



NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **313521**

(13) B1

(51) Int Cl<sup>7</sup> C 07 D 495/14, A 61 K 31/40

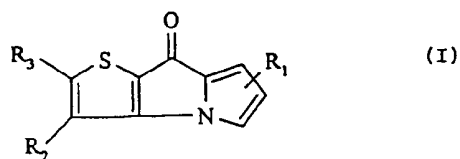
## Patentstyret

(21) Søknadsnr	19993608	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	1999.07.23	(85) Videreføringsdag	
(24) Løpedag	1999.07.23	(30) Prioritet	1998.07.27, FR, 9809552
(41) Alm. tilgj.	2000.01.28		
(45) Meddelt dato	2002.10.14		
(71) Patenthaver	Les Laboratoires Servier, 22, rue Garnier, F-92200 Neuilly-sur-Seine, FR		
(72) Oppfinner	Sylvain Rault, F-14370 Moulton, FR Cécile Enguehard, F-14000 Caen, FR Jean-Charles Lancelot, F-14400 Le Bourg, FR Max Robba, F-75004 Paris, FR Ghanem Atassi, F-92210 Saint-Cloud, FR Alain Pierre, F-78580 Les Alluets-le-Roi, FR Daniel-Henri Caignard, F-78230 Le Pecq, FR Pierre Renard, F-78150 Le Chesnay, FR		
(74) Fullmektig	Oslo Patentkontor AS, 0306 Oslo		

(54) Benevnelse **Nye 8H-tieno-[2,3-b]pyrrolizin-8-on forbindelser, fremgangsmåte ved deres fremstilling og farmasøytiske sammensetninger inneholdende dem**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag **Forbindelser med formel (I):**



hvor:

R<sub>1</sub> representerer et hydrogenatom, halogenatom, alkylgruppe, nitrogruppe, hydroksygruppe, alkoksygruppe, trihaloalkylgruppe, trihaloalkoksygruppe eller valgfritt substituert aminogruppe,

R<sub>2</sub> representerer en valgfritt substituert aryl eller heteroarylgruppe,

R<sub>3</sub> representerer et hydrogenatom, halogenatom, alkylgruppe, nitrogruppe, hydroksygruppe, alkoksygruppe, trihaloalkylgruppe, trihaloalkoksygruppe eller valgfritt substituert aminogruppe,

isomerer derav og addisjonssalter derav med en farmasøytisk akseptabel syre eller base.

Medikamenter.

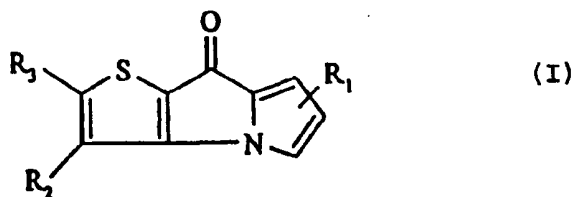
Foreliggende oppfinnelse vedrører nye 8H-tieno-[2,3-b]pyrrolizin-8-on forbindelser, en fremgangsmåte ved deres fremstilling og farmasøytiske sammensetninger inneholdende dem.

5 Behøver for anti-cancerterapi krever den konstante utvikling av nye anti-tumormidler med det mål å oppnå medikamenter som både er mer aktive og bedre tolerert. Mer spesielt antar faste tumorer et hovedproblem for anti-cancer kjemoterapi i lys av deres intrinsiske og/eller tilegnet  
10 resistens mot eksisterende produkt.

Bortsett fra det faktum at de er nye, fremviser forbindelsene av oppfinnelsen overraskende og spesiell aktivitet *in vivo* og *in vitro*. Forbindelsene oppdaget av søkeren har  
15 anti-tumor egenskaper som gjør dem spesielt verdifulle i behandlingen av cancer og, fordelaktig i behandlingen av faste tumorer.

Forbindelsene som har nært beslektede strukturer har blitt  
20 beskrevet i litteraturen, spesielt i patentsøknad EP 718 299, disse forbindelser anvendes som synteseintermediater for å oppnå tricykliske oksimere. Ingen terapeutisk aktivitet er beskrevet for disse synteseintermediater, selv om de endelige produkter, det vil si de tricykliske oksimere,  
25 tere, har en svært sterk affinitet for 5HT<sub>2c</sub>- og/eller 5HT<sub>3</sub>-reseptorer - et terapeutisk område som skiller seg fra det i foreliggende oppfinnelse.

Mer spesielt vedrører den foreliggende oppfinnelse forbindelsene med formel (I):  
30



hvor:

R<sub>1</sub> representerer et hydrogenatom, et halogenatom,

R<sub>2</sub> representerer fenyl eventuelt substituert med en eller flere grupper valgt fra OH, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkoksy, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)alkylen-  
5 dioksy, fenyl-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkoksy eller (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkylkarbonyloksy,

R<sub>3</sub> representerer et hydrogenatom, et halogenatom, en nitro-  
gruppe, en lineær eller forgrenet (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkoksygruppe,  
eller en aminogruppe,

10

isomerer derav og addisjonssalter derav med en farmasøytisk  
akseptabel syre eller base,

med det forbehold at, når R<sub>1</sub> og R<sub>3</sub> samtidig representerer  
15 et hydrogenatom, kan R<sub>2</sub> ikke representere en fenylgruppe  
valgfritt substituert i para-stillingen med et bromatom,  
kloratom, fluoratom, metoksygruppe eller hydroksoygruppe.

Blant de farmasøytisk akseptable syrer kan det nevnes, uten  
20 å implisere noen begrensning, saltsyre, hydrobromsyre, svovelsyre,  
fosfonsyre, eddiksyre, trifluoreddiksyre, melkesyre,  
pyrodruesyre, malonsyre, ravsyre, glutarsyre, fumar-  
syre, vinsyre, maleinsyre, sitronsyre, askorbinsyre, oksal-  
syre, metansulfonsyre, kamfersyre etc.

25

Blant de farmasøytisk akseptable baser kan det nevnes, uten  
å implisere noen begrensning, natriumhydroksid, kaliumhy-  
droksid, trietylamin, tert-butylamin etc.

30 I henhold til en fordelaktig variant av oppfinnelsen er den  
foretrukne R<sub>2</sub>-substituent fenyl substituert med minst en  
gruppe valgt fra hydroksoy, lineær eller forgrenet (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-  
alkoksy, og lineær eller forgrenet (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkylkarbonyl-  
oksy.

35

De foretrukne R<sub>1</sub>- og R<sub>3</sub>-substituenten i henhold til oppfin-  
nelsen er i hvert tilfelle et hydrogenatom.

De foretrukne forbindelsene i henhold til oppfinnelsen er 3-(3,4-dihydroksyfenyl)-8H-tieno-[2,3-b]pyrrolizin-8-on og 2-metoksy-5-(8-okso-8H-tieno-[2,3-b]pyrrolizin-3-yl)fenylacetat.

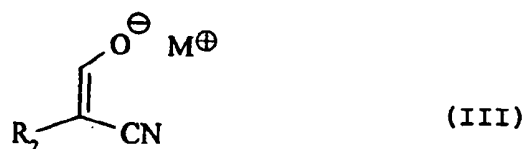
5

Isomerene av de foretrukne forbindelser og også addisjons-saltene derav med en farmasøytisk akseptabel syre eller base er en intergret del av oppfinnelsen.

- 10 Oppfinnelsen vedrører også en fremgangsmåte ved fremstillingen av forbindelsene med formel (I), hvilken fremgangsmåte er karakterisert ved at det anvendes som startmateriale en forbindelse med formel (II):



- 15 hvor R<sub>2</sub> er som definert for formel (I), hvilke forbindelser med formel (II) reageres, i nærvær av et alkalimetall, med etylformat for å gi forbindelsene med formel (III):

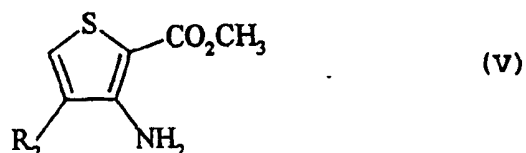


20

- hvor R<sub>2</sub> er som definert tidligere og M<sup>+</sup> representerer et alkalimetallkation, slik som natrium eller kaliumkation, hvilke forbindelser med formel (III) plasseres under betingelser for nukleofiladdisjon i nærvær av fenylsulfonylchlorid
- 25 for å gi forbindelsene med formel (IV):



hvor  $R_2$  er som definert tidligere,  
 hvilke forbindelser med formel (IV) reageres med metyltio-  
 glykolat for å gi forbindelsene med formel (V):



5

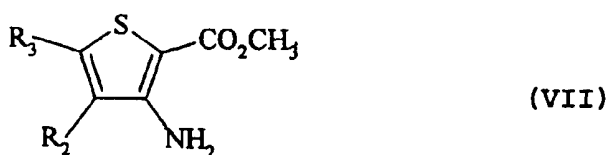
hvor  $R_2$  er som definert tidligere,  
 aminogruppen i forbindelsene med formel (V) beskyttes i  
 henhold til konvensjonelle fremgangsmåter for organiske  
 synteser og reageres deretter med en forbindelse med formel  
 (VI):

10



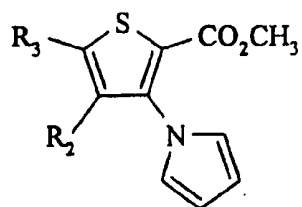
15

hvor X representerer en utgående gruppe og  $R_3$  er som defi-  
 nert for formel (I),  
 aminofunksjonen avbeskyttes deretter for å gi forbindelsene  
 med formel (VII):



20

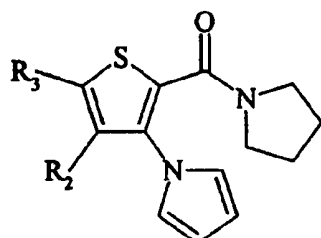
hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert for formel (I),  
 hvilke forbindelser med formel (VII) plasseres i nærvær av  
 dimetoksyttetrahydrofuran og 4-klorpyridiniumklorid for å gi  
 forbindelsene med formel (VIII):



(VIII)

hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert tidligere,  
 hvilket deretter reageres med pyrrolidin for å gi forbindelsene med formel (IX):

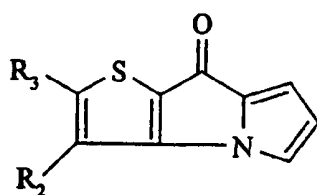
5



(IX)

hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert tidligere,  
 hvilke forbindelser med formel (IX) cycliseres ved å bruke  
 fosforoksyklorid for å gi forbindelsene med formel (I/a),  
 et spesielt tilfelle av forbindelsene med formel (I):

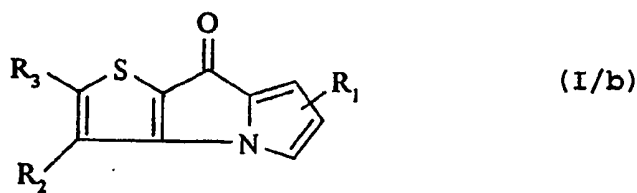
10



(I/a)

hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert tidligere,  
 pyrrolkjerner i forbindelser med formel (I/a) funksjon-  
 liseres i henhold til konvensjonelle betingelser for or-  
 ganiske synteser for å gi forbindelsene med formel (I/b),  
 et spesielt tilfelle av forbindelsene med formel (I):

15



hvor R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> og R<sub>1</sub> er som definert for formel (I) unntatt at R<sub>1</sub> ikke kan representere et hydrogenatom,

5 forbindelsene (I/a) og (I/b) utgjør totaliteten av forbindelsene av oppfinnelsen, som, hvis nødvendig, renses i henhold til en konvensjonell renseteknikk, hvis ønsket, kan separeres i sine forskjellige isomerer i henhold til en konvensjonell separasjonsteknikk og, hvis passende, kon-  
10 verteres til sine addisjonssalter med en farmasøytisk akseptabel syre eller base.

Forbindelsene med formler (II) og (VI) er enten kommersielt tilgjengelige eller erholdes i henhold til konvensjonelle  
15 fremgangsmåter for organisk syntese.

Forbindelsene med formel (I) viser spesielt interessante anti-tumor aktiviteter. De har utmerket *in vitro* cytotoxicitet på cellelinjer, spesielt linjer fremstilt ved å  
20 starte fra faste humane tumorer, og de er godt tolerert *in vivo*. De karakteristiske egenskaper ved disse forbindelser tillater dem å bli anvendt i terapeutika som anti-tumor midler.

25 Den foreliggende oppfinnelse vedrører også farmasøytiske sammensetningene omfattende forbindelsene med formel (I), optiske isomerer derav eller addisjonssalter derav med en farmasøytisk akseptabel base eller syre, alene eller i kombinasjon med en eller flere farmasøytisk akseptable,  
30 inerte, ikke-toksiske eksipienter eller bærere.

Blant de farmasøytiske sammensetningene i henhold til oppfinnelsen kan det nevnes mer spesielt de som er egnet for oral, parenteral (intravenøs, intramuskulær eller subkutan), per- eller transkutan, nasal, rektal, perlingual, okulær eller respirasjonsadministrasjon og spesielt tabletter eller dragéer, sublinguale tabletter, myke gelatinkapsler, harde gelatinkapsler, stikkpiller, kremer, salver, dermale geler, injiserbare eller drikkbare preparater, øye- eller nesedråper etc.

Den nyttige dosering varierer i henhold til pasientens alder og vekt, administrasjonsruten, naturen og alvorligheten av forstyrrelsen og administrasjonen av enhver assosiert behandling, og strekker seg fra 1 mg til 500 mg i en eller flere administrasjoner per dag.

Eksemplene som følger illustrerer oppfinnelsen, men begrenser dem på ingen måte. Startmaterialene anvendt er materialer som er kjent eller som fremstilles i henhold til kjente prosedyrer.

De forskjellige trinn gir synteseintermediater som er nyttige i fremstillingen av forbindelsene av oppfinnelsen.

Strukturene av forbindelsene beskrevet i eksemplene og i syntesetrinnene har blitt bestemt i henhold til vanlige spektrofotometriske teknikker (infrarød, kjernemagnetisk resonans, massespektrometri...).

**EKSEMPEL 1: 3-(2-Metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

**Trinn A:  $\alpha$ -Hydroksymetyliden-(2-metoksyfenyl)acetonitril, natriumsalt**

1 ekvivalent etylformat og 1 ekvivalent 2-(2-metoksyfenyl)acetonitril tilsettes i rekkefølge til en løsning, avkjølt til 0°C, av 0,34 mol natrium i 150 ml metanol.

Reaksjonsblandingen varmes deretter i en time ved 60°C og fortynnes deretter ved å tilsette løsemiddel, som forårsaker tilsynekomsten av et nytt presipitat, hvilket filtreres fra og deretter tørkes *in vacuo*, og tillater det forventede produkt å bli isolert.

Smeltepunkt: >250°C

**Trinn B:  $\alpha$ -(Fenylsulfonyloksymetyliden)-2-metoksyfenylacetone-  
nitrid**

1 ekvivalent 2-metoksyfenyl-sulfonylchlorid tilsettes dråpevis til en suspensjon, avkjølt til 0°C, av 0,3 mol av forbindelsen erholdt i trinn A i 100 ml dimetylformamid. Etter 2 timers omrøring tilsettes 100 ml vann, som frembringer dannelsen av et presipitat. Presipitatet filtreres fra og tørkes deretter *in vacuo*, og tillater det forventede produktet å bli isolert.

Smeltepunkt: >250°C

**Trinn C: Metyl 3-amino-4-(2-metoksyfenyl)-2-tiofenkarboksylat**

11 mmol natrium løses i 100 ml metanol. Etter avkjøling av reaksjonsblandingen ved å bruke isbad tilsettes 4,5 mmol metyltioglykolat og deretter 3,7 mmol av forbindelsen erholdt i trinn B. Etter 2 timers reaksjon tilsettes 100 ml vann, og frembringer dannelsen av et presipitat, hvilket filtreres fra og deretter tørkes, og tillater det forventede produkt å bli isolert.

Smeltepunkt: 110°C

**Trinn D: Metyl 4-(2-metoksyfenyl)-3-(1H-1-pyrrolyl)-2-tiofenkarboksylat**

5,2 mmol dimetyoksytetrahydrofuran og 5,2 mmol 4-klorpyridiniumklorid i 100 ml dioksan omrøres i 15 minutter ved omgivelsestemperatur og deretter tilsettes 5,2 mmol av forbindelsen erholdt i trinn C. Reaksjonsblandingen varmes

deretter ved løsemidlets reflux i 3 timer og filtreres deretter. Etter konsentrering av filtratet under redusert trykk, krystalliseres det erholdte residu ved triturering i etyleter, og tillater det forventede produktet å bli isolert.

Smeltepunkt: 148°C

**Trinn E: 4-(2-Metoksyfenyl)-3-(1H-1-pyrrolyl)-2-tiofen-N-pyrrolidinokarboksamid**

En løsning av 3,8 mmol av forbindelsen erholdt i trinn D i 50 ml pyrrolidin varmes ved reflux i 3 timer. Etter avkjøling tilsettes 100 ml vann og frembringer dannelsen av et presipitat, hvilket filtreres fra, vasket med petroleumseter og deretter tørkes i *vacuo*, og tillater det forventede produktet å bli isolert.

Smeltepunkt: 108°C

**Trinn F: 3-(2-Metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]-pyrrolizin-8-on**

En løsning av 2,7 mmol av forbindelsen erholdt i trinn E i 50 ml fosforoksyklorid varmes ved reflux i 3 timer. Etter avkjøling og inndamping av løsemidlet under redusert trykk, krystalliseres residuet fra eter, filtreres fra og vaskes med petroleumseter. Krystallene helles deretter i 100 ml 10% vandig natriumhydroksid og omrøres ved 50°C i 1 time. Det faste stoff filtreres deretter fra, tørkes og renses deretter ved kromatografi på silikagel (kloroform), for å tillate det forventede produktet å bli isolert.

Smeltepunkt: 142°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	68,31	3,94	4,98
funnet	68,24	4,04	4,84

**EKSEMPEL 2: 3-(3-Metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

Prosedyren er som i eksempel 1, trinn A til F, ved å bruke 2-(3-metoksyfenyl)acetonitril som substrat i trinn A.

Smeltepunkt: 150°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	68,31	3,94	4,98
funnet	63,48	3,94	4,29

**EKSEMPEL 3: 3-(3,4-Dimetoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

Prosedyren er som i eksempel 1, trinn A til F, ved å bruke 2-(3,4-dimetyoksyfenyl)-acetonitril som substrat i trinn A.

Smeltepunkt: 190°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	65,58	4,21	4,50
funnet	64,45	4,12	4,46

**EKSEMPEL 4: 3-(3,4-Metylendioksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

Prosedyren er som i eksempel 1, trinn A til F, ved å bruke substratet anvendt i eksempel 3 som substrat i trinn A.

Smeltepunkt: 168°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	65,08	3,07	4,74
funnet	59,30	3,77	4,39

**EKSEMPEL 5: 3-(3,4,5-Trimetoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

Prosedyren er som i eksempel 1, trinn A til F, ved å bruke 2-(3,4,5-trimetoksyfenyl)-acetonitril som substrat i trinn A.

Smeltepunkt: 180°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	63,33	4,43	4,10
funnet	63,26	4,86	4,22

5 **EKSEMPEL 6: 3-(2-Hydroksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

En løsning av 1,1 mmol av forbindelsen fra eksempel 1 og 1,1 mmol bortribromid i kloroform omrøres i 30 minutter ved omgivelsestemperatur. Etter tilsetning av 100 ml vann filtreres det dannede presipitat fra, tørkes og omkrystalliseres deretter fra etanol, og tillater det forventede produktet å bli isolert.

Smeltepunkt: 192°C

15 **Element mikroanalyse:**

	%C	%H	%N
kalkulert	67,40	3,39	5,24
funnet	66,49	3,25	5,48

20 **EKSEMPEL 7: 3-(3-Hydroksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

Prosedyren er som i eksempel 6, ved å bruke produktet erholdt i eksempel 2 som substrat.

25 Smeltepunkt: >260°C

**Element mikroanalyse:**

	%C	%H	%N
kalkulert	67,40	3,39	5,24
funnet	64,19	3,24	4,86

30

**EKSEMPEL 8: 3-(3,4,-Dihydroksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

Prosedyren er som i eksempel 6, ved å bruke produktet erholdt i eksempel 3 som substrat.

35

Smeltepunkt: >260°C

**EKSEMPEL 9: 3-(4-Etoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

**Trinn G: 3-(4-Metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

5

Produktet erholdes i henhold til operasjonsbetingelsene beskrevet i patentsøknad EP 718 299.

**Trinn H: 3-(4-Etoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

10

1,4 mmol av forbindelsen erholdt i trinn G og 15 ml etylbromid tilsettes til en løsning av 1,4 mmol natrium i 100 ml metanol. Reaksjonsblandingen varmes deretter inntil substratet er fullstendig i henhold til tynn-sjikt kromatografi (diklormetan/metanol:9/1). Løsemidlet dampes deretter av under redusert trykk og det erholdte faste stoff omrøres deretter i 0,5N-vandig natriumhydroksid. Etter filtrering og vasking med vann tørkes krystallene og omkrystalliseres deretter fra en blanding av metanol/etanol:1/2, og tillater det forventede produkt å bli isolert.

15

20

Smeltepunkt: 200°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	69,13	4,44	4,74
funnet	69,07	4,44	4,96

25

**EKSEMPEL 10: 3-(4-Propoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

30

Prosedyren er som i trinn H i eksempel 9, ved å bruke n-propylbromid som reagens. Produktet omkrystalliseres fra en blanding av metanol/isopropanol:1/2.

Smeltepunkt: 172°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	69,88	4,89	4,53
funnet	69,06	4,65	4,87

35

**EKSEMPEL 11: 3-(4-n-Butoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

Prosedyren er som i trinn H i eksempel 9, ved å bruke n-butylbromid som reagens. Produktet omkrystalliseres fra etanol.

Smeltepunkt: 129°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
10 kalkulert	70,56	5,30	4,33
funnet	69,84	5,28	4,65

**EKSEMPEL 12: 6-Brom-3-(4-metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

2,1 mmol brom tilsettes til en løsning av 1,8 mmol 3-(4-metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on i 50 ml kloroform. Etter to timers omrøring, dampes løsemidlet av under redusert trykk. Kromatografi på silikagel (diklormetan) tillater det forventede produktet å bli isolert.

Smeltepunkt: 186°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	53,35	2,80	3,89
25 funnet	52,58	2,82	4,12

**EKSEMPEL 13: 2,6-Dibrom-2-(4-metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]-pyrrolizin-8-on**

Produktet isoleres i løpet av kromatografi på silikagel utført på forbindelsen i eksempel 12.

Smeltepunkt: 202°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
35 kalkulert	43,76	2,07	3,19
funnet	43,48	2,02	3,58

**EKSEMPEL 14: 3-(3-Hydroksy-4-metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]-pyrrolizin-8-on**

En løsning av 0,6 mmol av forbindelsen i eksempel 3 og et  
 5    overskudd av aluminiumklorid i kloroform omrøres ved 50°C i  
 30 minutter. Etter konsentrering under redusert trykk, om-  
 røres residuet i vann i 30 minutter for å gi røde krystal-  
 ler. Etter filtrering, kromatografi på silikagel (kloro-  
 form) tillater det forventede produkt å bli isolert.

10    Smeltepunkt: 180°C

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	64,63	3,73	4,71
funnet	62,89	3,84	4,69

15

**EKSEMPEL 15: 6-Nitro-3-(4-metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyr-  
 rolizin-8-on**

En løsning av 1 mmol av forbindelsen erholdt i eksempel 12  
 20    i 50 ml nitrometan omrøres i 12 timer ved omgivelsestem-  
 peratur og reaksjonsblandingen helles deretter i en 1M-  
 kaliumhydroksidløsning. Etter ekstraksjon med diklormetan  
 tørkes de organiske faser over natriumsulfat, filtreres og  
 konsentreres under redusert trykk. Kromatografi på silika-  
 25    gel (kloroform) tillater det forventede produktet å bli  
 isolert.

**EKSEMPEL 16: 6-Amino-3-(4-metoksymetyl)--8H-tieno[2,3-b]-  
 pyrrolizin-8-on**

30

En løsning inneholdende 1 ekvivalent av forbindelsen er-  
 holdt i eksempel 14 i 30 ml metanol og 100 mg 10% palla-  
 dium-på-kull varmes i 2 timer ved 40°C. Etter retur til  
 omgivelsestemperatur filtreres reaksjonsblandingen over  
 35    Celitt og konsentreres deretter under redusert trykk, og  
 tillater det forventede produkt å bli isolert.

**EKSEMPEL 17: 6-Metoksy-3-(4-metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on**

1 ekvivalent av forbindelsen erholdt i eksempel 12 omrøres  
 5 ved omgivelsestemperatur, i en løsning av natrium-metano-  
 lat. Etter 12 timers reaksjon, konsentreres reaksjons-  
 blandingen under redusert trykk. Residuet tas opp i diklor-  
 metan; den organiske fasen vaskes deretter med en mett  
 NaCl-løsning, tørkes over natriumsulfat og konsentreres  
 10 deretter under redusert trykk. Kromatografi på silikagel  
 (diklormetan) tillater det forventede produkt å bli iso-  
 lert.

**EKSEMPEL 18: 2-(Butyryloksy)-4-(8-okso-8H-tieno[2,3-b]pyr-  
 15 rolizin-3-yl) fenylbutyrat**

2,2 ekvivalenter butananhydrid tilsettes dråpevis til en  
 løsning av 1,7 mmol av forbindelsen fra eksempel 8 i 50 ml  
 tetrahydrofuran. Etter en times reflux og deretter av-  
 20 kjøling tilsettes noen få dråper vann og 50 ml 5% natrium-  
 hydroksid til reaksjonsblandingen. Den organiske fasen  
 ekstraheres deretter, tørkes, filtreres og dampes deretter  
 inn under redusert trykk, og tillater det forventede pro-  
 duktet å bli isolert.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	65,23	4,99	3,30
funnet	65,11	4,93	4,02

**EKSEMPEL 19: 2-Hydroksy-4-(8-okso-8H-tieno[2,3-b]pyrroli-  
 30 zin-3-yl) fenylpivalat**

Prosedyren er som i eksempel 18, ved å bruke 1,1-dimetyl-  
 propansyreanhydrid som reagens.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	65,38	4,66	3,81
funnet	65,18	4,69	3,73

**EKSEMPEL 20: 2-(Acetoksy)-4-(8-okso-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-3-yl) fenylacetat**

Prosedyren er som i eksempel 18, ved å bruke eddiksyreanhydrid som reagens.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	62,11	3,56	3,81
funnet	62,18	3,53	3,97

**EKSEMPEL 21: 4-(8-Okso-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-3-yl)-2-(propionyloksi) fenylpropionat**

Prosedyren er som i eksempel 18, ved å bruke propansyreanhydrid som reagens.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	63,78	4,33	3,54
funnet	63,50	4,29	3,51

**EKSEMPEL 22: 3-[3-(Benzyloksy)-4-metoksyfenyl]-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on****Fremstilling A: 2-[3-(Benzyloksy)-4-metoksyfenyl]acetonitril**Trinn 1: 3-Benzyloksy-4-metoksybenzaldehyd

1,2 ekvivalenter  $K_2CO_3$  og 1,2 ekvivalenter benzylbromid tilsettes til en suspensjon av 0,33 mol 3-hydroksy-4-metoksybenzaldehyd i 400 ml metanol. Etter 24 timers reflux filtreres reaksjonsblandingen mens den fremdeles er varm og den organiske fase dampes deretter av under redusert trykk. Det isolerte residuet tas opp i 300 ml kloroform og vaskes deretter med vann. Etter ekstraksjon, tørking og filtrering dampes den organiske fasen av under redusert trykk og til-  
later det forventede produkt å bli isolert.

Trinn 2: [3-(Benzyloksy)-4-metoksyfenyl]metanol

En løsning av 0,35 mol av forbindelsen erholdt i trinn 1 i 400 ml metanol og 1,5 ekvivalenter natriumborhydrid omrøres i 6 timer ved omgivelsestemperatur og deretter tilsettes langsomt 500 ml surgjort vann. Det erholdte precipitat tas opp i eter; den organiske fase ekstraheres deretter, tørkes, filtreres og dampes deretter inn under redusert trykk, og tillater det forventede produkt å bli isolert.

Trinn 3: 2-Benzyloksy-4-klormetyl-1-metoksybenzen

En løsning av 0,32 mol av forbindelsen erholdt i trinn 2 og 1,2 ekvivalenter tionylklorid i 300 ml dioksan omrøres ved omgivelsestemperatur. Etter 1 times reaksjon tilsettes 500 ml vann. Det dannede presipitat filtreres fra, vaskes med vann og tørkes deretter, og tillater det forventede produkt å bli isolert.

Trinn 4: 2-[3-(Benzyloksy)-4-metoksyfenyl]acetonitril

En løsning av 0,22 ml av forbindelsen erholdt i trinn 3 i 300 ml acetonitril og 1,1 ekvivalenter tetraetylammoniumcyanid omrøres i en dag ved omgivelsestemperatur og deretter tilsettes 500 ml av en 5% natriumhydrogenkarbonatløsning. Det erholdte presipitat tas opp i eter; den organiske fase ekstraheres deretter, tørkes, filtreres og dampes inn under redusert trykk, og tillater det forventede produkt å bli isolert.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	75,86	5,96	5,52
funnet	75,83	6,12	5,55

Produktet fra fremstilling A underkastes deretter reaksjonene beskrevet i eksempel 1, trinn A til F, og tillater det forventede tittelprodukt i eksemplet å bli isolert.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	71,30	4,42	3,62
funnet	71,52	4,67	3,77

5

**EKSEMPEL 23:** 3-[4-(Benzyloksy)-3-metoksyfenyl]-8H-tieno-  
[2,3-b]pyrrolizin-8-on

**Fremstilling B:** 2-[4-(Benzyloksy)-3-metoksyfenyl]acetonitril

10

Prosedyren er som i fremstilling A, trinn 1 til 4, ved å bruke 4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd som substrat i trinn 1.

15 Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
kalkulert	75,86	5,96	5,52
funnet	75,62	6,02	5,88

20 Produktet fra fremstilling B underkastes deretter reaksjonene beskrevet i eksempel 1, trinn A til F, og tillater det forventede tittelprodukt i eksemplet å bli isolert.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
25 kalkulert	71,30	4,42	3,62
funnet	70,87	4,32	3,64

**EKSEMPEL 24:** 3-(4-Hydroksy-3-metoksyfenyl)-8H-tieno[2,3-b]-pyrrolizin-8-on

30

1 mmol av forbindelsen fra eksempel 23 oppløst i overskudd av hydrobromsyre i 33% eddiksyre omrøres i 30 minutter ved omgivelsestemperatur. Etter tilsetning av 100 ml vann dannes et presipitat, hvilket filtreres fra og deretter tørkes. Kromatografi på silikagel (etylacetat/heksan:1/2) tillater det forventede produkt å bli isolert.

35

**EKSEMPEL 25: 2-Metoksy-5-(8-okso-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-3-yl) fenylacetat**

Prosedyren er som i eksempel 18, ved å bruke forbindelsen  
5 fra eksempel 24 som substrat og utføre reaksjonen i eddiksyre i nærvær av eddiksyreanhydrid.

Element mikroanalyse:

	%C	%H	%N
10 kalkulert	63,70	3,86	4,12
funnet	63,25	4,46	4,37

**FARMAKOLOGISK STUDIE AV FORBINDELSENE AV OPPFINNELSEN**

15 **EKSEMPEL 26: In vitro cytotoxicitet**

Seks cellelinjer ble anvendt:

- 2 murine leukemier, P388 og L1210
- 1 human ikke-liten celledungekarsinoma, A549
- 20 - 1 human epidermoid karsinom, KB-3-1, og den tilsvarende resistente linje, KB-A1, multi-legemiddel resistensen av denne ble frembrakt ved å bruke adriamycin (ADR),
- 1 human ovarien karsinom, IGROV1.

25 Cellene dyrkes i RPMI 1640 fullstending dyrkningsmedium inneholdende 10% føtalt kalveserum, 2 mM glutamin, 50 enheter/ml penicillin, 50 µg/ml streptomycin og 10 mM HEPES, pH = 7,4. Cellene fordeles på mikrotitreplater og ekponeres på de cytotoxicke forbindelser. Cellene inkuberes deretter i 2  
30 dager (P388, L1210) eller 4 dager (A549, KB-A1, KB-3-1, IGROV1). Antall levende celler kvantifiseres deretter ved hjelp av et kolorimetrisk assay, Microculture Tetrazolium Assay (Cancer Res. 1987, 47, 939-942).

35 Resultatene uttrykkes som IC<sub>50</sub>, konsentrasjonen av cytotoxic middel som inhiberer prolifereringen i de behandlede celler med 50%. I disse testene har forbindelsen fra eksempel 8 IC<sub>50</sub>-verdiene fremsatt i tabellen under:

Forbindelse testet	IC <sub>50</sub> (nM)					
	P388	L1210	A549	KB-3-1	KB-A1	IGROV1
Eksempel 8	356	222	122	33	22	56

Forbindelsen fra eksempel 8 har en mer potent effekt på cellene som stammer fra humane faste tumorer enn på de to murine leukemier, hvilket er et overraskende og interessant resultat.

#### **EKSEMPEL 27: Virkning på celledyklusen**

L1210-celler inkuberes i 21 timer ved 37°C i nærvær av forskjellige konsentrasjoner av produktene som skal testes. Cellene fikseres deretter ved å bruke 70% (v/v) etanol, vaskes to ganger i PBS og inkuberes i 30 minutter ved 20°C i PBS inneholdende 100 µg/ml RNase og 50 µg/ml propidiumjodid. Resultatene uttrykkes som prosenten av celler som har akkumulert i G2+M-fasen etter 21 timer, sammenlignet med kontrollen (kontroll:20%). Ved en konsentrasjon på 500 nM, forårsaket forbindelsen fra eksempel 8 at 80-90% av cellene akkumulerte i G2+M-fasen etter 21 timer.

#### **EKSEMPEL 28: In vivo aktivitet : anti-tumor aktivitet av forbindelsene på P388 leukemi**

Linje P388 (murin leukemi) ble levert av the National Cancer Institute (Frederick, USA). Tumorcellene (10<sup>6</sup>-celler) ble inokulert på dag 0 i det peritoneale hulrom hos hunn BDF1-mus (Iffa-Credo, Frankrike) som veide fra 18 til 20 g (grupper på 6 dyr). Produktene ble administrert ved den intraperitoneale rute en gang per dag i 4 dager (D1-4) dosene indikert.

Anti-tumor aktiviteten uttrykkes som % T/C:

$$\% T/C = \frac{\text{Midlere overlevelsestid for behandlede dyr}}{\text{Midlere overlevelsestid for kontrolldyrene}} \times 100$$

Forbindelsen fra eksempel 8 er aktiv fra 25 mg/kg dosen og muliggjør at overlevelsen av de behandlede dyr økes med 70%.

5 **EKSEMPEL 29: In vivo aktivitet : anti-tumor aktivitet av forbindelsene på IGROV1 ovarie karsinom**

IGROV1-tumorceller ( $10^7$ -celler) ble inkubert på dag 0 i det peritoneale hulrom i nakne BABL/C-mus (grupper på 5 dyr).  
10 Produktene ble administrert ved den intraperitoneale rute en gang per uke på dag 4, 11 og 18. Anti-tumor aktiviteten uttrykkes som % T/C som definert tidligere.

Forbindelsen fra eksempel 8 er aktiv ved 200 mg/kg dosen og  
15 øker overlevelsen av de behandlede dyr med 60% (T/C=160%).

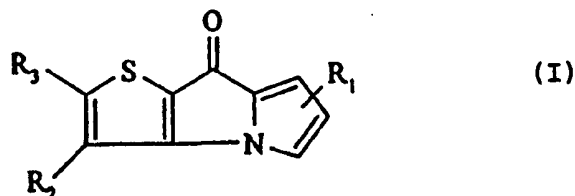
**EKSEMPEL 30: Farmasøytisk sammensetning : tabletter**

Formulering ved fremstillingen av 1.000 tabletter hver  
20 inneholdende 10 mg  
Forbindelse fra eksempel 8.....10 g  
Hydroksypropylcellulose.....2 g  
Hvetestivelse.....10 g  
Laktose.....100 g  
25 Magnesiumstearat.....2 g  
Talk.....2 g

## P A T E N T K R A V

## 1. Forbindelser

k a r a k t e r i s e r t v e d a t d e h a r f o r m e l ( I ) :



5 hvor:

$R_1$  representerer et hydrogenatom, et halogenatom,

$R_2$  representerer fenyl eventuelt substituert med en eller  
10 flere grupper valgt fra OH, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkoksy, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)alkylen-  
dioksy, fenyl-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkoksy eller (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkylkarbonyloksy,

$R_3$  representerer et hydrogenatom, et halogenatom, en nitro-  
gruppe, en lineær eller forgrenet (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkoksygruppe,  
15 eller en aminogruppe,

isomerer derav og addisjonssalter derav med en farmasøytisk  
akseptabel syre eller base,

20 med det forbehold at, når  $R_1$  og  $R_3$  samtidig representerer  
et hydrogenatom, kan  $R_2$  ikke representere en fenylgruppe  
valgfritt substituert i *para*-stillingen med et bromatom,  
kloratom, fluoratom, metoksygruppe eller hydroksygruppe.

25 2. Forbindelser med formel (I) i henhold til krav 1,

k a r a k t e r i s e r t v e d a t  $R_2$  representerer en  
fenylgruppe substituert med minst en gruppe valgt identisk  
eller forskjellig fra hydroksy, lineær eller forgrenet (C<sub>1</sub>-  
C<sub>6</sub>)alkoksy, metylendioksy, etylendioksy, lineær eller for-  
30 grenet (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkylkarbonyloksy og fenyl-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkoksy hvor  
alkoksyenheten kan være lineær eller forgrenet,  
isomerer derav og addisjonssalter derav med en farmasøytisk  
akseptabel syre eller base.

3. Forbindelser med formel (I) i henhold til enten krav 1 eller krav 2,  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at  $R_2$  representerer en fe-  
 nylgruppe substituert med minst en gruppe valgt fra hydrok-  
 5 sy, lineær eller forgrenet ( $C_1-C_6$ )alkoksy, og lineær eller  
 forgrenet ( $C_1-C_6$ )alkylkarbonyloksy, isomerer derav og addi-  
 sjonssalter derav med en farmasøytisk akseptabel syre eller  
 base.

10 4. Forbindelser med formel (I) i henhold til krav 1,  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at  $R_1$  representerer et  
 hydrogenatom og  $R_3$  representerer et hydrogenatom, isomerer  
 derav og addisjonssalter derav med en farmasøytisk aksep-  
 tabel syre eller base.

15 5. Forbindelse med formel (I) i henhold til krav 1,  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at den er 3-(3,4-dihydrok-  
 syfenyl)-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-8-on.

20 6. Forbindelse med formel (I) i henhold til krav 1,  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at den er 2-metoksy-5-(8-  
 okso-8H-tieno[2,3-b]pyrrolizin-3-yl)fenylacetat.

25 7. Fremgangsmåte ved fremstillingen av forbindelser med  
 formel (I),  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at det anvendes som start-  
 materialer en forbindelse med formel (II):



(II)

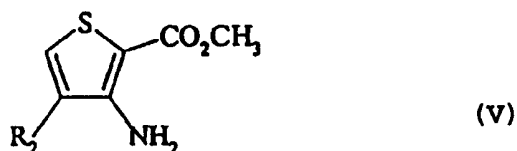
30 hvor  $R_2$  er som definert for formel (I),  
 hvilke forbindelser med formel (II) reageres, i nærvær av  
 et alkalimetall, med etylformat for å gi forbindelsene med  
 formel (III):



hvor  $R_2$  er som definert tidligere og  $M^+$  representerer et alkalimetallkation, slik som natrium eller kaliumkation, hvilke forbindelser med formel (III) plasseres under betingelser for nukleofiladdisjon i nærvær av fenylsulfonylchlorid for å gi forbindelsene med formel (IV):



hvor  $R_2$  er som definert tidligere, hvilke forbindelser med formel (IV) reageres med metyltioglykolat for å gi forbindelsene med formel (V):

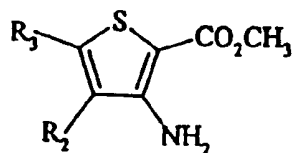


hvor  $R_2$  er som definert tidligere, aminogruppen i forbindelsene med formel (V) beskyttes i henhold til konvensjonelle fremgangsmåter for organiske synteser og reageres deretter med en forbindelse med formel (VI):



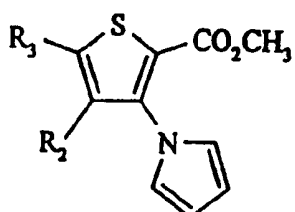
20

hvor X representerer en utgående gruppe og  $R_3$  er som definert for formel (I), aminofunksjonen avbeskyttes deretter for å gi forbindelsene med formel (VII):



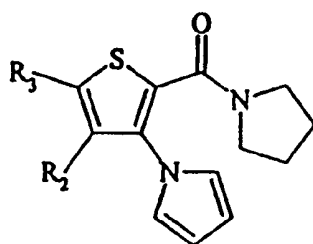
(VII)

hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert for formel (I),  
 hvilke forbindelser med formel (VII) plasseres i nærvær av  
 dimetoksyttetrahydrofuran og 4-klorpyridiniumklorid for å gi  
 5 forbindelsene med formel (VIII):



(VIII)

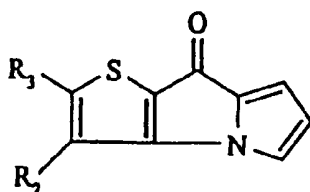
hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert tidligere,  
 hvilket deretter reageres med pyrrolidin for å gi forbin-  
 10 delsene med formel (IX):



(IX)

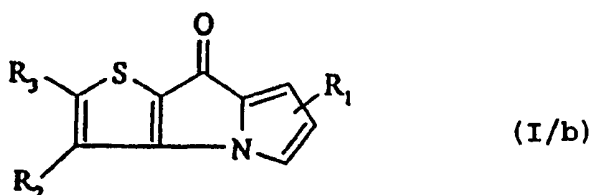
hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert tidligere,  
 hvilke forbindelser med formel (IX) cycliseres ved å bruke  
 fosforoksyklorid for å gi forbindelsene med formel (I/a),  
 et spesielt tilfelle av forbindelsene med formel (I):

15



(I/a)

hvor  $R_2$  og  $R_3$  er som definert tidligere,  
 pyrrolkjerner i forbindelser med formel (I/a) funksjonali-  
 seres i henhold til konvensjonelle betingelser for orga-  
 niske synteser for å gi forbindelsene med formel (I/b), et  
 spesielt tilfelle av forbindelsene med formel (I):



hvor  $R_2$ ,  $R_3$  og  $R_1$  er som definert for formel (I) unntatt at  
 $R_1$  ikke kan representere et hydrogenatom,

10

forbindelsene (I/a) og (I/b) utgjør totaliteten av forbin-  
 delsene av oppfinnelsen, som, hvis nødvendig, renses i hen-  
 hold til en konvensjonell renseteknikk, hvis ønsket, kan  
 separeres i sine forskjellige isomerer i henhold til en  
 konvensjonell separasjonsteknikk og, hvis passende, kon-  
 verteres til sine addisjonssalter med en farmasøytisk  
 akseptabel syre eller base.

#### 8. Farmasøytiske sammensetninger

20

k a r a k t e r i s e r t v e d at de omfatter som aktiv  
 ingrediens minst en forbindelse med formel (I) i henhold  
 til ethvert av kravene 1 til 6, alene eller i kombinasjon  
 med en eller flere farmasøytisk akseptable, inerte, ikke-  
 toksiske eksipienter eller bærere.

25

9. Farmasøytiske sammensetninger i henhold til krav 8,  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at de omfatter minst en  
 aktiv ingrediens i henhold til ethvert av kravene 1 til 6  
 for anvendelse i behandlingen av cancer.