

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

293 326

(13) Druh dokumentu:

B6

(51) Int. Cl. :⁷

A 61 K 31/18

C 07 C 311/16

C 07 C 311/29

C 07 C 311/19

A 61 P 19/02

A 61 P 19/10

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1997-4193**
(22) Přihlášeno: **17.06.1996**
(30) Právo přednosti: **23.06.1995 IT 1995MI/1357**
(40) Zveřejněno: **15.07.1998**
(Věstník č: 07/1998)
(47) Uděleno: **05.02.04**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **14.04.2004**
(Věstník č: 4/2004)
(86) PCT číslo: **PCT/EP1996/002597**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 1997/000675**

(73) Majitel patentu:

H-GEN B.V., Amsterdam, NL

(72) Původce:

Benetti Dino, Pisa, IT

Aloisi Ruggero, Pisa, IT

Guainai Giuseppe, Pisa, IT

Rosini Sergio, Pisa, IT

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:

Použití mono- a disulfosubstituovaných anthrachinonů pro přípravu léčiva, mono- a disulfosubstituované anthrachinony, způsob jejich přípravy a farmaceutický prostředek

(57) Anotace:

Použití mono- a disulfosubstituovaných anthrachinonů pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení patologických stavů, při nichž se vyskytuje poškození chrupavčité a kostní matrice. Součástí řešení tvoří také nové sloučeniny z uvedené skupiny, způsob jejich výroby a farmaceutický prostředek, který tyto látky obsahuje.

CZ 293326 B6

Použití mono- a disulfosubstituovaných anthrachinonů pro přípravu léčiva, mono- a disulfosubstituované anthrachinony, způsob jejich přípravy a farmaceutický prostředek

5 Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká sloučenin použitelných pro léčbu patologií, při kterých se vyskytuje eroze chrupavčité a kostní matrice v nejpokročilejším stadiu onemocnění, jako je osteoartróza a reumatoidní artritida, a farmaceutických prostředků, které je obsahují. Dále se vynález týká nových anthrachinonových derivátů a procesů pro jejich přípravu.

Dosavadní stav techniky

15 Osteoartróza je léčena zejména substancemi působícími na bolest a vykazujícími svůj symptomatický účinek díky jejich protizánětlivé aktivitě. Uvedené látky jsou obvykle označovány jako nesteroidní protizánětlivé látky (NSAID) jako je například indomethacin a steroidní léky, jako je například hydrokortison a bethametason.

20 Jinými používanými sloučeninami jsou látky, chelatující měď, jako je penicilamin, a sloučeniny, které interferují se syntézou kolagenu, DNA nebo synoviálních membrán, jako je cyklofosfamid.

Mezi nové substance používané u výše uvedených patologií patří diacetylrhein, prekurzor rheinu, který působí jako činidlo chelatující měď a navíc inhibuje tvorbu ceruloplasminu v průběhu akutní fáze artritického zánětu a je také vápníkovým chelatačním činidlem, vytvářejícím rozpustné komplexy s vápníkem díky solubilizační COOH skupině přítomné v jeho struktuře. Taková charakteristika tvorby rozpustných komplexů s vápníkem má pravděpodobně prvořadý význam, protože neumožňuje tvorbu a precipitaci mikrokystalů v kloubech a tak zabraňuje zánětlivým reakcím z tohoto vycházejícím (Friedman, patent US 4 244 968 z 13.1. 1981). Kromě toho, rhein, inhibuje tvorbu a uvolňování superoxidového aniontu z NADPH-dependentních biologických systémů (Mian M. et al., J. Pharm. Pharmacol. 39: 845 – 847, 1987) a aktivitu serinových proteas, jako je elastasa a kathepsin G u lidí (Raimondi I. et. al., Pharmacol. Res. Comm., 14 (2): 103 – 112, 1982); Zembower DE. et al., J. Med. Chem. 35: 1597 – 1605, 1992).

35 Další farmakologické a klinické studie popsané v literatuře zjistily, že, kromě výše uvedených mechanismů, účinkují jiné patologické mechanismy u onemocnění postihujících klouby, způsobujících eroze chrupavčité a kostní matrice.

Mezi takovými mechanismy by mělo být zdůrazněno zvýšení některých enzymových aktivit nebo nerovnováha mezi takovými aktivitami a jejich inhibitory. Jak bylo nedávno zjištěno některými výzkumníky. Cysteinové proteasy, jako je kathepsin B a L, jsou enzymy přísně napojené na degradaci chrupavky a proto jsou ve vztahu s uvedenými patologiemi. V literatuře bylo mnohokrát popsáno, že cystainové proteasy kathepsin B a L jsou schopné přímo nebo nepřímo (aktivací proenzymů) indukovat degradaci hlavních složek chrupavčité a kostní extracelulární matrice (Roughley PJ. et al., Biochem. J. 167: 639 – 637, 1977; Sakamoto S. et al., MOL. Aspects Med. 10: 299 – 428, 1988; Nguyen PJ. et al., Biochem. J. 1991 Aug. 15: 278 (pt 1); Maciewicz RA: et al., Biochem. Biochim. Acta 50 (4 – 6): 561 – 4,; 1991; Buttle DJ: Arthritis Rheum 36 (12): 1709 – 17, 1993; pelletier JP. et al., Osteoarthritis 19 (3): 545 – 568, 1993).

50 Kromě toho, zájem o tyto enzymatické aktivity byl potvrzen studiemi provedenými na laboratorních zvířatech (krysách), u kterých byla indukována reumatoidní artritida. U uvedených zvířat byl hodnocen účinek inhibitorů cysteinových proteas, jako jsou fluoromethylketony, na rozvoj onemocnění a zejména na rozvoj kloubních lézí chrupavky a kosti.

Výsledky uvedených studií ukazují, že inhibitory enzymů mohou mít klinický význam v léčbě artritidy (Ahmed NK. et al., Biochem. Pharmacol. 44 (6): 1201 – 7, 1992; Meijers M., Billingham M. et al., Agents actions 39 (1): 219 – 21, 1993; Esser RE. et al., J. Rheumatol. 20 (7): 1176 – 83, 1993).

5

Jiní autoři (Gabrijelcic D. et al., J. Clin. Chim. Biochem. 28 (3): 149 – 53, 1990) dokázali přítomnost kathepsinu B a H v synoviální tekutině pacientů s různými onemocněními kloubů, zatímco Martel-Pelletier J. et al., J. Orthop. 8 (3): 336, 1990, ukázal přítomnost nerovnováhy mezi hladinami kathepsinu B a jeho inhibitorů v chrupavčité tkáni od pacientů s osteoartrózou.

10

Huet et al., Arthritis Rheum. 36 (3): 772, 1993) ukázal, že IL-1 a TNF stimulují aktivitu cysteinových proteas v synoviálních buňkách explantátů od pacientů postižených osteoartrózou a artritidou.

15

Z toho, co bylo uvedeno výše, je zřejmé, že cysteinové proteasy jsou aktivně zapojeny v osteoartróze a artritidě, a proto že použití terapeutických agens významně inhibujících aktivitu uvedených proteas je oprávněné.

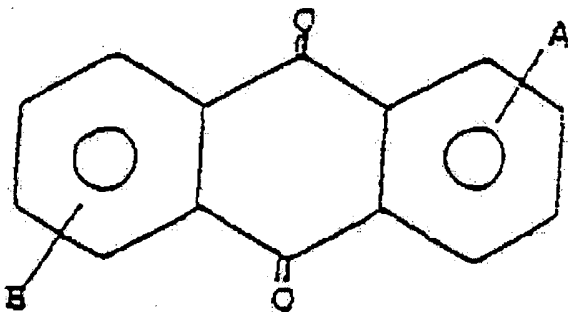
20

Nyní bylo překvapivě zjištěno, že deriváty anthrachinonových mono- a disulfonových kyselin mají významnou aktivitu proti cysteinovým proteasám.

Podstata vynálezu

25

Předmětem vynálezu je použití mono- a disulfosubstituovaných anthrachinonů obecného vzorce I,



(I),

kde

30

A je skupina vzorce $-\text{SO}_2\text{R}$, kde R je vodík nebo kation schopný poskytnout ve vodě rozpustný farmakologicky přijatelný derivát, nebo

35

A je skupina vzorce $-\text{SO}_2\text{R}^1$, kde R^1 je NR^2R^3 skupina, ve které je R^2 vodík nebo $\text{C}_1\text{--C}_6$ přímý nebo rozvětvený alkyl, R^3 je $-\text{CH}(\text{COOH})\text{--R}^5$, kde R^5 je $\text{C}_1\text{--C}_6$ alkyl nebo $\text{C}_7\text{--C}_{12}$ arylalkyl; $-(\text{CH}_2)_n\text{--COOH}$, kde n je celé číslo od 1 do 6, $\text{C}_1\text{--C}_6$ přímý nebo rozvětvený alkyl, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{--O--}(\text{CH}_2)_m\text{--CH}_3$, kde m je celé číslo od 1 do 4, nebo

40

R^1 je $-\text{OR}^4$ skupina, kde R^4 je $\text{C}_1\text{--C}_6$ přímá nebo rozvětvená alkyl skupina nebo $\text{C}_6\text{--C}_{10}$ aryllová skupina, popřípadě substituovaná substituentem ze skupiny aminoskupina, $\text{C}_1\text{--C}_6$ alkylamino skupina, hydroxyskupina, $\text{C}_1\text{--C}_6$ alkoxy skupina nebo merkaptoskupina,

B je atom vodíku, nebo

B má stejný význam jako A, s výjimkou případu, že A a B jsou simultánně $-\text{SO}_3\text{R}$ nebo $-\text{SO}_2\text{R}^1$, pro přípravu léčiva pro léčení patologií, při kterých se vyskytují eroze chrupavčité a kostní matrice při nejpokročilejším stadiu onemocnění.

- 5 Výraz „kation schopný poskytnout ve vodě rozpustný derivát“ znamená kationty, které mají solubilizující funkci a zároveň dávají vznik netoxickým derivátům, které neovlivňují nežádoucím způsobem farmakologickou aktivitu sloučenin vzorce I. Příklady uvedeného typu kationtů jsou kationty kovů jako je lithium, sodík, draslík.

- 10 Příklady C_1 – C_6 přímé nebo rozvětvené alkyl skupiny jsou methyl, ethyl, propyl, izopropyl, butyl, izobutyl, terc.butyl, pentyl, hexyl.

Příklady C_7 – C_{12} arylalkyl skupiny jsou benzyl, 2-fenylethyl, 1-fenylethyl, 3-fenylpropyl, 1-naftylmethyl, 2-naftylmethyl.

- 15 Příklady C_6 – C_{10} skupiny jsou fenyl, naftyl. Případnými substituenty mohou být například amino, mono- nebo $-(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ -alkylamino, jak je diethylamino, hydroxy, C_1 – C_6 alkoxy, jako je izopropoxy, merkaptoskupina.

- 20 V obecném vzorci I jsou zahrnuty následující nové sloučeniny podle předkládaného vynálezu:

2,6-antrachinonsulfonamido-*N,N*-kapronová kyselina,

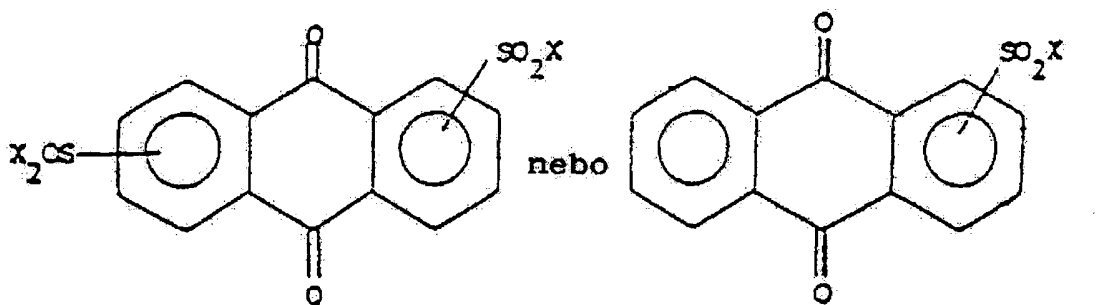
N,N-diethyl-2,6-antrachinondisulfonamid;

- 25 *N,N*-(*p*-ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamid.

Antrachinonové dibazické sulfonamidy s antivirovou aktivitou byly popsány M. Grisarem et al., v Journal of Medicinal Chemistry, 1974, svazek 17, č. 8. str. 890 – 893.

- 30 Antrachinonové sulfonamidy jsou popsány v GB 2 025 954 jako obecně použitelné jako meziprodukty pro barviva, chemické produkty pro zemědělství a farmacii. Zejména jsou popisovány jako složky pro vodné roztoky pro odstraňování sirovodíku z plynů.

- 35 Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou být připraveny z antrachinonové mono- a/nebo disulfonové kyseliny prostřednictvím meziproduktů



kde X je halogen, zejména chlor.

- 40 O takových meziproduktech je známo, že mohou být připraveny reakcí mono- nebo disulfonové kyseliny s kyselinou chlorsulfonovou nebo s chloridem fosforečným nebo s oxychloridem fosforitým nebo se směsí posledních dvou.

Výsledný halogenovaný derivát se uvede do reakce se sloučeninou obecného vzorce HNR^2R^3 .

Techniky, které mohou být použity pro poslední krok se liší podle R^2 a R^3 , čistoty a výtěžku. V některých případech reaguje chlorid kyseliny sulfonové s NHR^2R^3 ve značném přebytku, zatímco v jiných případech je výhodné provedení reakce ve vhodném rozpouštědle; jako příklad vhodného rozpouštědla mohou být uvedeny ethylether nebo methylenchlorid. Pokud je vhodná přítomnost báze, pak jsou výhodné báze jako jsou aminy, například triethylamin a paradimethylaminopyridin.

Podmínky reakce závisejí na vlastnostech reakčních složek, rozpouštědla a na přítomnosti nebo na absenci báze stejně jako na jejím množství, pokud je nějaká přítomna. Rozmezí teplot je od $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ do teploty varu rozpouštědla. Nejvhodnější operativní podmínky jsou v rozsahu od $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakční časy se velmi liší v závislosti na jiných parametrech, ale obvykle jsou v rozsahu od 2 hodin do 3 dnů.

Analogicky halogenovaný derivát reaguje s alkoholem R^1OH , kde R^1 je C_1-C_6 alkyl za vzniku esteru kyseliny sulfonové. Preferovaná metoda spočívá v reakci sodné soli kyseliny sulfonové s kyselinou chlorsulfonovou v přebytku při teplotě místnosti po asi 24 hodin.

Potom je sulfurylchlorid odstraněn filtrací, po hydrolyze přebytku kyseliny chlorsulfonové vodou a ledem. Sulfurylchlorid reaguje s aminem NHR^1R^2 nebo s alkoholem R^3OH , kde R^1 , R^2 a R^3 mají význam definované výše, s výhodou při teplotě místnosti a za přítomnosti terciálních aminů, zejména pokud je reakce prováděna v rozpouštědle.

Antrachinonmono- a disulfonové kyseliny a substituované deriváty podle předkládaného vynálezu jsou značně účinné v různých farmakologických testech.

Například jsou popsány experimentální výsledky některých enzymových testů provedených s mono- a disulfonovými deriváty majícími SO_3R skupiny v poloze 1,5 a 2,6 (viz tabulky 1 a 2).

Účinky na enzymatickou aktivitu lidského kathepsinu B a L.

Antrachinonmonosulfonované a disulfonované sloučeniny jsou rozpuštěny v destilované vodě, zatímco jejich deriváty jsou rozpuštěny v dimethylsulfoxidu. Koncentrace testovaného produktu je přidána do reakční směsi v objemu 100 μl .

Složení reakční směsi: 0,005 M octanového pufru pH 6,0 + 2 mM cysteinu + 1 mM EDTA; Enzym 1 U/ml (kathepsin B nebo L) (Calbiochem); substrát 0,2 mM Z-Phe-Arg-AMC (Novabiochem), konečný reakční objem 2 ml; teplota $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; pozorovací čas pro kathepsin B: 2 minuty; pro L: 8 minut. Toto je fluorimetrické určení, kde excitační vlnová délka je 380 nm, kde emisní vlnová délka je místo toho 460 nm. Fluorescence je odečítána na Perkin-Elmer spektrofotometru model LS-3B.

Studované koncentrace:

Antrachinon-2,6-disulfonová kyselina : 1 – 5 – 10 μM
 Antrachinon-1,5-disulfonová kyselina : 1 – 5 – 10 μM
N,N-(*p*-ethoxyfenyl)-2,6-antrachinon
 disulfonamid : 1 – 10 μM

Výsledky popsané v tabulkách 1 a 2 ukazují, že testované sloučeniny významně inhibují aktivitu lidského kathepsinu B a L.

Tabulka 1 – Účinek antrachinon mono- a disulfonových kyselin na enzymatickou aktivitu lidského kaphepsinu B

Sloučenina	Konc. μm	Pokus č.			% Inhibice
		1	2	3	
2,6-antrachinondisulfonová kyselina	10	98,9	98,2	87,7	94,9
	5	68,5	65,8	76,0	70,1
	1	43,7	33,7	38,5	40,7
1,5-antrachinondisulfonová kyselina	10	55,1	36,6	41,6	44,4
	5	10,3	7,2	11,4	9,6
	1	4,1	3,6	2,5	3,4
<i>N,N'</i> -(<i>p</i> -ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamid	10	76,6	80,6	83,4	80,2
	1	23,7	18,6	14,8	19,0

5

Tabulka 2 – Účinek antrachinonmono- a disulfonových kyselin na enzymatickou aktivitu lidského kathepsinu L

Sloučenina	Konc. μm	Pokus č.			% Inhibice
		1	2	3	
2,6-antrachinondisulfonová kyselina	10	92,1	96,5	94,8	94,5
	1	39,6	31,4	35,8	35,6
1,5-antrachinondisulfonová kyselina	10	48,6	60,5	53,9	54,3
	1	10,5	8,4	5,5	8,1
<i>N,N'</i> -(<i>p</i> -ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamid	10	53,6	48,1	63,8	55,2
	1	8,5	7,1	10,9	8,8

10 Adjuvantní artritida

Test hodnotí účinek antrachinon-2,6-disulfonové kyseliny a *N,N'*-diethylantrachinon-2,6-disulfonamidu na revmatoidní artritidu u krys indukovanou podáním kompletního Freaudova adjuvans. Diacetylrhein byl použit jako kontrola.

15

Pro test byli albíni krys Sprague Dawley o hmotnosti 200 ± 10 g rozděleni do čtyřech skupin po šesti zvířatech. Všechny sloučeniny byly podány orálně v dávce 20 mg/kg. Artritida byla indukována podáním 5 mg kompletního Freudova adjuvans suspendovaného v 0,05 ml parafinového oleje všem zvířatům, do levé zadní tlapy (před léčbou byl měřen objem obou zadních tlapek). Léčba testovanými produkty začala 5 dnů po indukci artritidy a byla prováděna po dobu deseti dnů. Na konci této doby byla zvířata usmrcena pro provedení analýzy následujících parametrů: měření objemu levé a pravé zadní tlapy; Rtg v laterální a předozadní poloze tibio-tarsálního kloubu levé tlapy; histologického vyšetření kloubů obou zadních tlapek.

25 Získané výsledky ukazují, že antrachinon-2,6-disulfonová kyselina a *N,N'*-diethylantrachinon-2,6-disulfonamid inhibují o 18,6 a 21,4 %, v příslušném pořadí, zvýšení objemu levé zadní tlapy, zatímco diacetylrhein způsobuje 8,3 % snížení. Účinek dvou disulfonovaných sloučenin na zvýšení objemu pravé tlapy byl mnohem výraznější. Skutečně byla pozorována inhibice 67,5 a 62,3 % (antrachinon-2,6-disulfonová kyselina a *N,N'*-diethylantrachinon-2,6-disulfonamid)

- oproti úplnému chybění aktivity u diacetylrhein (viz tabulka 3). Dále, radiografie ukázala, že dvě disulfonované sloučeniny inhibují ztrátu kostní hmoty a signifikantně chrání tibio-tarsální skloubení. Mimo to je z histologického vyšetření skloubení zřejmé, že disulfonované sloučeniny výrazně inhibují tvorbu fibrosní tkáně ve skloubení, zatímco tato fibrosní tkáň je významně přítomna ve skloubení u kontrolní skupiny a u skupin ošetřených diacetylrheinem.

Tabulka 3 – Účinek antrachinonmono- a disulfonových kyselin na edem indukovaný Freundovým kompletním adjuvans

Sloučenina	Dávka mg/kg/os	Objem zvýšení edemu po 15 dnech	
		levá tlapka	pravá tlapka
Kontrola	–	252 ± 26	77 ± 29
2,6-antrachinondisulfonová kyselina)	20	205 ± 41	25 ± 20
<i>N,N'</i> -diethyl-2,6-antrachinondisulfonamid	20	198 ± 31	29 ± 12
Diacetylrhein	20	231 ± 22	92 ± 30

Tato ochranná aktivita je také dokázána histologickými vyšetřeními provedenými na tibio-tarsálním skloubení krys.

- Oproti rheinu nejsou uvedené produkty chelatačními činidly pro měď ani vápník, neinhibují produkci a uvolňování superoxidových aniontů z NADPH-dependentních biologických systémů, neinhibují aktivitu superoxid dismutasy, nejsou inhibitory serinových proteas, nejsou mutageny v Amesově testu a nezpůsobují chromosomální aberace.
- Test indukce chromosomálních aberací
- Klastogenetický účinek rheinu a 2,6-antrachinondisulfonové kyseliny byl hodnocen za použití testu indukce chromosomálních aberací v buněčných kulturách ovarií čínského křečka (CHO). V tomto testu se na buněčnou linii působí testovanými látkami a vhodnými kontrolami, za přítomnosti metabolického aktivního systému po dobu čtyř hodin. Potom se na buňky v exponenciální fázi růstu působí kolchicinem (Colcemid[®]) po dobu 909 minut tak, aby byl získán signifikantní počet buněk v metafázi a buňky se odeberou pro přípravu chromosomální suspenze. Jako pozitivní standard byl použit cyklofosfamid (1 – 5 – 10 – 12,5 – 25 µg/ml).
- Toxicita testované sloučeniny je hodnocena pomocí testu účinnosti pěstování na plotnách, působením na buňky po dobu čtyř hodin a potom jejich přeočkováním v koncentraci 200 buněk/5 ml čerstvého kultivačního média.
- Na základě výsledků získaných v tomto testu jsou vybrány dávky pro ošetření v testu indukce chromosomálních aberací tak, že nepřesahují, v nejvyšší dávce, 50% hladinu toxicity.

Vybrané dávky byly:

- rhein: 25 – 50 – 100 – 200 µg/ml
- 2,6-antrachinondisulfonová kyselina 50 – 100 – 150 – 200 – 250 µg/ml

Chromosomální aberace jsou zaznamenávány popisem typu strukturálního poškození. Aberace počtu a mezery jsou odstraněny. Jsou vybrány metafáze vykazující dobré otevření chromosomu,

dobré barvení a akceptovatelný počet chromosomů (20 ± 2). Pro statistické hodnocení výsledků je použit kvadratický chí test.

Výsledky ukazují, že 2,6-antrachinondisulfonová kyselina neindukuje žádné chromosomální aberace, zatímco rhein je pozitivní v dávkách 100 a 200 $\mu\text{g/ml}$ (viz tabulky 4 a 5).

Tabulka 4 – Test chromosomálních aberací na ovariálních buňkách čínského křečka

Sloučenina	Dávka	Metafáze celkem	Metafáze s aberacemi	P
Kontrola + S – 9	//	220	13	
CPS + S – 9	10 $\mu\text{g/ml}$	32	12	P<0,001
	5 $\mu\text{g/ml}$	100	25	P<0,001
	1 $\mu\text{g/ml}$	100	10	N.S
	250 $\mu\text{g/ml}$	100	6	N.S
2,6-antrachinondisulfonová kyselina + S – 9	200 $\mu\text{g/ml}$	100	8	N.S
	150 $\mu\text{g/ml}$	100	8	N.S
	100 $\mu\text{g/ml}$	100	4	N.S
	50 $\mu\text{g/ml}$	100	2	N.S

CPS = Cyklofosfamid

S – 9 = metabolický aktivační systém

Tabulka 5 – Test chromosomálních aberací na ovariálních buňkách čínského křečka

Sloučenina	Dávka ($\mu\text{g/ml}$)	Aberace jednoduché	Aberace komplexní	Aberace S + C	P
Kontrola 400 metabází	//	8	4	12	
CPS	25	0	87	87	P<0,001
100 metafází	12,5	0	44	44	P<0,001
Rhein	200	3	5	8	P<0,05
100 metafází	100	3	6	9	P<0,05
	50	1	3	4	N.S
	25	1	1	2	N.S

Tyto charakteristiky jasně odlišují sloučeniny podle předkládaného vynálezu od rheinu.

Účinek disulfonovaných antrachinonů na měď „vychytávající“ účinek.

Studie zahrnuje produkci superoxidového aniontu prostřednictvím hypoxantin/xantin oxidasového systému a cílem je snížení obsahu kovu v cytochromu C. O mědi je známo, že je schopná vychytávat radikály produkované uvedeným systémem. Činidla, chelatující měď inhibují takový efekt „vychytávání“.

Tabulka 6 ukazuje, že rhein inhibuje uvedený účinek, zatímco 1-antrachinonsulfonová kyselina a 2-antrachinonsulfonová kyselina jsou téměř inaktivní.

Tabulka 6 – Účinek „vychytávání“ způsobené mědí

Sloučenina	% redukce
1-AQ	3
2-AQ	5
1,5-AQ	4
2,6-AQ	6
rhein	45

1-AQ: antrachinon-1-sulfonová

5 2-AQ: antrachinon-2-sulfonová

1,5-AQ: antrachinon-1,5-disulfonová kyselina

2,6-AQ: antrachinon-2,6-disulfonová kyselina

10 Předkládaný vynález se také týká farmaceutických prostředků obsahujících terapeuticky účinné množství sloučeniny podle vzorce I ve směsi s běžnými nosiči a pomocnými látkami.

Prostředky podle předkládaného vynálezu jsou připraveny podle metod v oboru známých, například podle těch, které jsou popsány v „Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook“, XVII Ed., Mack Pub. Inc., N.Y., USA.

15

Příklady prostředků pro enterální, parenterální, lokální podání jsou tablety, kapsle, granule, přípravky s řízeným uvolňováním, kapalně přípravky pro pití, injektovatelné přípravky, čípky, krémy, transdermální přípravky.

20 V orálních přípravcích je dávka aktivní složky v rozsahu od 10 do 500 mg v závislosti na aktivitě produktu a terapeutickém použití. Pro systémové použití je dávka od 1 do 100 mg.

Dále jsou popsány ilustrativní příklady.

25

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

30

N,N'-diethyl-2,6-antrachinondisulfonamid

35 13,0 g antrachinon-2,6-disulfonylchloridu je suspendováno do 300 ml methylenchloridu za důkladného míchání. Do směsi se přidá 300 ml diethylenaminu, pomocí kapací nálevky takovou rychlostí, aby teplota nepřesáhla 25 až 30 °C, za chlazení roztoku, pokud je nezbytné. Vzniklá suspenze se míchá po dobu 6 hodin, a potom se nechá stát přes noc. Suspenze se potom přidá k 100 ml 1N NaOH za mísení, potom se míchá po dobu 2 hodin a potom se vzniklá pevná látka zfiltruje a pevný podíl se důkladně promyje vodou.

40 Získá se 9,3 g produktu s dobrou čistotou (95 – 97 % podle HPLC), který, pokud je to nutné, může být rekrystalizován z 3/1 roztoku dimethylacetamidu/vody.

IR a NMR analýzy potvrdily identitu produktu.

45

Příklad 2

N,N'-(*p*-ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamid

- 5 15,5 ml *p*-fenetidinu se přidá k 150 ml methylenchloridu, za důkladného míchání. Pak se přidá 6,1 g antrachinon-2,6-disulfonylchloridu postupně po malých částech tak, aby teplota nepřesáhla 15 až 20 °C, za chlazení roztoku, potom je nezbytné. Vzniklá suspenze se míchá po dobu 3 hodin, a potom se nechá stát po 3 dny; vzniklá pevná látka se zfiltruje a pevný podíl se promývá v 1M kyselině chlorovodíkové a potom ve vodě. Získá se 9,8 g produktu, který se rekrystalizuje dvakrát z roztoků dimethylacetamidu/vody. Nakonec se získá 3,8 g čistého produktu.

IR a NMR analýzy potvrdily identitu produktu.

15 Příklad 3

2,6-antrachinondisulfonamido-*N,N'*-kaproová kyselina

- 20 16,4 g methyl-6-aminokaproat hydrochloridu, 18 ml trimethylaminu a 200 ml *p*-dimethylaminopyridinu je přidáno k 150 ml diethyletheru, za důkladného promíchání. 6,1 g antrachinon-2,6-disulfonylchloridu je přidáno graduálně, pomalých částech tak, aby teplota nepřesáhla 15 až 20 °C, za chlazení roztoku, pokud je nezbytné. Vzniklá suspenze je míchána po dobu 3 hodin při pokojové teplotě a potom se nechá odstát po dobu 3 dnů; potom je rozpouštědlo odpařeno a získaná pevná látka získaná s 35 g KOH rozpuštěným v 500 ml voda/methanol 1/1. Směs je
- 25 míchána po dobu 1 hodiny při pokojové teplotě, potom je acidifikována 20% kyselinou chlorovodíkovou na silně kyselé pH; po míchání po dobu 5 minut se vzniklá pevná látka zfiltruje a pevný podíl se důkladně promyje vodou. Získá se 5,0 g produktu, který se dvakrát rekrystalizuje z roztoků dimethylacetamidu/vody. Nakonec se získá 2,1 g čistého produktu.

- 30 IR a NMR analýzy potvrdily identitu produktu.

Příklad 4

- 35 Kapsle z měkké želatiny:

každá kapsle z měkké želatiny obsahuje:

	1)	2)
Aktivní složka	100 mg	300 mg
Sojový olej	50 mg	150 mg

- 40 Disperze aktivní složky v sojovém oleji je po kapslích z měkké želatiny dávkována za použití vhodného prostředku.

Aktivní složky použité v této lékové formě jsou s výhodou:

- 45 1) – *N,N'*-diethyl-2,6-antrachinondisulfonamid
- 2) – *N,N'*-(*p*-ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamid

Příklad 5

Kapsle z tuhé želatiny:

5 každá kapsle obsahuje:

Aktivní složka	40 mg	200 mg
Laktóza	200 mg	285 mg
Stearát hořečnatý	10 mg	15 mg

Produkty jsou smíseny a potom dávkovány do kapslí vhodné velikosti.

10 Aktivní složky použité v této formulaci jsou s výhodou vybrány z:

- 1) – sodných solí 2,6– nebo 1,5–antrachinondisulfonové kyseliny;
- 2) – 2,6–antrachinondisulfonamido–*N,N'*–kapronové kyseliny

15

Příklad 6

Tablety

20

Každá tableta obsahuje:

Aktivní složka	250 mg	15 mg
Mikrokrystalická celulóza	200 mg	800 mg
Bezvodá laktóza	220 mg	97 mg
Sodná sůl karboxymethyl škrobu	21 mg	6 mg
Stearát hořečnatý	9 mg	2 mg

25 Aktivní složka je důkladně smísená s mikrokrystalickou celulózou a bezvodou laktózou, za stálého míchání se přidá sodná sůl karboxymethyl škrobu a stearát hořečnatý a potom je vzniklá směs proseta a tabletována za získání tablet o hmotnosti 700 a 920 mg, v příslušném pořadí.

Aktivní složky použité v této formulaci jsou s výhodou:

- 30 1) – *N,N'*–diethyl–antrachinondisulfonamid;
- 2) – *N,N'*–(*p*–ethoxyfenyl)–2,6–antrachinondisulfonamid;
- 3) – sodné soli kyseliny antrachinonsulfonové vzorce (I)

35

Příklad 7

Krém

40

Aktivní složka	2,000 g
Směs cetyl– a stearylalkoholů	15,000 g
laurylsíran sodný	1,500 g
decyloleát	10,000 g
45 Vaselineový olej	5,000 g
Přečištěná voda	66,000 g
Methyl– <i>para</i> –oxybenzoát	0,160 g

Propyl- <i>para</i> -oxybenzoát	0,040 g
Růžová esence	0,300 g

Směs cetyl a stearyl alkoholů je rozpuštěna s laurylsulfátem sodným a decyl aloátem, pak se přidá aktivní složka a důkladně se promíchá. Získaný produkt je potom přidán do vody o stejné teplotě, při které byl methyl-*p*-oxybenzoát a propyl-*p*-oxybenzoát rozpuštěn, pak je pečlivě emulsifikován ve vhodném prostředku, ochlazen na asi 60 °C za míchání, je přidána růžová esence a potom je produkt ochlazen a distribuován ve vhodných kontejnerech.

Vhodnými aktivními složkami přípravku jsou:

- *N,N'*-diethyl-2,6-antrachinondisulfonamid;
- *N,N'*-(*p*-ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamid.

Příklad 8

Mast

Podobným způsobem může být připravena mast, kde se aktivní složka skládá ze solí sloučenin vzorce (I) za použití směsi následujícího složení:

Aktivní složka	3,000 g
Hamamelis voda	27,000 g
Cetyl alkohol	16,500 g
Volné a esterifikované steroly	1,000 g
Methyl- <i>para</i> -oxybenzoát	0,150 g
Propylgalát	0,030 g
Propylenglykol	7,000 g
Růžová esence	0,250 g
versenat dvojsodný	0,050 g
Vitamin F 80%	1,250 g
Polyglykolové estery nasycených a nenasycených mastných amidů C ₁₃ –C ₂₀	0,500 g
Přečištěná voda q.s. 100 g.	

Příklad 9

Intramuskulární injekce

Každá ampule obsahuje:

Aktivní složka	25,00 g
Chlorid sodný	3,80 g
Dihydrát citrátu sodného	25,73 g
Monohydrát kyseliny citronové	7,87 g
Aqua pro inj.	q.s. 2 ml.

Roztok aktivní složky a pomocných látek je sterilně filtrován a rozdělen do ampulí, které jsou potom sterilizovány v autoklávu po dobu 15 minut při 121 °C.

Aktivními složkami použitými v této lékové formě jsou s výhodou sodné soli antrachinonsulfonové kyseliny vzorce (I).

Příklad 10

Intraartikulární injekce

5

Každá ampule lyofilizovaného produktu obsahuje:

	Aktivní složku	1 mg
	Manitol	50 mg
10	Hydroxid sodný q.s. pH 6,5	

Každá ampule na řešení obsahuje:

15	Aqua pro inj.	2 ml
----	---------------	------

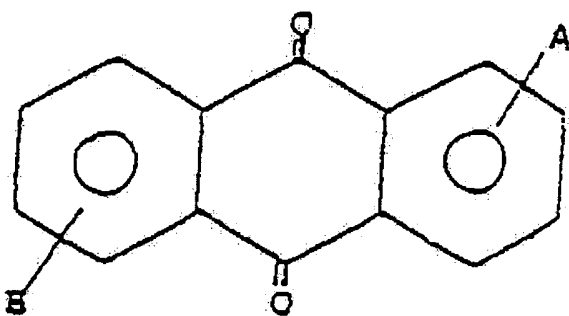
Roztok aktivní složky a pomocných látek je sterilně filtrován a rozdělen do ampulí, a potom je sušen lyofilizací ve vhodném prostředí.

Aktivní složkami použitými v této formulaci jsou s výhodou sodné soli antrachinonsulfonové kyseliny vzorce (I).

25

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použití mono- a disulfosubstituovaných antrachinonů obecného vzorce I:



(I),

30 kde

A je skupina vzorce $-\text{SO}_3\text{R}$, kde R je vodík nebo kation schopný poskytnout ve vodě rozpustný farmakologicky přijatelný derivát, nebo

35 A je skupina vzorce $-\text{SO}_2\text{R}^1$, kde R^1 je NR^2R^3 skupina, ve které je R^2 vodík nebo C_1-C_6 přímý nebo rozvětvený alkyl, R^3 je $-\text{CH}(\text{COOH})-\text{R}^5$, kde R^5 je C_1-C_6 alkyl nebo C_7-C_{12} arylalkyl; $-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, kde n je celé číslo od 1 do 6, C_1-C_6 přímý nebo rozvětvený alkyl, $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$, kde m je celé číslo od 1 do 4, nebo

40 R^1 je $-\text{OR}^4$ skupina, kde R^4 je C_1-C_6 přímá nebo rozvětvená alkyl skupina nebo C_6-C_{10} aryllová skupina, popřípadě substituovaná substituentem ze skupiny aminoskupina, C_1-C_6 alkylamino-skupina, hydroxyskupina, C_1-C_6 alkoxyskupina nebo merkaptoskupina,

B je atom vodíku, nebo

B má stejný význam jako A, s výjimkou případu, že A a B jsou simultánně $-\text{SO}_3\text{R}$ nebo $-\text{SO}_2\text{R}^1$, pro přípravu léčiva pro léčení patologií, při kterých se vyskytují eroze chrupavčité a kostní matrice při nejpokročilejším stadiu onemocnění.

5

2. Použití mono- a disulfosubstituovaných antrachinonů podle nároku 1, pro přípravu farmaceutického prostředku použitelného pro léčbu osteoartrózy.

10

3. Použití mono- a disulfosubstituovaných antrachinonů podle nároku 1, pro přípravu farmaceutického prostředku použitelného pro léčbu revmatoidní artritidy.

4. Použití mono- a disulfosubstituovaných antrachinonů podle nároku 1 nebo 2 nebo 3, kde antrachinon je vybrán ze skupiny skládající se z:

15

2,6-antrachinonsulfonamido-*N,N'*-kapronové kyseliny,

N,N'-diethyl-2,6-antrachinondisulfonamidu,

N,N'-(*p*-ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamidu.

20

5. Mono- a disulfosubstituované antrachinony ze skupiny

2,6-antrachinonsulfonamido-*N,N'*-kapronová kyselina,

25

N,N'-diethyl-2,6-antrachinonsulfonamid,

N,N'-(*p*-ethoxyfenyl)-2,6-antrachinondisulfonamid.

30

6. Způsob přípravy mono- a disulfosubstituovaných antrachinonů podle nároku 5, **v y z n a -**
č u j í c í s e t í m, že zahrnuje reakci odpovídajících halogenů antrachinonmono- nebo disulfonových kyselin s vhodným aminem.

35

7. Farmaceutický prostředek, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje terapeuticky účinné množství mono- a disulfosubstituovaných antrachinonů podle nároku 5 ve směsi s farmaceuticky akceptovatelnými nosiči a pomocnými látkami.

40

Konec dokumentu
