



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

239413

(11) (B1)

(22) Přihlášeno 27 01 84
(21) (PV 625-84)

(40) Zveřejněno 13 06 85

(45) Vydáno 16 04 87

(51) Int. Cl.⁴

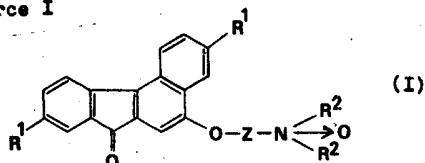
C 07 C 93/06
(C 07 C 93/06,
49/665)
//A 61 K 31/135

(75)
Autor vynálezu

VANČUROVÁ IVA prop. chem., PRAHA; MĚLKA MILAN MUDr. RNDr.,
HRADEC KRÁLOVÉ; KŘEPELKA JIRÍ ing. CSc., PRAHA;
NOBILIS MILAN Pharm. Dr., KOLÍN; KVASNICKOVÁ EVA RNDr. CSc.,
HRADEC KRÁLOVÉ; BENEŠ MARTIN, ZÁBŘEH na MORAVĚ;
HAIS IVO M. doc. MUDr. CSc., PRAHA; SKLÁDANÁ MARIE Pharm. dr.,
TÁBOR; KEJHOVÁ IRENA, POKORNÁ STANISLAVA; REICHOVÁ RUŽENA, PRAHA

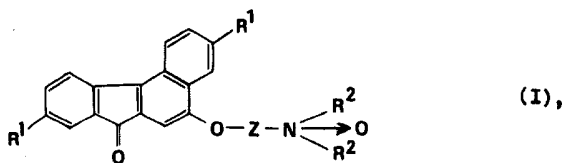
(54) N-oxidy derivátů 5-(dialkylamino)alkoxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu
a způsob jejich výroby

Antineoplastický účinné N-oxidy obecného
vzorce I



a způsob jejich výroby, spočívající
v oxidaci terciární aminoskupiny v ba-
sických etherech odvozených od 5-hydroxy-
-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu, působením
kyseliny peroctové nebo 3-chlorperbenzové
v inertním prostředí chloroformu.

Vynález se týká N-oxidů 5-(dialkylamino)alkoxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu obecného vzorce I



ve kterém R^1 značí atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu, R^2 značí methylovou nebo ethylovou skupinu a Z značí, uhlíkatý řetězec se dvěma nebo třemi methylenovými skupinami nebo neopentylové seskupení vzorce II,



jakož i způsob výroby uvedených látek.

Látky obecného vzorce I, o výše uvedeném významu R^1 , R^2 a Z, jsou deriváty basických etherů odvozených od 5-hydroxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu, které vykazují významný protinádorový a antileukemický účinek u zvířat s experimentálními transplantovatelnými nádory. (Bližší podrobnosti jsou uvedeny v čs. auterském osvědčení č. 212 669). Ze zmíněné skupiny látek byl 5-/2-(N,N-dimethyl)aminoethoxy/-7-oxo-benzo/c/fluorenhydrochlorid, pracovního označení benfluron (látko VÚFB-13 468), vybrán pro preklinický vývoj a nyní se nachází ve fázi klinického testování. Ze struktury benfluronu a jeho analogů lze předpokládat řadu biotransformačních přeměn, z kterých mezi nejvýznamnější patří N-oxidace. Přítomnost N-oxidu v molekule obecně mění charakter původní látky z hlediska lipofilních vlastností a vnáší do molekuly novou efektorovou funkci, a mění i pravděpodobný mechanismus účinku látky původní. Navíc N-oxidy jsou první produkty biooxidační transformace původní látky in vitro enzymy mikrosomální frakce jater pokusných zvířat (bulletin čs. spol. biochemické při ČSAV ročník 11, 1983, č. 3, abst. 5-37, Nobilis a spol.).

Látky obecného vzorce I, o výše uvedeném významu R^1 , R^2 a Z, mají užitečnou protinádorovou aktivitu a mohou být použity samotné nebo v kombinaci s jinými antineoplastiky jako aktivní složka léčivých přípravků pro léčení vhodných biologických objektů nesoucích nádor, zejména savčího původu.

Léčením se rozumí inhibice charakteristických příznaků onemocnění vhodného biologického objektu nesoucího nádor, například nádorového růstu, zkrácení doby života biologického objektu, zvýšení počtu nebo růstu nádorových buněk a podobně.

Růst nádoru může být pozorován klinicky nebo v pokusech *in vivo*, tj. na experimentálních zvířatech, nebo *in vitro*, například na tkáňových kulturách připravených z nádorů. Nádorový růst může být stanoven například vážením nádorové hmoty nebo, efektivněji, měřením radioaktivity po inkorporaci určitých látek přírodního původu, jako jsou aminokyseliny, adenin, thymidin, a podobně, značené radioaktivními atomy, jako například ^{14}C , ^3H atd.

Tak například N-oxid 5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu byl podán ve formě vodného roztoku orálně 120 myším H s Ehrlichovým nádorem a nádorem HK a 60 myším DBA₂ s leukemií L₁₂₁₀ v asitické formě. Byla sledována hmotnost nádoru a deba přežití zvířat proti kontrole.

Výsledky shrnuje následující tabulka I:

Nádr	Dávka (mg/kg/den)	Hmotnost nádoru (v % kontroly)	Rel. přežití (v % kontroly)
STE	2x 300 p.e.	<u>52</u> +	<u>138</u> + ++
	2x 150 p.e.	<u>64</u> +	127 ++
HK	8x 50 p.e.	<u>79</u> +	111
	8x 50 s.c.	<u>82</u> +	108
	8x 25 s.c.	<u>75</u> +	99
L ₁₂₁₀	4x 100 p.e.	-	84
	4x 50 p.e.	-	104
	4x 50 s.c.	-	<u>123</u> +
	4x 25 s.c.	-	98
	2x 150 p.e.	-	<u>247</u> +
	2x 75 p.e.	-	<u>116</u> +

+ pedtržené hodnoty se statisticky významně liší od kontroly (p 0,05)

++ přežívající zvířata utracena

Z výsledků vyplývá, že látka statisticky významně (p 0,05) snižuje průměrnou hmotnost nádorů a statisticky významně prodlužuje dobu života zvířat s experimentálními nádory.

V pokusu in vitro s buňkami Yeshideva nádoru byla sledována počáteční rychlost inkorporace 5-jodo-2'-deoxy 6-³H uridinu a směsi L- U-¹⁴C aminokyselin a její ovlivnění různými koncentracemi zkoušených látek. Ze závislosti počáteční rychlosti na koncentraci byla zjišťována koncentrace snižující rychlost inkorporace na polovinu rychlosti neovlivněných buněk (IC₅₀)

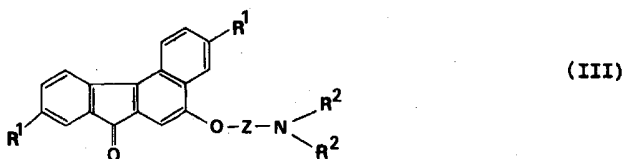
Výsledky shrnuje tabulka II:

Sloučenina č. VÚFB	Rel. mol. hmotnost	IC ₅₀ (mmol.l ⁻¹)	
		5-I-de-U	směs aminokyselin
14 283	333,37	66	100
15 741	375,4	24	41
15 742	389,5	15	39
15 753	391,5	39	100

- 14 283 - N-oxid 5-/2-(N,N-dimethylamine)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu
 15 741 - N-oxid 5-/3-(N,N-dimethylamine)-2,2-dimethylpropoxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu
 15 742 - N-oxid 3,9-dimethyl-5-/2-(N,N-diethylamine)ethoxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu
 15 752 - N-oxid 3,9-diethyl-5-/2-(N,N-dimethylamine)ethoxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu
 15 753 - N-oxid 1-diethylamine-3-/5-(7-oxo-7H-benzo/c/fluorenyloxy)-2-propanolu.

Analogický pokus s látkou 15 752, rel. mol. hm. 389,5, v kombinaci s ekvimolární koncentrací benfluoru, tj. 5-/2-(N,N-dimethylamine)ethoxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu, vedl k obdobným výsledkům, který nasvědčuje zvýšení účinnosti použití kombinace. Předchozí údaje jasně dokazují, že popsané sloučeniny jsou účinnými inhibitory biosyntézy DNA a proteosyntézy, což vysvětluje jejich protinádorový účinek in vivo.

Látky obecného vzorce I, ve kterém R^1 , R^2 a Z mají výše uvedený význam, lze připravit běžnými postupy pro přípravu N-oxidů z terciárních aminolátek působením organických perkyselin v inertním prostředí. Volba podmínek oxidace závisí na charakteru a vlastnostech výchozí terciární aminolátky. Podle vynálezu se N-oxidy obecného vzorce I, ve kterém R^1 , R^2 a Z mají výše uvedený význam, připravují z látek obecného vzorce III,



ve kterém R^1 , R^2 a Z mají stejný význam jako v obecném vzorci I působením organických perkyselin, použitých v množství 1 až 2 molekulivalentů, v inertním prostředí, výhodně v chloroformu, v rozmezí teplot od 0 do 40 °C.

Z organických perkyselin je možné použít všech běžně dostupných alifatických perkyselin nebo aromatických perkyselin, přičemž z hlediska ekonomického je dávana přednost kyselině peroctové a z aromatických kyselin kyselině 3-chlorperbenzoové.

Jako inertní prostředí pro reakce s perkyselinami lze použít aromatických nebo chlorovaných uhlovodíků, s výhodou chloroformu.

Reakční směsi po proběhnutí oxidace se zpracovávají obvyklými způsoby pro tento typ reakcí, například se reakční směs promyje roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou a surový produkt získaný po zahuštění se přečistí krystalizací. Deriváty benzo/c/fluorenu obecného vzorce III, o výše uvedeném významu R^1 , R^2 a Z, jsou látky známé a snadno připravitelné podle Křepelky J. a spol.: Collection Czech. Chem. Commun. 47, 1 856 (1982).

Podrobnější údaje o přípravě látek vyplynou z následujících příkladů provedení, které však rozsah vynálezu nikterak neomezuji.

P ř í k l a d 1

N-oxid 5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/3-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu

K roztoku 790 mg /2,5 mmol/ 5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu v 7,5 ml chloroformu se při teplotě místnosti přidává po částech 772 mg /4,5 mmol/ 3-chlorperbenzoové kyseliny a reakční směs se míchá 8 h. Po skončení reakce se směs odpaří do sucha. Krystalizací z chloroformu se získá látka uvedená v názvu s t.t. 92 až 94 °C.

Stejným způsobem se připraví:

N-oxid 5-/3-(N,N-dimethylamino)-2,2-dimethylpropoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu s t.t. 109 až 111 °C,

N-oxid 5-/3-(N,N-dimethylamino)propoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu s t.t. 121 až 123 °C,

N-oxid 3,9-dimethyl-5-/2-(N,N-diethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu s t.t. 118 až 120 °C,

N-oxid 3,9-diethyl-5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu s t.t. 160 až 162 °C a

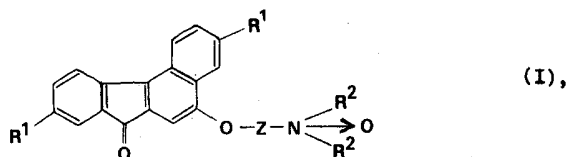
N-oxid 1-diethylamino-3-/5-(7-oxo-7H-benzo/c/fluorenyloxy)/-2-propanolu s t.t. 132 až 134 °C.

Příklad 2

K roztoku 634 mg /2 mmoly/ 5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu ve 20 ml kyseliny octové se přidá 380 mg /5 mmolů/ kyseliny peroctové a při teplotě místnosti míchá 48 h. Reakční směs se neutralizuje 10% vodným hydroxidem draselným, extrahuje chloroformem, extrakty se vysuší síranem sodným a odpaří. Krystalizací z chloroformu se získá N-oxid 5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu s t.t. 92 až 93 °C.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1- N-oxid derivátů 5-(dialkylamino)alkoxy-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu obecného vzorce I



ve kterém R^1 značí atom vodíku, methylovou nebo ethylovou skupinu, R^2 značí methylovou nebo ethylovou skupinu a Z značí uhlíkatý řetězec se dvěma nebo třemi methylenovými skupinami nebo neopentylové seskupení vzorce II



2. N-oxid 5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu.

3. N-oxid 5-/3-(N,N-dimethylamino)-2,2-dimethylpropoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu.

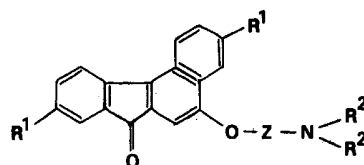
4. N-oxid 5-/3-(N,N-dimethylamino)propoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu.

5. N-oxid 3,9-dimethyl-5-/2-(N,N-diethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu.

6. N-oxid 3,9-diethyl-5-/2-(N,N-dimethylamino)ethoxy/-7-oxo-7H-benzo/c/fluorenu.

7. N-oxid 1-dimethylamino-3-/5-(7-oxo-7H-benzo/c/fluorenyloxy)/-2-propanolu.

8. Způsob výroby látek obecného vzorce I podle bodu 1, vyznačující se tím, že na látky obecného vzorce III



(III),

ve kterém R^1 , R^2 a Z mají stejný význam jako v obecném vzorci I, působí organickými perkyselinami, použitými v množství 1 až 2 mekvivalentů, v inertním prostředí, výhodně v chlореfermu, v rozmezí teplot od 0 do 40 °C.

9. Způsob podle bodu 8, vyznačený tím, že se k oxidaci použije kyseliny 3-chlorperbenzové.

10. Způsob podle bodu 8, vyznačený tím, že se k oxidaci použije kyseliny peroctové.