



(12)

BREVET DE INVENTIE

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată
în termen de 6 luni de la data publicării

(21) Nr. cerere: 92-01311

(22) Data de depozit: 14.10.92

(30) Prioritate: 16.10.91 GB 9121943. 6

(41) Data publicării cererii:
BOPI nr.

(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
28.06.96 BOPI nr. 6/96

(45) Data eliberării și eliberării și publicării brevetului:
BOPI nr.

(61) Perfecționare la brevet:
Nr.

(62) Divizată din cererea:
Nr.

(86) Cerere internațională PCT:
Nr.

(87) Publicare internațională:
Nr.

(56) Documente din stadiul tehnicii:
DE 2031224

(71) Solicitant: Sandoz Ltd, Basle, CH

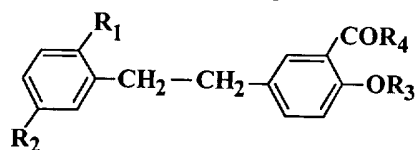
(73) Titular: (71)

(72) Inventatori: Peter Nussbaumer, Anton Stuetz, AT

Mandatar: S.C. ROMINVENT S.A., București, RO Rominvent - S.A.

(54) Derivați de *bis*(fenil)etan, procedee de obținere și compoziții farmaceutice

(57) Rezumat: Invenția se referă la derivați de *bis*(fenil)etan, cu formula generală:



sub formă liberă sau, atunci când asemenea forme există, sub formă de sare, la procedee de obținere a acestora și la compoziții farmaceutice, conținând acești derivați. Derivații au activitate antihiperproliferativă/antiinflamatorie, cât și anticanceroasă.

Revendicări: 9



Prezenta invenție se referă la derivați de bis (fenil)etan pentru utilizări farmaceutice, la procedee de obținere a acestor derivați, precum și la compoziții farmaceutice care conțin acești derivați.

Se cunosc diverși derivați de bis(fenil)-etan.

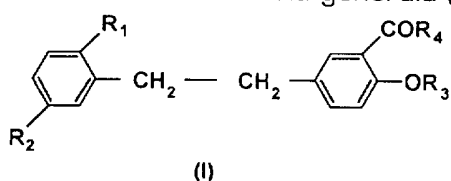
Astfel, sunt cunoscuți acizii fenil-etilbenzoici și sărurile acestora, care se utilizează ca intermediari pentru prepararea cicloheptatrienelor cu activitate psihomotorie.

Se cunosc de asemenea α , ω - difenilalchilene, în care una sau ambele grupe fenil sunt grupe de acid salicilic, ca de exemplu acidul 3-(α -feniletil)-salicilic.

Din **DE-OS-2031224** se cunoaște prepararea acidului 5-(α -hidroxi- β -feniletil)salicilic sau a amidei acidului 5-(p -fluor- β -feniletil)salicilic. Acești compuși sunt descriși ca având activitate anti-inflamatorie antipiretică, analgezică diuretice, antifibrinolitice și hipoglicemică.

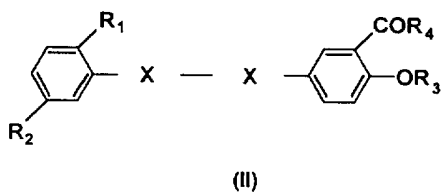
Compușii cunoscuți prezintă dezavantajul că nu au acțiune eficientă în unele afecțiuni.

Derivații de bis(fenil)etan, conform invenției, înlătură dezavantajul menționat, diversifică gama derivaților de bis(fenil)etan, cu efecte terapeutice superioare prin aceea că au formula generală (I)



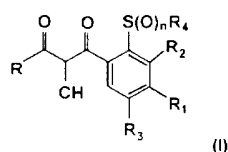
în care: R_1 și R_2 sunt independent alcoxi, R_3 este hidrogen sau acil, și R_4 este alcoxi, derivați care se prezintă sub formă liberă sau sub formă de sare acceptabilă farmaceutic.

Un procedeu pentru obținerea derivaților de bis(fenil), conform invenției, constă în reducerea unui compus cu formula generală (II):



în care -X-X- este vinilen sau etinilen, și eventual transformarea prin transesterificare a unei grupe alcoxi R_4 într-o altă grupă alcoxi R_4 , grupele funcționale putând fi protejate și grupele de protecție îndepărtate, după ce are loc reacția, și izolarea compusului cu formula (I) rezultat în formă liberă sau transformarea lui într-o sare.

Un alt procedeu pentru prepararea derivaților de bis(fenil)-etan constă în esterificarea sau acilarea unui compus cu formula generală (III):



în care R_1 și R_2 au semnificațiile de mai sus, R_5 este hidroxi sau alcoxi, și R_6 este hidrogen sau acil, și eventual transformarea prin transesterificare a unei grupe alcoxi R_4 într-o altă grupă alcoxi R_4 , grupele funcționale putând fi protejate și grupele de protecție îndepărtate, după ce are loc reacția, și izolarea compusului cu formula (I) rezultat în formă liberă sau transformarea lui într-o sare.

Compoziția farmaceutică, conform invenției, este constituită din 0,01 ... 99,9% greutate compus cu formula generală (I) și cel puțin un purtător sau diluant acceptabil farmaceutic.

Derivații de bis(fenil)etan, conform invenției, au formula generală (I) în care:

- alchilul, care este parte componentă a unui substituent, cum ar fi de exemplu alcoxi, are de preferință 1 ... 4 atomi de carbon și în particular, este metil sau etil.

- acidul este, de preferință un rest de acid carboxilic, în particular acid alchil, arilalchil sau arilcarboxilic și în care arilul preferabil este fenil, iar partea alchilenică a acidului, incluzând grupa carbonil, conține 1 ... 5 atomi de carbon. Restul acil preferat este acetil.

Intr-una din variantele preferate de compuși conform invenției R_1 și R_2 sunt fiecare, independent alcoxi cu 1...4

atomi de carbon, iar R_3 și R_4 au semnificațiile definite anterior.

Într-o subgrupă restrânsă de compuși conform invenției intră aceia în care R_1 și R_2 sunt independent, grupări alcoxi având 1 ... 4 atomi de carbon, R_3 este hidrogen sau o grupare alchilcarbonil, ce are în total 2 ... 5 atomi de carbon, iar R_4 este o grupare alcoxi cu 1 ... 4 atomi de carbon (compușii Is); R_1 și R_2 sunt în acest caz, independent, metoxi sau etoxi; R_4 este aici în mod special metoxi sau etoxi.

Procedeele conform invenției pot fi realizate în mod convențional.

Primul procedeu se realizează prin hidrogenare, se utilizează, de preferință, hidrogen împreună cu un catalizator de hidrogenare cum ar fi Pd, Pt sau Rh, de preferință Pd depus de cărbune.

Cel de-al doilea procedeu, conform invenției, se realizează tot în mod convențional, cel puțin unul dintre R_5 și R_6 este hidroxi sau respectiv hidrogen.

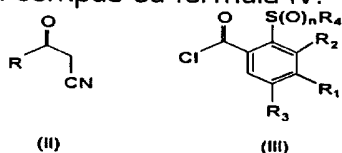
Transesterificarea ca și esterificarea se realizează, de preferință, prin reacția în prezența unui acid tare, cum ar fi acidul sulfuric cu un alcool corespunzător, a cărui grupă ester se dorește a se introduce.

Indepărtarea grupei protectoare are loc, de asemenea, în manieră convențională. Grupa funcțională care poate fi adecvat protejată este grupa hidroxi, protejată de exemplu cu trialkilsilil. Indepărtarea, de exemplu, a grupei trialkilsilil poate fi realizată prin tratare cu acid fluorhidric într-un solvent cum este acetonitrilul.

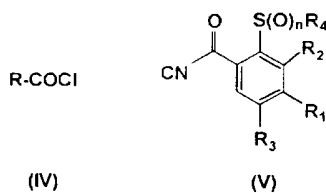
Compușii rezultați conform invenției pot fi izolați din amestecul de reacție și purificați prin metode cunoscute, de exemplu cromatografic.

Materiile prime pot fi de asemenea obținute în mod convențional.

Compușii cu formula II în care -X- este vinilen pot fi preparați prin reacția unui compus cu formula IV.

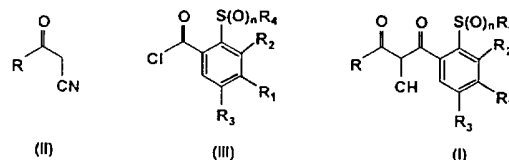


în care X' este un anion, de preferință bromură, cu un compus corespunzător cu formula V:

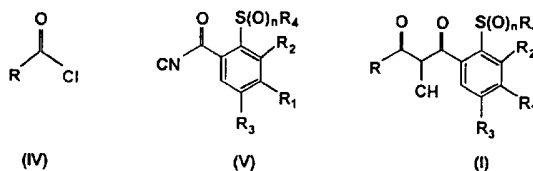


în maniera convențională a reacțiilor de tip Wittig/horner/Emmons, prin tratarea unui compus fosforos cu o bază, cum ar fi alchil-litiu, o hidrură alcalină sau o amidă alcalină, de exemplu amida de sodiu, diizopropilamida de litiu sau un alcoolat alcalin, la o temperatură între aproximativ -70 și aproximativ 100°C și transformarea simultană sau ulterioară cu un component carbonilic la temperaturi între aproximativ -70 și aproximativ 120°C, de preferință între -60 și 60°C, în solvenți adecvați, cum ar fi de exemplu tetrahidrofuranul, toluenul sau dimetilsulfoxidul.

Compușii cu formula II, în care -X- este etinilen, pot fi preparați prin reacția unui compus cu formula generală VI:



cu un compus corespunzător având formula generală VII:



în care Y este halogen, de preferință iod, urmând procedeele standard pentru reacția Heck dintre haloolefine și acetilene.

Compușii cu formula III, în care R_4 este hidrogen, și compușii cu formula III, în care R_5 este hidroxi, pot fi preparați în mod analog celui descris mai sus sau prin dezacilarea sau dealchilarea compuşilor corespunzători cu formula I, în care R_3 este acil și/sau R_4 este alcoxi.

Deoarece nu este prezentată prepararea materiilor prime, acestea sunt fie cunoscute, fie pot fi preparate prin metode cunoscute, prin metode analoage sau prin metodele prezentate în exemple.

Derivații de *bis*(fenil) etan, conform invenției, prezintă avantaje prin faptul că posedă o acțiune farmaceutică antiproliferativă și antitumorală.

În continuare, se dau exemple de realizare a invenției.

În exemplele care urmează, toate temperaturile sunt în grade centigrade; valorile RMN sunt ^1H - RMN (COCl_3).

Exemplul 1 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etil/-2-hidrobenzoat de metil/ Formula I: $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_4 = \text{OCH}_3$; $\text{R}_3 = \text{H}$ /Procedeul 1 (conform revendicării 6). 60 mg de ester metilic al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)-etinil/-2-hidrobenzoic (formula II: -X-X- = etinilen) sau 60 mg de ester metilic al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etenil/-2-hidrobenzoic (formula II; -X-X- = vinilen) se dizolvă în 10 ml acetat de etil. După adăugare a 10 mg 10% Pd/C, amestecul se agită peste noapte sub atmosferă de hidrogen, se filtrează pe Celite[®] și se evaporă la sec sub presiune redusă; se obține compusul din titlu (cristale incolore, p.t. 65°. După purificare cromatografică p.t. 67°(din etanol).

Materia primă se obține astfel: 240 mg 2,5-dimetoxifenilacetilenă (formula VI) și 403 mg 5-iodosalicilat de metil (formula VII) se dizolvă, sub atmosferă de argon în 20 ml benzen uscat și fără oxigen. Amestecul se tratează cu 85 mg tetrakis (trifenilfosfin)paladiu, 20 mg iodură de cupru (I) și 450 mg trietilamină, se agită la temperatura camerei peste noapte și apoi se toarnă peste 100 ml soluție tampon apoasă cu pH 7. După extracția cu acetat de etil și purificare prin cromatografie pe silicagel, s-a obținut esterul metilic al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etinil/-2-hidrobenzoic (cristale incolore cu p.t. 105 ... 108°).

6,6 mmoli de litiu diizopropilamidă în tetrahidrofuran/n-hexan se adaugă la -40°C la o suspensie formată din 1 g

bromură de 2,5 -dimetoxibenzil-trifenilfosfoniu (formula IV) în 15 ml tetrahidrofuran absolut. După agitare timp de o oră, amestecul se răcește la -70°C și se tratează lent cu 372 mg 3-metoxycarbonil-4-hidrobenzaldehydă (formula V) dizolvată în 5 ml tetrahidrofuran absolut. Amestecul se agită timp de o oră la -70° și 2 h la temperatura camerei și apoi se toarnă peste o soluție apoasă de clorură de amoniu. După extracție cu acetat de etil și evaporare, se obține un amestec de (E) și (Z) metil ester al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etenil/-2-hidrobenzoic care poate fi cromatografiat pe silicagel (n-hexan acetat de etil 9:1). Prima fracție constă din izomerul Z (cristale incolore, p.t. 78 ... 80°), urmată de izomerul E (cristale incolore p.t. 80 ... 82°).

Exemplul 2. Esterul etilic al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etil/-2-hidrobenzoic./Formula I: $\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{OCH}_3$; $\text{R}_3 = \text{H}$; $\text{R}_4 = \text{OCH}_2\text{CH}_3$ /Procedeul 2 (conform revendicării 7). 250 mg acid 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etil/-2-hidrobenzoic sau 250 mg ester metilic al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)3 etil/2-hidrobenzoic (formula III; $\text{R}_5 = \text{OH}$ sau OCH_3 ; $\text{R}_6 = \text{H}$) se dizolvă în 10 ml etanol uscat și se tratează cu 0,2 ml acid sulfuric concentrat. Amestecul se refluxează 48 h și se toarnă apoi în 150 ml apă. După extracție cu acetat de etil și purificare prin cromatografie pe silicagel, se obține compusul din titlu (ulei incolor): RMN: 10,69 (s, 1H); 7,67 (d, J=2,2Hz, 1H); 7,29 (dd, J=2,2+8,5Hz, 1H); 6,91 (d, J=8,5 Hz, 1H); 6,66-6,83 (m, 3H); 4,42 (qua, J=7Hz, 2H); 3,79 (s, 3H); 3,75 (s, 3H); 2,76-2,92 (m, 4H); 1,44 (tr, J=7Hz, 3H).

Exemplul 3. Esterul metilic al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etil/-2-acetoxibenzoic /Formula 1 : $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_4 = \text{OCH}_3$; $\text{R}_3 = \text{COCH}_3$ /Varianta b de procedeu/. Procedeul 2 (conform revendicării 7). 150 mg ester metilic al acidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)etil/-2-hidrobenzoic (compus din exemplul 1) se dizolvă în 2,5 ml anhidridă acetică și se tratează cu 45 mg piridină. Amestecul

se agită peste noapte la temperatura camerei după care se toarnă peste 100 ml apă și se extrage cu acetat de etil. Extractele organice combinate se spală succesiv cu soluție apoasă 0,1N HCl, soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și

apă. După evaporarea solventului se obține compusul din titlu (ulei incolor): RMN: 7,85 (d, J = 2Hz, 1H); 7,34 (dd, J = 2 + 8 Hz, 1H); 6,99 (d, J = 8Hz, 1H).

Exemplul nr.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Procedeul	P.t. sau RMN
4	OCH ₃	OCH ₃	COCH ₃	OCH ₃	1	ulei, RMN ¹
5	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₂ CH ₂ CH ₃	1).2) ²	ulei, RMN ⁶⁾
6	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	1).2) ²	ulei, RMN ⁷⁾
7	OCH ₂ CH ₃	OCH ₂ CH ₃	H	OCH ₃	1) ⁴ 2)	ulei, RMN ⁸⁾
8	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH(CH ₃) ₂	1) 2) ²⁾	ulei, RMN ⁵⁾

1) Vezi exemplul 3;

2) Esterificarea se face pornind de la compusul corespunzător cu formula III în care R₅ este hidroxi (p.t. 120 ... 125°C preparat în mod analog exemplului 1);

3) Se pornește de la compușii corespunzători cu formula II în care -X-X- este vinilen (p.t. 86...88°C), izomerul-E-izomerul Z cu p.t. 63...66°C preparat ca în exemplul 1;

4) Se pornește de la amestecul E/Z (aproximativ 1,3:1) al compușilor corespunzători cu formula II în care -X-X-este vinilen (p.t. 45...50°C) preparat ca în exemplul 1;

5) 10,77(s, 1H), 7,62(d, J=2,3Hz, 1H), 7,28(dd, J=2,8+8,5Hz, 1H), 6,9(d, J=8,5Hz, 1H), 6,8(d, J=9Hz, 1H), 6,66-6,75(m, 2H), 5,29 (sept, J= 6,25 Hz, 1H), 3,79(s, 3H), 3,75(s, 3H), 2,75-2,9(m, 4H), 1,41(d, J=6,25Hz, 6H).

6) 10,69(s, 1H), 7,65(d, J=2,2Hz, 1H), 7,29(dd, J=2,2+8,5Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,5Hz, 1H), 6,66-6,83(m, 3H), 4,32(tr, J=7Hz, 2H), 3,79(s, 3H), 3,75(s, 3H), 2,77(2,93(m, 4H), 1,83(sex, J=7Hz, 2H), 1,06(tr, J=7Hz, 3H).

7) 10,69(s, 1H), 7,63(d, J=2,2Hz, 1H), 7,28 (dd, J=2,2+8,Hz, 1H), 6,9(d, J=8,5Hz, 1H), 6,79(d, J=8,5Hz, 1H), 6,65-6,75(m, 2H), 4,36(tr, J=6,7Hz, 2H), 3,78(s, 3H), 3,74(s, 3H), 2,76-2,92(m, 4H), 1,70-1,85(m, 2H), 1,40-1,55(m, 2H), 1,00(tr, J=7,3Hz, 3H);

8) 10,59(s, 1H), 7,68(d, J=2,3Kz, 1H), 7,29 (d d , J = 2 , 3 + 8 , 5 H z , 1 H) , 6 , 9 2 (d , J = 8 , 5 H z , 1 H) , 6 , 6 5 - 6 , 8 1 (m , 3 H) 7 . 3 , 9 9 (q u a , J = 7 H z , 2 H) , 3 , 9 6 (s , 3 H) , 3 , 9 4 (q u a , J = 7 H z , 2 H) , 2 , 7 6 - 2 , 9 3 (m , 4 H) , 1 , 4 2 (t r , J = 7 H z , 3 H) , 1 , 8 (t r , J = 7 H z , 3 H) . 6 6 - 6 , 8 0 (m , 3 H) ; 3 , 8 7 (s , 3 H) ; 2 , 8 9 (s , 4 H) ; 2 , 3 4 (s , 3 H) .

Compușii cu formula I în formă liberă, sau când există astfel de forme, sub formă de sare acceptabilă farmaceutic, posedă proprietăți chemoterapeutice avantajoase. Acești compuși se recomandă a fi utilizați ca substanțe farmaceutice.

În particular, ei posedă activitate antihiperproliferativă/ antiinflamatorie și anticanceroasă. Se folosesc următoarele prescurtări:

- CHO - K1 = linie de celule cunoscută ca "K1 - ovarian hemater chinezesc;

- DMEM = mediu de vultur modificat Dulbeco;

- RGF = factor de creștere epidermal;

- FCS = ser de fostus de vițel;

- HaCaT = linie de celule cunoscute sub denumirea "temperatura calciului adult uman";

- RPMI-1640 = mediul 1640 Roswell Park Memorial Institute;

- TGP = factorul de creștere a transformării.

Exemplele 4 ... 8. Sunt prezen-

tate în tabelul care urmează. Compușii (formula I) sunt obținuți în mod analog.

În continuare, se prezintă teste de utilizare a acestor compuși ca substanțe farmaceutice.

1. Inhibarea proliferării liniei de celule heratinocite umane HaCaT (sau linia de celule de referință CHO - K1).

Celelalte HaCaT, care reprezintă o transformare spontană a liniei de celule heratinocite umane netumorale ale receptorului pozitiv TGF - și EG F cu caracteristici de diferențiere fenotipice conservate ale keratinocitelor normale / (Boukamp p.a. *J.Cell.Biol.* 106, 761 771(1988)/ sunt cultivate într-un mediu MEM în care s-a mai adăugat 2,2 g/l NaHCO_3 , 0,11 g/l piruvet de sodiu, 15 mM Hepes, 5% FCS, penicilină (100U/ml), streptomycină (100 μ g/ml) și glutamină (pentru a crește concentrația finală cu 4 mM). Celulele CHO-K1 sunt cultivate în mediul de mai sus în care se mai adaugă 40 g/ml prolină. Pentru determinările de proliferare, celulele sunt detașate prin tripsinizare, se suspendă într-un mediu proaspăt și se înșămânțează pe un aparat de microtitrare cu 96 de poziții, la 2000 ... 4000 celule/0,2 ml/poziție (cavitate). După 24 h, se înlocuiește mediul cu unul proaspăt conținând concentrații gradate ale compusului de testat. După o incubare de 3 ... 4 zile, mărimea proliferării celulare se măsoară calorimetric, folosind sulforodamină B (Skeham ș.a., *J.Natl. Cancer Inst.* 82,1107... 1112 (1990)/. Rezultatele reprezintă media $\pm$ abaterea standard a trei măsurători.

În determinările de mai sus, compușii inhibă proliferarea celulelor HaCaT cu valori IC_{50} variind de la 0,03 μM la 3 μM .

Activitatea anticancer oate fi determinată astfel:

2. Inhibarea proliferării celulei tumorale. Linia de celule tumorale, exemplu K = 562, L1210, HeLa, 8K-Br-3, MDAMB-468, MCF-7 sau MDAMB-231 (toate accesibile de la *American Type Culture Collection*, Rockville, MD 20852, SUA) este crescută într-un mediu RPMI-

1840 suplimentat cu FCS 10% inactivat termic (56°C/30 min) și antibiotice (soluție 1 x GIBCO penicilină-streptomycină). Când se atinge creșterea exponențială a liniei de celule tumorale crescute în suspensie (K-562 și L 1210) sau o confluență de 60 ... 90% pentru liniile de celule aderente (HeLa, SK-BR-3, MDAMB-468, MCF-7 și MDAMB-231) celulele sunt strânse (celulele aderente sunt tripsinizate), suspendate în mediu de creștere proaspăt și înșămânțate într-o placă de cultură cu 96 de poziții, la concentrații variind între 1000 și 5000 celule/poziție. Celulele sunt crescute timp de 2 ... 4 zile într-un volum final de 0,2 ml/poziția de probă, la 37°C într-un incubator umectat și echilibrat cu CO_2 5%, în prezența concentrațiilor gradate de compus de testare. Mărimea proliferării celulare este măsurată colorimetric folosind MTT (Alley ș.a., *Cancer Res.* 48, 1988, 589...501) pentru celulele crescute în suspensie sau cu sulforodamină B pentru celulele aderente. În determinarea de mai sus, compușii inhibă proliferarea a 4 linii de celule menționate, cu valori IC_{50} variind în intervalul 0,019 μM aproximativ 3 μM .

3. Efectul creșterii tumorilor umane xenotransplantate în șoareci fără păr. MiaPaCa-2 este o linie de celule tumorale pancreatice umane; linia de celule A 431 este derivată dintr-un carcinom epidermoid uman al vulvei. Ele sunt accesibile de la ATCC (*American Type Culture Collection*). Culturile de celule sunt crescute fără antibiotice și agenți anti-fungi. Femelele de șoareci fără păr Balb/C, cântărind 20 ... 23 g sunt lăsate în grupuri de câte 5, cu acces liber la apă și la o dietă pentru rozătoare, fără agenți patogeni. Tumorile sunt inițiate din linia de celule tumorale cultivate, prin injectarea subcutanată a 10^7 celule în șoarecii fără păr. Când tumorile au ajuns la aproximativ 1 cm diametru, sunt extirpate, tăiate în bucăți mici de aproximativ 4 x 3 mm și transplantate subcutanat în ambele serii de șoareci fără păr. După 1 și 2 săptămâni de la transplant, se măsoară tumorile.

Animalele cu tumori în creștere sunt amestecate statistic în grupele de control și de tratament cu tumori medii identice per șoarece. Compușii de testare sunt administrați per oral. Aceeași soluție de medicamente este folosită pentru două serii de tratament consecutive. Animalele de control sunt tratate numai cu purtător. La intervale săptămânale, se determină volumul tumorilor și se exprimă ca volumul mediu al tumorii per animal (mm^3). Datele sunt evaluate prin folosirea unui program statistic RS/1 (BBN Software Products Corp) și s-au testat folosind testul student și testul Mann-Whitney.

În determinarea de mai sus, compușii administrați în doze de 30 mg/kg-100 mg/kg p.o. sau de la 3 mg/kg - 10 mg/kg i.v. inhibă semnificativ creșterea tumorilor A 431 (tumorile epidermice umane supraexprimând receptorul EGF) ($P < 0,05$ sau $< 0,01$), pentru întreaga perioadă de tratament. La sfârșitul experimentului (4 săptămâni), volumul tumorii șoarecilor tratați cu medicament este de la aproximativ 10% la aproximativ 50% față de animalele de control. Creșterea MiaPaCa (tumori pancreatice umane exprimând cantitățile normale ale receptorului RGF) este inhibată în mod similar; după trei săptămâni de tratament, volumul tumorii în șoarecii tratați este inhibat semnificativ față de animalele de control.

Activitatea antihiperproliferativă/antiinflamatorie, la aplicarea locală, poate fi determinată astfel:

4. *Inhibarea dermatitelor de contact alergice induse de oxazonă la șoareci.* Sensibilizarea este indusă printr-o singură aplicare a 2% oxazonă (10 μl) pe pielea abdomenului șoarecilor (8 animale în fiecare grup). Reacția de hipersensibilitate care produce inflamarea lobului urechii a fost provocată de o a doua expunere la oxazonă 2% aplicată pe un lob al urechii al fiecărui animal, după 8 zile.

Inhibarea umflării lobului urechii este realizată prin două aplicații locale

ale compusului de testat (30 min înainte și după declanșarea reacției de provocare). Eficacitatea se determină prin diferența greutateii animalelor tratate cu medicament și respectiv cu purtător (propilenglicol/acetona 7/3) și exprimată în % de umflare la aplicarea numai cu purtător.

În determinarea de mai sus s-a obținut o inhibare de 20% ... 60% la o doză a compusului testat de 1,2%.

Compușii cu formula 1, în formă liberă, sau când există asemenea forme, sub formă de sare acceptabilă farmaceutic, sunt indicați pentru utilizare ca agenți antiproliferativi/antiinflamatori și anticancer în tratamentul afecțiunilor hiperproliferative/antiinflamatorii și a cancerului ca și în suprimarea bolilor neoplasmice, ca de exemplu afecțiuni inflamatorii/hiperproliferative ale pielii, cancerul pielii, manifestările sistemice ale bolilor mediate imunologic și bolile autoimune ca: psoriazis, dermatite atopice, dermatite de contact și dermatite aczematoase, dermatite seboreice, *Lichen planus*, *Pomphigus bullous*, *Pemphigoid*, *Epidermolysis bullosa*, urticarie, angioedeme, vasculitides, eriteme, eozinofilie cutanată, *Lupus erythematosus* și *Alopecia areata*.

Pentru această utilizare, dozajul este valabil în funcție de compusul utilizat, de modul de administrare și de tratamentul dorit. Totuși, în general, rezultate satisfăcătoare s-au obținut când compușii s-au administrat intravenos, într-un dozaj zilnic de la aproximativ 0,1 mg/kg la aproximativ 10 mg/kg corp sau de la 0,5 mg/kg la aproximativ 100 mg/kg p.o. divizate în 2 ... 4 prize zilnice. Pentru majoritatea mamiferelor mari, dozajul zilnic total este de la aproximativ 7 mg la aproximativ 2000 mg, administrat convenabil, de exemplu în doze împărțite de 4 ori pe zi sau într-o formă retard. Formele de doză unică conțin, de exemplu de la aproximativ 1,75 mg la aproximativ 1000 mg compus în amestec cu cel puțin un purtător sau diluant, lichid sau solid, acceptabil farmaceutic.

Compușii pot fi administrați în mod similar standardelor cunoscute pentru utilizări în asemenea indicații. Compușii pot fi amestecați cu diluanți și purtători acceptabili convenționali în chemoterapie și eventual și cu alți excipienți, administrați de exemplu oral sub formă de tablete și capsule.

Compușii pot fi administrați alternativ sub formă de pomezi sau creme, parenteral sau intravenos. Concentrațiile de substanță activă variază în funcție de compusul utilizat, de tratamentul dorit și de forma de aplicare. În general, se obțin rezultate satisfăcătoare în aplicații locale la concentrații de la aproximativ 0,05 la aproximativ 5%, în particular de la 0,1 la aproximativ 1% în greutate.

Compozițiile farmaceutice conținând un compus cu formula I sub formă liberă, sau când există asemenea forme, sub formă de sare acceptabilă farmaceutic, împreună cu cel puțin un diluant sau purtător acceptabil farmaceutic constituie o parte a prezentei invenții.

Invenția curpinde, de asemenea, compuși cu formula I sub formă liberă, sau când există asemenea forme, sub formă de sare acceptabilă farmaceutic pentru utilizare drept substanțe farmaceutice, în special în tratamentul tulburărilor hiperproliferative/inflamatorii și a cancerului, de exemplu a cancerului mamar sau pancreatic.

Invenția se referă la o metodă pentru tratamentul tulburărilor hiperproliferative/inflamatorii și a cancerului și care constă în administrarea unei cantități eficiente terapeutice a unui compus cu formula I în formă liberă sau, când există asemenea forme sub formă de sare acceptabilă farmaceutic, la un pacient care necesită un asemenea tratament.

Compusul din exemplul 1, adică esterul metilic al acidului 5-/2-(2,5 dime-toxi)etil/-2-hidroxibenzoic, este compusul preferat. S-a determinat, de exemplu, că compusul 1 are IC_{50} 0,045 μ M, în timp ce linia de celule CHO-K1 a receptorului negativ EGF este inhibată cu un IC_{50} mai mare de aproximativ 0,3 μ M.

În încercarea 2 de mai sus, acest compus inhibă 3 din 4 linii de celule tumorale mamare și anume SK-BR-3, MDAMB-468 și MCF-7 cu IC_{50} variind de la 20 ... 50 M, în timp ce celulele tumorale mamare MDAMB-231 și celulele tumorale nemamare K-562, $L=1210$ și HaLa sunt inhibitate cu un IC_{50} variind de la 200 la 470 nM indicând o melectivitate pentru anumite tumori mamare în timp ce colchicina inhibă neselectiv toate celulele tumorale testate cu un IC_{50} variind între 5 și 20 nM.

În încercarea 3, toate tumorile A 431, la o doză de 30 mg/kg p. dată de 3 ori pe săptămână, volumul tumorii șoarecilor tratați cu medicament este de numai 56,3% din cel al animalelor de control la sfârșitul experimentului (4 săptămâni) și la o doză de 3 mg/kg ip. de aroximativ 40% din cel al animalelor de control. Cu tumorile pancreatice MiaBaCa, șoarecii tratați cu 30 mg/kg p.o. din compusul din exemplul 1, timp de 2 săptămâni au o mărime a tumorii de aproximativ 46% din cea a animalelor de control; într-un experiment similar inhibarea cu cisplatină dată la un standard, dozajul de 10 mg/kg i.p. dat tot a treia zi (cisplatina nu poate fi administrată p.o.) atinge o valoare semnificativă numai după 4 săptămâni de tratament (mărimea tumorii este de aproximativ 40% din cea a animalelor de control) chiar dacă valoarea medie a tumorii la începutul tratamentului cu cisplatină a fost de numai aproximativ jumătate din cea din tratamentul cu compus din exemplul 1.

În încercarea 4, compusul din exemplul 1 a provocat o inhibare a umflării de 40% la o concentrație de 1,2%.

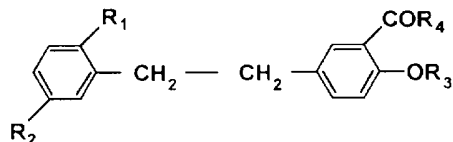
Este indicat ca pentru utilizarea anticanceroasă, compusul din exemplul 1 să fie administrat la mamiferele mari, de exemplu la om într-un mod similar și la dozele similare față de cele folosite în mod convențional cu ciaplantină. Această activitate antitumorală puternică este observată la dozele care nu suprimă răspunsul imun și hematopoeza și celulele tumorale exprimând fenotipul rezistenței

15

multimedicamenteose sunt la fel de sensibile față de compus ca și față de partea orinară.

Revendicări

1. Derivați de *bis* (fenil)-etan, **caracterizați prin aceea că** au formula generală (I):



(I)

în care: R_1 și R_2 sunt independent alcoxi, R_3 este hidrogen sau acil, și R_4 este alcoxi, derivați care se prezintă sub formă liberă sau sub formă de sare acceptabilă farmaceutic.

2. Derivați de *bis* (fenil)-etan, conform revendicării 1, **caracterizați prin aceea că**, R_1 și R_2 sunt independent alcoxi cu 1...4 atomi de carbon, iar R_3 și R_4 sunt definiți în revendicarea 1.

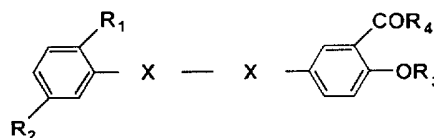
3. Derivați de *bis* (fenil)-etan, conform revendicării 1, **caracterizați prin aceea că**, R_1 și R_2 sunt independent alcoxi cu 1...4 atomi de carbon, R_3 este hidrogen sau alchilcarbonil, având în total 2...5 atomi de carbon și R_4 este alcoxi cu 1...4 atomi de carbon.

4. Derivat de *bis* (fenil)-etan, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** este reprezentat de esterul metilic al cidului 5-/2-(2,5-dimetoxifenil)-etil/-2-hidroxibenzoic.

5. Derivați de *bis* (fenil)-etan, conform revendicării 1, **caracterizați prin aceea că**, fie R_1 și R_2 sunt metoxi, iar R_3 și R_4 sunt: fie H și OCH_2CH_3 , sau COCH_3 și OCH_3 , sau H și $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, sau H și $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, sau H și $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$, fie R_1 și R_2 sunt OCH_2CH_3 , R_3 este H, iar R_4 este OCH_3 .

6. Procedu pentru prepararea unor derivați de *bis* (fenil)-etan, cu formula generală (I), **caracterizat prin aceea că** se efectuează reducerea unui compus cu formula generală (II):

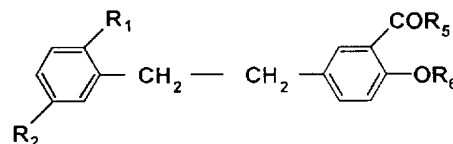
16



(II)

în care -X-X- este vinilen sau etinilen, și eventual transformarea prin transesterificare a unei grupe alcoxi R_4 într-o altă grupă alcoxi R_4 , grupele funcționale putând fi protejate și grupele de protecție îndepărtate, după ce are loc reacția, și izolarea compusului cu formula (I), rezultat în formă liberă sau transformarea lui într-o sare.

7. Procedu pentru prepararea unor derivați de *bis* (fenil)-etan cu formula generală (I), **caracterizat prin aceea că** se efectuează esterificarea sau acilarea unui compus cu formula generală (III):



(III)

în care R_1 și R_2 au semnificațiile de mai sus, R_5 este hidroxi sau alcoxi, și R_6 este hidrogen sau acil, și eventual transformarea și transesterificare a unei grupe alcoxi R_4 într-o altă grupă alcoxi R_4 , grupele funcționale putând fi protejate și grupele de protecție îndepărtate, după ce are loc reacția, și izolarea compusului cu formula (I) rezultat în formă liberă sau sub formă de sare.

8. Derivați de *bis* (fenil)-etan, conform revendicării 1, **caracterizați prin aceea că** se utilizează sub formă liberă sau sub formă de sare acceptabilă farmaceutic, în tratamentul tulburărilor hiperproliferative/inflamatorii și a cancerului.

9. Compoziție farmaceutică, **caracterizată prin aceea că**, conține de la 0,01 la 99,9% greutate compus cu formula generală (I), conform revendicării 1, și cel puțin un purtător sau diluent acceptabil farmaceutic.

Președintele comisiei de examinare: **chim. Ștefan Rodica**
Examinator: **ing. Barbu Mara**

