

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

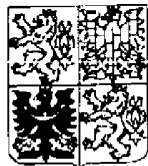
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1806-99

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **21. 11. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **25.11.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/328039**

(33) Země priority: **JP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 09. 99**
(Věstník č. 9/99)

(86) PCT číslo: **PCT/JP97/04252**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/23614**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. cl.⁶:

C 07 D 471/04
A 61 K 31/435

(71) Přihlášovatel:

NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA,
Tokyo, JP;

(72) Původce:

Masuda Akira, Yono-shi, JP;
Suwa Masato, Gunma, JP;
Suzuki Masanobu, Omiya-shi, JP;

(74) Zástupce:

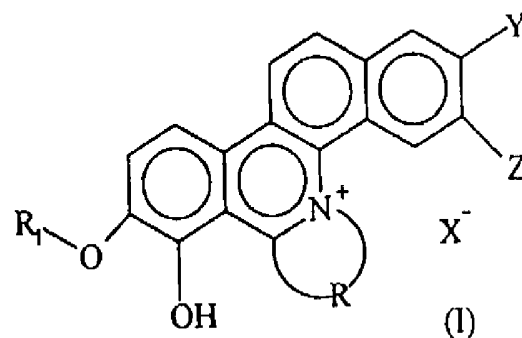
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1,
Praha 4, 14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Nové fenantridinové deriváty

(57) Anotace:

Fenantridinový derivát obecného vzorce I, kde R_1 je substituovaná nebo nesubstituovaná nižší alifatická uhlovodíková skupina; R je alifatický uhlovodíkový řetězec se 2 až 6 uhlíkovými atomy, který může být substituován substituentem vybraným ze skupiny zahrnující nižší alkylovou skupinu, halogen a hydroxylovou skupinu; Y a Z značí nezávisle vodíkový atom, hydroxylovou nebo nižší alkoxy skupinu nebo jsou Y a Z spojeny do methylenioxy- nebo fenylového kruhu a X^- je zbytek kyseliny obsahující kyselý vodík, vykazuje protinádorové účinky a je odolný vůči chemické redukci a biologickým metabolickým reakcím. Výhodné je použití tohoto derivátu jako léčiva.



Nové fenantridiniové deriváty

Oblast techniky

Vynález se týká nového fenantridiniového derivátu s protinádorovými účinky využitelného jako léčiva, vynález se dále týká farmaceutického využití tohoto derivátu.

Dosavadní stav techniky

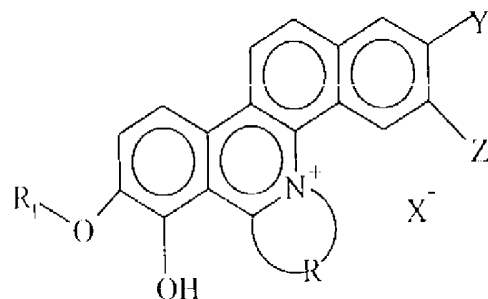
V současné době jsou při chemoterapii pacientů s rakovinou používána alkylační činidla, metabolická antagonika, antibiotika, rostlinné alkaloidy, atd. O 2,3-(methylendioxy)-5-methyl-7-hydroxy-8-methoxy-benzo[c]fenantridiniumchloridu či jodidu zmiňovaném v Chem. Pharm. Bull., 33, 1763 je známo, že vykazuje protinádorové účinky (japonské patenty KOKAI 2-243628 a 3-184916). Benzo[c]fenantridiniový derivát a jeho protinádorové účinky jsou také popsány v japonském patentu KOKAI 5-208959.

Zhoubné nádory mají řadu rozmanitých charakteristik. Kromě toho způsobuje použití těchto protinádorových činidel resistenci vůči nim. Žádoucí je proto vývoj nového protinádorového činidla.

Podstata vynálezu

Autoři vynálezu našli nový fenantridiniový derivát, jehož struktura vznikne spojením atomu dusíku v pozici 5 s atomem uhlíku v pozici 6 alifatickými uhlíkovodíkovými řetězci. Autoři vynálezu také zjistili, že tento fenantridiniový derivát vykazuje protinádorové účinky a je odolný vůči chemické redukci a biologickým metabolickým reakcím. Bylo zjištěno, že tyto vlastnosti fenantridiniového derivátu jsou velmi výhodné pro použití tohoto derivátu jako léčiva. Tím byl tento vynález završen.

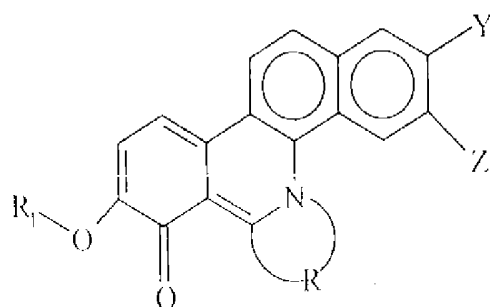
Vynález se týká fenanthridiniového derivátu obecného vzorce I:



(I)

kde R_1 je substituovaná či nesubstituovaná nižší alifatická uhlovodíková skupina, R je alifatický uhlovodíkový řetězec se 2 až 6 uhlíkovými atomy, které mohou být substituovány substituentem vybraným ze skupiny zahrnující nižší alkylovou skupinu, halogen a hydroxylovou skupinu. X a Y nezávisle znázorňují vodík, hydroxylovou skupinu nebo nižší alkoxy skupinu nebo jsou Y a Z spojeny do methylendioxy- nebo fenylového kruhu. X^- je zbytek kyseliny nebo zbytek kyseliny obsahující kyselý vodík.

Vynález se dále týká fenanthridiniového derivátu obecného vzorce II:



(II)

kde R_1 je substituovaná nebo nesubstituovaná nižší alifatická uhlovodíková skupina, R je nižší alifatický uhlovodíkový řetězec se 2 až 6 atomy uhlíku, které mohou být substituovány substituentem vybraným ze skupiny obsahující nižší alkylovou skupinu, halogen nebo

hydroxylovou skupinu. Y a Z nezávisle znázorňují vodík, hydroxylovou skupinu nebo nižší alkoxy skupinu nebo jsou Y a Z spojeny do methylenedioxy- či fenylového kruhu.

Vynález se dále týká farmaceutického prostředku, který jako aktivní složku obsahuje sloučeninu obecného vzorce I nebo II a farmakologicky přijatelný nosič.

Vynález se také týká protinádorového činidla obsahujícího jako aktivní složku sloučeninu obecného vzorce I nebo II a farmakologicky přijatelný nosič.

Vynález se dále týká sloučeniny obecného vzorce I nebo II pro použití jako aktivní složky ve farmaceutickém prostředku.

Vynález se dále týká použití sloučeniny obecného vzorce I nebo II při výrobě farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci nádorových onemocnění.

Vynález se dále týká způsobu léčení nebo prevence nádorových onemocnění spočívajícího v podávání sloučeniny obecného vzorce I nebo II v účinných dávkách.

V obecných vzorcích I a II v tomto vynálezu zahrnuje nižší alifatická uhlovodíková skupina např. alkylovou skupinu s 1 až 5 uhlíkovými atomy a alkenylmethylovou skupinu se 3 až 5 atomy uhlíku. Příklady takové alkylové skupiny s 1 až 5 atomy uhlíku jsou methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl, terc.butyl atd. K příkladům alkenylmethylové skupiny se 3 až 5 uhlíkovými atomy patří allyl, 2-butenyl, 3-methyl-2-butenyl atd. Tyto nižší alifatické uhlovodíkové skupiny mohou být vhodně substituovány. Příklady takovýchto substituentů jsou hydroxylová skupina, C_1 až C_5 alkoxy skupina, C_1 - C_5 alkoxykarbonylová skupina, acetylová skupina, halogen, karbamoylová skupina nebo fenylová skupina, která může být substituována methoxy skupinou.

K typickým příkladům alifatické uhlovodíkové skupiny, která je nebo není substituována, jsou methyl, ethyl, propyl, isopropyl, 2-hydroxyethyl, 2-methoxyethyl, 2-acetoxyethyl, 2-hydroxypropyl, allyl, 2-butenyl, 3-methyl-2-butenyl, methoxykarbonylmethyl, isopropoxykarbonylmethyl, karbamoylmethyl, benzyl, 4-methoxyfenylmethyl, fluormethyl, trifluormethyl atd. Obzvláště vhodný je methyl, ethyl, allyl, 2-hydroxyethyl, 2-methoxyethyl, 2-acetoxyethyl, karbamoylmethyl a trifluormethyl.

Alifatickým uhlovodíkovým řetězcem se 2 až 6 uhlíkovými atomy v obecných vzorcích I a II, který může být substituován substituentem vybraným ze skupiny zahrnující nižší alkylovou skupinu, halogen a hydroxylovou skupinu, je např. substituovaná nebo nesubstituovaná polymethylenová skupina se 2 až 6 atomy uhlíku. Nižší alkylová skupina jako substituent alifatického uhlovodíkového řetězce je alkylová skupina s 1 až 5 uhlíkovými



atomy, jejichž příklady jsou methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, terc.butyl, pentyl atd. Vhodnými příklady substituentů jsou methyl a ethyl. K příkladům atomů halogenu patří fluor, chlor, brom a jod.

Typickým alifatickým uhlovodíkovým řetězcem se 2 až 6 uhlíkovými atomy, který je či není substituován, je $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CHFCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CF}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CHClCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ atd. Zejména vhodný je nesubstituovaný polymethylenový řetězec se 3 až 4 uhlíkovými atomy, jako je $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ nebo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

Příkladem alkoxy skupiny v obecných vzorcích I a II je alkoxy skupina s 1 až 5 uhlíkovými atomy, jako je methoxy, ethoxy, n-propoxy, isopropoxy, n-butoxy, terc. butoxy, pentoxy atd. Vhodná je alkoxy skupina s 1 až 3 uhlíkovými atomy, jako je methoxy, ethoxy, n-propoxy nebo isopropoxy skupina.

Zbytek kyseliny X' v obecném vzorci I značí zbytek kyseliny, která tvoří běžnou sůl, X' je např. halogenidový ion jako je chloridový, bromidový, jodidový nebo fluoridový ion nebo síranový, dusičnanový nebo p-toluensulfonátový ion. Zbytek kyseliny obsahující kyselé vodík značí zbytek kyseliny, která tvoří hydrogensoli. Zbytek kyseliny obsahující kyselé vodík obsahuje 1 až 2 vodíkové atomy a jeho příkladem je hydrogensíranový ion, dihydrogenfosforečnanový ion atd. Jako zbytek kyseliny je zejména vhodný chloridový a hydrogensíranový ion.

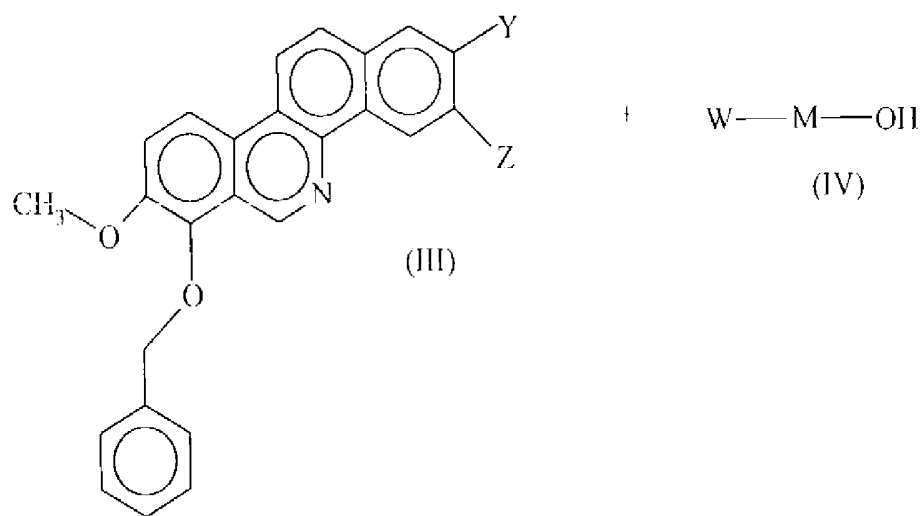
Vhodnými příklady sloučenin jsou v tomto vynálezu sloučeniny obecného vzorce I a II, kde R^1 je methyl, ethyl, allyl, 2-hydroxyethyl, 2-methoxyethyl, 2-acetoxyethyl, karbamoylethyl nebo trifluormethyl, R je nesubstituovaný polymethylenový řetězec se 3 až 4 atomy uhlíku a Y a Z jsou spojeny do methylenedioxy- či fenylového kruhu.

Sloučeniny s obecným vzorcem I lze připravit následujícími způsoby, které jsou rozříděny do dvou typů. Každý způsob je vysvětlen níže.

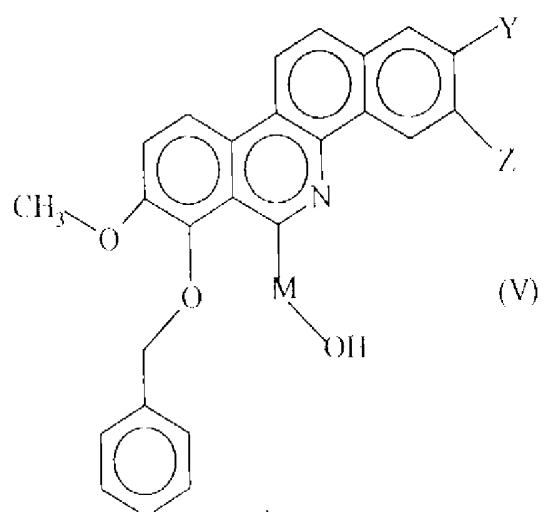
1. Syntéza derivátu obecného vzorce I, kde R_1 značí methyl (dále označována jako syntéza derivátu typu I obecného vzorce I):

a) Derivát obecného vzorce I, kde R_1 je methyl, je možné syntetizovat podle následujícího reakčního schématu 1.

Rekční schema 1:



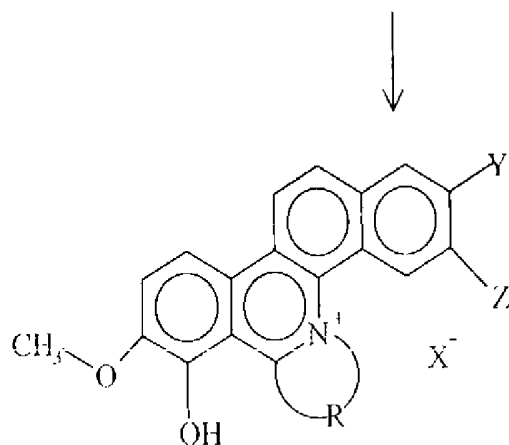
radikálový promotor
radikálový iniciátor
kyselina



cyklizace

odehrání

působení kyselinou



Sloučenina typu I obecného vzorce I

Ve výchozích sloučeninách obecného vzorce III mají Y a Z stejný význam jako v obecných vzorcích I a II. Výchozí sloučeninu obecného vzorce III, kde Y a Z znamenají nezávisle vodík, hydroxylovou skupinu nebo nižší alkoxy skupinu nebo jsou Y a Z spojeny do methylenedioxy skupiny, t.j. 7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinové deriváty, lze syntetizovat způsobem popsaným v japonském patentu KOKAI 5-208959.

Výchozí sloučeninu obecného vzorce III, kde Y a Z jsou spojeny do fenylového kruhu, t.j. 8-benzyloxy-9-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridinové deriváty, lze syntetizovat podle reakčního schématu 3 popsaného níže.

V obecném vzorci IV odpovídá M skupině R v obecných vzorcích I a II a značí alifatický uhlíkovodíkový řetězec se 2 až 6 uhlíkovými atomy, který může být substituován substituentem vybraným ze skupiny zahrnující nižší alkylovou skupinu, halogen a hydroxylovou skupinu. W značí jod nebo brom.

Alkylhalogenidový derivát obecného vzorce IV lze syntetizovat obvyklým způsobem.

Sloučeninu obecného vzorce V lze připravit zahřátím sloučeniny obecného vzorce III a alkylhalogenidového derivátu obecného vzorce IV za míchání v rozpouštědle, jako je acetonitril atd., v přítomnosti radikálového promotoru, jako je organický hydrid cínu, organický hydrid křemíku atd., radikálového iniciátoru, jako je 2,2'-azobis(isobutyronitril) atd. a kyseliny, jako je trifluoroctová kyselina.

Sloučenina obecného vzorce V se nechá reagovat v organickém rozpouštědle s chloridem kyseliny, jako je methansulfonylechlorid, p-toluensulfonylechlorid atd. nebo s anhydridem kyseliny, jako je anhydrid kyseliny trifluoroctové atd., v přítomnosti báze, jako

je triethylamin atd., za chlazení ledem na teplotu místnosti. Následuje ohřátí reakční směsi na 110 °C nutné pro provedení cyklizace.

Později je provedeno odchránění reakčního produktu. Výhodné je provedení odchránění bez izolace a čištění produktu. Odchránění zde znamená odstranění benzylové skupiny v pozici 7 v obecném vzorci V.

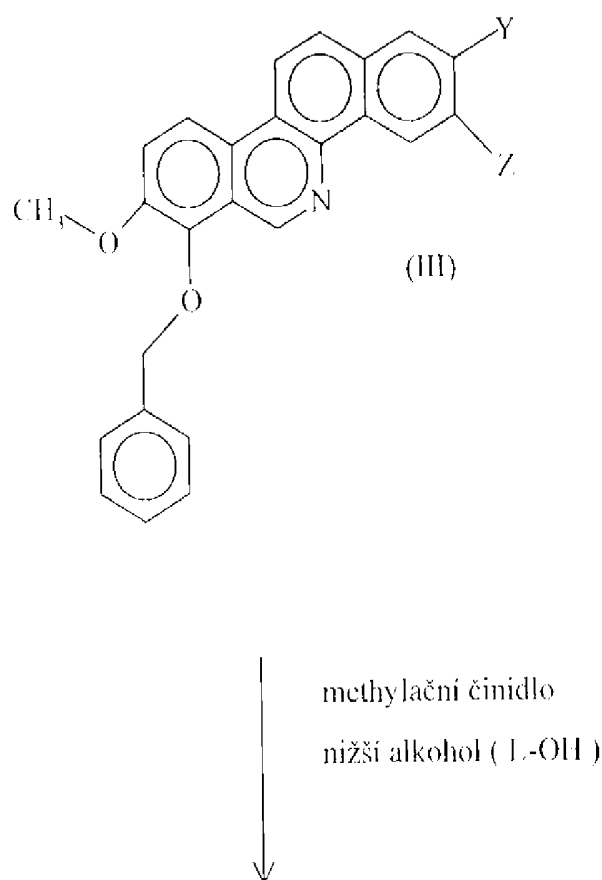
Odstranění benzylové skupiny v poloze 7 lze provést při teplotě místnosti až při 100 °C v kyselém prostředí dosaženém okyselením směsí konc. kyselinou chlorovodíkovou apod.

Působení kyselinou je provedeno rozpuštěním sloučeniny vzniklé odchráněním v rozpouštědle a přidáním kyseliny, např. kyseliny chlorovodíkové, kyseliny sírové, kyseliny p-toluensulfonové atd. Obvyklé množství kyseliny je 1 až 3 moly na mol sloučeniny.

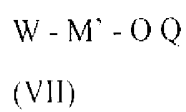
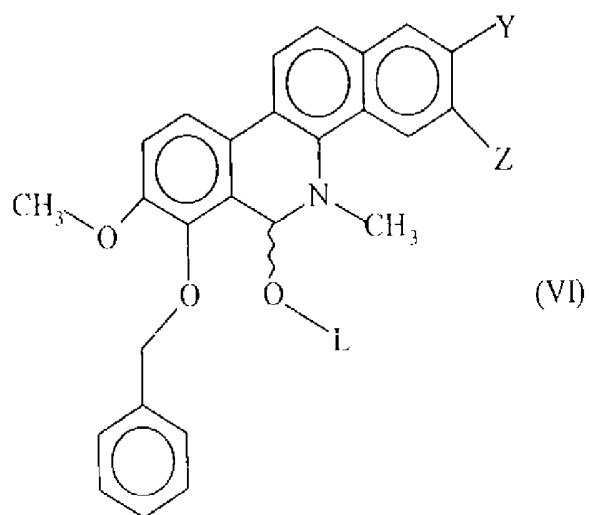
Podle výše uvedeného postupu lze získat sloučeninu typu I obecného vzorce I.

b) Sloučenina typu I obecného vzorce I může být také syntetizována podle následujícího reakčního schématu 2.

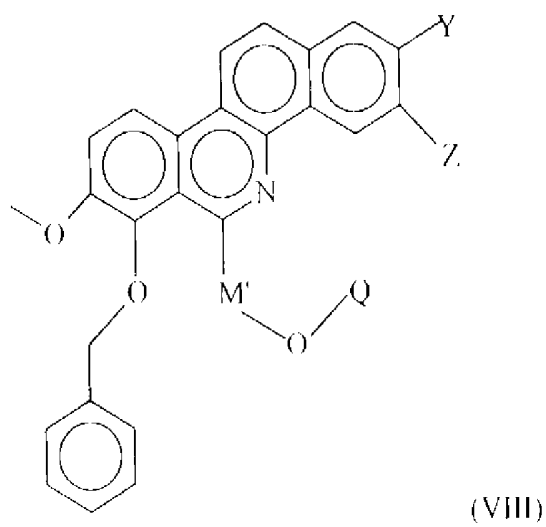
Reakční schéma 2:



18.06.99

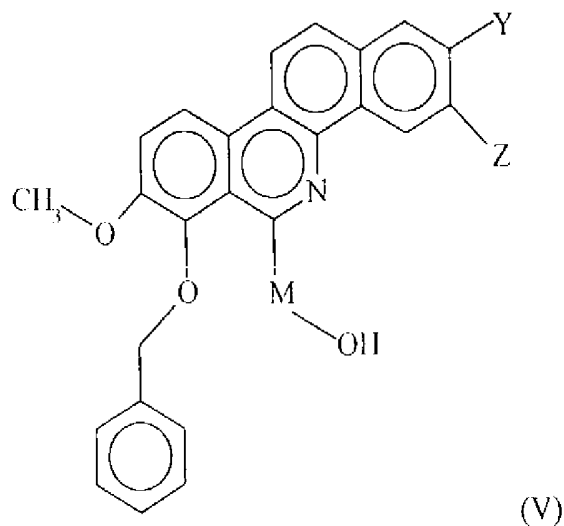


oxidativní aromatizace



odehránění

18.06.99



↓
cyklizace

↓
odchránění

↓
působení kyselinou

↓
Sloučenina typu I obecného vzorce I

V tomto výše uvedeném reakčním schématu značí W organickou nebo anorganickou sůl kovu, 1. je nižší alkylová skupina, M' je alifatický uhlovodíkový řetězec se 2 až 6 uhlíkovými atomy, které mohou být vhodně substituovány substituentem vybraným ze skupiny zahrnující nižší alkylovou skupinu, halogen a hydroxylovou skupinu. Q je chránící skupina.

Reakce sloučeniny obecného vzorce III s methylačním činidlem je prováděna zahřátím v nepřítomnosti rozpouštědla nebo v C₆-C₁₀ rozpouštědle, jako je toluen, xylen atd. Reakce je

obvykle prováděna při teplotě 50 až 180 °C, výhodná je teplota 100 až 150 °C. Reakce je obvykle prováděna po dobu 1 až 24 hodin, výhodná je doba trvání reakce 2 až 10 hodin.

Použito může být jakékoliv methylační činidlo, pokud je všeobecně používáno pro N-methylaci pyridinového kruhu. Vhodný je methylsulfonát používaný pro methylaci např. methylem substituovaného benzensulfonátu nebo methyltrihalogenmethansulfonát. K typickým příkladům patří methyl-p-toluensulfonát, methyl-2-nitrobenzensulfonát a methyltrifluormethansulfonát.

Takto N-methylovaná sloučenina je smísena s nižším alkoholem, jako je ethanol atd. Vhodný je methanol, ethanol nebo n-propanol. Smísení je obvykle provedeno při teplotě 0 °C až při teplotě místnosti v přítomnosti báze za vzniku sloučeniny obecného vzorce VI.

Sloučenina obecného vzorce VI je rozpuštěna v aprotickém rozpouštědle, např. v uhlovodíku jako je benzen, toluen, xylen atd., v etherickém rozpouštědle, jako je diethylether, diisopropylether, 1,2-dimethoxyethan, tetrahydrofuran atd. či v rozpouštědle halogenidového typu, jako je dichlormethan, 1,2-dichlorethan atd. Poté je k roztoku sloučeniny VI přidáno 1 až 10-ti ekvimolární množství organické sloučeniny kovu obecného vzorce VII. Vhodný je přídavek 1 až 3 ekvimolárního množství. Pokud je to nutné, ke směsi je přidán katalyzátor, jako je diethyletherat fluoridu boritého, titaniumtetraisopropoxid atd. Reakce je prováděna za míchání při teplotě -78 až 50 °C, vhodná je teplota -20 °C až teplota místnosti. Doba reakce činí 5 minut až 24 hodin, výhodná je doba reakce 10 minut až 10 hodin.

Organickou sloučeninou kovu obecného vzorce VII může být jakákoliv organická sloučenina kovu, pokud ji lze použít pro běžné nukleofilní substituční reakce. Jako organické sloučeniny kovu mohou být použity např. organické sloučeniny lithia, hořčíku, zinku, hliníku nebo mědi. Výhodné jsou zvláště organické sloučeniny hořčíku. Typické příklady organokovových sloučenin zahrnují 3-(terc.butyldimethylsiloxy)-propylmagnesiumbromid, 2-methyl-3-(terc.butyldimethylsiloxy)propylmagnesiumbromid a 4-(terc.butyldimethylsiloxy)-butylmagnesiumbromid.

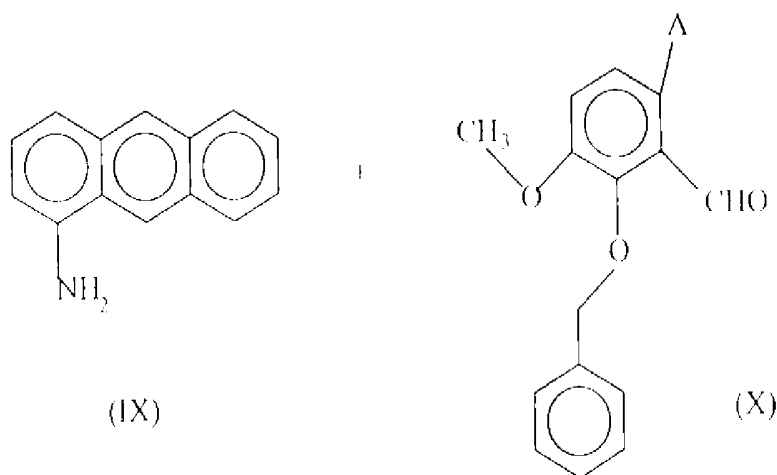
Reakční produkt získaný výše popsanou nukleofilní substituční reakcí je oxidativně aromatizován oxidačním činidlem za vzniku sloučeniny obecného vzorce VIII. Pro reakci může být použita řada oxidačních činidel, jako je oxid manganičitý, octan olovičitý a dichlordikyanobenzochinon, vhodné je především použití oxidu hořečnatého. Reakce je

prováděna při teplotě 0 až 120 °C po dobu 1 až 120 minut, vhodná je teplota místnosti až 100 °C a doba reakce 5 až 60 minut.

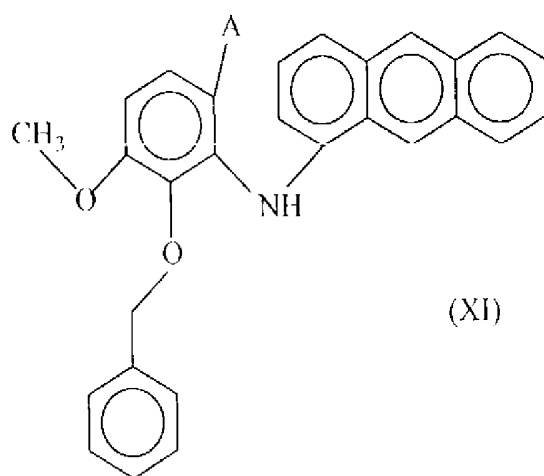
Odehránění sloučeniny obecného vzorce VIII poskytuje sloučeninu obecného vzorce V. Jako chránicí skupina pro ochranu hydroxyly je obvykle používána např. substituovaná methylová skupina, jako je methoxymethyl, benzyloxymethyl, tetrahydrofuryl, terc.butyl, p-methoxybenzyl, trifenylnethyl atd., dále trialkylsilylová skupina, jako je terc.butyldimethylsilyl, trimethylsilyl atd., acylová skupina, jako je acetyl, chloracetyl, benzoyl, isobutyryl atd. Pro odstranění chránicí skupiny je vždy použita metoda vhodná pro danou chránicí skupinu. Např. odstranění chránicí skupiny Q při použití chránicí skupiny trialkylsilylového typu pro ochranu hydroxylové skupiny v M' je provedeno přidáním fluoridu, jako je tetrabutylamoniumfluorid, fluorid draselný, fluorid cesný atd. v rozpouštědle, jako je tetrahydrofuran, acetonitril atd. a udržováním směsi při teplotě 0 až 80 °C. Výhodná je teplota 0 °C až teplota místnosti. Poté je sloučenina obecného vzorce V cyklizována podle reakčního schématu 1. Odstraněním chránicí skupiny a působením kyseliny je syntetizována požadovaná sloučenina typu I obecného vzorce I.

c) Vedle sloučeniny obecného vzorce III použité jako výchozí reaktant v reakčním schématu 1 a 2 lze 8-benzyloxy-9-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridinový derivát, u kterého jsou Y a Z spojeny do fenylového kruhu, syntetizovat podle reakčního schématu 3.

Reakční schéma 3:



18.06.99



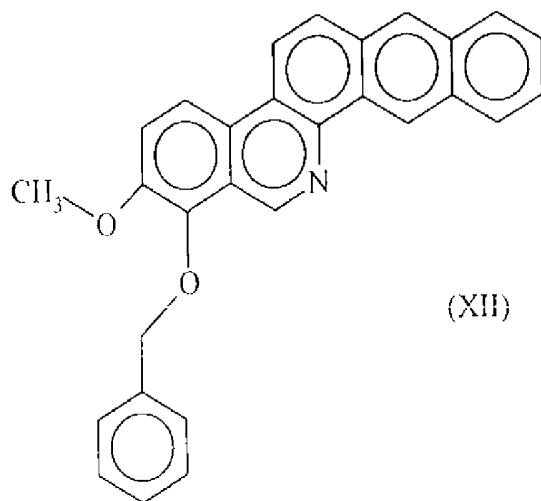
cyklizace



oxidativní aromatizace



18.06.99



1-aminoanthracen vzorce IX a 2-benzyloxy-3-methoxy-6-halogenbenzaldehyd vzorce X, který lze získat způsobem popsaným např. v J.C.S. Perkin 1, 1221 (1976) a v J. Org. Chem., 53, 1708 (1988), jsou zahřívány na 80 až 110 °C v toluenu nebo benzenu po dobu 1 až 3 hodin. Reakční směs je zakonzentrována a voda, která je vedlejším produktem, je odstraněna azeotropickou destilací s toluenem nebo benzenem. Výhodné je přidání čerstvého toluenu nebo benzenu ke koncentrátu a výše popsaný postup zahřívání následovaného zakonzentrováním je opakován 2-krát až 4-krát za téměř kvantitativní tvorby dehydratovaného kondenzačního produktu (Schiffovy báze). Místo kondenzace v dehydratovaném kondenzačním produktu je redukováno za vzniku sloučeniny obecného vzorce XI.

Použito může být jakékoliv redukční činidlo schopné redukovat dvojnou vazbu mezi uhlíkem a dusíkem. Redukce je s výhodou prováděna při reakční teplotě -10 až 40 °C pomocí kyanotrihydroboritanu sodného nebo dimethylaminoboranu.

Ve vzorcích X a XI značí A atom halogenu.

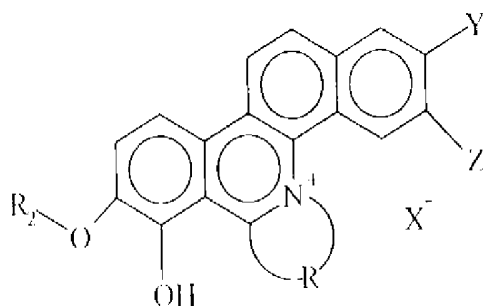
Sloučenina obecného vzorce XI je cyklizována (kondenzační reakce odstraněním halogenovodíku) v organickém rozpouštědle pomocí organických hydridů cínu. Vhodné je použití trialkyl či triaryl (1 až 8 uhlíkových atomů) hydridu cínu, jako je tributylhydridostannium nebo trioktylhydridostannium, nebo dialkyl či diaryl (1 až 8 uhlíkových atomů) hydridu cínu, jako je např. difenyldihydridostannium. Jako organického hydridu cínu je obvykle s výhodou využíváno tributylhydridostannia. Reakce je prováděna rozpouštěním sloučeniny obecného vzorce XI a 1- až 6-ti násobku ekvimolárního množství, vhodně pak 2- až 3-násobku ekvimolárního množství organického hydridu cínu v organickém

rozpouštědla. Vhodnými rozpouštědly jsou uhlovodíky se 6 až 10 uhlíkovými atomy, např. toluen, xylen, benzen apod. Roztok je zahříván při teplotě 60 až 150 °C po dobu 2 minut až 4 hodin. Vhodná je teplota 80 až 130 °C a doba reakce 5 minut až 1 hodina. Výhodná je přítomnost radikálového iniciátoru, jako je 2,2'-azobis(isobutyronitril), 2,2'-azobis(2-methylbutyronitril) nebo dibenzoylperoxid atd.

Reakční směs je dále pokud možno bez izolace kondenzovaného produktu podrobena oxidativní aromatizaci místa cyklizace pomocí některého oxidačního činidla. Reakce je prováděna při 0 až 120 °C po dobu 1 až 120 minut. Vhodná je teplota místnosti až 100 °C a doba reakce 5 až 60 minut. Reakčním produktem je 8-benzyloxy-4-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridinový derivát obecného vzorce XII. Pro tuto reakci lze použít řadu oxidačních činidel. Příkladem oxidačního činidla je oxid manganičitý, octan olovičitý, dichlordikyanobenzochinon. Zvláště výhodné je použití oxidu manganičitého.

2. Syntéza derivátu obecného vzorce I, kde R_1 je substituovaná nebo nesubstituovaná nižší alifatická uhlovodíková skupina jiná než methyl (dále označována jako syntéza derivátu typu 2 obecného vzorce I):

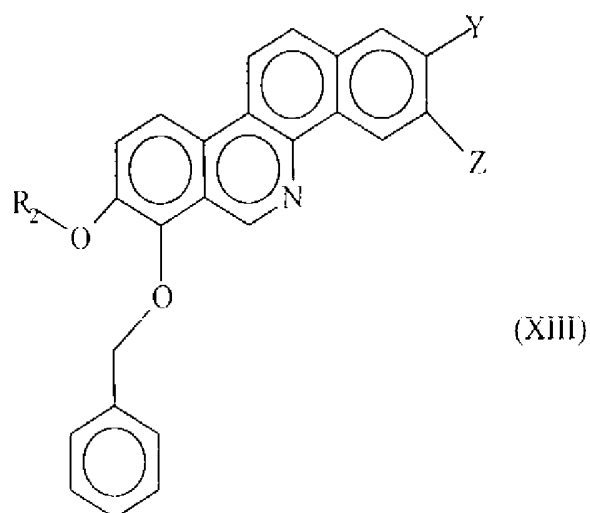
Derivát typu 2 obecného vzorce I, kde R_1 je substituovaná nebo nesubstituovaná alifatická uhlovodíková skupina jiná než methyl, je popsán následujícím vzorcem:



Derivát typu 2 obecného vzorce I

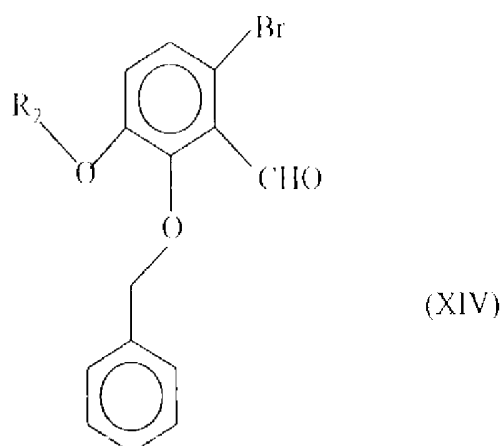
kde R_2 je substituovaná nebo nesubstituovaná alifatická uhlovodíková skupina jiná než methyl a R , Y , Z a X^- mají stejný význam jako ve vzorci I. Derivát typu 2 lze syntetizovat následujícím postupem. Jako výchozí reaktant je použita sloučenina obecného vzorce XIII:

18.06.99



kde R_2 je substituovaná nebo nesubstituovaná alifatická uhlovodíková skupina jiná než methyl a Y a Z mají stejný význam jako v obecném vzorci I. Reakce je prováděna podobným způsobem jako v případě reakčního schématu 1 nebo 2. Derivát typu 2 je tedy možné syntetizovat podle reakčního schématu 1 nebo 2, když je místo sloučeniny obecného vzorce III použita sloučenina obecného vzorce XIII. Je-li syntetizována sloučenina obsahující např. hydroxylovou skupinu jako substituent alifatické uhlovodíkové skupiny R_2 v derivátu typu 2 obecného vzorce I, použita je sloučenina obecného vzorce XIII s hydroxylovou skupinou chráněnou chránicí skupinou. Chránicí skupinu lze snadno odstranit jako v případě reakčních schémat 1 a 2.

Sloučeninu obecného vzorce XIII, kde Y a Z značí nezávisle vodíkový atom, hydroxylovou nebo alkoxy skupinu nebo jsou Y a Z spojeny do methylenedioxy skupiny, lze získat způsobem popsáním v japonském patentu KOKAI 5-208959 při použití výchozí sloučeniny obecného vzorce XIV:



18.08.99

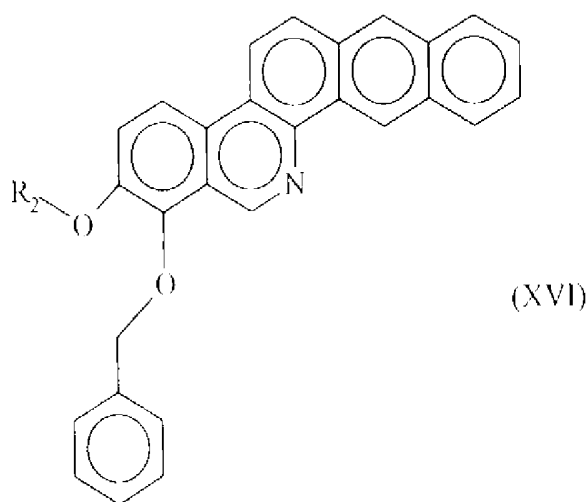
kde R_2 je substituovaná nebo nesubstituovaná alifatická uhlovodíková skupina jiná než methyl. Tento způsob výroby sloučeniny obecného vzorce XIII je podobný způsobu výroby 7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinového derivátu obecného vzorce III podle reakčního schématu 1 a 2.

Výchozí sloučeninu obecného vzorce XIV lze získat obvyklým způsobem bromací 2-benzyloxy-3-hydroxybenzaldehydu, jak je popsáno např. v J.C.S. Perkin I, 1221 (1976) a v J. Org. Chem., 53, 1708 (1988) a následnou reakcí reakční směsi se sloučeninou obecného vzorce XV:



kde R_2 má stejný význam jako ve vzorci XIV a A_1 je uvolňovaná skupina, jako je atom halogenu, alkylsulfonylová skupina atd. Reakce je provedena v organickém rozpouštědle v přítomnosti či v nepřítomnosti báze.

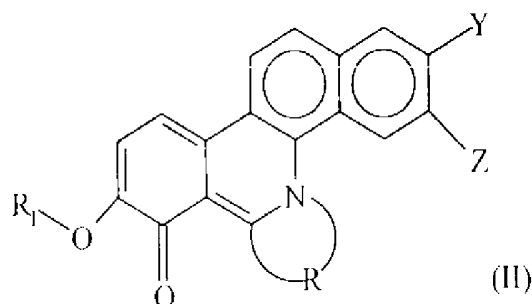
Sloučenina obecného vzorce XIII, kde Y a Z jsou spojeny do fenylového kruhu, tedy sloučenina obecného vzorce XVI:



kde R_2 je substituovaná nebo nesubstituovaná alifatická uhlovodíková skupina jiná než methyl, může být připravena způsobem podobným způsobu výroby 8-benzyloxy-9-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridinového derivátu podle reakčního schématu 3 uvedeného výše. Jako výchozí reaktant je zde však použita sloučenina obecného vzorce XIV.

19.06.99

Takto získaný fenanthridiniový derivát obecného vzorce I při působení báze snadno uvolňuje z molekuly kyselý vodík. Tak je možné získat novou strukturu fenanthridiniového derivátu následujícího obecného vzorce II:



kde R_1 , R, Y a Z mají stejný význam jako v obecném vzorci I. Sloučeninu obecného vzorce II lze případně působením kyseliny snadno přeměnit na sloučeninu obecného vzorce I.

Sloučenina obecného vzorce II je lépe rozpustná v lipidech než sloučenina obecného vzorce I. Předpokládá se však, že sloučenina obecného vzorce I s protinádorovými účinky projevuje *in vivo* farmakologické účinky ve formě sloučeniny obecného vzorce II. Kromě toho hraje také sloučenina obecného vzorce II roli meziprojektu při syntéze sloučeniny obecného vzorce I. V reakčních schemech 1 a 2 je tedy sloučenina obecného vzorce II připravena odehráním. Působení kyselinou na sloučeninu obecného vzorce II připravenou odstraněním chránicí skupiny poskytuje ve schemech 1 a 2 sloučeninu obecného vzorce I. Také při syntéze derivátu typu 2 obecného vzorce I je odpovídající sloučenina obecného vzorce II připravena obdobně po odstranění chránicí skupiny. Podobně působení kyselinou na sloučeninu obecného vzorce II poskytuje sloučeninu obecného vzorce I.

Sloučenina popsaná v tomto vynálezu je charakterizována chemickými a biologickými charakteristikami popsanými níže.

Částí struktury fenanthridiniových derivátů obecného vzorce I a II je substituovaný nebo nesubstituovaný alifatický uhlovodíkový řetězec označený symbolem R. Bylo zjištěno, že cyklická struktura stericky chrání místo, které je považováno za reaktivní v chemických a biologických reakcích známých benzo[c]fenanthridiniových derivátů, např. 2,3-(methylenedioxy)-5-methyl-7-hydroxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridiniumhydrogensíranu (japonský patent KOKAI 5-208959). Tato vlastnost přispívá ke zlepšení stability vůči chemické redukci a biologickým metabolickým reakcím.

Např. známý 2,3-(methyendioxy)-5-methyl-7-hydroxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridiniumhydrogensíran je rychle redukován ve vodném roztoku při teplotě místnosti v přítomnosti kyanotrihydroboritanu sodného jako redukčního činidla. Fenanthridiniový derivát je tak během několika málo minut ztracen. Při provedení in vitro metabolického testu s jaterním homogenátem (S9) připraveným z lidských jater způsobem popsaným v Arch. Biochem. Biophys., 282, 183 (1990) byla navíc pozorována tvorba metabolitu. Tento produkt byl shodný s redukováným produktem vznikajícím při chemické redukci popsané výše.

Na 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridinium-chlorid, který je jednou ze sloučenin popsaných v tomto vynálezu, bylo ve vodném roztoku při teplotě místnosti působeno kyanotrihydroboritanem sodným. Ve srovnání se známým výše uvedeným 2,3-(methyendioxy)-5-methyl-7-hydroxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinium-hydrogensíranem vymizí sloučenina popsaná v tomto patentu zřetelně pozvolněji. Kromě toho nedocházelo k tvorbě metabolitu při *in vitro* metabolickém testu s jaterním homogenátem (S9) připraveným z lidských jater. Demonstrována je tak odolnost sloučeniny popsané v tomto vynálezu vůči redukčním metabolickým reakcím. Sloučenina popsaná v tomto vynálezu má proto zlepšenou stabilitu a její použití jako léčiva je tudíž velmi výhodné.

V následující Tab. 1 jsou uvedeny typické příklady fenanthridiniového derivátu obecného vzorce I. Sloučeniny, jež jsou předmětem tohoto vynálezu, však nezahrnují pouze tyto příklady.

Tab. 1

<u>Číslo</u>	<u>Sloučenina</u>
A-1	7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniová sůl
A-2	7-hydroxy-8-methoxy-5,6-(2-hydroxypropano)-benzo[c]fenanthridiniová sůl
A-3	2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-ethano-benzo[c]fenanthridiniová sůl
A-4	2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniová sůl

- A-5 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-(2-methylpropano)-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-6 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-(2-hydroxypropano)-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-7 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-butano-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-8 2,7-dihydroxy-3,8-dimethoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-9 8-hydroxy-9-methoxy-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
- A-10 8-hydroxy-9-methoxy-6,7-(2-methylpropano)-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
- A-11 8-hydroxy-9-methoxy-6,7-(2-hydroxypropano)-nafto[2,3-c]fenanthridiniová
sůl
- A-12 8-hydroxy-9-methoxy-6,7-butano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
- A-13 7-hydroxy-8-(2-hydroxyethoxy)-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-14 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-allyloxy-5,6-propano-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-15 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-(2-hydroxyethoxy)-5,6-propano-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-16 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-(2-methoxyethoxy)-5,6-propano-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-17 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-(2-acetoxyethoxy)-5,6-propano-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-18 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-(karbamoylmethoxy)-5,6-propano-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-19 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-trifluormethoxy-5,6-propano-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-20 2,3-(methyendioxy)-7-hydroxy-8-(2-hydroxyethoxy)-5,6-(2-methylpropano)-
benzo[c]fenanthridiniová sůl
- A-21 8-hydroxy-9-(2-hydroxyethoxy)-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
- A-22 8-hydroxy-9-allyloxy-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
- A-23 8-hydroxy-9-(2-methoxyethoxy)-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
- A-24 8-hydroxy-9-(2-acetoxyethoxy)-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl

- A-25 8-hydroxy-9-(karbamoylmethoxy)-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
- A-26 8-hydroxy-9-trifluormethoxy-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniová sůl
-

Je-li fenanthridiniový derivát obecného vzorce I nebo II použit jako léčivo, využít lze různé známé způsoby přípravy farmaceutických preparátů a aplikace tohoto léčiva. Fenanthridiniový derivát, který je předmětem tohoto vynálezu, tedy lze podávat parenterálně, orálně, intrarektálně atd. Fenanthridiniový derivát může být v jakékoliv formě vhodné pro farmaceutické preparáty včetně injekcí, prášků, granulí, tablet, čípků atd. Při přípravě farmaceutického prostředku z fenanthridiniového derivátu lze, je-li to nutné, použít různých přídatných činidel používaných v léčivech, tedy nosičů a dalších aditiv, např. stabilizátorů, konzervačních činidel, tišících látek, emulgátorů atd., pokud neovlivňují nepříznivě aktivní složku.

Obsah fenanthridiniového derivátu obecného vzorce I nebo II ve farmaceutických preparátech kolísá v širokém intervalu v závislosti na formě preparátu. Obvykle je toto množství 0,01 až 100 % hmotn., výhodné je množství 0,1 až 50 % hmotn. Zbytek zaujímají nosiče a další aditiva běžně používaná pro výrobu léčiv.

Dávkování fenanthridiniového derivátu obecného vzorce I nebo II se mění v závislosti na stavu pacienta atd. Toto množství je cca. 50 až 500 mg na den u dospělé osoby.

Jak je uvedeno výše, fenanthridiniové deriváty, které jsou předmětem tohoto vynálezu a jsou popsány obecnými vzorci I nebo II, vykazují protinádorovou aktivitu jak *in vitro*, tak *in vivo* a lze tak očekávat jejich účinnost při léčení rakoviny.

V dalším textu bude detailněji popsán způsob výroby fenanthridiniových derivátů, které jsou předmětem tohoto vynálezu, a také jejich farmakologické působení. Popsány budou také farmaceutické preparáty těchto derivátů s odkazy na příklady a testovací příklady farmakologického působení. Vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.



Příklad 1

Syntéza 6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinu

7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (připravený způsobem popsaným v japonském patentu KOKAI 5-208959, 284 mg, 0,78 mmol) byl suspendován v acetonitrilu (10 ml). K suspenzi byla přidána trifluoroctová kyselina (60 μ l, 0,78 mmol), 3-brom-1-propanol (71 μ l, 0,79 mmol) a tris(trimethylsilyl)silan (481 μ l, 1,56 mmol). Směs byla míchána při 80 °C na olejové lázni. Po rozpuštění suspenze byl k roztoku přidán azobis(isobutyronitril) (256 mg, 1,56 mmol) a roztok byl zahříván pod zpětným chladičem. Po hodině byla reakční směs ponechána vychladnout na teplotu místnosti. K roztoku byl poté přidán nasycený vodný roztok hydrogenuhlíčitanu sodného (60 ml) a směs byla extrahována dichlormethanem. Organická vrstva byla poté promyta nasyceným vodným roztokem chloridu sodného a vysušena bezvodým síranem sodným. Rozpouštědlo bylo vydestilováno za vakua. Zbytek byl prolit kolonou se silikagelem (vymyto 1% methanolem v dichlormethanu). Odebrány byly hlavní frakce a zakonzentrovány za vakua na surový produkt 6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinu (čistota 50 %, 142 mg, výtěžek 21 %) obsažený ve žlutohnědé suché hmotě.

FAB-MS (v pozitivním modu)m/z:

424([M+H]⁺), 366(M+H-C₁₁H₇CH₂CH₂OH)⁺,

333([M+H-benzyl]⁺);

¹H-NMR(200 MHz, CDCl₃) δ:

9,31(1H, m), 8,51(1H, d, J=9,3Hz), 8,46(1H, d, J=9,3 Hz), 7,95(1H, d, J=9,5Hz), 7,94(1H, m), 7,77(1H, m), 7,66(1H, m), 7,65(1H, d, J=9,3Hz), 7,62-7,36(5H, m), 5,23(2H, s), 4,07(3H, s), 3,82(2H, t, J=6,9Hz), 3,64(2H, t, J=6,1Hz), 2,24(2H, t, J=6,9 a 6,1Hz).

Příklad 2

Syntéza 7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniumchloridu (sloučenina č. A-1) (X = Cl)

Surový produkt, 6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (čistota 50 %, 120 mg, 0,14 mmol) syntetizovaný v příkladu 1 byl rozpuštěn v dichlormethanu

(4 ml). K roztoku byl přidán methansulfonylchlorid (22 μ l, 0,28 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (50 μ l, 0,28 mmol). Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 20 minut. K reakční směsi byl přidán methanol (1 ml) a roztok byl zkoncentrován za vakua. Zbytek byl prolit kolonou se silikagelem (vymyto 8% methanolem v dichlormethanu). Najímány byly hlavní frakce a za vakua bylo oddestilováno rozpouštědlo. Pro rozpuštění zbytku byla přidána kyselina octová (1,6 ml) a konc. kyselina chlorovodíková (0,8 ml). Roztok byl míchán při teplotě 60 °C na olejové lázni po dobu 20 minut. Po ochlazení reakční směsi na teplotu místnosti byl k roztoku přidán nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (160 ml). Následovala extrakce dichlormethanem. Organická vrstva byla promyta vodou a vysušena bezvodým síranem sodným (v organické fázi obsažena sloučenina obecného vzorce II). Síran sodný byl z organické fáze odstraněn filtrací. K filtrátu byl přidáván 4M roztok chlorovodíku v dioxanu, dokud se červenonachová barva roztoku úplně nezměnila ve zlatožlutou. Roztok byl zkoncentrován za vakua. Zbytek byl čištěn chromatograficky na silikagelové koloně (promyto 8-12% methanolem v dichlormethanu). Získána tak byla sloučenina A-1 ($X^- = Cl^-$) (29 mg, výtěžek 59 %) ve formě zlatožlutého prášku.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

316(M^+);

1H -NMR(200MHz, DMSO- d_6) δ :

11,44(1H, brs), 8,93(1H, d, $J=9,4$ Hz), 8,93(1H, m), 8,61(1H, d, $J=9,2$ Hz),

8,39(1H, d, $J=9,2$ Hz), 8,29(1H, m), 8,15(1H, d, $J=9,1$ Hz), 7,92-7,82(2H, m),

5,57(2H, brt, $J=7,2$ Hz), 4,23(2H, brt, $J=7,6$ Hz), 4,10(3H, s), 2,49(2H, m).

Příklad 3

Syntéza 2,3-(methylendioxy)-6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinu

2,3-(methylendioxy)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (přípravený způsobem popsáním v japonském patentu KOKAI 5-208959, 1,228 g, 3,00 mmol) byl suspendován v acetonitrilu (48 ml) a k suspenzi byla přidána trifluorooctová kyselina (231 μ l, 3,00 mmol), 3-brom-1-propanol (271 μ l, 3,00 mmol) a tris(trimethylsilyl)silan (1,85 ml, 6,00 mmol). Směs byla míchána při 80 °C na olejové lázni. Po rozpuštění suspenze byl k roztoku

přidán azobis(isobutyronitril) (0,985 g, 6,00 mmol) a směs byla zahřívána pod zpětným chladičem. Po 90 minutách byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti. Separací vysrážených krystalů filtrací byla znovu získána výchozí látka, 2,3-(methylenedioxy)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin, ve formě trifluoracetátu (0,680 g). Filtrát byl zakoncentrován za vakua a ke zbytku byl přidán nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (40 ml). Následovala extrakce dichlormethanem (50 ml). Organická vrstva byla promyta vodou (50 ml) a vysušena bezvodým síranem sodným. Rozpouštědlo bylo poté oddestilováno za vakua. Zbytek byl čištěn metodou sloupcové chromatografie na silikagelové koloně (promyto 10% ethylacetátem v toluenu) a získán tak byl 2,3-(methylenedioxy)-6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (0,210 g, výtěžek 15 %) ve formě světle hnědého prášku.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

468([M+H]⁺), 377([M+H-benzyl]⁺);

¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ:

8,65(1H, s), 8,45(1H, d, J=9,3Hz), 8,31(1H, d, J=9,1Hz), 7,78(1H, d, J=9,1Hz), 7,60(1H, d, J=9,3Hz), 7,57(2H, dd, J=7,9 a 1,7Hz), 7,49-7,37(3H, m), 7,24(1H, s), 6,11(2H, s), 5,21(2H, s), 4,06(3H, s), 3,76(2H, t, J=7,0Hz), 3,61(2H, t, J=6,1Hz), 2,22(2H, tt, J=7,0 a 6,1Hz).

Příklad 4

Syntéza 2,3-(methylenedioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridinium-chloridu (Sloučenina č. A-4) (X⁻ = Cl⁻)

2,3-(methylenedioxy)-6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (192 mg, 0,41 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (8 ml). K roztoku byl přidán methansulfonylechlorid (41 µl, 0,53 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (95 µl, 0,53 mmol). Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 30 minut. K reakční směsi byl přidán methanol (1 ml) a směs byla zakoncentrována za vakua za vzniku žlutohnědého sirupu (530 mg). Pro rozpuštění zbytku byla přidána kyselina octová (4 ml) a konc. kyselina chlorovodíková (2 ml). Roztok byl míchán při teplotě 60 °C na olejové lázni po dobu 15 minut. Reakční směs byla ochlazená na teplotu místnosti a poté zakoncentrována za vakua. Zbytek byl rozpuštěn v 5% roztoku methanolu v dichlormethanu (100 ml) a k roztoku byl

přidán nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (80 ml). Směs byla intenzivně protřepávána, dokud oranžová organická vrstva úplně nezměnila barvu na červenonachovou. Organická vrstva obsahující sloučeninu obecného vzorce II byla poté oddělena, promyta vodou a vysušena bezvodým síranem sodným. Síran sodný byl z organické vrstvy odstraněn filtrací. K filtrátu byl přidáván 4M roztok chlorovodíku v dioxanu, dokud se barva roztoku úplně nezměnila na oranžovou. Roztok byl zkoncentrován za vakua. Zbytek byl vyčištěn metodou sloupcové chromatografie za použití silikagelové kolony (vymyto 8-12% methanolem v dichlormethanu). Získána tak byla sloučenina č. A-4 ($X^- = Cl^-$) (112 mg, výtěžek 69 %) jako zlatožlutý prášek.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

360(M^+);

UV λ_{max} nm:

(v 1M HCl) 438, 342, 320, 271,

(při pH9) 488, 347, 335, 278;

1H -NMR(200MHz, DMSO- d_6) δ :

8,72(1H, d, $J=9,2$ Hz), 8,43(1H, d, $J=9,2$ Hz), 8,24(1H, s), 8,19(1H, d, $J=9,2$ Hz),

8,03(1H, d, $J=9,2$ Hz), 7,71(1H, s), 6,33(2H, s), 5,47(2H, brt, $J=7,1$ Hz),

4,16(2H, brt, $J=7,7$ Hz), 4,06(3H, s), 2,44(2H, m).

Příklad 5

Syntéza 2,3-(methylendioxy)-5-methyl-6-ethoxy-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydro-benzo[c]fenanthridinu

2,3-(methylendioxy)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (přípravený způsobem popsaným v japonském patentu KOKAI 5-208959, 4,487 g, 10,96 mmol) a methyl-2-nitrobenzensulfonát (4,30 g, 19,79 mmol) byl rozpuštěn v toluenu (90 ml). Roztok byl za míchání zahříván na teplotu 110 °C po dobu 24 hodin. Reakční směs byla poté ochlazená na teplotu místnosti a vysrážené krystaly byly odděleny filtrací a promyty toluenem. Krystaly byly suspendovány v N,N-dimethylformamidu (62 ml) a k suspenzi byl přidán pyridin (0,62 ml). Směs byla míchána při 60 °C po dobu 2 hodin. Po ochlazení směsi na teplotu místnosti byly krystaly odděleny filtrací a promyty postupně toluenem a hexanem. Takto získané zlatožluté krystaly byly suspendovány v ethanolu (124 ml) a k suspenzi byl přidán 0,1N

vodný roztok hydroxidu sodného (93 ml). Směs byla míchána do úplného vymizení zlatožluté barvy. Získané světle hnědé krystaly byly odděleny filtrací a promyty 50% vodným roztokem ethanolu. Získán tak byl 2,3-(methylendioxy)-5-methyl-6-ethoxy-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridin (3,016 g, výtěžek 59 %) jako světle hnědý prášek.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

424([M-CH₃CH₂O]⁺);

¹H-NMR(200MHz, CDCl₃), δ:

7,78(1H, d, J=8,6Hz), 7,64(1H, d, J=8,6Hz), 7,63(1H, s), 7,46(1H, d, J=8,6Hz),
7,58-7,33(5H, m), 7,11(1H, s), 7,06(1H, d, J=8,6Hz), 6,04(2H, s), 5,64(1H, s),
5,21(1H, d, J=10,9Hz), 5,09(1H, d, J=10,9Hz), 3,94(3H, s), 3,90(1H, dq, J=9,6
a 7,1Hz), 3,60(1H, dq, J=9,6 a 7,1Hz), 2,61(3H, s), 1,05(3H, t, J=7,1Hz).

Příklad 6

Syntéza 2,3-(methylendioxy)-5-methyl-6-[3-(terc.butyl dimethylsiloxy)propyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridinu

Do suché baňky byl vložen hořčík (0,468 g, 19,3 mmol) a přidán byl tetrahydrofuran (15 ml). Postupně byl ke směsi přidán roztok 3-(terc.butyl dimethylsiloxy)propylbromidu (2,36 g, 9,63 mmol) v tetrahydrofuranu (15 ml), jod (několik kousků) a 1,2-dibromethan (několik kapek). Získaná směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu jedné hodiny. K roztoku byl přidán roztok 2,3-(methylendioxy)-5-methyl-6-ethoxy-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridinu (1,01 g, 2,2 mmol) v tetrahydrofuranu (10 ml) a směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 2 hodin. K reakční směsi byl poté přidán nasycený vodný roztok chloridu amonného a následovala extrakce ethylacetátem. Organická vrstva byla oddělena, promyta nasyceným vodným roztokem chloridu sodného a poté vysušena bezvodým síranem sodným. Po odstranění síranu sodného filtrací bylo za vakua oddestilováno rozpouštědlo. Získaný zbytek byl chromatograficky přečištěn na silikagelové koloně (vymyto 33-66% dichlormethanem v hexanu). Získán tak byl 2,3-(methylendioxy)-5-methyl-6-[3-(terc.butyl dimethylsiloxy)-propyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridin (1,12 g, výtěžek 96 %) jako bezbarvá amorfnní tuhá látka.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ :

7,69(1H, d, $J=8,6\text{Hz}$), 7,64(1H, s), 7,57-7,35(7H, m), 7,09(1H, s), 6,96(1H, d, $J=8,6\text{Hz}$), 6,05-6,02(2H, m), 5,17(1H, d, $J=11,4\text{Hz}$), 5,09(1H, d, $J=11,4\text{Hz}$), 4,29(1H, dd, $J=9,5$ a $5,1\text{Hz}$), 3,96(3H, s), 3,45(2H, t, $J=6,8\text{Hz}$), 2,41(3H, s), 1,80-1,53(2H, m), 1,40-1,20(2H, m), 0,77(9H, s), - 0,07(3H, s), -0,09(3H, s).

Příklad 7

Syntéza 2,3-(methylenedioxy)-6-[3-(terc.butyl dimethylsiloxo)propyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinu

2,3-(methylenedioxy)-5-methyl-6-[3-(terc.butyl dimethylsiloxo)propyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridin (871 mg, 1,46 mmol) byl rozpuštěn v toluenu (30 ml) a k roztoku byl poté přidán aktivovaný oxid manganičitý (4,36 g). Směs byla míchána při 100 °C po dobu 2 hodin. Oxid manganičitý byl odstraněn filtrací. Filtrát byl poté zakonzentrován za vakua. Získaný zbytek byl přečištěn na silikagelové chromatografické koloně (vymyto 33-66% dichlormethanem v hexanu). Získán tak byl 2,3-(methylenedioxy)-6-[3-(terc.butyl dimethylsiloxo)propyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (457 mg, výtěžek 54 %) jako bezbarvý prášek.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

582([M+H]⁺);

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ :

8,73(1H, s), 8,40(1H, d, $J=9,4\text{Hz}$), 8,28(1H, d, $J=9,2\text{Hz}$), 7,75(1H, d, $J=8,8\text{Hz}$), 7,60-7,50(3H, m), 7,47-7,35(3H, m), 7,22(1H, s), 6,11(2H, s), 5,16(2H, s), 4,02(3H, s), 3,75-3,63(4H, m), 2,32-2,18(2H, m), 0,77(9H, s), 0,02(6H, s).

Příklad 8

Syntéza 2,3-(methylenedioxy)-6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinu

2,3-(methylenedioxy)-6-[3-(terc.butyl dimethylsiloxo)propyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (374,4 mg, 0,644 mmol) byl rozpuštěn v tetrahydrofuranu (3,2 ml). K roztoku byl přidán tetrabutylammoniumfluorid (1M roztok v tetrahydrofuranu, 1,9 ml).

Směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti. K reakční směsi byla přidána voda a následovala extrakce dichlormethanem. Organická fáze byla vysušena bezvodým síranem sodným a poté zakoncentrována za vakua. Získaný zbytek byl přečištěn na silikagelové chromatografické koloně (promyto dichlormethanem). Získán byl 2,3-(methylenedioxy)-6-(3-hydroxypropyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (263,7 mg, výtěžek 88 %) jako bezbarvý prášek.

Data pro tento produkt naměřená na analytickém přístroji se shodovala s daty produktu syntetizovaného v příkladu 3.

Příklad 9

Syntéza 2,3-(methylenedioxy)-5-methyl-6-[4-(terc.butyldimethylsiloxy)butyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridinu

2,3-(methylenedioxy)-5-methyl-6-[4-(terc.butyldimethylsiloxy)butyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridin byl získán (výtěžek 80 %) ve formě bezbarvé amorfni tuhé látky způsobem podobným příkladu 8. Místo 3-(terc.butyldimethylsiloxy)-propylbromidu použitého v příkladu 6 byl však použit 4-(terc.butyldimethylsiloxy)-butylchlorid.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3), δ :

7,70(1H, d, $J=8,7\text{Hz}$), 7,63(1H, s), 7,54(1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 7,54-7,32(6H, m),
7,09(1H, s), 6,96(1H, d, $J=8,6\text{Hz}$), 6,04-6,02(2H, m), 5,17(1H, d, $J=11,3\text{Hz}$),
5,09(1H, d, $J=11,3\text{Hz}$), 4,29(1H, dd, $J=7,3$ a $6,5\text{Hz}$), 3,96(3H, s), 3,48(2H, dd,
 $J=5,9$ a $5,4\text{Hz}$), 2,41(3H, s), 1,56-1,26(2H, m), 0,87-0,83(9H, m), 0,04 ~ -
0,04(6H, m).

Příklad 10

Syntéza 2,3-(methylenedioxy)-6-[4-(terc.butyldimethylsiloxy)butyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinu

2,3-(methylenedioxy)-5-methyl-6-[4-(terc.butyldimethylsiloxy)butyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-5,6-dihydrobenzo[c]fenanthridin (300 mg, 0,49 mmol) byl rozpuštěn v toluenu (8 ml). Poté byl k roztoku přidán aktivovaný oxid manganičitý (1,5 g). Směs byla zahřívána pod

zpětným chladičem po dobu jedné hodiny. Po ochlazení na teplotu místnosti byla reakční směs zředěna 10% roztokem methanolu v dichlormethanu (12ml) a zfiltrována. Filtrát byl zakoncentrován za vakua. Získaný zbytek byl přečištěn metodou sloupcové chromatografie na silikagelové koloně (vymyto dichlormethanem). Získán byl 2,3-(methylenedioxy)-6-[4-(terc.butyldimethylsiloxy)butyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (205 mg, výtěžek 70 %) jako světle hnědé krystaly.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

596([M+H]⁺);

¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ:

8,74(1H, s), 8,44(1H, d, J=9,4Hz), 8,31(1H, d, J=9,1Hz), 7,77(1H, d, J=8,8Hz), 7,58(1H, d, J=9,0Hz), 7,60-7,55(2H, m), 7,47-7,35(3H, m), 7,24(1H, s), 6,11(2H, s), 5,17(2H, s), 4,04(3H, s), 3,64(4H, m), 2,01(2H, m), 1,58(2H, m), 0,88(9H, m), 0,04(6H, m).

Příklad 11

Syntéza 2,3-(methylenedioxy)-6-(4-hydroxybutyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridinu

2,3-(methylenedioxy)-6-[4-(terc.butyldimethylsiloxy)butyl]-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (532 mg, 0,89 mmol) byl rozpuštěn v tetrahydrofuranu (6ml). Poté byla k roztoku přidána kyselina octová (102 µl, 1,78 mmol) a tetrabutylammoniumfluorid (1M roztok v tetrahydrofuranu, 1,78 ml). Směs byla míchána při teplotě místnosti. Reakční roztok byl zkoncentrován za vakua. Zbytek byl zředěn dichlormethanem (30 ml) a promyt vodou. Organická fáze byla vysušena bezvodým síranem sodným a za vakua bylo oddestilováno rozpouštědlo. Zbytek byl přečištěn na silikagelové chromatografické koloně (vymyto 1% methanolem v dichlormethanu). Získán tak byl 2,3-(methylenedioxy)-6-(4-hydroxybutyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (372 mg, výtěžek 87 %) jako světle žluté jehličky.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

482([M+H]⁺);

¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ:

8,71(1H, s), 8,45(1H, d, J=9,3Hz), 8,31(1H, d, J=9,0Hz), 7,77(1H, d, J=9,0Hz),
7,59(1H, d, J=9,3Hz), 7,61-7,55(2H, m), 7,49-7,37(3H, m), 7,24(1H, s),
6,11(2H, s), 5,17(2H, s), 4,06(3H, s), 3,65(2H, dd, J=7,8 a 7,2Hz), 3,59(2H, t,
J=6,5Hz), 2,02(2H, m), 1,64-1,50(2H, m).

Příklad 12

Syntéza 2,3-(methylendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-butano-benzo[c]fenanthridinium-chloridu (Sloučenina č. A-7) (X⁻ = Cl⁻)

2,3-(methylendioxy)-6-(3-hydroxybutyl)-7-benzyloxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridin (252 mg, 0,52 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (10 ml). K roztoku byl přidán methansulfonylchlorid (80 µl, 1,03 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (186 µl, 1,04 mmol). Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 20 minut. K reakční směsi byla přidána voda (30 ml) a směs byla extrahována dichlormethanem (30 ml). Organická fáze byla postupně promyta nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného a poté vysušena bezvodým síranem sodným. Rozpouštědlo bylo oddestilováno za vakua. Zbytek byl přečištěn na silikagelové chromatografické koloně (vymyto 0-0,5% methanolem v dichlormethanu). Získán tak byl methansulfonát (210 mg, výtěžek 72 %).

Methansulfonát (186 mg, 0,33 mmol) byl rozpuštěn v toluenu (12 ml). Roztok byl zahříván pod zpětným chladičem po dobu 2 dnů. Reakční směs byla zakoncentrována za vakua. Ke zbytku byla poté přidána kyselina octová (3 ml) a konc. kyselina chlorovodíková (1,5 ml). Směs byla míchána při teplotě 60 °C po dobu 30 minut. Reakční směs byla ochlazená na teplotu místnosti a poté zakoncentrována za vakua. Zbytek byl rozpuštěn v roztoku dichlormethanu (50 ml) a k roztoku byl přidán nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (50 ml). Směs bylo intenzivně třepáno, dokud se oranžová organická vrstva úplně nezměnila v červenonachovou. Organická vrstva obsahující sloučeninu obecného vzorce II byla oddělena a promyta vodou. K organické fázi byl přidán methanol (10 ml) a 1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (1 ml). Získaný roztok byl protřepán (roztok opět zoranžověl). Roztok byl zakoncentrován za vakua. Zbytek byl chromatograficky

přečištěn na silikagelové koloně (vymyto 8% roztokem methanolu v dichlormethanu).
Získána tak byla sloučenina č. A-7 (X = Cl) (86 mg, výtěžek 64 %) jako oranžový prášek.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

374(M⁺);

UV $\lambda_{\max}$ nm:

(v 1M HCl) 446, 345, 325, 275,

(při pH9) 495, 353, 335, 283;

¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ :

11,41(1H, brs), 8,66(1H, d, J=9,2Hz), 8,47(1H, d, J=9,2Hz), 8,19(1H, d, J=8,8Hz), 8,05(1H, d, J=9,0Hz), 7,90(1H, s), 7,70(1H, s), 6,31(2H, s), 5,11(2H, m), 4,26(2H, m), 4,08(3H, s), 2,05-1,87(2H, m), 1,85-1,67(2H, m).

Příklad 13

Syntéza N-((2'-benzyloxy)-3'-methoxy-6'-brombenzyl)-1-anthrylaminu

2-benzyloxy-3-methoxy-6-brombenzaldehyd (8,32 g, 23,2 mmol) připravený způsobem popsaným v J.C.S. Perkin I, 1221 (1976) a v J. Org. Chem., 53, 1708 (1988) a 1-aminoanthracen (ALDRICH, 90 %, 5,00 g, 23,3 mmol) byl rozpuštěn v toluenu (230 ml). Za intenzivního míchání byl roztok zahříván pod zpětným chladičem při teplotě 120 °C po dobu 2 hodin. Při zahřívání na 120 °C byl postupně během 3 hodin k reakční směsi přidáván toluen (180 ml) a současně bylo oddestilovááno rozpouštědlo. Po ochlazení na teplotu okolí byl ke směsi přidán toluen (70 ml). Za chlazení vodou byl k získané směsi postupně přidán dimethylamin-boranový komplex (1,03 g, 17,5 mmol) a kyselina octová (30 ml). Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 75 minut a poté byl ke směsi za chlazení vodou přidán 1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (130 ml). Reakční směs byla zfiltrována. Filtrát byl rozdělen na organickou a vodnou fázi. Vodná fáze byla extrahována toluenem (200 ml x 2) a frakce byla smísená s organickou fází získanou dříve. Sloučená směs byla vysušena bezvodým siranem sodným. Rozpouštědlo bylo oddestilováno za vakua. Zbytek byl chromatograficky přečištěn na silikagelové koloně (vymyto 10% roztokem ethylacetátu v hexanu). Získán byl N-((2'-benzyloxy)-3'-methoxy-6'-brombenzyl)-1-anthrylamin (12,77 g, kvantitativní výtěžek) jako žlutý prášek.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ :

8,86(1H, s), 8,38(1H, s), 7,98(2H, m), 7,50-7,07(10H, m), 6,57(1H, m),
6,20(1H, t, $J=4,5\text{Hz}$), 5,05(2H, s), 4,47(1H, s), 4,44(1H, s), 3,90(3H, s).

Příklad 14

Syntéza 8-benzyloxy-9-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridinu

N-((2'-benzyloxy)-3'-methoxy-6'-brombenzyl)-1-anthrylamin (10,81 g, 21,70 mmol) byl rozpuštěn v toluenu (1 l) a k roztoku přidáno trioktylhydridostannium (19,95 g, 43,43 mmol). Směs byla ohřáta na 105 °C. Následně byl ke směsi přidán 2,2'-azobis(2-methylbutyronitril) (8,36 g, 43,46 mmol). Roztok byl zahříván pod zpětným chladičem po dobu 2 hodin při teplotě 120 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti byl k získané směsi přidán aktivovaný oxid manganičitý (10,81 g). Směs byla míchána po dobu 30 minut. Ke směsi byl přidán ethanol (200 ml) a z reakčního roztoku byl poté filtrací odstraněn oxid manganičitý. Filtrát byl zakoncentrován za vakua. Získaný zbytek byl krystalizován ze směsi rozpouštědel hexan - dichlormethan. Získán tak byl 8-benzyloxy-9-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridin (4,04 g, výtěžek 45 %) jako světle žlutý prášek.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

416($[M+H]^+$):

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ :

9,82(1H, s), 9,65(1H, s), 8,67(3H, m), 8,37-8,15(3H, m), 7,94(1H, d, $J=9,3\text{Hz}$),
7,60(4H, m), 7,40(3H, m), 5,35(2H, s), 4,10(3H, s).

Příklad 15

Syntéza 8-hydroxy-9-methoxy-6,7-propano-nafto[2,3-c]fenanthridiniumchloridu (Sloučenina č. A-9) ($X^- = Cl^-$)

8-benzyloxy-9-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridin (231 mg, 0,56 mmol) byl suspendován v acetonitrilu (80 ml) a k suspenzi byla přidána trifluoroctová kyselina (43 μl , 0,56 mmol), 3-brom-1-propanol(51 μl , 0,56 mmol) a tris(trimethylsilyl)silan (346 μl , 1,12 mmol). Směs byla míchána při 80 °C na olejové lázni. Po rozpuštění suspendované hmoty byl k roztoku přidán azobis(isobutyronitril) (184 mg, 1,12 mmol) a směs byla zahřívána pod

zpětným chladičem. Po hodině byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti. Ke zbytku byl přidán nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) a následovala extrakce dichlormethanem. Organická vrstva byla promyta vodou a vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo bylo oddestilováno za vakua. Zbytek byl prolyt silikagelovou kolonou (vymyto 1% methanolem v dichlormethanu). Shromážděny byly hlavní frakce a rozpouštědlo bylo oddestilováno za vakua. Zbytek byl rozpuštěn v toluenu (3 ml) a k roztoku byl přidán aktivovaný oxid manganičitý (100 mg). Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 90 minut. Oxid manganičitý byl odfiltrován a filtrát byl zakoncentrován za vakua. Získán tak byl surový 7-(3-hydroxypropyl)-8-benzyloxy-9-methoxy-nafto[2,3-c]fenanthridin (83 mg) jako hnědá suchá hmota.

Surový produkt byl rozpuštěn v dichlormethanu (3 ml). K roztoku byl přidán methansulfonylchlorid (13 μ l, 0,17 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (30 μ l, 0,17 mmol). Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 45 minut. K reakční směsi byl přidán methanol (1 ml) a směs byla poté zakoncentrována za vakua. Získána tak byla suchá žlutohnědá sirupovitá hmota. Tato hmota byla rozpuštěna v kyselině octové (1,2 ml) a konc. kyselině chlorovodíkové (0,6 ml). Roztok byl míchán při 60 °C po dobu 25 minut na olejové lázni. Reakční roztok byl poté ochlazen na teplotu místnosti a přidán byl nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (100 ml). Směs byla poté extrahována dichlormethanem. Organická fáze obsahující sloučeninu obecného vzorce II byla oddělena, promyta vodou a poté vysušena bezvodým síranem sodným. Síran sodný byl odfiltrován a k roztoku byl přidáván 4M roztok chlorovodíku v dioxanu až po úplné zoranžování roztoku. Roztok byl zakoncentrován za vakua. Zbytek byl přečištěn metodou sloupcové chromatografie na silikagelové koloně (vymyto 8-12% methanolem v dichlormethanu) a poté Sephadex LH-20 gelovou filtrační chromatografií (vymyto 20% roztokem methanolu a 5 mM kyseliny chlorovodíkové ve vodě). Získána tak byla sloučenina č. A-9 ($X^- = Cl^-$) (10 mg, výtěžek 4 %) jako zlatožlutý prášek.

FAB-MS(v pozitivním modu)m/z:

366(M^+);

1H -NMR(200MHz, DMSO- d_6) δ :

11,43(1H, brs), 9,56(1H, s), 8,88(1H, s), 8,81(1H, d, $J=9,5$ Hz), 8,61(1H, d, $J=9,2$ Hz), 8,47(1H, d, $J=9,2$ Hz), 8,46(1H, m), 8,24(1H, m), 8,17(1H, d,

$J=9,2\text{Hz}$), 7,80-7,72(2H, m), 5,77(2H, brt, $J=7,1\text{Hz}$), 4,28(2H, brt, $J=7,7\text{Hz}$), 4,11(3H, s), 2,51(2H, m).

Příklady farmakologických testů

U sloučenin, které jsou předmětem tohoto vynálezu, byly testovány protinádorové účinky a takto získané výsledky jsou ukázány níže. Fenanthridiniové deriváty obecného vzorce I bránily růstu nádorových buněk, jak je ukázáno níže.

1. Bránění růstu rakovinných buněk

Buňky rakoviny lidské dělohy HeLa S3 byly inkubovány při 37 °C po dobu 24 hodin v 5% CO₂. Poté byla testovaná sloučenina uvedena do kontaktu s buňkami na dobu 72 hodin. Buňky byly poté obarveny 0,05% methylenovou modří. Barvivo bylo extrahováno z obarvených buněk. Inhibice růstu buněk byla určena na základě absorbance při 660 nm a spočtena byla koncentrace 50% růstové inhibice (IC₅₀). Výsledky jsou uvedeny v Tab. 2.

Tab. 2

Sloučenina č.	Koncentrace 50% inhibice	
	(IC ₅₀)	(μM)
A-4 (X = Cl)	0,17	
A-7 (X = CF ₃)	5,6	

2. Protinádorový účinek na rakovinné buňky *in vivo*

Buňky leukémie myši P388 byly intravenosně vstříknuty 6 týdnů starým samicím CDF1 myši v dávce 10⁵ buněk/myš. 5% glukózový vodný roztok 2,3-(methylendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniumchloridu (Sloučenina č. A-4 tohoto vynálezu, (X = Cl)) byl intravenosně vstříknut v jediné dávce den po transplantaci nádoru. Protinádorový účinek byl vyhodnocen porovnáním poměru (T/C %) počtu přežitých dnů ku střednímu počtu přežitých dnů v kontrolní skupině (5 myši). Výsledky jsou uvedeny v Tab. 3.

Tab. 3

Sloučenina č.	Dávka (mg/kg/den)	Přežité dny (den)	Účinek (T/C %)
A-4 (X = Cl)	100	>30	>357
	75	>30	>357
	50	21	250
	25	14	167
Kontrolní skupina	-	8,4	100

*Podán byl fyziologický roztok

3. Akutní toxicita

Akutní toxicita byla stanovena intravenosním vstříknutím 2,3-(methylendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniumchloridu (Sloučenina č. A-4 tohoto vynálezu, (X = Cl)) 6 týdnů starým samicím CDF1 myši. Zvířata přečkala i dávku 100 mg/kg bez úmrtí.

Příklad 16

Farmaceutické preparáty

Po odvážení 1 g 2,3-(methylendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniumchloridu (Sloučenina č. A-4 tohoto vynálezu, X = Cl), 1 g polysorbátu a 1 g Macrogol-u 400 jsou tyto sloučeniny dispergovány a rozpuštěny ve 100 g sterilní vody na injekci. Roztok je přefiltrován přes membránový filtr. Filtrát je rozdělen do ampulek a lyofilizován obvyklým způsobem. Získán je tak injekční preparát obsahující sloučeninu č. A-4 (X = Cl) v množství 50 mg na ampuli.

Příklad 17

Chemická redukce

Sloučenina, která je předmětem tohoto vynálezu, (0,1 mg/ml vodný roztok, 0,1 ml) byla naředěna methanolem (1,0 ml). K roztoku byl přidán vodný roztok

18.06.99

kyanotrihydroboritanu sodného (4 mg/ml, 0,02 ml). Směs byla ponechána stát při teplotě místnosti. Reakce byla ukončena přidavkem 1% vodného roztoku kyseliny fosforečné (1 ml) ke směsi. Zbytkové množství sloučeniny bylo určeno metodou vysokoúčinnosti kapalinové chromatografie. Podobná reakce byla provedena s 2,3-(methylendioxy)-5-methyl-7-hydroxy-8-methoxy-benzo[c]fenanthridiniumhydrogensíranem jako kontrolní látkou. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4

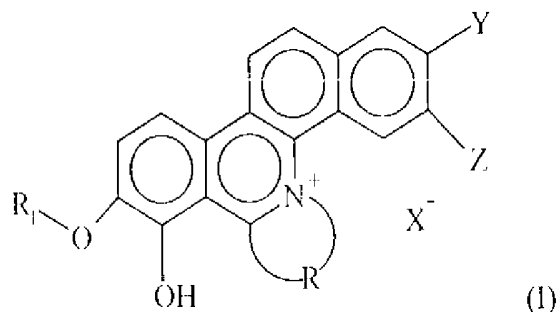
Sloučenina č.	Množství sloučeniny zbylé po redukci
A-4 (X = Cl)	50
A-7 (X = Cl)	100
Kontrolní látka	0

Průmyslová využitelnost

Fenanthridiniový derivát, které je předmětem tohoto vynálezu, vykazuje protinádorové účinky, je odolný vůči chemické redukci a biologickým metabolickým reakcím a je tedy velice vhodný jako léčivo.

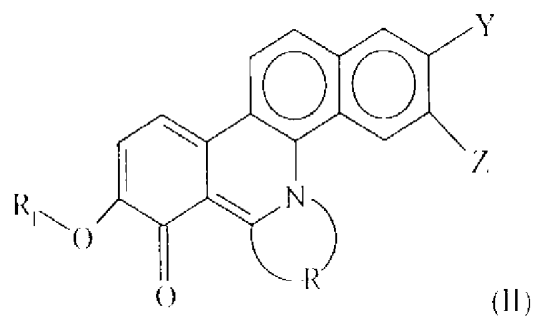
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Fenanthridiniový derivát obecného vzorce I:



kde R_1 je substituovaná nebo nesubstituovaná nižší alifatická uhlovodíková skupina; R je alifatický uhlovodíkový řetězec se 2 až 6 uhlíkovými atomy, který může být substituován substituentem vybraným ze skupiny zahrnující nižší alkylovou skupinu, halogen a hydroxylovou skupinu; Y a Z značí nezávisle vodíkový atom, hydroxylovou nebo nižší alkoxy skupinu nebo jsou Y a Z spojeny do methylenedioxy- nebo fenylového kruhu a X^- je zbytek kyseliny nebo zbytek kyseliny obsahující kyselý vodík.

2. Fenanthridiniový derivát obecného vzorce II:



kde R_1 je substituovaná nebo nesubstituovaná nižší alifatická uhlovodíková skupina; R je nižší alifatický uhlovodíkový řetězec se 2 až 6 uhlíkovými atomy, který může být substituován substituentem vybraným ze skupiny zahrnující nižší alkylovou skupinu, halogen a hydroxylovou skupinu; Y a Z značí nezávisle atom vodíku, hydroxylovou nebo nižší alkoxy skupinu nebo jsou Y a Z spojeny do methylenedioxy- nebo fenylového kruhu.

3. Fenanthridiniový derivát podle nároku 1 nebo 2, kde R_1 je methyl, ethyl, allyl, 2-hydroxyethyl, 2-methoxyethyl, 2-acetoxyethyl, karbamoylmethyl nebo trifluormethyl; R je nesubstituovaný polymethylenový řetězec se 3 až 4 uhlíkovými atomy a Y a Z jsou spojeny do methylendioxy- nebo fenylového kruhu.
4. 2,3-(methylendioxy)-7-hydroxy-8-methoxy-5,6-propano-benzo[c]fenanthridiniová sůl.
5. Farmaceutický prostředek, vyznačující se tím, že obsahuje fenanthridiniový derivát podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4 jako aktivní složku společně s farmakologicky přijatelným nosičem.
6. Farmaceutický prostředek podle nároku 5, vyznačující se tím, že je použit pro léčení nebo prevenci nádorových onemocnění.
7. Fenanthridiniový derivát podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, který je použit jako aktivní složka farmaceutického prostředku.
8. Použití fenanthridiniového derivátu podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4 pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci nádorových onemocnění.
9. Způsob léčení nebo prevence nádorového onemocnění, vyznačující se tím, že je člověku v účinných dávkách podáván fenanthridiniový derivát podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4.