolvassuk a mikrolemezt, és a sejtnövekedés 50%-os gátlását eredményező koncentrációt (IC₅₀; µg/ml) számítással meghatározzuk.

Az eredményeket a II. táblázatban mutatjuk be.

II. táblázat

A jellegzetes, találmány szerinti vegyületek MTT-vizsgálattal meghatározott cytotoxikus aktivitása Lovo és Lovo/DX sejteken

Vegyület	Pl.	R	IC ₅₀ µg/ml ± S.D. ^{a)}		+ R.I. ^{b)}
			Lovo	Lovo/Dx	
10a	4	2-(N,N-dimetil-amino)-etil	0,045	0,085	1,9
12c	22	3-(N,N-dimetil-amino)-propil	0,15 ± 0,07	0,36 ± 0,04	2,4
10b	5	2-(N,N-dietil-amino)-etil	0,29 ± 0,05	0,69 ± 0,1	2,4
10e	8	2-(4'-morfolino)-etil	5,32 ± 1,55	2,29 ± 0,67	0,4
10d	7	2-(1'-pirrolidino)-etil	0,20 ± 0,03	0,52 ± 0,15	2,6
10i maleát	12	2-(amino)-etil·2-maleinsav	0,21 ± 0,08	6,70 ± 1,8	31,8
12a	20	3-(amino)-propil	1,64 ± 0,02	20,9 ± 0,72	12,7
Mitoxantrone			0,01 ± 0,009	0,29 ± 0,1	29,0
Ametantrone			0,33 ± 0,1	33,4 ± 13,9	101,2
Doxorubicin			0,03 ± 0,009	4,28 ± 1,8	142,7

a) MTT-vizsgálat, 144 órás hatóanyaghatás

b) R.I. = (IC₅₀ Lovo/Dx)/(IC₅₀ Lovo)

27. példa

In vitro biológiai értékelés:

L 1210 murine leukémia

Szokásos módon L 1210 murine leukémia sejteket szuszpenziós tenyészetekben tartottunk fenn (McCoy's 5A médium, amely 10% lószérumot, glutamint, penicillint és streptomycint tartalmazott), 10% szén-dioxidot és 90% levegőt tartalmazó nedvesített körülmények között, 37 °C hőmérsékleten tenyésztve.

Az *in vitro* toxicitás meghatározásához valamennyi

vegyületet dimetil-szulfoxidban oldottuk, majd az L 1210 sejtek (10⁵ sejt/cső) 1 ml-éhez adtuk az oldatokat, olyan mennyiségben, hogy végül 0,01, 0,1 és 1 µg hatóanyag/tenyészet ml koncentrációt értünk el. A hatóanyag 72 órás folyamatos hatását követően egy Coulter Counter berendezés segítségével meghatároztuk a sejtkoncentrációt. Minden egyes hatóanyag esetén a következő egyenlet segítségével számítottuk a növekedésgátlást:

%-os növekedésgátlás = 1 – (kezelt sejtek száma/csak DMSO-ban lévő sejtek száma) × 100

Az így nyert növekedésgátlási adatokat használtuk fel az IC₅₀-érték [a sejtnövekedés 50%-os gátlásához szükséges, számított hatóanyag-koncentráció (µg/ml)] kiszámításához.

Az eredményeket a III. táblázatban mutatjuk be.

III. táblázat

A jellegzetes, találmány szerinti vegyületek L1210 leukémiával szembeni cytotoxikus aktivitása, összehasonlítva az 5a. számú, ismert vegyület hatásával

Vegyület	Példa	IC ₅₀ (µg/ml)
10a	4	0,006
10f	9	0,002
10i ^(a)	12	0,05
10l ^(b)	17	0,06
5a ^(c)	–	0,155

^(a) Hidroklorid: 10i·HCl

^(b) Dimaleát: 10l·maleát

^(c) A szakirodalomból már ismert vegyület, 6,9-bisz{[2-(dimetil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion: A. P. Krapcho *et al.*, *J. Med. Chem.*, (1985), 28, 1124–1126.

IV. táblázat

A 10a. és a 10i·maleát, valamint a mitoxantrone (MITOX) P 388 murine leukémiával szembeni tumorelleses aktivitása (iv./iv., 1., 4. és 7. nap)¹⁾

Vegyület ²⁾	Dózis (mg/kg/nap)	T/C% ³⁾ (tartomány)	Tox. ⁴⁾	LTS ⁵⁾
Kontroll	–	100	0/73	0/73
10i·maleát	18 27	200,188 203(181–227)	0/16 2/32	0/16 0/32
10a	18 27 40	172,156 188,167 183,156	0/14 3/17 1/16	0/14 0/17 0/16
Mitox	2 3 4	162(154–167) 185(167–217) 118(89–133)	0/42 4/78 20/24	0/42 0/78 0/24

¹⁾ CDF1 egereket 10⁶ sejt/egér mennyiséggel iv. transzplantáltunk. A kezelést a tumortranszplantációt (0. nap) követő 1., 4. és 7. napon, intravénásan hajtottuk végre;

²⁾ a 10i·maleátot és a MITOX-ot steril vízben oldottuk fel; a 10a. számú vegyületet 1%-os citromsavban oldottuk fel;

³⁾ (a kezelt egerek átlagos túlélési ideje)/(a kontrollállatok átlagos túlélési ideje) × 100;

⁴⁾ a toxikus elhullások száma/az egerek teljes száma;

⁵⁾ hosszú idejű túlélők: a kísérlet végén (60 nap) tumormentes állatok száma/az egerek teljes száma.

29. példa

In vivo biológiai vizsgálatok: P 388 murine leukémia (ip./ip., 1., 5. és 9. nap)

P 388 murine leukémia sejteket *in vivo* tenyésztetünk oly módon, hogy injekciónként 10⁶ sejtet szeriálisan intraperitonealis úton (ip.) DBA2 egerekbe injektáltunk. A teszt céljaira CDF1 egereket intravénásan (iv.) 10⁶ P388 sejtrel inokuláltunk, és a kezelést 24 órával később kezdtük meg. A hatóanyag intraperitonealis dózisait az 1., 5. és 9. napon adtuk be. Az egereken

28. példa

In vivo biológiai vizsgálatok: P388 murine leukémia (iv./iv., 1., 4. és 7. nap)

P388 murine leukémia sejteket *in vivo* tenyésztetünk oly módon, hogy injekciónként 10⁶ sejtet szeriálisan intraperitonealis úton (ip.) DBA2 egerekbe injektáltunk. A teszt céljaira CDF1 egereket intravénásan (iv.) 10⁶ P 388 sejtrel inokuláltunk, és a kezelést 24 órával később kezdtük meg. A hatóanyag intravénás dózisait az 1., 4. és 7. napon adtuk be. Az egereken naponta megfigyeltük a toxicitási és túlélési jeleket. A vizsgálatokat 60 napon keresztül végeztük, s feljegyeztük valamennyi elhullott vagy leölt állat esetében a halál beálltának időpontját. A %-os T/C-értékeket minden egyes csoport esetén az átlagos életbenmaradási idő (mean survival time; MST) alapján a következő összefüggés figyelembevételével határoztuk meg:

$$T/C\% = [(kezelt\ MST) / (kontroll\ MST)] \times 100$$

20

A 4. példa szerinti (10a) 6,9-bisz{[2-(dimetil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion és a 12. példa szerinti (10i maleát) 6,9-bisz{[2-(amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion dimaleát antileukémias hatásának eredményeit – összehasonlítva a mitoxantrone hatásával – a IV. táblázatban mutatjuk be.

25

naponta megfigyeltük a toxicitási és túlélési jeleket. A vizsgálatokat 60 napon keresztül végeztük, s feljegyeztük valamennyi elhullott vagy leölt állat esetében a halál beálltának időpontját. A %-os T/C-értékeket minden egyes csoport esetén az átlagos életbenmaradási idő (mean survival time; MST) alapján a következő összefüggés figyelembevételével határoztuk meg:

$$T/C\% = [(kezelt\ MST) / (kontroll\ MST)] \times 100$$

60

A 12. példa szerinti (10i. számú) 6,9-bisz{[2-(amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion dihidrokloridszármazékának (10i·HCl) és dimaleát-

származékának (10i·maleát) antileukémiás hatását – összehasonlítva a mitoxantrone hatásával – az V. táblázatban mutatjuk be.

V. táblázat

A 10i·HCl és a 10i·maleát, valamint a mitoxantrone (MITOX) asciticus P 388 murine leukémiával szembeni tumorelles aktivitása (ip./ip., 1., 5. és 9. nap)¹⁾

Vegyület ²⁾	Dózis (mg/kg/nap)	T/C% ³⁾ (tartomány)	Tox. ⁴⁾	LTS ⁵⁾ (60. nap)
10i·HCl	3,1	144	0/8	0/8
	6,25	196	1/8	0/8
	12,5	239	0/8	0/8
	25	367	0/8	2/8
10i·maleát	25	185	0/8	0/8
	37,5	260	1/8	1/8
Mitox	1,5	186(160–225)	6/26	1/26
	3	173(142–205)	21/42	1/42

¹⁾ CDF1 egereket 10⁶ sejt/egér mennyiséggel intraperitoneálisan (ip.) beinjekcióztunk. A kezelést a tumortranszplantációt (0. nap) követő 1., 5. és 9. napon, intraperitoneálisan hajtottuk végre;

²⁾ a 10i·HCl-et és a 10i·maleátot steril vízben oldottuk fel; a MITOX-ot szalinban oldottuk fel;

³⁾ (a kezelt egerek átlagos túlélési ideje)/(a kontrollállatok átlagos túlélési ideje) × 100;

⁴⁾ a toxikus elhullások száma/az egerek teljes száma;

⁵⁾ hosszú idejű túlélők: a kísérlet végén (60 nap) tumormentes állatok száma/az egerek teljes száma.

30. példa

In vivo biológiai vizsgálatok: L1210 murine leukémia (ip./ip., 1., 5. és 9. nap)

a) L 1210 murine leukémia sejteket *in vivo* tenyésztünk oly módon, hogy injekciónként 10⁶ sejtet hetenként intraperitoneálisan (ip.) BDF₁ egerekbe injektáltunk. A teszt céljaira az egereket intraperitoneálisan (ip.) 10⁶ L 1210 sejttel inokuláltuk, és a kezelést 24 órával később kezdtük meg. A hatóanyag kívánt dózisait az 1., 5. és 9. napon adtuk be. Az egereken naponta megfigyeltük a toxicitási és túlélési jeleket. A vizsgálatokat 60 napon keresztül végeztük, s feljegyeztük valamennyi elhullott vagy leölt állat esetében a halál beálltának időpontját. A %-os T/C-értékeket minden egyes csoport esetén az átlagos életbenmaradási idő (mean survival time; MST) alapján a következő összefüggés figyelembevételével határoztuk meg:

$$T/C\% = [(kezelt\ MST) / (kontroll\ MST)] \times 100$$

Az eredményeket a következő VI. táblázatban tüntettük fel.

VI. táblázat

A 10a., 10i·HCl és a 10l. számú vegyület L 1210 leukémiával szembeni tumorelles aktivitása, összehasonlítva az 5a. számú, ismert vegyület hatásával (ip./ip., 1., 5. és 9. nap)

Vegyület	Példa	Dózis ^{a)}	T/C%	LTS ^{b)}
10a ^{b)}	4	50	151	–
10i·HCl ^{c)}	12	25	265	5/6
		12,5	265	4/6
10l·maleát ^{d)}	17	25	415	1/6
		12,5	313	2/6
5a ^{e)} , (b)	–	50	129	–

^{a)} mg/kg, 1., 5. és 9. nap

^{b)} A 10a. és az 5a. számú vegyületet dimetil-szulfoxid (<35%) és víz elegyében oldottuk fel.

b) L 1210 murine leukémia sejteket *in vivo* tenyésztünk oly módon, hogy injekciónként 10⁵ sejtet hetenként intraperitoneálisan (ip.) DBA2 egerekbe injektáltunk. A teszt céljaira CDF1 egereket intraperitoneálisan (ip.) 10⁵ L 1210 sejttel inokuláltunk, és a kezelést 24 órával később kezdtük meg. A hatóanyag kívánt dózisait az 1., 5. és 9. napon adtuk be. Az egereken naponta megfigyeltük a toxicitási és túlélési jeleket. A vizsgálatokat 60 napon keresztül végeztük, s feljegyeztük valamennyi elhullott vagy leölt állat esetében a halál beálltának időpontját. A %-os T/C-értékeket minden egyes csoport esetén az átlagos életbenmaradási idő (mean survival time; MST) alapján a következő összefüggés figyelembevételével határoztuk meg:

$$T/C\% = [(kezelt\ MST) / (kontroll\ MST)] \times 100$$

Az eredményeket a következő VII. táblázatban tüntettük fel.

(c) A hidrokloridsót vízben oldottuk fel.

(d) A dimaleátsót vízben oldottuk fel.

(e) A szakirodalomból már ismert vegyület, 6,9-bisz{[2-(dimetil-amino)-etil]-amino}-benzo[g]kinolin-5,10-dion: A. P. Krapcho et al., J. Med. Chem., (1985), 28, 1124–1126.

(f) hosszú idejű túlélők: a kísérlet végén (60 nap) tumormentes állatok száma/az egerek teljes száma.

VII. táblázat

A 10i·HCl és a mitoxantrone (MITOX) asciticus L 1210 murine leukémiával szembeni tumorelles aktivitása (ip./ip., 1., 5. és 9. nap)¹⁾

Vegy. ²⁾	Dózis (mg/kg/nap)	T/C% ³⁾ (tartomány)	Tox. ⁴⁾	LTS ⁵⁾ (60. nap)
10i·HCl	6,25	156	0/8	0/8
	12,5	175	0/8	0/8
	25	250*	1/7	4/7
MITOX	1,5	188	0/8	1/8
	3	194	1/8	1/8

1) CDF1 egereket 10⁵ sejt/egér mennyiséggel intraperitonealisán (ip.) beinjekcióztunk. A kezelést a tumortranszplantációt (0. nap) követő 1., 5. és 9. napon, intraperitonealisán hajtottuk végre;

2) a 10i·HCl-ot steril vízben oldottuk fel; a MITOX-ot szalinban oldottuk fel;

3) (a kezelt egerek átlagos túlélési ideje)/(a kontrollállatok átlagos túlélési ideje) × 100;

4) a toxikus elhullások száma/az egerek teljes száma;

5) hosszú idejű túlélők: a kísérlet végén (60 nap) tumormentes állatok száma/az egerek teljes száma;

* Ezt az értéket az elhullott egerek száma alapján számítottuk.

31. példa

In vivo biológiai vizsgálatok: murine Lewis-tüdőcarcinoma és humán MX-1 emlőcarcinoma elleni tumorelles aktivitás

a) Murine Lewis-tüdőcarcinoma

C57b1/6 nőstény egereket intramuscularisan (im.) 10⁵ sejttel transzplantáltunk. A kezelést intravénásan (iv.) végeztük a tumortranszplantációt (0. nap) követő 1., 7. és 15. napon. Valamennyi kezelt csoport esetén az átlagos tumortömeget Geran módszere [Geran, R. I. et al., *Cancer Chemother. Rep.*, (1972), 3, 51–61] szerint számítottuk, és a %-os TWI (tumor weight inhibition; tumortömeggátlás) értékét a hatóanyaggal végzett utolsó kezelést követő 7. napon a következő egyenlet alkalmazásával számítottuk ki:

$$\text{TWI}\% = 100 - [(a \text{ kezelt egerek átlagos tumortömege}) / (a \text{ kontrollállatok átlagos tumortömege})] \times 100$$

A jellegzetes, találmány szerinti (a 12. példában előállított) 6,9-bisz{[2-(amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion dimaleát (10i maleát) hatásának eredményeit a VIII. Táblázatban mutatjuk be.

b) Humán MX-1 emlőcarcinoma

CD1 nu/nu nőstény egereket szubkután (sc.) körülbelül 1 mm × 1 mm × 1 mm méretű tumorfragmentumokkal (tumordarabkákkal) transzplantáltunk. Az intravénás (iv.) kezelést akkor kezdtük, amikor a tumortömeg elérte a 150 mg-os átlagértéket, és három héten keresztül heti egy alkalommal végeztük. Valamennyi egyedi tumor esetén a tömegváltozást (a relatív tumortömeget) a kezelés kezdetekor mért értékre (V₀) vonatkoztatott mérési naponként nyert érték (V_t) segítségével, a V_t/V₀ hányados formájában határoztuk meg. A %-os TWI-értéket a hatóanyaggal végzett utolsó kezelés utáni hetedik napon a következő egyenlet alkalmazásával számítottuk ki:

$$\text{TWI}\% = 100 - [(a \text{ kezelt egerek átlagos relatív tumortömege}) / (a \text{ kontrollállatok átlagos relatív tumortömege})] \times 100$$

A jellegzetes, találmány szerinti (a 12. példában előállított) 6,9-bisz{[2-(amino)-etil]-amino}-benzo[g]izokinolin-5,10-dion dimaleát (10i maleát) hatásának eredményeit a VIII. táblázatban mutatjuk be.

VIII. táblázat

A 10i·maleát aktivitása szolid tumorokon

Tumormodell és kezelési program	Vegyület	Optimális dózis (mg/kg/nap)	T/C% ^{a)}	TWI% ^{b)}	Tox. ^{c)}
Lewis tüdő im./iv. 1., 8. és 15. nap murine tüdőcarcinoma	10i·maleát	40	158	80	0/10
		60	182	95	1/10
MX-1 sc./iv. 3 alkalommal 7 naponként humán emlőcarcinoma	10i·maleát	17	–	65	0/7
		26,6	–	58	0/7
		40	–	64	1/5

a) (a kezelt egerek átlagos túlélési ideje)/(a kontrollállatok átlagos túlélési ideje) × 100;

b) %-os tumortömeggátlás;

c) a toxikus elhullások száma/az egerek teljes száma.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (I) általános képletű vegyületek – ebben a képletben

R jelentése a molekula mindkét helyén azonosan 2–7 szénatomos alkilcsoport, amely –OR₁- vagy –NR₂R₃-csoporttal van helyettesítve, és ezekben

R₁ jelentése hidrogénatom, vagy –S(O₂)–R₅ általános képletű csoport, vagy hidroxil-(1–7 szénatomos alkil)-csoport,

R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, vagy adott esetben –OH-csoporttal vagy –OR₅ általános képletű csoporttal helyettesített 1–7 szénatomos alkilcsoport, –COR₅- vagy –COOR₅-csoport, vagy

R₂ és R₃ a szomszédos nitrogénatommal együtt egy pirrolidino-, morfolino- vagy aziridinocsoportot képez,

R₅ jelentése 1–7 szénatomos alkilcsoport – és gyógyászati szempontból elfogadható savaddíciós sóik előállítására, *azzal jellemezve*, hogy

a) piridin-3,4-dikarbonsavanhidridet 1,4-difluor-benzollal reagáltatunk, és az így kapott (8a) és (8b) képletű ketosavak elegyét felemelt hőmérsékleten füstölő kénsavval ciklizáljuk, és a kapott (II) képletű difluoridot egy (III) általános képletű aminnal – ahol R jelentése egyezik a fent megadottal – reagáltatjuk; és kívánt esetben a kapott olyan (I) általános képletű vegyületről, ahol –NR₂R₃ jelentésében R₂ jelentése –COOR₅-csoport és R₃ jelentése hidrogénatom vagy 1–7 szénatomos alkilcsoport – olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, ahol a képletben R₂ jelentése hidrogénatom – a –COOR₅-csoportot eltávolítjuk.

b) az R helyén –(CH₂)_p–NH–(CH₂)_q–OH-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek – ahol p és q értéke egymástól függetlenül 2, 3 vagy 4 – előállítására egy, az R helyén –(CH₂)_p–OS(O₂)–R₅-csoportot tartalmazó – ahol R₅ és p jelentése egyezik a fent megadottal – (I) általános képletű vegyületet egy (IV) általános képletű vegyülettel – ahol q jelentése egyezik a fent megadottal, E jelentése a hidroxilcsoport átmeneti megvédésére alkalmas csoport, előnyösen trialkil-szilil-, dialkil-aril-szilil-, formil- vagy acilcsoport – reagáltatunk, és az E védőcsoportot eltávolítjuk, vagy

c) az R helyén –(CH₂)_p–NR₃COR₅-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek – ahol R₃, R₅ és p jelentése egyezik a fentebb megadottal – előállítására egy R helyén –(CH₂)_p–NHR₃-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet – ahol p és R₃ jelentése a fentivel egyező – a kívánt –COR₅ acilcsoport bevitelére alkalmas reakcióképes savszármazékkal, előnyösen sav-kloriddal vagy savan-hidriddel acilezünk, vagy

d) az R helyén –(CH₂)_p–OS(O₂)–R₅-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek – ahol p és R₅ jelentése egyezik a fentebb megadottal –

előállítására egy R helyén –(CH₂)_pOH-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet egy, az –S(O₂)–R szulfonilcsoport – ahol R₅ a fent megadott jelentésű – bevitelére alkalmas szulfonilezőszerrel, előnyösen szulfonil-kloriddal reagáltatunk, vagy

e) az R helyén –(CH₂)_p–NH–(CH₂)_q–OR₅-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek – ahol R₅, p és q jelentése egyezik a fentebb megadottal – előállítására egy R helyén –(CH₂)_p–OS(O₂)–R₅-csoportot – ahol R₅ a fenti jelentésű – tartalmazó (I) általános képletű vegyületet egy R₅–O–(CH₂)_q–NH₂ általános képletű aminnal – ahol R₅ és q a fenti jelentésűek – reagáltatunk,

15 és kívánt esetben

(i) a fenti módon kapott (I) általános képletű vegyületet ennek gyógyászati szempontból elfogadható savaddíciós sójává alakítjuk át.

2. Az 1. igénypont szerinti a) eljárás az R helyén –(CH₂)_p–N(R_{3a})COOR₅ vagy –(CH₂)_p–NHR_{3a} általános képletű csoportot – ahol R_{3a} jelentése hidrogénatom vagy 1–4 szénatomos alkilcsoport – tartalmazó (I) általános képletű vegyületek előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a (II) képletű 6,9-difluor-benzo[g]-izokinolin-5,10-diont egy NH₂–(CH₂)_p–N(R_{3a})COOR₅ általános képletű helyettesített diaminnal reagáltatjuk, és kívánt esetben a –COOR₅-csoportot eltávolítjuk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás az R helyén –CH₂–CH₂–NH₂-csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyület, vagyis 6,9-bisz[(2-amino-etil)-amino]-benzo[g]izokinolin-5,10-dion és maleátsója előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a (II) általános képletű 6,9-difluor-benzo[g]izokinolin-5,10-diont 1,2-diamino-etánnal reagáltatjuk, és kívánt esetben a kapott szabad bázist maleinsavval való reagáltatás útján maleátsóvá alakítjuk.

4. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy valamely, az 1. igénypont szerint előállított (I) általános képletű vegyületet – ebben a képletben

R jelentése a molekula mindkét helyén azonosan 2–7 szénatomos alkilcsoport, amely –OR₁- vagy –NR₂R₃-csoporttal van helyettesítve, és ezekben

R₁ jelentése hidrogénatom, vagy –S(O₂)–R₅ általános képletű csoport, vagy hidroxil-(1–7 szénatomos alkil)-csoport,

R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, vagy adott esetben –OH-csoporttal vagy –OR₅ általános képletű csoporttal helyettesített 1–7 szénatomos alkilcsoport, –COR₅- vagy –COOR₅-csoport, vagy

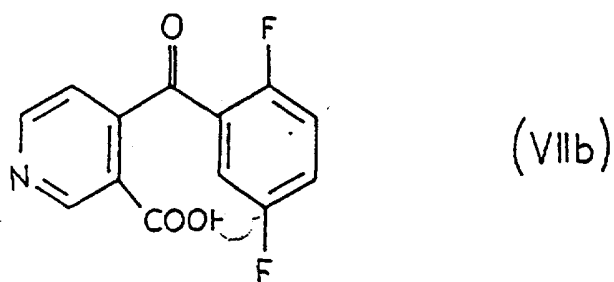
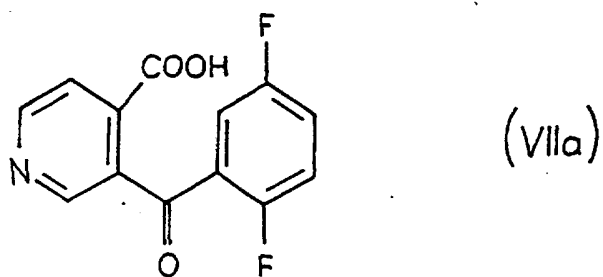
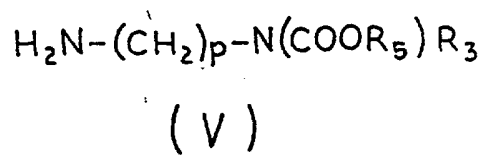
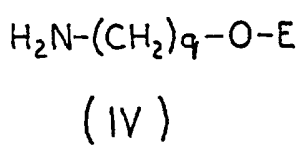
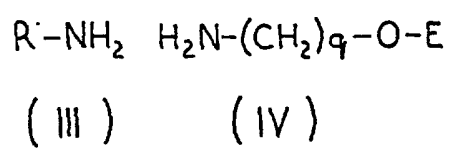
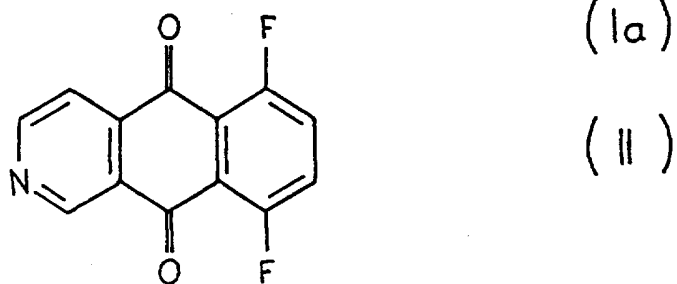
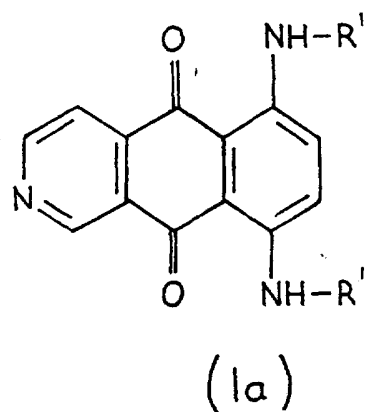
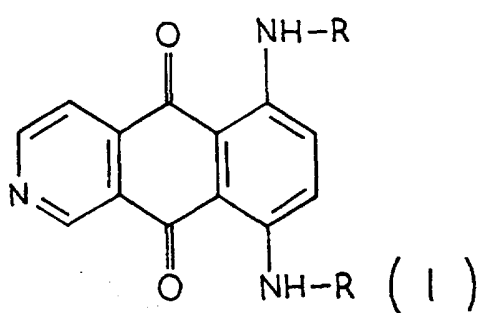
R₂ és R₃ a szomszédos nitrogénatommal együtt egy pirrolidino-, morfolino- vagy aziridinocsoportot képez,

R₅ jelentése 1–7 szénatomos alkilcsoport – vagy annak gyógyászati szempontból elfogadható savaddíciós sóját gyógyászati szempontból elfogadható vívőanyaggal és/vagy más gyógyszerészeti segéd-

anyaggal összekeverve gyógyászati készítménnyé alakítjuk.

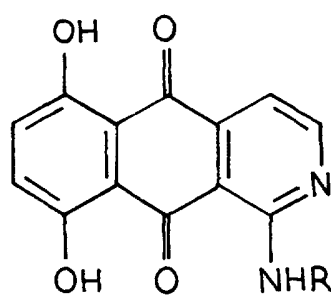
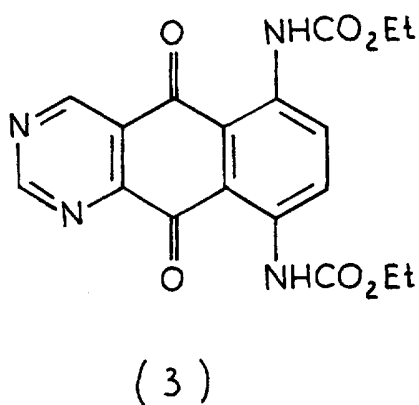
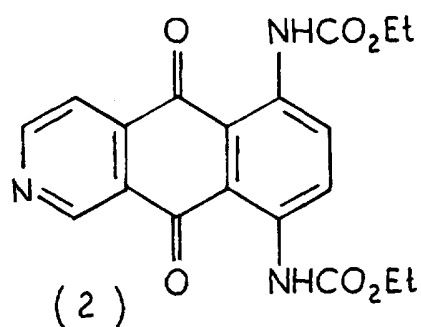
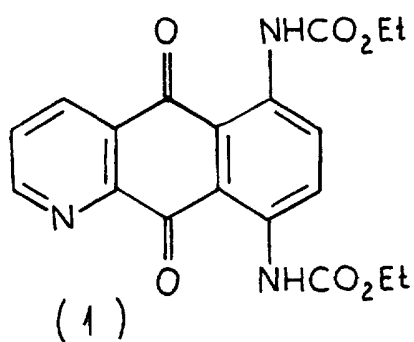
5. A 4. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként a szűkebb körű 2. vagy 3. igénypont bármelyike szerint előállított (I) általános képletű vegyületek valamelyikét alkalmazzuk. 5

6. A 4. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy (I) általános képletű hatóanyagként 6,9-bisz[(2-amino-etil)-amino]-benzo[g]izokinolin-5,10-diont alkalmazunk.



1. ábra

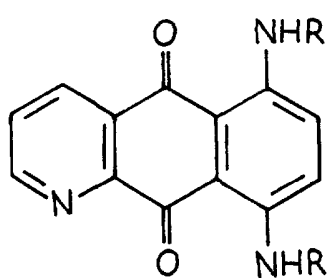
Ismert vegyületek



(4a) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$

(4b) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$

(4c) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

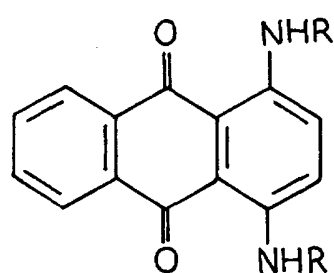


(5a) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$

(5b) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$

(5c) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$

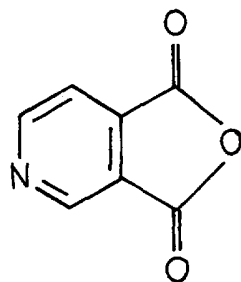
(5d) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOCH}_3$



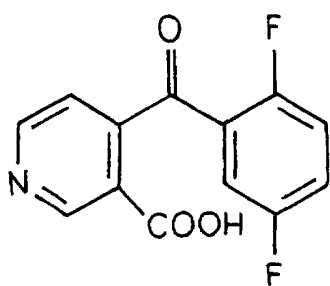
(6a) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$

(6b) $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2$

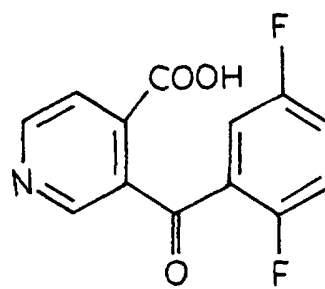
2. ábra



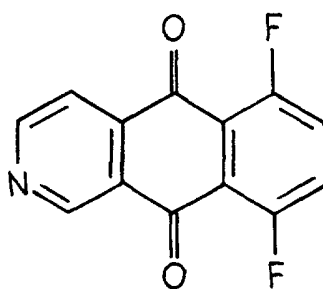
(7)



(8a)

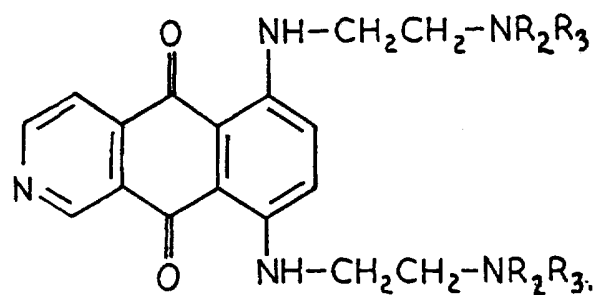


(8b)



(9)

3. ábra



(10a) $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$

b, $R_2 = R_3 = \text{CH}_2\text{CH}_3$

c, $R_2 = R_3 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$

d, $R_2 = R_3 = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$

e, $R_2 = R_3 = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2-$

f, $R_2 = R_3 = -\text{CH}_2\text{CH}_2-$

g, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CO}_2 \text{tBu}$

h, $R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{CO}_2 \text{tBu}$

i, $R_2 = R_3 = \text{H}$

j, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{COCH}_3$

k, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_3$

l, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

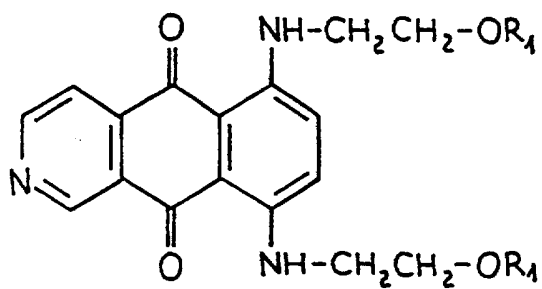
m, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$

n, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_2\text{CH}_3$

o, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$

p, $R_2 = \text{H}, R_3 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$

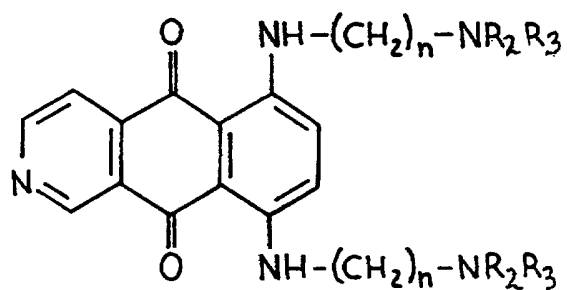
4. ábra



(11a) $R_1 = H$

(11b) $R_1 = SO_2CH_3$

(11c) $R_1 = CH_2CH_2OH$



(12a) $n = 3, R_2 = R_3 = H$

(12b) $n = 4, R_2 = R_3 = H$

(12c) $n = 3, R_2 = R_3 = CH_3$