ČESKÁ REPUBLIKA

(19)

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 13.10.94

(32) 15.10.93

(31) 93/137678

(33) US

(40) 17.05.95

(21) 2536-94

(13) A3

6(51)

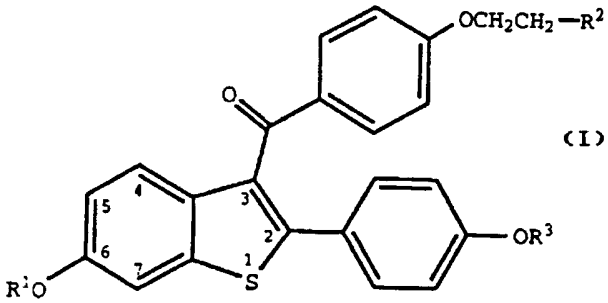
A 61 K 31/38
A 61 K 31/40
A 61 K 31/445

(71) ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN, US;

(72) Chandrasekhar Srinivasan, Indianapolis, IN, US;
Dantzig Anne Hollins, Crawfordsville, IN, US;
Shepard Robert Lee, Nobelsville, IN, US;
Starling James Jacob, Carmel, IN, US;
Winter Mark Alan, Indianapolis, IN, US;

(54) Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů

(57) Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů, obsahující jako účinnou látku derivátu 2--fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I, kde znamená R1 a R3 na sobě nezávisle H, CH3,-CO-(C1-6alkyl) nebo -CO-Ar, kde znamená AR popřípadě substituovaný fenyl, R2 pyrrolidinoskupinu nebo piperidinoskupinu nebo jeho farmaceuticky vhodné soli nebo solváty.



(I)

PV 2536-94

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
PŘÍL.
DOŠLO
13. X. 94
č.j.
0 5 2 2 4 9

Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutického prostředku pro ošetřování resistentních neoplasmů.

Dosavadní stav techniky

Vedle chirurgie a radioterapie se navazující chemoterapie jeví jako účinný způsob léčení mnoha typů rakoviny. Ve skutečnosti se jako závažné typy rakoviny, které jsou nyní posuzovány jako léčitelné chemotrapií, uvádějí Hodgkinova nemoc, velký lymphoma, akutní lymphocytová leukemie, testikulární rakovina a časný stav rakoviny prsu. Jiné druhy rakoviny, jako rakovina vaječníků, malé buňky plicní a pokročilá rakovina prsu, jakkoliv dosud nevyléčitelné, vykazují pozitivní odezvu na kombinovanou chemoterapii. Jedním z nejdůležitějších nevyřešených problémů ošetřování rakoviny je odolnost proti drogám. Odolnost proti drogám zahrnuje jak vnitřní resistenci pro ošetřování chemoterapií tak získanou resistenci proti droze. Tento problém je důvodem pro kombinační chemoterapii, protože se tak předchází jevu získané odolnosti buněk a ničí se již existující buňky, které již odolnost droze získaly.

Důležitou třídou onkolytických činidel jsou antracykliny. Doxorubicin a antracyklin, které jsou známy jakožto Adriamycin™, jsou droga pro klinické ošetřování rakoviny prsu. Terapie antracykliny, například dosorubicinem, je komplikovaná výskytem antracyklinu odolného fenotypu, který omezuje nebo neguje onkolytickou účinnost doxorubicinu.

Topoisomerasové inhibitory představují další třídu onkolytických činidel. Epipodophyllotoxiny, například Etoposide® a Teniposide® jsou topoisomerasové inhibitory, které jsou užitečné při terapii neoplasmů varlat, malé buňky plic a jiných rakovin plic, prsu, Hodgkinovy nemoci, ne Hodkinova lymphomas, akutní

granulocytické leukemie a Karposiova sarkoma. Terapeutická užitečnost epipodophyllotoxinů je omezena objevením fenotypu odolného epipodophyllotoxinu.

Jedna forma multidrogové odolnosti (MDR - "multi-drug resistance") je zprostředkována membránou vázanou 170-180 kD energeticky závislou efluxní pumpou, označovanou jakožto P-glykoProtein P-gp. P-gp má hlavní úlohu při vnitřní a získané odolnosti četných lidských nádorů proti hydrofobním dorgám. Drogy, které působí jakožto substráty pro P-gp a tudíž detoxifikují p-gp, zahrnují vinca alkaloidy (vincristin a vinblastin), antracykliny (Adriamycin) a epipodophyllotoxiny (etoposide). Zatímco s P-gp spojená MDR je hlavním determinantem odolnosti nádorových buněk k chemotrapeutickým činidlům, je jasné, že jev MDR je multifaktoriální a zahrnuje četné odlišné mechanismy. Jedna taková alternativní cesta odonosti antracyklinům zahrnuje výskyt 190 kD proteinu,, který není P-gp (Mc Grath T., Latoud C., Arnold S.T., Safa A.R., Feldsted R.S. a Center M.S., Biochem. Pharmacol., 38, číslo 3611, 1989). P190 nebyl nalezen v pasmové membráně avšak spíše je přednostně lokalizován v endoplasmickém retikulu (Marquardt D. a Center M.S., Cancer Res. 52, str. 3157, 1992).

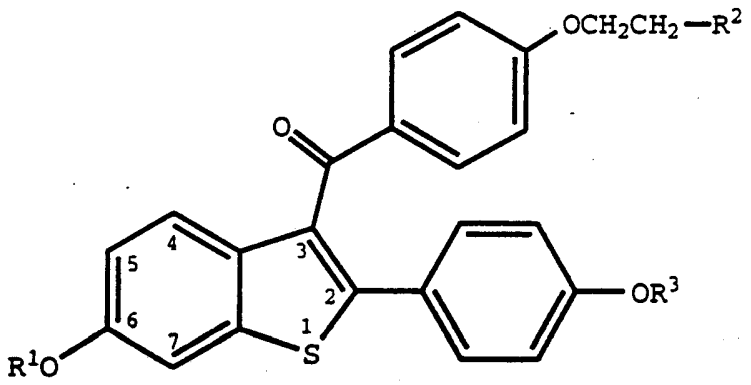
P190 má nukleotidovou oblast vazby, která je homologická s ATP vazným místem P-gp (Marquardt D., McCrone S a Center M.S., Cancer Res. 50, str. 1426, 1990). Mechanismus nebo mechanismy využívané P190 k dodání resistence k Adriamycinu nejsou dobře rozpoznány, mohou však zahrnovat intracelulární distribuci Adriamycinu ven z jádra (Marquardt D. a Center M.S., Cancer Res. 52,str. 3157, 1992). Adriamycin je inhibitorem topoisomerasy II (Beck W. T., Bull Cancer 77, str. 1131, 1990), což je enzym zahrnutý v DNA replikaci. Redistribuce Adriamycinu z jádra je proto důležitou složkou buněčné odolnosti proti této droze. Studie dosud zveřejněné, týkající se P190, používaly buněčných linií selektovaných in vitro pro odolnost proti Adriamycinu (McGrath T., Latoud C., Arnold S.T., Safa A.R., Feldsted R.S. a Center M.S., Biochem. Pharmacol., 38, číslo 3611, 1989, Marquardt D. a Center M.S., Cancer Res. 52, str.3157, 1992, a Marquardt D., McCrone S a Cen-

ter M.S., Cancer Res. 50, str. 1426 (1990). Asociace P190 s odolností droze se prováděla natriumdodecylsulfátpolyakrylamidovou gelovou elektroforesou (SDS-Page) radioaktivních extraktů připravených z Adriamycinu odolných HL60/Adr lidských leukemických buněk, značených 8-azido-α-[^{32}P]ATP (McGrath T., Latoud C., Arnold S.T., Safa A.R., Feldsted R.S. a Center M.S., Biochem.Pharmacol., 38, číslo 3611, (1989). Droze odolný fenotyp, srovnávaný s P190 není omezen na antracykliny. Odolnost epipodophyllotoxinu je vázána na expresi P190. Hodnoty IC$_{50}$ HL60/S buněk, ošetřených Adriamycinem a Etoposidem jsou 0,011 μg/ml a 0,39 μg/ml. Hodnoty IC$_{50}$ HL60/Adr buněk (HL60 odvozené buněčné linie, která je odolná doxorubicinu), ošetřených Adriamycinem a Etoposidem jsou 2,2 μg/ml a více než 10 μg/ml. Buňky HL60/S a HL60/Adr nevykazují expresi P-glykoProteinu. Buňky HL60/Adr vykazují expresi P190. Proto resistence k antracyklinům a epidophyllotoxinům vyplývá z exprese P190.

Proto se jeví potřeba nových sloučenin, které by byly účinné pro ošetřování resistentních neoplasmů, resistentních cestou zahrnující P190 a/nebo p-glykoProtein.

Podstata vynálezu

Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů spočívá podle vynálezu v tom, že obsahuje jakožto účinnou látku derivát 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I



(I)

kde znamená

R^1 a R^3 na sobě nezávisle atom vodíku, methylovou skupinu, skupinu vzorce $-C(=O)-(C_{1-6}alkyl)$ nebo $-C(=O)-Ar$

kde znamená Ar popřípadě substituovnou fenylovou skupinu,

R^2 pyrrolidinoskupinu, hexamethyleniminoskupinu nebo piperidinoskupinu,

nebo jeho farmaceuticky vhodné soli a solváty.

Vynález je založen na objevu, že vybrané deriváty 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu (benzothiofeny) obecného vzorce I jsou užitečné pro ošetřování resistentních neoplasmů. Podle vynálezu se postupuje tak, že se osobám, které takové ošetření potřebují, podává dávka vybraného derivátu 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I nebo jeho farmaceuticky vhodné soli nebo solvátu, účinná pro snížení odolnosti neoplasmů chemotrapii. Pro snižování odolnosti neoplasmů k chemotrapii se sloučenin obecného vzorce I podle vynálezu používá v případě neoplasmů majících vnitřní a/nebo získanou dodlnost. Takové neoplasmy zahrnují neoplasmy, jejichž odolnost souvisí s proteinem P190. Odolnost droze, jako jsou například epipodophyllotoxiny a anthracykliny, je vázána na P190. Ošetřování resistentních a citlivých neoplasmů vede ke změně nebo i inhibici resistence neboli činí neoplasm mnohem citlivější ke vhodné chemoterapii.

Sloučenin obecného vzorce I podle vynálezu se může používat pro četné resistentní neoplasmy. Příkladně se uvádí rakovina tračníku (největší části tlustého střeva), mesothelioma, melanoma, rakovina prostaty, rakovina vaječníků, rakovina ne malé buňky plic, rakovina malé buňky plic, rakovina močového měchýře, rakovina sliznice děložní, leukemia, rakovina varlat, rakovina prsu a lymphoma velké buňky. Jakožto nejzvláštnější typy rakoviny se uvádějí Hodgkinova nemoc, sarkoma Karposi a akutní granulocytická leukemia.

Obecně se sloučeniny zpracovávají s běžnými excipienty, ředidly nebo nosiči a lisují se na tablety nebo se zpracovávají na

elixíry nebo roztoky pro běžné orální podání nebo pro intramuskulární nebo intravenozní podání. Sloučeniny obecného vzorce I se také mohou podávat transdermálně a mohou se formulovat na farmaceutické prostředky s prodlouženým uvolňováním.

Deriváty 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I se mohou připravovat o sobě známými způsoby nebo způsoby podrobně popsanými v amerických patetnových spisech číslo 4 133814, 4 418068 a 4 380635. Obecně se vychází z benzo[b]thiofenu majícího v poloze 6 hydroxylovou skupinu a 2-(4-hydroxyfenyl)ovou skupinu. Do výchozí látky se zavádí chránící skupina, sloučenina se alkyluje, chránící skupina se odstraní za získání sloučeniny obecného vzorce I. Příklady způsobu přípravy takových sloučenin jsou popsány ve shora uvedených amerických patentových spisech. Jakožto substituovaná fenylová skupina se uvádějí fenylová skupina substituovaná jedním nebo dvěma substituenty ze souboru zahrnujícího alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxyskupinu, nitroskupinu, atom chloru nebo fluoru nebo trichlomethylovou nebo trifluormethylovou skupinu.

Deriváty 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu (benzothiofeny) obecného vzorce I, používané podle vynálezu, vytvářejí farmaceuticky vhodné adiční soli s kyselinou nebo se zásadou s nejrůznějšími anorganickými a organickými kyselinami a zásadami a vynález se tedy také týká fysiologicky vhodných solí, běžně používaných ve farmaceutickém průmyslu

Jakožto příklady farmaceuticky vhodných minerálních kyselin, použitelných pro přípravu farmaceuticky vhodných solí, se uvádějí příkladně kyselina chlorovodíková, bromovodíková, jodovodíková, dusičná, fosforečná, fosforná a sírová. Může se také používat solí odvozených od organických kyselin, jako jsou například alifatické monokarboxylové a dikarboxylové kyseliny, fenylovou skupinou substituované alkanoové kyseliny, hydroxyalkanoové a hydroxyalkandioové kyseliny, aromatické kyseliny, alifatické a aromatické sulfonové kyseliny.

Jakožto takové farmaceuticky vhodné soli, připravené za po-

užití minerálních nebo organických kyselin, se uvádějí příkladně acetát, fenylacetát, trifluoracetát, akrylát, askorbát, benzoát, chlorbenzoát, methylbenzoát, methoxybenzoát, dinitrobenzoát, hydroxybenzoát, o-acetoxybenzoát, naftalen-2-benzoát, bromid, isobutyrát, fenylbutyrát, β-hydroxybutyrát, butin-1,4-dioát, hexin-1,6-dioát, kaprát, kaprylát, chlorid, cinnamát, citrát, formát, fumarát, glykolát, heptanoát, hippurát, laktát, malát, maleát, hydroxymaleát, malonát, mandelát, mesylát, nikotinát, isonikotinát, nitrát, oxalát, ftalát, tereftalát, fosfát, monohydrogenfosfát, dihydrogenfosfát, metafosfát, pyrofosfát, propiolát, propionát, fenylpropionát, salicylát, sebakát, sukcinát, suberát, sulfát, hydrogensulfát, pyrosulfát, sulfit, hydrogensulfit, sulfonát, benzensulfonát, p-bromfenylsulfonát, chlorbenzensulfonát, ethansulfonát, 2-hydroxyethansulfonát, methansulfonát, naftalen-1-sulfonát, naftalen-2-sulfonát, p-toluensulfonát, xylensulfonát a tartrát. Výhodnou je hydrochloridová sůl.

Farmaceuticky vhodné adiční soli s kyselinou se zpravidla připravují reakcí sloučeniny obecného vzorce I s ekvimolekulárním nebo s nadbytečným množství kyseliny. Reakční složky se zpravidla mísí v rozpouštědle obou složek, jako jsou diethylether nebo benzen. Soli se zpravidla vysrážejí z roztoku v průběhu jedné hodiny až deseti dnů a mohou se izolovat filtrací nebo se rozpouštědlo může odehnat o sobě známými způsoby.

Jakožto zásady, používané pro přípravu adičních solí se zásadami, se uvádějí příkladně hydroxid amonný a hydroxidy, uhličitany a hydrogenuhličitany alkalických kovů a kovů alkalických zemin, jakož také alifatické a primární, sekundární a terciární aminy, alifatické diaminy a hydroxyalkylaminy. Jakožto obzvláště vhodné zásady pro přípravu adičních solí se zásadou se uvádějí hydroxid amonný, uhličitan draselný , hydrogenuhličitan sodný, hydroxid vápenatý, methylamin, diethylamin, ethylendiamin, cyklohexylamin a ethanolamin.

Farmaceuticky vhodné adiční soli mají obecně zlepšenou rozpustnost ve srovnání se sloučeninou, od které jsou odvozeny a proto se jich s výhodou používá pro přípravů kapalin nebo emulzí.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu se připravují o sobě známými způsoby. Například se sloučeniny obecného vzorce I mohou zpracovávat s běžnými excipienty, ředidly nebo nosiči na formu tablet, pilulek, kapslí, suspenzí a prášků.

Jakožto příklady vhodných nosičů, excipientů a ředidel se uvádějí plnidla a nastavovače, jako jsou škrob, cukry, mannitol a deriváty kyseliny křemičité; pojidla, jako jsou karboxymethylcelulóza a jiné deriváty celulózy, algináty, želatina a polyvinylpyrrolidon; zvlhčovalda, jako je glycerol; rozptylovací přísady, jako je uhličitan vápenatý a hydrogenuhličitan sodný; činidla, zpomalující rozpouštění, jako je parafin; činidla urychlující resorpci, jako jsou kvarterní amoniové sloučeniny; povrchově aktivní činidla, jako je cetylalkohol, glycerolmonostearát; adsorpční nosiče, jako jsou kaolin a bentonit; a mazadla, jako je mastek, stearát vápenatý a hořečnatý a pevné polyethylenglykoly.

Sloučeniny obecného vzorce I se také mohou zpracovávat na elixíry a roztoky pro běžné orální podání nebo na roztoky, vhodné pro parenterální podání, například intramuskulární, subkutanní nebo intravenozní cestou. Kromě toho jsou sloučeniny obecného vzorce I velmi dobře vhodné pro přípravu farmaceutických prostředků s pozdrženým uvolňováním účinné látky. Farmaceutické prostředky se mohou připravovat také tak, aby uvolňovaly účinnou látku pouze nebo výhodně v určité části zažívacího traktu po možnosti po určitou dobu. Povlaky, obaly a chránící matrice se mohou připravovat například z polymerních látek nebo z vosků.

Určitá dávka podávané sloučeniny obecného vzorce I, potřebná pro inhibici endometriosis, závisí na závažnosti stavu, na cestě podání a na podobných skutečnostech a stanovuje ji lékař. Zpravidla je denní dávka účinné látky přibližně 0,1 až přibližně 2000 mg/den, jakkoliv dávka podle uvážení lékaře může být i větší. Taková dávka se podává najednou nebo ve třech denních dávkách nebo i častěji podle potřeby efektivního ošetření resistentních neoplasmů.

Obecně je výhodné podávat sloučeninu obecného vzorce I ve formě adiční soli s kyselinou, jak je běžné pro sloučeniny, které

mají zásaditou skupinu, například piperidinový kruh. Vhodné jsou následující farmaceutické prostředky. Tyto prostředky jsou však míněny toliko jako objasňující příklady a nijak vynález neomezují. Účinnou látkou se vždy myslí sloučenina obecného vzorce I.

Vynález se také týká kombinovaného ošetřování sloučeninou obvecného vzorce I podle vynálezu a chemoterapeutickým činidlem nebo chemoterapeutickými činidly. Takové kombinované ošetření zahrnuje ošetření nejdříve sloučeninou obecného vzorce I podle vynálezu a pak dalším chemoterapeutickým činidlem nebo činidly, současné ošetřování sloučeninou obecného vzorce I podle vynálezu a dalším chemoterapeutickým činidlem nebo činidly, nebo ošetřování sloučeninou obecného vzorce I podle vynálezu po ošetření dalším chemoterapeutickým činidlem nebo činidly.

Příklady provedení

Příklad farmaceutického prostředku 1 - želatinová kapsle

Tvrdé želatinové kapsle se připravují z následujících složek:

	Množství (mg/kapsle)
účinná látka	0,1 až 2000
škrob, NF	0 až 650
škrob, rozplývavý prášek	0 až 650
silikonová kapalina 350 mPas	0 až 15

Uvedené složky se smísí, vedou se sítem No.45 mesh U.S. (průměr ok 355 mikrometrů) a plní se do tvrdých želatinových kapslí.

Jakožto příklady určitých farmaceutických prostředků ve formě kapslí se uvádějí prostředky obsahující účinnou látku obecného vzorce I, kde znamená R^2 piperidinoskupinu a R^1 a R^3 atom vodíku (raloxifen). Takové kapsle mají následující složení:

Příklad farmaceutického prostředku 2 - raloxifenová kapsle

	Množství (mg/kapsle)
raloxifen	1,0
škrob, NF	112,0
škrob, rozplývavý prášek	225,3
silikonová kapalina 350 mPas	1,7

Příklad farmaceutického prostředku 3 - raloxifenová kapsle

	Množství (mg/kapsle)
raloxifen	5,0
škrob, NF	108,0
škrob, rozplývavý prášek	225,3
silikonová kapalina 350 mPas	1,7

Příklad farmaceutického prostředku 4 - raloxifenová kapsle

	Množství (mg/kapsle)
raloxifen	10,0
škrob, NF	103,0
škrob, rozplývavý prášek	225,3
silikonová kapalina 350 mPas	1,7

Příklad farmaceutického prostředku 5 - raloxifenová kapsle

	Množství (mg/kapsle)
raloxifen	50,0
škrob, NF	150,0
škrob, rozplývavý prášek	397,0
silikonová kapalina 350 mPas	3,0

Určité složení takových farmaceutických prostředků se může měnit podle účelu použití.

Příklad farmaceutického prostředku 6 - tablety

Tablety se připravují z následujících složek:

	Množství (mg/kapsle)
účinná látka	0,1 až 2000
celulóza, mikrokrystalická	0 až 650
oxid křemičitý, sublimovaný	0 až 650
kyselina stearová	0 až 15

Uvedené složky se smísí a lisují se o sobě známým způsobem na tablety.

Příklad farmaceutického prostředku 7 - tablety

Tablety, obsahující vždy 0,1 až 2000 mg účinné látky obecného vzorce I se také mohou připravovat následujícím způsobem:

	Množství (mg/tableta)
účinná látka	0,1 až 2000
škrob	45,0
celulóza, mikrokrystalická	35,0
polyvinylpyrrolidon (10% roztok ve vodě)	4,0
natriumkarboxymethylovaný škrob	4,5
stearát hořečnatý	0,5
mastek	1,0

Účinná látka, škrob a celulóza se vedou sítem No.45 mesh U.S. (průměr ok 355 mikrometrů) a důkladně se promísí. Se získaným práškem se smísí roztok polyvinylpyrrolidonu a směs se vede sítem No. 14 mesh U.S. (průměr ok 1400 mikrometrů). Takto získané granule se suší při teplotě 50 až 60 °C, vedou sítem No.18 mesh U.S. (průměr ok 1000 mikrometrů). Natriumkarboxymethylovaný škrob, stearát hořečnatý a mastek se vedou sítem No. 60 mesh U.S. (průměr ok 250 mikrometrů), přidají se do granulí, promísí se a směs se lisuje na tablety.

Příklad farmaceutického prostředku 8 - suspenze

Supenze obsahující vždy 0,1 až 2000 mg účinné látky obecného vzorce I na 5 ml dávku se připravuje následujícím způsobem:

účinná látka	0,1 až 2000 mg
natriumkarboxymethylcelulóza	50,00 mg
sirup	1,25 ml
roztok kyseliny benzoové	0,10 ml
chuťová přísada	q.v.
barvivo	q.v.
čištěná voda do	5,0 ml

Účinná látka se vede sítem No. 45 mesh U.S. (průměr ok 355 mikrometrů) a smísí se s natriumkarboxymethylcelulózou a sirupem za vzniku hladké pasty. Přidá se za míchání roztok kyseliny benzoové, chuťové přísady a barviva, zředěné trochou vody. Pak se přidá dostatečné množství vody k dosažení požadovaného objemu.

Testy farmaceutického prostředku

Buňkami, používanými k analyze zvratu resistence k droze, jsou buňky lidské leukemie linie HL60/s, HL60/Vinc a HL60/ADR. Buňky HL60/s nejsou voleny pro resistenci k droze, jsou tedy citlivé k ošetřování drogou (McGrath a kol., "Mechanisms of Multidrug Resistance in HL60 Cells. Analysis of Resistance Associated Membrane Proteins and Levels of MDR Gene Expression" (Mechanismus multidrogové resistence buněk HL60. Analyza resistence spojené s proteiny membrány a úrovněmi MDR genové exprese), Biochemical Pharmacology, 38, str. 3611 až 3619, 1989). HL60/Vinc buňky jsou voleny pro resistenci k vincristinu a vykazují vysokou úroveň multidrogové resistence související s proteinem P-glycoProtein. Podobně HL60/ADR buňky jsou voleny pro resistenci Adriamycinu avšak obsahují nezjistitelné hladiny P-glycoProteinu. HL60/ADR buňky však obsahují vysoké množství jiného proteinu, majícího vztah k resistenci, označovaného jakožto P190 nebo MRP (Cole a kol., "Overexpression of a Transporter Gene in Multidrug-Resistant Hu-

man Lung Cancer Cell Line" (Nadexprese transportního genu v multidrogově resistentní buněčné linii lidské rakoviny plic), Science (Washington DC), 258, str. 1650 až 1654, 1992, Krishnamachary a kol., "The MRP Gene Associated with a Non-P-glycoprotein Multidrug resistance Encodes a 190-kDa Membrane Bound Glyxcoprotein" (Spojení NRP genu s ne-P-glycoproteinovou multidrogovou resistencí koduje 190-kDA membránou vázaný glykoprotein),Cancer Research, 53, str. 3658 až 3661, 1993). P-GlycoProtein obsahující linie buněk, HL60/Vinc, nevykazuje extresi P190.

Zkoušky cytotoxicity in vitro se provádějí suspendováním štítových buněk do živného prostředí "Minimum Essential Eagle´s Medium" (MEM), obsahujícího 25 % normální koncentrace leucinu a 10 % dialyzovaného zárodečného telecího sera. Naočkovává se 2 x 10^4 buněk do každého důlku 96 důlkové mikrotitrové destičky a inkubuje se přes noc při teplotě 37 °C v prostředí 5% oxidu uhličitého. Zkoušené látky na zvratovou účinnost se seriově ředí (100 µM, 50 µM,..... 0,2 µM) v prostředí a přádávají se do buněk. 48 hodin po přidání zvratového činidla ke štítovým buňkám se přidají 4 µCi ^{3}H-leucinu do každého důlku a inkubuje se po dobu dalších 16 hodin při teplotě 37 °C. Buňky se shromáždí a stanovuje se množství včleněného ^{3}H-leucinu. Vypočítává se koncentrace zvratového činidla, potřebná k 50% inhibici včleňování ^{3}H-leucinu (IC_{50}). Následně se studuje použití zvratových činidel v přítomnosti cytotoxické drogy (napoříklad Adriamycinu) za použití maximální koncentrace zkoušeného činidla, která je jako taková necytotoxická. Zvrat resistence k droze různými zkoušenými sloučeninami se provádí přidáváním maximální necytotoxické koncentrace zkoušených sloučenin do log ředění Adriamycinu (10, 1, 0,1 ..... 0,001 µg/ml) a vypočítávají se změny IC_{50}, pozorované pro Adriamycin se zřetelem na HL60/s, HL60/Vinc a HL60/ADR buněčné linie při shora popsaných zkouškách cytotoxicity in vitro.

Aktivita při shora uvedených zkouškách potvrzuje, že jsou sloučeniny obecného vzorce I potenciálně užitečné při ošetřívání resistentních a citlivých neoplasmů.

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉ VLASTNICTVÍ
Cl
5 9 7 9 2
Datum
3 XI 04

	Koncentrace, µM	Faktor zvratu HL60/Vinc a	HL60/ADR
sloučenina A*	12	5,7	3,8
Raloxifen HCl	6	7,1	nestanoveno
17-β-estradiol	3	1,0	nestanoveno
Tamoxifen	4	1,4	4,6

* Sloučeninou A je sloučenina obecného vzorce I podle vynálezu, kde R^1 a R^3 znamenají vždy atom vodíku a R^2 znamená 1-pyrrolidinoskupinu

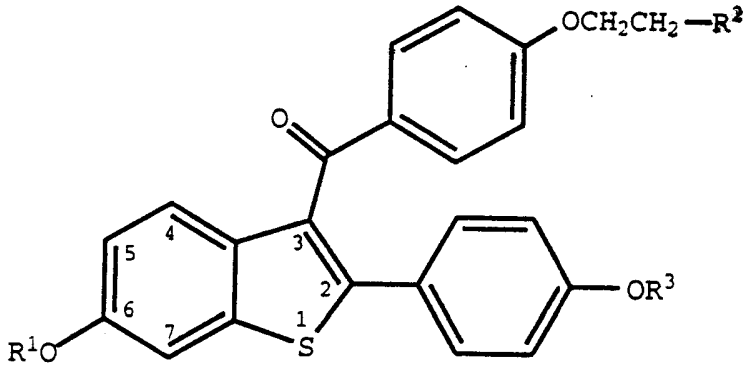
Průmyslová využitelnost

Farmaceutický prostředek pro terapeutické nebo profylaktické ošetřování resistentních neoplasmů, obsahující jako účinnou látku derivát 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu nebo jeho farmaceuticky vhodné soli nebo solváty.

PV 2536-94

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako účinnou látku obsahuje derivát 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I



(I)

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
Došlo
23 XI 94
59797
Cl.

kde znamená

R^1 a R^3 na sobě nezávisle atom vodíku, methylovou skupinu, skupinu vzorce $-C(=O)-(C_{1-6}alkyl)$ nebo $-C(=O)-Ar$

kde znamená Ar popřípadě substituovnou fenylovou skupinu,

R^2 pyrrolidinoskupinu nebo piperidinoskupinu,

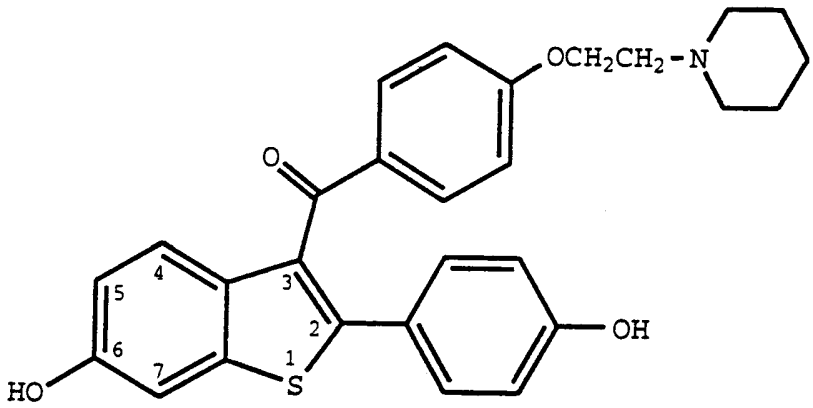
nebo jeho farmaceuticky vhodné soli nebo solváty.

2. Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako účinnou látku obsahuje derivát 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I, kde jednotlivé symboly mají v nároku 1 uvedený význam, ve formě hydrochloridové soli.

3. Farmaceutický prostředek pro profylaktické ošetřování resistentních neoplasmů podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako účinnou látku obsahuje derivát 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I, kde jednotlivé symboly mají v náro-

ku 1 uvedený význam.

4. Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů podle nároku 1, vyznačující se tím, že jako účinnou látku obsahuje derivát 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I, kterým je sloučenina vzorce



nebo její hydrochloridová sůl.

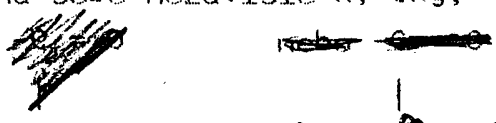
PV 2536-94

Anotace

Název vynálezu: Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasů

Farmaceutický prostředek pro ošetřování resistentních neoplasmů, obsahující jako účinnou látku derivátu 2-fenyl-3-aroylbenzothiofenu obecného vzorce I kde znamená

R1 a R3 na sobě nezávisle H, CH_3,



$-CO-(C_{1-6}alkyl)$ nebo $-CO-Ar$

kde znamená Ar popřípadě substituovný fenyl,

R2 pyrrolidinoskupinu, ~~hexamethyleneiminoskupinu~~ nebo piperidinoskupinu,

nebo jeho farmaceuticky vhodné soli nebo solváty.

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
Došlo
23 XI 94
Čj.
5979/97