

2726/54

71119

3729

THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY,
Palo Alto, Amerikai Egyesült Államok

(ELJÁRÁS, VALAMINT GYÓGYSZERKÉSZLETEK) RÁKOS DAGANATOK KEZELÉSÉRE
(ES) 1,2,4-BENZOTRIAZIN-OXID-SZÁRMAZÉKOK (GYÓGYÁSZATI) ALKALMAZÁSÁRA
GYÓGYÁSZATI ALKALMAZÁSÁRA

K i v o n a t KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A találmány (rákos daganatok kezelésére alkalmas eljárásra,
1,2,4-benzotriazin-oxid-származékok gyógyászati alkalmazására,
valamint ezeket a) származékokat hatóanyagként tartalmazó, rákos
daganatok kezelésére alkalmas gyógyszerkészletekre vonatkozik.
A találmány szerinti gyógyszerkészletek (I) általános képletű
1,2,4-benzotriazin-oxid-származékok mellett kemoterápiás hatóanya-
gokat is tartalmaznak.

A (I) általános képletben:

- X jelentése hidrogénatom, adott esetben helyettesített szénhidrogéncsoport, halogénatom, hidroxilcsoport, alkoxi-csoport, aminocsoport, -NHR általános képletű csoport vagy -NRR általános képletű csoport, azzal a megjegyzéssel, hogy ha X jelentése -NRR általános képletű csoport, a két R szubsztituens közvetlenül vagy oxigénatomon keresztül összekapcsolódhat és ilyen módon morfolinocsoportot, pirrolidinocsoportot vagy piperidinocsoportot képezhet;
- n jelentése 0 vagy 1; és
- Y^1 , valamint Y^2 jelentése - egymástól függetlenül - hidrogénatom, nitrocsoport, halogénatom, egyszeresen vagy kétszeresen helyettesített szénhidrogéncsoport, amely lehet

oxigénatommal megszakított láncú ciklusos, aciklusos és telítetlen szénhidrogéncsoport is; morfolinocsoport, pirrolidinocsoport, piperidinocsoport, aminocsoport, $-NHR'$, $-NR'R'$, $-O(CO)R'$, $-NH(CO)R'$, $-O(SO)R'$ vagy $-O(POR')R'$.

(A találmány szerinti eljárást az jellemzi, hogy a rákos betegségben szenvedő emlősök szervezetébe az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása előtt 0,5-24 órával vagy az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása után 1-2 óra elteltével juttatnak be a citotoxicitás növeléséhez elegendő mennyiségben valamilyen (I) általános képletű 1,2,4-benzotriazin-oxid-származékot.

2729 (I)
2729

2726/94



Képviseelő:

A

Danubia Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

Budapest

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

~~(ELJÁRÁS, VALAMINT GYÓGYSZERKÉSZLETEK) (RÁKOS DAGANATOK KEZELÉSÉRE~~
~~ÉS 1,2,4-BENZOTRIAZIN-OXID-SZÁRMAZÉKOK GYÓGYÁSZATI ALKALMAZÁSÁRA~~
~~GYÓGYSZERKÉSZLETEK~~
The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University,

Palo Alto, Amerikai Egyesült Államok

Feltalálóló:

J. BROWN Martin, Redwood City, Amerikai Egyesült Államok

A bejelentés napja: 1994. 10. 22.

Elsőbbsége: 1993. 09. 22. (125 609),

Amerikai Egyesült Államok

Aktaszámunk: 80300-8135-fa

Ügyintézőnk: dr. Palágyi

A találmány rákos daganatok kezelésére alkalmas eljárásra, 1,2,4-benzotriazin-oxid-származékok gyógyászati célu alkalmazására, valamint ezeket a származékokat hatóanyagként tartalmazó, rákos daganatok kezelésére alkalmas gyógyszerkészletekre vonatkozik. A találmány szerinti gyógyszerkészletek 1,2,4-benzotriazin-oxid-származékok mellett kemoterápiás hatóanyagokat is tartalmaznak.

A leggyakrabban alkalmazott rákellenes gyógyszerek sokkal erősebb citotoxikus hatást fejtenek ki az átlagos oxigénellátottságu daganatos sejtekre, mint az oxigénhiányosakra. Széles körben ismert az a tapasztalat is, hogy az oxigénhiányos sejtek ellenállóképesek a besugárzással szemben. Így a daganatok hiányos oxigénellátásának és a besugárzással szemben ennek eredményeként kialakuló ellenállóképességének ismerete fontos a gyógykezelés szempontjából.

A tumor rákos daganatokban vannak oxigénnel megfelelően ellátott sejtek, és előfordulnak - különböző arányokban - csökkent oxigéntartalmu (hipoxiás) sejtek. Csökkent oxigéntartalom (hipoxia) rendszerint a vérerektől távolabb levő daganatos sejteknél tapasztalható, amelyek burjánzásra is csak kisebb sebességgel hajlamosak. Az oxigénhiányos sejteknek a rákellenes gyógyszerekkel szembeni ellenállóképességét általában azzal magyarázzák - noha a kérdés még nem teljesen tisztázott -, hogy a hipoxiás sejtek nem vesznek fel elegendő mennyiségű gyógyszert, mert lassan szaporodnak, illetve mert távol vannak a gyógyszert szállító véredényektől. Így a kezelés eredménye nagymértékben függhet attól, hogy a daganatban milyen arányban vannak hiányos oxigénellátottságu sejtek jelen. A besugárzást vagy a gyógyszeres kezelést túlélő, ellenállóképes hipoxiás sejteket el lehet látni oxigénnel,

és ilyen módon a daganat a további kezelésekre érzékennyé tehető. Mindazonáltal szükség van olyan rákkezelési eljárás kifejlesztésére, amely - az eddigi, bizonytalan eseményekre alapozó megoldásokkal szemben - megbízhatóbban képes megölni vagy inaktívvá tenni a rákos daganat sejtjeit, beleértve az oxigénhiányos daganatos sejteket is, a kezelés végrehajtásakor.

Az 5 175 287. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban daganatok besugárzásos kezelésével kapcsolatban szerepelnek 1,2,4-benzotriazin-oxid-származékok, amelyek érzékennyé teszik a besugárzásra a daganatos sejteket, hogy hatásosabban lehessen alkalmazni az adott kezelési módszert.

Holden és munkatársai egy daganatellenes alkilezőszerrel kombinálva említik a tirapazaminként is ismert SR-4233-at [Enhancement of Alkylating Agent Activity by SR-4233 in the FSaIIC Murine Fibrosarcoma, JNCI, 84. 187-193 (1992)]. Mind a négy daganatellenes alkilezőszert - a ciszplatint, a ciklofoszfamidot, a karmusztint és a melfalant - vizsgálták, hogy megállapíthassák, milyen mértékben képes a tirapazamin megszüntetni az oxigénhiányos daganatos sejtek ellenállóképességét a daganatellenes alkilezőszerekkel szemben. Ennek a tesztnek a keretében a tirapazamint önmagában, valamint minden egyes daganatellenes alkilezőszer különböző mennyiségeivel kombinálva vizsgálták. Abban az esetben, ha a tirapazamint közvetlenül a ciklofoszfamiddal, a karmusztinnal vagy a melfalannal végzett egységdózisos kezelés előtt alkalmazták, észrevehető dózisznövekedést figyeltek meg, amelynek eredményeként a daganatos sejteknél szinergetikus citotoxikus hatásokat figyeltek meg. Abban az esetben azonban, ha a tirapazamint közvetlenül a ciszplatin-egységdózissal végrehajtott kezelés előtt juttatták be a szervezetbe, a dózisznövelés - a cisz-

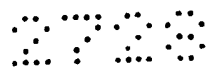
platin legnagyobb dózisaitól eltekintve - csak additív hatást eredményezett.

Nitro-imidazol-származékokat mint hipoxiás citotoxikus hatóanyagokat már nagyon sok különböző rákellenes gyógyszerrel kombináltak, és azt tapasztalták, hogy a gyógykezelés szempontjából ezek a kombinációk előnyösek, különösen abban az esetben, ha rákellenes hatóanyagként alkilezőszereket - ciklofoszfamidot és melfalant -, valamint nitrozo-karbamid-származékokat - BCNU-t és CCNU-t - alkalmaznak. Később azt tapasztalták azonban, hogy a gyógykezeléssel elért eredmény nem annak a következménye, hogy a nitro-imidazol-származékok szelektíven pusztítják el az oxigénhiányos sejteket. Ugy tűnik, hogy a hatásmechanizmushoz hozzátartozik az alkilezőszer által kiváltott DNS-térhálósodási folyamat sebességének fokozása a nitro-imidazol-származékok anyagcseretermékei által [Murray és munkatársai: Br. J. Cancer, 47. 195-203 (1983)].

A találmány szerinti eljárással úgy kezelünk rákos daganatokat - mindenekelőtt tömör daganatokat, hogy az erre rászoruló emlősök szervezetébe hatásos mennyiségben juttatunk olyan vegyületeket, amelyek (I) általános képletében

- X jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport, hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, -NHR általános képletű csoporttal, -NRR általános képletű csoporttal, 1-4 szénatomos alkoxics csoporttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport, halogénatom, hidroxilcsoport, 1-4 szénatomos alkoxics csoport, aminocsoport, -NHR általános képletű csoport vagy -NRR általános képletű csoport, ahol

-- az R szubsztituensek jelentése - egymástól függet-



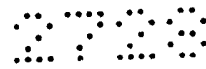
lenül - 1-4 szénatomos alkilcsoport, 1-4 szénatomos acilcsoport, hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénatomos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos alkilcsoport vagy hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénatomos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos acilcsoport, azzal a megjegyzéssel, hogy abban az esetben, ha X jelentése -NRR általános képletű csoport, a két R szubsztituens közvetlenül vagy oxigénatomon keresztül összekapcsolódhat és ilyen módon morfolinocsoportot, pirrolidinocsoportot vagy piperidinocsoportot képezhet;

- n jelentése 0 vagy 1; és
- Y^1 , valamint Y^2 jelentése - egymástól függetlenül - hidrogénatom, nitrocssoport, halogénatom, 1-14 szénatomos szénhidrogéncsoport - beleértve a halogénatommal, hidroxilcsoporttal, epoxicssoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal, 1-4 szénatomos alkil-tio-csoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénatomos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal, a di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoport két alkilcsoportjának összekapcsolódásával létrejövő morfolino-, pirrolidino- vagy piperidinocsoporttal, 1-4 szénatomos acil-oxi-csoporttal, 1-4 szénatomos acil-amido-csoporttal és ezeknek a csoport-

toknak tioanalogonjaival, acetyl-amino-(1-4 szénatomos alkil)-csoporttal, karboxilcsoporttal, 2-5 szénatomos alkoxi-karbonil-csoporttal, karbamoilcsoporttal, 2-5 szénatomos alkil-karbamoil-csoporttal, 1-4 szénatomos alkil-szulfonil-csoporttal és/vagy 1-4 szénatomos alkil-foszfonil-csoporttal adott esetben egyszeresen vagy kétszeresen helyettesített, adott esetben egyetlen oxigénatommal éterszerűen megszakított láncú ciklusos, aciklusos és telítetlen szénhidrogéncsoportokat is; illetve Y^1 és Y^2 jelentése - egymástól függetlenül - morfolinocsoport, piperidinocsoport, piperidinocsoport, aminocsoport vagy olyan csoport, amelynek $-NHR'$, $-NR'R'$, $O(CO)R'$, $-NH(CO)R'$, $-O(SO)R'$ vagy $O(POR')R'$ általános képletében R' jelentése olyan 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport, amely helyettesítve lehet hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénatomos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal, morfolinocsoporttal, piperidinocsoporttal, piperidinocsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxycsoporttal és/vagy halogénatommal,

mégpedig szabad bázisok vagy farmakológiai szempontból elfogadható sók alakjában, majd mintegy 0,5-24 óra elteltével bejuttatunk a (I) általános képletű vegyületekkel kezelt emlősök szervezetébe olyan, hatásos mennyiségű kemoterápiás hatóanyagot is, amelyre a daganat érzékeny.

A találmány lehetőséget ad egy olyan eljárás alkalmazására, amely eljárással növelni lehet kemoterápiás hatóanyagoknak az ezekkel a hatóanyagokkal szemben érzékeny, tömör daganatokkal szemben kifejtett citotoxikus hatását, mégpedig olyan módon, hogy a daganatos betegségben szenvedő emlősök szervezetébe mint-



egy 0,5-24 órával az adott kemoterápiás hatóanyaggal végrehajtott kezelés előtt vagy mintegy 1-2 órával az adott kemoterápiás hatóanyaggal végrehajtott kezelés után a citotoxicitás növeléséhez elegendő mennyiségben juttatunk be valamilyen, az előző bekezdésben definiált (I) általános képletű vegyületet.

Olyan módon is kezelhetünk emlősökben rákos daganatokat, hogy a kemoterápiás hatóanyag alkalmazása után 1-2 óra elteltével juttatunk a beteg emlős szervezetébe valamilyen, már definiált (I) általános képletű vegyületet.

Azt tapasztaltuk, hogy ha a már definiált (I) általános képletű vegyületeket akár a kemoterápiás hatóanyagok alkalmazása előtt, akár ezeknek a hatóanyagoknak az alkalmazása után juttatjuk be a beteg emlősök szervezetébe, a daganatos sejtek meglepő módon és váratlanul sokkal nagyobb arányban pusztulnak el, mint amikor ezeket a hatóanyagokat - vagyis a (I) általános képletű vegyületeket és a kemoterápiás hatóanyagokat - önmagukban vagy egyidőben alkalmazzuk. Így például abban az esetben, ha a tirapazamint legfeljebb 24 órával a ciszplatin alkalmazása előtt juttattuk be a beteg emlős szervezetébe, azt tapasztaltuk, hogy tízszer-ezerszer annyi daganatos sejt pusztult el, mint abban az esetben, ha a tirapazamint és a ciszplatint egyszerre alkalmaztuk. Ennél a hatóanyag-kombinációnál abban az esetben tapasztaltuk a legnagyobb szinergetikus hatást, ha a tirapazamint a ciszplatin előtt mintegy 2,5 órával alkalmaztuk.

A találmány szerinti eljárás alkalmazásával hatalmas mértékben meg lehet növelni a kemoterápiás hatóanyagok daganatellenes aktivitását, vagyis a daganatos sejtekre kifejtett citotoxikus hatásokat. Ráadásul a ciszplatin szisztémás toxicitásának vizs-

gálatakor - a szérum BUN (blood urea nitrogen = a vérben levő karbamid nitrogéntartalma) teszt és az akut toxicitási teszt elvégzésekor - azt tapasztaltuk, hogy a tumorról szembeni hatásosság szempontjából optimális kombináció esetében nem vagy csak kismértékben volt nagyobb a szisztémás toxicitás, mint amikor a ciszplatint önmagában alkalmaztuk. Így ennél a kombinációnál a daganatos sejtekkel szemben mutatott többlettaktivitást teljes vagy csaknem teljes mértékben lehet hasznosítani a gyógykezelés során. A tirapazamin és a ciszplatin közötti szinergetikus hatás is jelentős, minthogy az elpusztult daganatos sejtek arányszámának nagymértékű megnövekedése már viszonylag alacsony ciszplatin-dózisnál bekövetkezett.

A találmány tárgyát képezi a rákos daganatokkal szembeni citotoxikus hatás növelésére képes, korábban már definiált (I) általános képletű vegyületek vagy azok farmakológiai szempontból elfogadható sóinak alkalmazása is olyan gyógyszerkészítmények előállítására, amelyek olyan módon használhatók fel rákos megbetegedésben szenvedő emlősök gyógykezelésére, hogy mintegy 0,5-24 órával a kemoterápiás hatóanyaggal való daganatkezelés előtt juttatjuk be őket a rákos emlősök szervezetébe.

A találmányt a következőkben részletesebben ismertetjük néhány előnyös megoldás bemutatásával, amelyek azonban semmilyen vonatkozásban nem jelenthetnek korlátozást a találmány terjedelmét illetően.

Az 1. ábrán látható diagram a kísérleti RIF-1 daganatokban jelenlevő klonogén sejtek arányszámának változását mutatja be annak az időtartamnak a függvényében, amely a tirapazamin alkalmazásától a ciszplatin alkalmazásáig, illetve a ciszplatin alkalmazásától a tirapazamin alkalmazásáig eltelik [(-3)-2 óra].

A 2. ábrán látható diagram a kísérleti RIF-1 daganatokban jelenlevő klonogén sejtek arányszámának változását mutatja be annak az időtartamnak a függvényében, amely a tirapazamin alkalmazásától a ciszplatin alkalmazásáig eltelik $[(-24)-0]$ óra.

Abban az esetben, ha emlősök rákos daganatainak - így emberek rákos daganatainak, különösen tömör daganatainak - kezelésével kapcsolatban megemlítjük, hogy egy adott daganat érzékeny valamilyen kemoterápiás hatóanyagra, akkor olyan kemoterápiás hatóanyagról van szó, amely az adott daganat vonatkozásában bármilyen mechanizmus szerint - például a daganatos sejtek elpusztításával, a sejtburjánzás mérséklésével vagy a daganat méretének csökkentésével - képes gyógyhatást kifejteni. Ha a bejelentésben arról van szó, hogy a leírásban definiált (I) általános képletű vegyületek valamelyikét hatásos mennyiségben alkalmazzuk, akkor az adott vegyület olyan mennyiségeire utalunk, amelyek elegendőek - adott esetben valamilyen kemoterápiás hatóanyaggal együtt - rákos sejtek elpusztításához. Ha egy kemoterápiás hatóanyag hatásos mennyiségére utalunk, akkor az adott kemoterápiás hatóanyag olyan mennyiségéről beszélünk, amelynek alkalmazása esetén az adott kemoterápiás hatóanyag képes a rákos sejtek elpusztítására vagy arra, hogy valamilyen más módon fejtsen ki gyógyító hatást, például a tumor méretének csökkentése vagy a daganatos sejtek szaporodásának és burjánzásának lassítása révén.

Abban az esetben, ha arról a módszerről esik szó, amellyel meg lehet növelni adott kemoterápiás hatóanyagok citotoxicitását olyan, tömör daganatokkal szemben, amelyek érzékenyek az adott kemoterápiás hatóanyagokkal végrehajtott kezelésre, a "citotoxicitásnövelő mennyiség" a leírásban definiált (I) általános képletű vegyületek olyan mennyiségére utal, amelynek alkalmazása ese-

tén egy adott, (I) általános képletű vegyület képes növelni a kemoterápiás hatóanyag sejtekre gyakorolt citotoxikus hatásait. Előnyös, ha a citotoxicitásnövelő mennyiség elegendő szinergikus hatás, vagyis olyan hatás létrehozásához, amely meghaladja az önmagában alkalmazott kemoterápiás hatóanyag és az ugyancsak önmagában alkalmazott (I) általános képletű vegyület hatásainak összegét. A (I) általános képletű vegyületek citotoxicitásnövelő mennyiségeit úgy lehet megállapítani, hogy ezeket a vegyületeket kemoterápiás anyagokkal együtt vizsgáljuk *in vivo* és/vagy *in vitro* kísérleti daganatmintákban, így a leírásban ismertetésre kerülő tumormintában vagy bármilyen más, ezen a szakterületen szokásos daganatmintában. Az *in vivo* és/vagy *in vitro* kísérleti tumormintákban meghatározott citotoxicitásnövelő mennyiséget ezután iránymutató értékek tekintjük a két hatóanyag azon mennyiségeinek meghatározásához, amelyeket bejuttatunk a beteg emlős szervezetébe a daganat kezelése céljából.

Bár nem kívánjuk magunkat korlátozni semmilyen elmélet vagy hatásmód által, jelenleg úgy gondoljuk, hogy abban az esetben tudunk nagyobb - akár szinergikus - hatást biztosítani a daganatos sejtek elpusztítása érdekében, ha az oxigénhiányos rákos sejtekkel szemben különösen citotoxikus, már definiált (I) általános képletű benzotriazinszármazék hatóanyagot olyan kemoterápiás hatóanyaggal kombinálunk, amely maximális aktivitást a normális oxigénellátottságú rákos sejtekkel szemben fejt ki. A már definiált (I) általános képletű benzotriazin-oxid-származékok hatásaik kifejtéséhez a szokásosnál kifejezetten alacsonyabb oxigénkoncentrációkat igényelnek. Ez a csökkent oxigénszükséglet nagy előny, hiszen ez képezi az alapját a két hatóanyag közötti daganatspecifikus kölcsönhatásnak. A normális szövetekben az oxi-

génkoncentráció rendszerint 1,3-2 kPa-nál nagyobb nyomásnak megfelelő érték. Ha az oxigén parciális nyomása ilyen nagy vagy még a 2 kPa-t is meghaladja, a tirapazamin által kifejtett citotoxicitás igen csekély mértékű. Másrésztől azonban sok olyan daganat van, amelyben jelentős számú sejt parciális oxigénnyomása 1,3 kPa alatt marad. Ilyen alacsony parciális oxigénnyomások esetén a tirapazamin és a többi (I) általános képletű benzotriazinszármazék citotoxikus vegyületek keletkezését eredményező anyagcséréje nagymértékben fokozódik. Ha a leírásban az "oxigénhiányos (hipoxiás) daganatsejtek" kifejezést használjuk, olyan tumorsejtekre utalunk, amelyekben az oxigén parciális nyomása kisebb, mint körülbelül 1,3 kPa.

A leírásban ismertetett módszereket - amint erről már volt szó - alkalmazni lehet emlősök - köztük emberek - rákos daganatainak, mindenekelőtt oxigénhiányos régiókkal rendelkező, tömör daganatainak kezelésére. Ilyen daganatokra példaként a következőket említjük meg korlátozási szándék nélkül: mellékveserákok, gliasejt-daganatok és más agytumorok, melldaganatok, nyaki daganatok, vastag- és végbéldaganatok, méhnyálkahártya-daganatok, gyomordaganatok, májdaganatok, tüdődaganatok (kissejtesek és nem kissejtesek egyaránt), nyirokszövet-daganatok (köztük a nem-Hodgkin-limfóma, a Burkitt-limfóma, a diffúz nagysejtes limfóma, a tüszős limfóma és a diffúz Hodgkin-limfóma), áttételes pigmentsejtes rák, neuroblasztóma, csontszarkóma, petefészek-szarkóma, retinoblasztóma, lágyszöveti szarkómák, heredaganatok és más, kemoterápiás kezelésre reagáló daganatok. Így a találmány szerinti eljárásokat alkalmazni lehet rákos daganatok kezelésére, beleértve a bármilyen emlősben - például emberekben, szokásosan alkalmazott kísérleti állatokban, így pat-

kányokban, egerekben, nyulakban és kutyákban -, főemlősökben - így majmokban -, lovakban, macskákban és más állatokban kísérleti úton létrehozott rákos daganatok kezelését is.

A leírásban ismertetett módszerek bármilyen típusu kemoterápiás hatóanyag felhasználása mellett alkalmazhatók. A tálmány bármelyik speciális megvalósítási módjához a kemoterápiás hatóanyagot olyan tényezők figyelembevételével választjuk ki, mint a rákos daganat típusa és a kemoterápiás hatóanyag hatásossága az adott rákos daganattal szemben. A kemoterápiás hatóanyagot kiválaszthatjuk alkilezőszerek, antimetabolitok, természetes anyagok, hormonok, antagonisták és más típusu vegyületek közül.

Az alkilezőszerekre példaként megemlítjük a nitrogéntartalmu mustárvegyületeket, vagyis a 2-klór-etil-amin-származékokat - például a klórmetint, a klórambucilt, a melfalant, az uramusztint, a mannomusztint, az extramusztin-foszfátot, a meklór-tamin-oxidot, a ciklofoszfamidot, az ifozamidot és a trifoszfamidot -, a helyettesített aziridincsoportot tartalmazó alkilezőszereket - például a tretamint, a tiotepát, a triaziqont és a mitomicint -, az alkil-szulfonát típusu alkilezőszereket - például a buszulfánt és a piposzulfánt -, az alkilező N-alkil-N-nitrozo-karbanid-származékokat - például a karmusztint, a lomusztint, a szemusztint és a sztreptozotocint -, a mitobronitol típusu alkilezőszereket, a dekarbazin típusu alkilezőszereket, a prokarbazin típusu alkilezőszereket és a platinakomplexekeket, például a ciszplatint és a karboplatint.

Az antimetabolitokra példaként megemlítjük a folsavszármazékokat - például a metotrexátot, az aminopterint és a 3'-diklór-metotrexátot -, a pirimidinszármazékokat - például

az 5-fluor-uracilt, a floxuridint, a tegafurt, a citarabint, az idoxuridint és a flucitozint -, valamint a purinszármazékokat, például a merkaptó-purint, a tioguanint, az azatioprint, a tiamiprint, a vidarabint, a pentosztatint és a puromicint.

A természetes anyagokra példaként megemlítjük a vinka-alkaloidokat - így a vinblasztint és a vinkrisztint -, az epipodofilotoxinokat - így az etopozidot és a tenipozidot -, az antibiotikumokat - így az adrimicint, a daunomicint, a daktinomicint, a daunorubicint, a doxorubicint, a mitramicint, a bleomicint és a mitomicint -, az enzimeket - így az L-aszparaginázt -, a biológiai választ módosító anyagokat - így az alfa-interferont -, a kamptotecint, a taxolt, valamint a retinoidokat, így a retinoinsavat.

A hormonokra és az antagonistákra példaként megemlítjük az adrenokortikoidokat - így a prednizont -, a progesztineket - így a hidroxi-progeszteron-acetátot, a medroxiprogeszteron-acetátot és a megesztrol-acetátot -, az ösztrogéneket - így a dietil-sztilbesztrolt és az etinil-ösztradiolt -, az antiösztrogéneket - így a tamoxifent -, az androgéneket - így a tesztoszteron-propionátot és a fluoximesztront -, az antiandrogéneket - így a flutamidot -, valamint a gonadotropinfelszabadító hormonanalagonokat, így a leuprolidot.

A különféle egyéb hatóanyagokra példaként megemlítjük az antracén-dion-származékokat - így a mitoxantront -, a karbamid-származékokat - így a hidroxi-karbamid-származékokat - és a mellékvesekéreg működését gátló vegyületeket, így a mitotánt és az amino-glutetimidet.

A kemoterápiás hatóanyagok mindemellett lehetnek immunválaszt elfojtó vegyületek is, mint amilyen például a ciklosporin,



az azatioprin, a szulfazalazin, a metozszalen és a talidomid.

A találmány szerinti eljárás megvalósításához felhasználható kemoterápiás hatóanyagok megvásárolhatók vagy a szakterületen ismert módszerekkel előállíthatók. Az egyes kemoterápiás hatóanyagokat fel lehet használni önmagukban vagy egy vagy több más kemoterápiás hatóanyaggal kombinálva. Így például lehet rákos daganat kezelésére a találmány szerinti eljárással összhangban olyan kombinációt is alkalmazni, amely 3 különböző kemoterápiás hatóanyagból és egy vagy több, már definiált (I) általános képletű vegyületből áll.

A (I) általános képletben

- X jelentése hidrogénatom; nem szubsztituált, elágazó vagy egyenes szénláncu, 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport - például metilcsoport, etilcsoport, szek-butyl-csoport vagy izopropilcsoport -; halogénatom; hidroxilcsoport; 1-4 szénatomos alkoxicssoport - például metoxicssoport, etoxicssoport, propoxicssoport vagy terc-butoxi-csoport -; primer aminocsoport (-NH₂); szekunder aminocsoport (-NHR, ahol R jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport vagy 1-4 szénatomos acilcsoport) - például metil-amino-csoport vagy etil-amino-csoport -; terciar aminocsoport (-NRR, ahol R jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport vagy 1-4 szénatomos acilcsoport - például dietil-amino-csoport -, illetve a két R szubsztituens összekapcsolódva morfolinocsoportot, pirrolidinocsoportot vagy piperidinocsoportot alkot azzal a nitrogénatommal együtt, amelyhez kapcsolódnak; azzal a megjegyzéssel, hogy az R helyén levő különböző alkilcsoportok és acilcsoportok helyettesítve lehetnek hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénato-



mos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal, morfolinocsoporttal, pirrolidinocsoporttal, piperidinocsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal vagy halogénatommal, így fluoratommal, klóratommal, brómatommal vagy jódatommal; továbbá az X szénhidrogéncsoportok maguk is helyettesítve lehetnek hidroxilcsoporttal, alkil-amino-csoporttal, aminocsoporttal, dialkil-amino-csoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal vagy halogénatommal, mégpedig fluoratommal, klóratommal, brómatommal vagy jódatommal; X előnyös jelentése hidrogénatom, aminocsoport, nem helyettesített, elágazó vagy egyenes szénláncu, 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport vagy helyettesített, elágazó vagy egyenes szénláncu, 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport;

- n jelentése 0 vagy 1, előnyösen 1;
- Y^1 és Y^2 jelentése - egymástól függetlenül - hidrogénatom; nitrocsoport; halogénatom - például fluoratom, klóratom, brómatom vagy jódatom -; **1-14 szénatomos szénhidrogéncsoport**; aminocsoport vagy olyan csoport, amelynek $-NHR'$, $-NR'R'$, $-OCCR'$, $-NH(CO)R'$, $-O(SO)R'$ vagy $-O(FO)R'$ általános képletében R' jelentése hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, alkil-amino-csoporttal, dialkil-amino-csoporttal, pirrolidinocsoporttal, morfolinocsoporttal, piperidinocsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal vagy halogénatommal adott esetben helyettesített, 1-4 szénatomos alkilcsoport, a következő megjegyzésekkel:

-- az Y^1 vagy Y^2 helyén levő szénhidrogéncsoport telített vagy telítetlen, ciklusos vagy aciklusos



lehet, és a láncot adott esetben megszakíthatja egy éterkötésű oxigénatom; így az Y^1 vagy Y^2 helyén levő, nem helyettesített szénhidrogéncsoport lehet például metilcsoport, etilcsoport, n-propilcsoport, szek-butyl-csoport, n-hexil-csoport, 2-metil-n-pentil-csoport, 2-etoxi-etil-csoport, 3-(n-propoxi)-n-propil-csoport, 4-metoxi-butyl-csoport, ciklohexilcsoport, tetrahidrofurfurilcsoport, furfurilcsoport, ciklohexenilcsoport, 3-(n-decil-oxi)-n-propil-csoport, 4-metil-oktilcsoport vagy 4,7-dimetil-oktil-csoport;

-- az Y^1 és Y^2 helyén levő szénhidrogéncsoportok adott esetben helyettesítve lehetnek egy vagy több szubsztituenssel a következők közül: halogénatomok - például fluoratom, klóratom, brómatom és jódatom -, hidroxilcsoport, epoxicssoport, 1-4 szénatomos alkoxicssoport - például metoxicssoport, n-propoxi-csoport és t-butoxi-csoport -, 1-4 szénatomos alkil-tio-csoport, aminocsoport, morfolinocsoport, pirrolidinocsoport, piperidinocsoport, -NHR' általános képletű ^{szekunder amino-} csoport, ahol R' jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport - így például -NHR' lehet metil-amino-csoport vagy propil-amino-csoport -; -NR'R' általános képletű terciér aminocsoport; R'COO- általános képletű aciloxi-csoport és tiol-analogonja, az R'CSO- általános képletű csoport; -R'CONH- általános képletű acil-amido-csoport és tiol-analogonja, az R'CSNH- általános képletű csoport; karboxilcsoport; R'O(O)C- általános képletű alkoxi-karbonil-

-csoport; karbamilcsoport; $R'NH(O)C-$ általános képletű, 2-5 szénatomos alkil-karbamil-csoport; $R'SO_2-$ általános képletű, 1-4 szénatomos alkil-szulfonil-csoport és $R'P(OR')O-$ általános képletű, 1-4 szénatomos alkil-foszfonil-csoport; és -- Y^1 , valamint Y^2 előnyös jelentése - egymástól függetlenül - hidrogénatom, nitrocsoport, karboxilcsoport, alkoxi-karbonil-csoport vagy alkil-szulfonil-csoport.

Különösen előnyös felhasználni a találmány szerinti eljárás megvalósításához a következő (I) általános képletű vegyületeket:

- 1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid [amelynek (I) általános képletében X, Y^1 és Y^2 jelentése egyaránt hidrogénatom, n jelentése pedig 1];

- 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid, azaz tirapazamin [amelynek (I) általános képletében X jelentése aminocsoport, Y^1 és Y^2 jelentése egyaránt hidrogénatom, n jelentése pedig 1];

- 3-etil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid [amelynek (I) általános képletében X jelentése etilcsoport, Y^1 és Y^2 jelentése egyaránt hidrogénatom, n jelentése pedig 1];

- 3-propil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid [amelynek (I) általános képletében X jelentése propilcsoport, Y^1 és Y^2 jelentése egyaránt hidrogénatom és n jelentése 1]; és

- 3-(1-hidroxi-etil)-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid [amelynek (I) általános képletében X jelentése 1-hidroxi-etil-csoport, Y^1 és Y^2 jelentése egyaránt hidrogénatom, n jelentése pedig 1].

A felsorolt (I) általános képletű vegyületek közül is kiemeljük mint legelőnyösebben felhasználható vegyületet a 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot.

A (I) általános képletű vegyületeknek a már definiált, farmakológiai szempontból elfogadható sói lehetnek szervesen savakkal - például sósavval, hidrogén-bromiddal vagy foszforsavval - képzett sók, szerves savakkal - például ecetsavval, piro-szőlősavval, borostyánkőssavval, mandulasavval vagy p-toluolszulfonsavval - képzett sók, szervesen bázisokkal - például nátrium-hidroxiddal, kálium-hidroxiddal vagy kalcium-hidroxiddal - képzett sók és szerves bázisokkal - például koffeinnel, etil-aminnal vagy lizinnel - képzett sók.

A leírásban definiált (I) általános képletű vegyületeket a betegek szervezetébe orálisan vagy parenterálisan (intravénásan, bőr alá fecskendezve, izomba fecskendezve, gerincoszlopba fecskendezve, hasüregbe fecskendezve stb.) lehet bejuttatni. Parenterális alkalmazás esetén a vegyületeket rendszerint egységdózist tartalmazó, injektálható készítményekké (oldatokká, szuszpenziókká és emulziókká) dolgozzuk fel farmakológiai szempontból elfogadható vivőanyagok felhasználásával. A felhasznált vivőanyagokra jellemző, hogy nincs mérgező- és gyógyítóhatásuk. Ilyen vivőanyagokra példaként megemlítjük a vizet, a viztartalmú vivőanyagokat - így a vizes nátrium-klorid-oldatot, a Ringer-oldatot, a dextrózoldatot és a Hank-oldatot -, a nemvizes vivőanyagokat, így a zsíros olajokat (például a kukoricaacsira-olajat, a gyapotmagolajat, a földimogyoró-olajat és a szezámolajat), az etil-oleátot és az izopropil-mirisztátot. A steril, vizes nátrium-klorid-oldat alkalmazása előnyös. A vivőanyagok csekély mennyiségben tartalmazhatnak adalékanyagokat is, például olyan anyagokat, amelyek növelik az oldhatóságot, az izotonicitást és a kémiai stabilitást. Ilyen anyagok például az antioxidánsok,



a pufferek és a tartósítószer~~ek~~. Abban az esetben, ha szájon vagy bélen keresztül kívánjuk a szervezetbe juttatni a hatóanyagot, a (I) általános képletű vegyületeket egységdózist tartalmazó tabletták, kapszulák, kupok vagy ostyák formájában szereljük ki. Ezek a kiszerelési formák tipikus esetben szilárd, félig szilárd vagy cseppfolyós hordozóanyagot vagy higitóanyagot tartalmaznak. A higitóanyagokra és a hordozóanyagokra példaként megemlítjük a laktózt, a dextrózt, a szacharózt, a szorbitot, a mannitot, a keményítőket, az akácmézgát, a kalcium-foszfátot, az ásványolajat, a kakaóvaját, a teobrómaolajat, az alginátokat, a tragakantot, a zselatint, a metil-cellulózt, a poli(oxi-etilén)-t, a szorbitán-monolaurátot, a hidroxibenzoesav-metil-észtert, a hidroxibenzoesav-propil-észtert, a talkumot és a magnézium-sztearátot.

A kemoterápiás hatóanyagokat az adott kemoterápiás hatóanyagnak megfelelő, egyébként szokásos megoldásokkal juttatjuk be az emlősök szervezetébe. A kemoterápiás hatóanyagot és a leírásban definiált (I) általános képletű vegyületet ugyanazzal a módszerrel vagy különböző módszerekkel alkalmazzuk, a leírásban definiált (I) általános képletű vegyület, valamint a kemoterápiás hatóanyag adott kombinációjától függően. A leírásban definiált (I) általános képletű vegyületeket az emlősök szervezetébe önmagukban vagy egy vagy több más, a leírásban definiált (I) általános képletű vegyülettel kombinálva juttathatjuk be.

A leírásban definiált (I) általános képletű vegyületeket olyan mennyiségben juttatjuk be az emlősök szervezetébe, hogy hatásosan pusztítsák az oxigénhiányos daganatsejteket vagy gyakoroljanak rájuk citotoxikus hatásokat. Az alkalmazott vegyület mennyisége olyan tényezőktől függ, mint a rákos daganat fajtája,

a beteg emlős kora és egészségi állapota, az alkalmazott kemoterápiás vegyület és (I) általános képletű vegyület legnagyobb tolerált dózisa és/vagy halálos adagja, valamint az adott, (I) általános képletű vegyület és kemoterápiás hatóanyag kölcsönhatása. A találmány egyik előnyös megvalósítási módja szerint tirapazamint alkalmazunk mintegy $10-450 \text{ mg/m}^2$, még előnyösebben mintegy $20-350 \text{ mg/m}^2$ és legelőnyösebben mintegy $30-250 \text{ mg/m}^2$ mennyiségben. Abban az esetben, ha a (I) általános képletű vegyületeket osztott adagok formájában juttatjuk be a beteg emlősök szervezetébe, az alacsonyabb dózistartománynak megfelelő adagok alkalmazása előnyös lehet, attól függően, hogy milyen az adott vegyületnek a szervezet által még eltűrt legnagyobb dózisa és milyen kölcsönhatás van az adott vegyület és az adott kemoterápiás hatóanyag között.

A kemoterápiás hatóanyagot a rá érzékeny tumorok hatásos kezeléséhez szükséges mennyiségben juttatjuk be az emlősök szervezetébe. A szükséges mennyiség megállapításának módja jól ismert a szakterületen. Megfelelő utbaigazításokkal a kemoterápiás hatóanyagot szállító cég által mellékelte terméktájékoztató és a tudományos szakirodalom szolgálhat. A találmány szerinti eljárás előnyös megvalósítási módjai esetén a kemoterápiás hatóanyag és a (I) általános képletű vegyület együttesen szinergikus hatást fejt ki a daganatra, és emiatt a kemoterápiás hatóanyagot kisebb dózisokban is elegendő alkalmazni a megfelelő hatás eléréséhez, mint amikor a kemoterápiás hatóanyagot önmagában használjuk fel. A kisebb dózisok alkalmazása kívánatos, ha a kemoterápiás hatóanyag súlyos következményekkel járó mellékhatásokat fejt ki a kezelt emlős szervezetében. Abban az esetben, ha osztott dózisok formájában juttatjuk be a kemoterápiás



hatóanyagot az emlős szervezetébe, a leírásban definiált (I) általános képletű vegyületet elegendő mennyiségben kell alkalmazni ahhoz, hogy fenn lehessen tartani a két hatóanyag kombinálásából származó szinergikus hatást akár a kemoterápiás hatóanyag kiindulási dózisának alkalmazása előtt, akár a kemoterápiás hatóanyag egyes adagjainak szervezetbe juttatását megelőzően.

A (I) általános képletű vegyületeket mintegy 0,5-24 órával a kemoterápiás hatóanyag alkalmazása előtt célszerű bejuttatni az emlősök szervezetébe. Ugy is eljárhatunk, hogy a (I) általános képletű vegyületeket mintegy 1-2 órával a kemoterápiás hatóanyag alkalmazása után juttatjuk be az emlősök szervezetébe. Vannak bizonyos kemoterápiás hatóanyag/(I) általános képletű vegyület kombinációk, amelyek esetén a (I) általános képletű vegyületet a kemoterápiás hatóanyag előtt több mint 24 órával is alkalmazhatjuk a találmány szerinti eljárás előnyeinek megtartásával. Azt az időkülönbséget, amely mellett a legnagyobb mértékű toxicitásnövekedés tapasztalható a daganatos sejtekkel szemben, úgy lehet meghatározni, hogy a (I) általános képletű vegyület és a kemoterápiás hatóanyag kombinált alkalmazását in vivo és/vagy in vitro körülmények között kísérleti daganatmintákon, például a leírásban ismertetett daganatmintán vagy bármilyen más daganatmintán vizsgáljuk. Az ilyen minták felhasználásával meghatározott időkülönbséget azután kiindulási alapnak tekintjük az emlősök daganatainak kezeléséhez. Amennyiben szükséges, a kísérleti úton meghatározott időkülönbségen módosítunk a kezelés során.

Azt tapasztaltuk, hogy tirapazamin és ciszplatin kombinált alkalmazása esetén a két hatóanyag között akkor jön létre a legnagyobb kölcsönhatás, ha a tirapazamint mintegy 1-18 órával, cél-



szerűen 1-3 órával, legcélszerűbben 2-3 órával a ciszplatin alkalmazása előtt juttatjuk be az emlősök szervezetébe. Abban az esetben, amikor a tirapazamint a ciszplatin alkalmazása után 1-2 órával juttattuk be az emlősök szervezetébe, a citotoxikus hatás növekedését tapasztaltuk, de a növekedés nem volt olyan nagy mértékű, mint az előbbi alkalmazási sorrendnél. Létezik néhány (I) általános képletű vegyület, amelyet kívánatos lehet a kemoterápiás hatóanyaggal egyidejűleg alkalmazni.

A találmány tárgyát képezik olyan, emlősök daganatainak kezelésére alkalmas gyógyszerkészletek is, amelyek legalább egy kemoterápiás hatóanyagot és legalább egy, a leírásban definiált (I) általános képletű vegyületet tartalmaznak. A gyógyszerkészletekben a leírásban definiált (I) általános képletű vegyületek célszerűen olyan mennyiségekben vagy dózisokban vannak jelen, amelyek elegendőek a citotoxicitás megnöveléséhez. A leírásban definiált (I) általános képletű vegyületek megfelelő adagolási formái ugyancsak ismertetésre kerülnek a leírásban. A kemoterápiás hatóanyag és a leírásban definiált (I) általános képletű vegyület adott adagolási formáját a kezelendő rákos daganat típusa, a szervezetbe juttatás célszerű "utvonala" és a kemoterápiás hatóanyag típusa határozza meg. A kemoterápiás hatóanyagot és a leírásban definiált (I) általános képletű vegyületet célszerű külön tárolóedényekben elhelyezni, hogy meg lehessen könnyíteni - a találmány szerinti eljárással összhangban - a kemoterápiás hatóanyag és a (I) általános képletű vegyület különböző időpontokban sorra kerülő alkalmazását.

A találmány szerinti eljárás megvalósításához felhasználható, (I) általános képletű vegyületeket az 5 175 287. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett eljá-

rással elő lehet állítani. Néhány 3-amino-származék előállítására vonatkozóan általános módszereket közölnek Ley és munkatársai a 3 980 779. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban.

A 3-amino-benzotriazin-monoxid-származékokat úgy lehet előállítani, hogy (1) képletű benzofuroxánt valamilyen cianamid-sóval reagáltatunk, majd a reakcióelegyet megsavanyítjuk. A benzofuroxán kiindulási anyag az 5-ös és a 6-os helyzetét tekintve nem szimmetrikus. (Ezek a pozíciók a keletkező 3-amino-benzotriazin-oxidnál a 6-os és a 7-es helyzetnek felelnek meg.) Ez az oka annak, hogy a reakciótermék a 6-os és a 7-es helyzetben helyettesített vegyületek elegyéből áll. Amennyiben szükséges, a keletkezett elegyet szokásos eljárásokkal szét lehet választani a 6-os helyzetben, illetve a 7-es helyzetben helyettesített komponensekre.

Az 1,2,4-benzotriazin-dioxidot 1,2,4-benzotriazin-monoxidból vagy 1,2,4-benzotriazinból kiindulva persavas oxidálással lehet előállítani [Robbins és munkatársai: J. Chem. Soc., 3186 (1957), valamint Mason és munkatársai: J. Chem. Soc., B 911 (1970)].

Az 1,2,4-benzotriazin-monoxidot ezenkívül elő lehet állítani:

- 1) 1-nitro-2-amino-benzol és $H_2NCN \cdot 2HCl$ ciklizálásával;
- 2) a (2) képletű vegyület oxidálásával; és
- 3) a megfelelő dioxid irányított redukálásával [Mason és munkatársai: J. Chem. Soc., B 911 (1970), valamint Wolf és munkatársai: J. Am. Chem. Soc., 76. 355 (1954)].

Az 1,2,4-benzotriazin-származékokat formazán-elővegyületek BF_3 és ecetsav jelenlétében végrehajtott ciklizálásával lehet

előállítani [I. reakcióvázlat, valamint Atallah és Nazer: Tetrahedron, 38. 1793 (1982)].

A 3-amino-1,2,4-benzotriazin-származékokat a megfelelő kiindulási vegyület ciklizálásával [II. reakcióvázlat, valamint Arndt: Chem. Ber., 3522 (1913)] vagy a monoxid, illetve a dioxid már említett redukálásával lehet előállítani.

3-hidroxi-1,2,4-benzotriazin-oxid-származékokat a III. reakcióvázlat szerint elő lehet állítani hidrogén-peroxid és nátrium-volframát alkalmazásával (amennyiben 3-hidroxi-1,4-dioxid-vegyületekről van szó), illetve a IV. reakcióvázlat szerint hidrogén-peroxid és nátrium-nitrát felhasználásával (amennyiben monoxidokról van szó).

A 3-as helyzetben nem szubsztituált 1,2,4-benzotriazin-oxid-származékokat (amelyeket a leírásban "3-dezamino-vegyületek"-nek is nevezünk) X helyén aminocsoportot tartalmazó, (I) általános képletű 1,2,4-benzotriazin-oxidokból lehet előállítani rövid szénláncu alkil-nitrittel redukativ dezaminálási körülmények között. A "redukativ dezaminálási körülmények" olyan reakciófeltételeket jelentenek, amelyek biztosítása mellett legalább mintegy 10 %-ban, előnyösen legalább mintegy 50 %-ban alakul át a kiindulási anyag a kívánt, a 3-as helyzetben nem helyettesített reakciótermékké. Ennél a megoldásnál rövid szénláncu alkil-nitritként célszerű például t-butil-nitritet alkalmazni. A redukativ dezaminálási körülményekre példaként megemlítjük, hogy a reakciót valamilyen kompatibilis oldószerben - például dimetil-formamidban - játszadjuk le legalább körülbelül 60 °C-on, előnyösen 60-65 °C-on. A reakciót az V. reakcióvázlattal szemléltetjük.

A találmányt részletesebben a következő példákkal ismertetjük, a korlátozás minden szándéka nélkül. Az 1.-18. példák a le-

írásban definiált (I) általános képletű vegyületek szintézisére vonatkoznak. A 19. példában in vitro és in vivo tesztek ismeretünk a tirapazamin és a ciszplatin kombinált alkalmazásának vizsgálatára.

1. példa

3-Hidroxi-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállítása

A (4) képletű célvegyületet a (3) képletű 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1-oxidből kiindulva állítottuk elő. 1,50 g (9,25 mmol) 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1-oxidet, 100,0 ml ecetsavat és 30,0 ml 30 m%-os hidrogén-peroxid-oldatot tartalmazó elegyhez keverés közben hozzáadtunk 3,05 g (9,25 mmol) $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -t. Az így keletkezett elegyet olajfürdőben 60°C -on 4 napon át kevertettük. Az így kapott, sárgás narancsszinű elegyet ezután lehűtöttük mintegy 30°C -ra, majd kiszűrtük belőle a világossárga színű, az ultraibolya sugarakat nem abszorbeáló, szilárd anyagokat. A narancsszinű ecetsavas hidrogén-peroxid-oldatot óvatosan, víz és ecetsav néhányszori beadagolásával félszárakra pároltuk, hogy a hidrogén-peroxid főtömegét eltávolítsuk. A koncentrált oldatot a környezet hőmérsékletén állni hagytuk. Így négy részletben 42 %-os hozammal 0,87 g mennyiségű, narancsszinű, szilárd anyagot nyertünk ki, amely a kívánt végtermék nátriumsója.

Ultraibolya spektrum (λ_{max} -értékek 20 m%-os vizes ecetsav-oldatban): 262,2 nm (ϵ 39,460); 477 nm (ϵ 7,030).

Infravörös spektrum (tisztán): 3530 cm^{-1} , 3150 cm^{-1} , 2650 cm^{-1} , 2180 cm^{-1} , valamint 1635 cm^{-1} .

Az elementáranalízis eredményei a $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_3\text{O}_3\text{Na} \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ összegképletre ($M = 223,64$):

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	37,6	2,93	18,79

	C, m%	H, m%	N, m%
- mért értékek:	37,8	2,75	18,65.

2. példa

3-Amino-7-(trifluor-metil)-1,2,4-benzotriazin-1-oxid előállítás

2,70 g (12,9 mmol) 4-klór-3-nitro-benzo-trifluoridot, valamint 2,75 g (24 mmol) ciánamid-dikloridot tartalmazó elegyet 1 óra hosszat 140 °C-on tartottunk. (A 4-klór-3-nitro-benzo-trifluoridot az Aldrich-cégtől vásároltuk, a ciánamid-dikloridot pedig az elegy elkészítése előtt úgy állítottuk elő, hogy ciánamid éteres oldatát sósavgázzal kezeltük, és a kicsapódott szilárd anyagot elválasztottuk.) A maradékot 45 ml 2N nátrium-hidroxid-oldattal kezeltük, az így keletkezett elegyet 5 percen át melegítettük, majd hagytuk kihűlni. A csapadékot elválasztottuk, vízzel mostuk, megszáritottuk és acetont, valamint toluolt tartalmazó eleggyel eldörzsöltük. Ilyen módon 45 %-os hozammal 1,32 g mennyiségben, halványsárga, szilárd anyag formájában kaptuk meg a kívánt végterméket, amelynek olvadáspontja 301-302 °C.

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal megállapított R_f -érték: 0,60. (A vizsgálatot szilikagéllemezekkel és metilén-klorid, valamint metanol 9:1 térfogatarányu elegyével végeztük.)

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) = 230 (100, M^+).

3. példa

3-Amino-7-decil-1,2,4-benzotriazin előállítás

4-(1-Decil)-2-nitro-anilin előállítás

2,4 l hexánban feloldottunk 80 g (0,34 mol) mennyiségű 4-decil-anilint, amelyet az Aldrich-cégtől szereztünk be. Az így kapott oldathoz kevertetés közben 30 perc alatt hozzáadtunk 400 ml ecetsavanhidridet. Az így keletkezett elegyet 1 órán át ke-

vertettük, majd lehütöttük, és 30 perc alatt hozzáadtunk 5-10 °C-on 34 ml 70 m%-os salétromsavat. A kevertetést ezután 5-10 °C-on tovább folytattuk még egy óra hosszat, majd 25 °C-on 16 órán keresztül. Az elegyet ezután 1 l vízzel felhigitottuk, 5 óra hosszat kevertettük, majd nyitott edénybe öntöttük és 16 órán át állni hagytuk. A higitott elegyet ezt követően 1,5 l vízzel tovább higitottuk, majd a keletkezett szilárd anyagot elválasztottuk és 85:15 térfogatarányu etanol/víz elegyből átkristályosítottuk. Ilyen módon 92 g mennyiségben, 84 %-os hozammal kaptuk meg a cím szerinti intermediert, amely 64 °C-on olvad.

19 g 85 m%-os kálium-hidroxidból (0,288 mol) vízzel 100 ml mennyiségű oldatot készítettünk, amelyet elegyítettünk egy olyan szuszpenzióval, amely 900 ml metanolt és 89 g (0,28 mol) mennyiségű, az előző bekezdésben leírtak szerint elkészített 4-(1-decil)-2-nitro-anilint tartalmazott. Az így kapott elegyet 6 órán keresztül kevertettük, majd koncentrált sósavoldattal beállítottuk a pH-értékét 7 és 8 közé. A beállított pH-ju elegyet vákuumban csaknem szárazra pároltuk. A bepárlási maradékot 400 ml vízzel felhigitottuk, a keletkezett szilárd anyagot elválasztottuk, majd megszáritottuk. Ilyen módon 100 %-os hozammal 77 g intermedier kaptunk narancsszinű szilárd anyag formájában. Az intermedier olvadáspontja 59 °C.

Az előző bekezdés szerint előállított intermedierből - vagyis 4-(1-decil)-2-nitro-anilinből - 500 mg-ot (1,8 mmol) megolvasztottunk, és a 190 °C-ra előmelegített olvadáshoz 10 perc alatt részletekben hozzáadtunk 1,0 g (8,7 mmol) ciánamid-hidrokloridot, amelyet előzőleg állítottunk elő olyan módon, hogy ciánamid dietil-éteres oldatát sósavgázzal reagáltattuk, majd a kicsapódott szilárd anyagot elválasztottuk. A keletkezett reakcióelegyet 5

percen át 190 °C-on tartottuk, majd lehütöttük 25 °C-ra, és hozzáadtunk 10 ml 6N kálium-hidroxid-oldatot. Az így keletkezett elegyet 1 óra hosszat 90-95 °C-on tartottuk. A 25 °C-ra való hűtés során keletkezett szilárd anyagot elválasztottuk, vízzel és etanollal mostuk, majd levegőn megszárítottuk. Ilyen módon 46 %-os hozammal 0,25 g mennyiségben, halványsárga szilárd anyag formájában kaptuk meg a kívánt végterméket, amely 177 °C-on bomlás közben olvad.

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) = 285 (100, M^+),
302 (13).

4. példa

3-Amino-7-karbamil-1,2,4-benzotriazin-1-oxid előállítása

4-Klór-3-nitro-benzamid előállítása

Az Aldrich-cégtől beszerzett 4-klór-3-nitro-benzoészavból 20,2 g-ot (0,1 mol) elegyítettünk 20 ml tionil-kloriddal, majd az így keletkezett elegyet állni hagytuk 16 óra hosszat. Ezt követően az elegyet 4 órán keresztül forraltuk visszafolyatás mellett. Az így keletkezett világosvörös oldatot benzol hozzáadása után vákuumban azeotrop desztillálással bepároltuk. A bepárlási maradékot 20 ml acetonitrilben feloldottuk, és hőmérsékletét -10 °C-on tartva 30 perc alatt hozzáadtunk 100 ml koncentrált ammónium-hidroxid-oldatot. Az így kapott elegyet 3 órán át -10 °C-on, 16 órán át pedig 25 °C-on kevertettük, majd nyitott edénybe öntöttük, és hagytuk, hogy az elegy szárazra párolódjék. A maradékot vízben szuszpendáltuk, majd a szilárd anyagot elválasztottuk és levegőn megszárítottuk. Ilyen módon 98 %-os hozammal 19,8 g mennyiségben, világossárga szilárd anyag formájában kaptuk meg a cím szerinti intermediert, amely 153 °C-on olvad.



75 ml etanolban feloldottunk 3,45 g (0,15 mol) nátriumot, majd az így keletkezett oldatot hozzáadtuk egy olyan oldathoz, amely 75 ml etanolban feloldva 15,8 g (0,165 mol) guanidin-hidrokloridot tartalmazott. Egy óra elteltével az elegyet szűrtük, és a szűrletet olyan szuszpenzióval elegyítettük, amely 50 ml etanolt és 10 g (0,05 mol) mennyiségű, az előző bekezdés szerint előállított 4-klór-3-nitro-benzamid intermediert tartalmazott. Az elegyet visszafolyatás és kevertetés mellett 16 óra hosszat forraltuk, majd lenűtöttük 0°C és 5°C közötti hőmérsékletre, és 8 ml koncentrált sósavoldattal megsavanyítottuk. A keletkezett szilárd anyagot elválasztottuk, majd hozzákevertünk 28 g (0,2 mol) kálium-karbonátot és 40 ml vizet. Az így keletkezett elegyet kevertetés mellett 100°C -on tartottuk 8 óra hosszat. Ezt követően az elegyet 25°C -ra hűtöttük, a keletkezett szilárd anyagot elválasztottuk, vízzel mostuk és levegőn megszáritottuk. A szilárd anyagot ezt követően forrásban levő etil-acetátban szuszpendáltuk, majd elválasztottuk és forró etil-acetáttal mostuk. A szilárd anyagot ezután forrásban levő dioxánban szuszpendáltuk.

A szűrleteket egyesítettük, majd vákuumban bepároltuk. A bepárlási maradékként kapott szilárd anyagot 95 %-os etanolban szuszpendáltuk, majd a szilárd anyagot elválasztottuk és levegőn megszáritottuk. Ilyen módon 4,3 %-os hozammal 0,44 g mennyiségben, halványsárga szilárd anyagként kaptuk meg a végterméket, amely 300°C -on olvad.

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal megállapított R_f -érték 0,23. (A vizsgálatot szilikagéllemezekkel és metilén-klorid, valamint aceton 2:1 térfogatarányu elegyével végeztük.)

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) = 205 (100, M^+).



5. példa

7-Acetil-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1-oxid-oxim előállítása

50 mg (0,25 mmol) 7-acetil-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1-oxidot, 200 mg (2,88 mmol) hidroxil-amin-hidrokloridot, 1 ml piridint és 1 ml etanolt tartalmazó elegyet 90-95 °C-on tartottunk 1 órán keresztül, majd lehűtöttük 25 °C-ra. A lehűtött elegyet 5 ml 95 m%-os etanollal higitottuk, a keletkezett szilárd anyagot elválasztottuk és levegőn megszárítottuk. Ilyen módon 56 %-os hozammal 30 mg mennyiségben kaptuk meg a kívánt végterméket világossárga színű, szilárd anyag formájában. A (8a) képletű, cimszerinti végtermék bomlás közben olvad meg 278 °C-on.

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal megállapított R_F -érték 0,60. (A vizsgálathoz metilén-klorid és metanol 9:1 térfogatarányu elegyét használtuk fel.)

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) = 219 (100, M^+).

6. példa

3-Amino-6(7)-decil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállítása

5-(1-Decil)-benzofuroxán előállítása

77 g (0,28 mol) 4-(1-decil)-2-nitro-anilint, 476 g 5,25 m%-os vizes nátrium-hipoklorit-oldatot (0,34 mol), 20,3 g 85 m%-os kálium-hidroxidot (0,31 mol), 4,7 g (0,014 mol) n-butyl-ammónium-szulfátot és 2,28 l metilén-kloridot tartalmazó elegyet gyors ütemben kevertettünk 6 órán keresztül, majd 500 ml vízzel és 1 l metilén-kloriddal felhigitottuk. Az elválasztott szerves fázist először 1 l 1N sósavoldattal, majd kétszer 1 l vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, nátrium-szulfáttal megszárítottuk és vákuumban bepároltuk. Ilyen módon 92 %-os hozammal, 70 g mennyiségben, vörös színű, olajszerű anyag formájában kaptuk meg a cimszerinti

intermediert, vagyis az 5-(1-decil)-benzofuroxánt.

180 ml dimetil-szulfoxidban feloldottunk 10 g (0,036 mol) mennyiségű, az előző bekezdés szerint előállított 5-(1-decil)-benzofuroxánt és 0,36 g (0,0016 mol) benzil-trietil-ammónium-kloridot. Az így keletkezett oldathoz néhány óra alatt fokozatosan 13,0 g (0,31 mol) ciánamidot és 36,8 g (0,27 mol) kálium-karbonátot adtunk. Az így keletkezett elegyet 48 órán keresztül kevertettük, majd leszűrtük. A szűrletet 6 l vízzel és 40 ml jégecettel hígítottuk, majd négyszer 500 ml metilén-kloriddal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítésük után először 500 ml 5 %-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd kétszer 500 ml vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, nátrium-szulfáttal megszárítottuk és vákuumban szárazra pároltuk. Az így kapott nyersterméket szilikagélen kromatografálással tisztítottuk. Fluálószerként metilén-klorid és metanol 98:2 térfogatarányu elegyét használtuk. Így 16 %-os hozammal 1,8 g mennyiségben, vörös színű, szilárd anyag formájában állítottuk elő a kívánt, (9a) képletű végterméket, amely 155 °C-on bomlás közben olvad meg.

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) = 318 (4, M⁺),
285 (100).

7. példa

1,2,4-Benzotriazin-dioxid előállítása

1,80 g (13,73 mmol) mennyiségű (8) képletű 1,2,4-benzotriazint, 9 ml 90 %-os hidrogén-peroxidot, 13,5 ml trifluor-ecetsav-anhidridet, 12,50 g (38 mmol) nátrium-volframát-dihidrátot és 170 ml kloroformot tartalmazó elegyet a környezet hőmérsékletén kevertettünk 5 napon keresztül. A reakcióelegyet 100 ml vízzel hígítottuk, majd 100 ml kloroformmal extraháltuk. A szerves fázist 50 ml vízzel mostuk, nátrium-szulfáttal megszárítottuk, és

az oldószert vákuumban eltávolítottuk. A maradékot szilikagélen kromatografáltuk. Eluálószerként etil-acetát és metilén-klorid 1:1 térfogatarányu elegyét használtuk. Ilyen módon 13,4 %-os hozammal 0,30 g mennyiségben kaptuk meg a (9) képletű cím szerinti vegyületet sarga színű, szilárd anyag formájában. Az előállított termék 204-205 °C-on olvad meg.

Az elementáranalízis eredményei a $C_7H_5N_3O_2$ összegképletre ($M = 163,13$):

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	51,5	3,09	25,76
- mért értékek:	51,6	3,36	26,01

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) = 163 (100, M^+),
147 (50).

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal megállapított R_f -érték: 0,27. (A vizsgálathoz szilikagéllemezeket, valamint etil-acetátot és metilén-kloridot 1:1 térfogatarányban tartalmazó elegyet használtunk fel.)

Infravörös spektrum (nagy tisztaságú paraffinolajban): 1600 μm , 1460 μm , valamint 1300 μm .

Ultraibolya spektrum (λ_{max} vízben): 227 (e22,900), 252 (e12,950) és 392 (e4,080).

8. példa

7-Klór-3-hidroxi-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállítása

A (11) képletű 7-klór-3-hidroxi-1,2,4-benzotriazin előállítását a (10) képletű 7-klór-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1-oxidből kiindulva a VII. reakcióvázlat szemlélteti.

1,50 g (7,63 mmol) 7-klór-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1-oxidet és 100 ml ecetsavat tartalmazó elegyhez hozzáadtunk 2,52 g (7,63 mmol) nátrium-volframát-dihidrátot ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) és 30 ml

30 m%-os hidrogén-peroxid-oldatot. Az így kapott elegyet kevertetés közben 6 napon át 50 °C-on tartottuk, majd lassan szárazra pároltuk a hidrogén-peroxid eltávolítása céljából. A bepárlási maradékot 250 ml vízzel forraltuk, majd a vizes elegyből kiszűrünk mintegy 25 mg mennyiségű, (10) képletű kiindulási vegyületet. A vizes oldatot ezután kétszer 250 ml etil-acetáttal extraháltuk. Mélyvörös színű, kristályos anyag az etil-acetátos fázisban, amelyet vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal és a tömegspektrum alapján 7-klór-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidként [(12) képletű vegyület] azonosítottunk. A kristályos anyagot szűréssel elválasztva 3,7 %-os hozammal 60,0 mg mennyiségű, ugyancsak (12) képletű vegyületként azonosított, sargás narancsszínű szilárd anyagot kaptunk, amely forró izopropanol és víz elegyében jól oldódott.

Tömegspektrum: $M^+ = 212$ ($q = 100$) [(10) képletű vegyület].

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal megállapított R_f -érték: 0,34. (A vizsgálathoz szilikagéllemezeket és acetont használtunk fel.)

A vizes fázistól elválasztott etil-acetátos oldatokat a (12) képletű vegyület elkülönítése után szárazra pároltuk. A bepárlási maradékot a környezet hőmérsékletén izopropil-alkohollal kezeltük. Ilyen módon 25 %-os hozammal 0,41 g mennyiségben, matt narancsszínű, szilárd anyag formájában kaptuk meg a (11) képletű, cím szerinti vegyületet.

Tömegspektrum: $M^+ = 213$ ($q = 70$).

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal megállapított R_f -érték: 0,22. (A vizsgálathoz szilikagéllemezeket és acetont használtunk fel.)

A (11) képletű vegyületet a 230,61 molekulatömegű,

$C_7H_4ClN_3O_3NH_3$ összegképletű ammóniumsója formájában azonosítottuk. Ezt az ammóniumsót a következőképpen állítottuk elő:

- a (11) képletű szabad savat feloldottuk koncentrált ammónium-hidroxid-oldatban, majd jéggel való hűtés után szüréssel eltávolítottuk az oldhatatlan (12) képletű vegyület nyomait is;

- a vörös színű szűrletet, valamint a mosófolyadékokat egyesítésük után szárazra pároltuk;

- a bepárlási maradékként kapott vöröses narancsszínű szilárd anyagot 50 ml forrásban levő 1,2-dimetoxi-etánnal kezeltük, majd kiszűrtük, és további 25 ml forró 1,2-dimetoxi-etánnal mostuk; és

- a kiszűrt szilárd anyagot foszfor-pentoxiddal $56^\circ C$ -on, 133 Pa nyomáson megszárítottuk.

Ilyen módon 87 %-os hozammal, 0,244 g mennyiségben kaptuk meg a (13) képletű ammóniumsót.

Az elementáranalízis eredményei a $C_7H_4ClN_3O_3NH_3$ ($M = 230,61$) összegképletre:

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	36,5	3,06	24,30
- mért értékek:	36,5	3,07	23,94.

Ultraibolya spektrum (λ_{max} vízben): 219 (ϵ 12,580), 265,4 (ϵ 40,000), 4830486 (ϵ 6,640).

9. példa

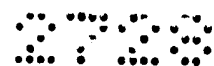
7-Nitro-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállítása

A cím szerinti vegyület előállítását a VIII. reakcióvázlat-tal szemléltetjük.

7-Nitro-3-(trifluor-acetamido)-1,2,4-benzotriazin-1-oxid

[(15) képletű vegyület] előállítása

4,00 g (19,3 mmol) mennyiségű, (14) képletű 7-nitro-3-amino-



-1,2,4-benzotriazin-1-oxidot - a Parish Chemical Co. termékét -, 125 ml kloroformot és 12,0 ml (85,0 mmol) trifluor-ecetsavanhidridet tartalmazó oldatot a környezet hőmérsékletén 44 órán át kevertettünk. A keletkezett világossárga színű, szilárd anyagot kiszűrtük, 50 ml kloroformmal mostuk, majd megszáritottuk. Ilyen módon 91 %-os hozammal, sárga színű, szilárd anyag formájában 5,35 g mennyiségben kaptuk meg a (15) képletű 7-nitro-3-(trifluor-acetamido)-1,2,4-benzotriazin-1-oxidot.

Az elementáranalízis eredményei a $C_9H_4F_3N_5O_4$ összegképletre:

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	35,7	1,33	23,10
- mért értékek:	35,7	1,23	23,06.

7-Nitro-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-oxid [(16) képletű vegyület] előállítás

Az előző lépésben előállított intermedier vegyületből, a (15) képletű 7-nitro-3-(trifluor-acetamido)-1,2,4-benzotriazin-1-oxidból 2,50 g-ot (8,25 mmol), továbbá 200 ml kloroformot tartalmazó oldathoz kevertetés közben hozzáadtunk először 90 mg (0,273 mmol) nátrium-volframát-dihidrátot, majd 10 ml 70 m%-os hidrogén-peroxid-oldatot. Az oldatba 15 perc eltelte után beadagoltunk 8,0 ml (56,7 mmol) trifluor-ecetsavanhidridet, és a kevertetést a környezet hőmérsékletén még 64 órán keresztül folytattuk. A reakcióelegyet ezután kromatografáltuk. Eluálószerként először etil-acetátot, majd metanolt és acetont 20:80 térfogatarányban tartalmazó elegyet, végül dimetil-formamidot és acetont 20:80 térfogatarányban tartalmazó elegyet használtunk. A kromatografálással tisztított terméket ezt követően átkristályosítottuk acetonból. Ilyen módon 65 %-os hozammal narancsszínű, szilárd anyagot kaptunk 1,20 g mennyi-



ségben: a (16) képletű 7-nitro-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-oxidot, amely bomlás közben olvad meg 286-288 °C-on.

Ultraibolya spektrum (λ_{\max}): 259, 300, 345, 387 és 472.

Az elementáranalízis eredményei a $C_7H_5N_5O_4$ összegképletre:

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	37,70	2,26	31,39
- mért értékek:	37,70	2,13	30,94.

10. példa

3-[3-(Dietyl-amino)-propil-amino]-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid [(18a) képletű vegyület] előállítás

A cím szerinti vegyület előállítását a (17) képletű 3-klór-1,2,4-benzotriazin-1-oxidból kiindulva a IX. reakcióvázlattal szemléltetjük.

3-[3-(Dietyl-amino)-propil-amino]-1,2,4-benzotriazin-1-oxid [(18) képletű vegyület] előállítás

100 ml metilén-kloridban feloldottunk 3,0 g (16,5 mmol) mennyiségű 3-klór-1,2,4-benzotriazin-1-oxidot, amelyet Sasse és munkatársai módszerével [4 289 771. sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás] állítottunk elő. A keletkezett oldathoz 9,5 ml (88,3 mmol) mennyiségű N,N-dietyl-propiléndiamint adtunk. Az így kapott elegyet 20 órán keresztül a környezet hőmérsékletén tartottuk, majd 50 ml 1,2-diklór-etánnal hígítottuk. A hígított elegyet először vizes nátrium-karbonát-oldattal, majd vízzel mostuk. A keletkezett sárga színű oldatot nátrium-szulfáttal megszáritottuk, szűrtük, majd vákuumban bepároltuk. Így 3,93 g mennyiségben, 87 %-os hozammal sárga színű, szilárd anyagot kaptunk, amelyet dietyl-éter és petroléter elegyé-



ből átkristályosítottunk. Így tiszta anyag formájában kaptuk meg a (18) képletű vegyületet, amelynek olvadáspontja 47-48 °C.

Az elementáranalízis eredményei a $C_{14}H_{21}N_5O$ összegképletre:

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	61,10	7,69	25,44
- mért értékek:	61,30	7,80	25,61.

50 ml kloroformban feloldottunk 1,60 g-ot (6,10 mmolt) az előző művelettel előállított, (18) képletű 3-[3-(dietil-amino)-propil-amino]-1,2,4-benzotriazin-1-oxidből, majd az így kapott oldathoz kevertetés közben hozzáadtunk 22,0 ml trifluor-ecetsav-anhidridet. Az elegyet 15 perc elteltével lehűtöttük -10 °C-ra, hozzáadtunk 10 ml 70 m%-os hidrogén-peroxid-oldatot, majd az így keletkezett elegyet a környezet hőmérsékletén 20 napon át kevertettük. A reakcióelegyet nátrium-szulfáttal megszáritottuk, szűrtük, majd szárazra pároltuk. A bepárlási maradékot 50 ml telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldatban feloldottuk és háromszor 50 ml metilén-kloriddal extraháltuk. A szerves fázist nátrium-szulfáttal megszáritottuk, szűrtük, majd bepároltuk. Ilyen módon vörös színű, szilárd anyag formájában, 29 %-os hozammal, 0,51 g mennyiségben kaptuk meg a (18a) képletű, cím szerinti vegyületet, amely 92-94 °C-on olvad meg.

NMR-vizsgálat (δ , 400 MHz, $CDCl_3$):

1,11 (6H, t, $J = 7,1$ Hz, CH_3), 1,84-1,90 (2H, m, H-2'), 2,48-2,64 (4H, m, NCH_2CH_3 és H-3'), 3,68 (2H, széles t, $J = 5,5$ Hz, H-1'), 7,46 (1H, ddd, $J = 7,1$; 7,0 és 1,2 Hz, H-6), 7,84 (ddd, $J = 7,0$; 6,9 és 1,2 Hz, H-7), 8,31 (2H, m, H-5 és 8), 8,80 (1H, széles s, NH).

Az elementáranalízis eredményei a $C_{14}H_{21}N_5O_2 \cdot 1/3H_2O$ összegképletre:



	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	56,50	7,34	23,55
- mért értékek:	56,90	7,15	23,40.

11. példa

7-Nitro-3-[2-(dietyl-amino)-etyl-amino]-1,2,4-benzotriazin-
-1,4-dioxid-hidroklorid előállítása

A (21) képletű, cím szerinti vegyület előállítását a (14) képletű 7-nitro-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1-oxidből kiindulva a X. reakcióvázlat szemlélteti.

7-Nitro-3-[2-(dietyl-amino)-etyl-amino]-1,2,4-benzotriazin-
-1-oxid-hidroklorid [(20) képletű vegyület] előállítása

1,60 g (7,06 mmol) 7-nitro-3-klór-1,2,4-benzotriazin-1-oxidot [(19) képletű vegyületet] és 50 ml metilén-kloridot tartalmazó oldatot 6,0 ml (42,7 mmol) N,N-dietyl-etyléndiaminnal kezeltünk. [A (19) képletű vegyületet a Sasse és munkatársai által ismertett általános módszer szerint [4 289 771. sz. amerikai egyesült államokbeli eljárás] állítottuk elő olyan módon, hogy az a) lépésben nátrium-nitritet és kénsavat alkalmaztunk 40 °C-on, majd a b) lépésben a klórozást foszfor-oxi-kloriddal hajtottuk végre 106 °C-on.] Az így kapott elegyet 6 óra hosszat a környezet hőmérsékletén tartottuk, majd nagyvákuumban 60 °C-on szárazra pároltuk. A bepárlási maradékként kapott sárga színű szilárd anyagot 150 ml mennyiségű, izopropil-alkoholt és dietyl-étert 20:80 térfogatarányban tartalmazó elegyben 5 óra hosszat kevertettük, majd az elegyből kiszűrtük, ezt követően először izopropil-alkohollal, majd petroléterrel mostuk, és 80 °C-on, 133 Pa nyomáson megszárítottuk. Ilyen módon sárga tükrystalok formájában 74 %-os hozammal 1,80 g mennyiségben kaptuk meg a (20) képletű vegyületet.



NMR-vizsgálat (δ , 90 MHz, d_6 -DMSO/ d_4 -MeOH):

1,25 (6H, t, $J = 6,0$ Hz, CH_3), 3,25 (6H, m, NCH_2), 3,82 (2H, m, H-1'), 7,74 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-5), 8,52 (1H, dd, $J = 7,0$ és $2,0$ Hz, H-6), 8,91 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8).

7-Nitro-3-[2-(diethyl-amino)-etil-amino]-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid-hidroklorid [(21) képletű vegyület] előállítása

Az előző alcim alatt leírt módon előállított, (20) képletű 7-nitro-3-[2-(diethyl-amino)-etil-amino]-1,2,4-benzotriazin-1-oxidből 0,50 g-ot (1,46 mmol) feloldottunk 50 ml kloroformban. Az így kapott oldathoz 0°C -on kevertetés közben hozzáadtunk 9,0 ml trifluor-ecetsavanhidridet. Fél óra elteltével beadagoltunk 4,0 ml 70 m%-os hidrogén-peroxidot, és az így keletkezett elegyet a környezet hőmérsékletén 3 napon át kevertettük, majd nátrium-szulfáttal megszáritottuk, szűrtük és vákuumban szárazra pároltuk. Ilyen módon 0,67 g mennyiségben, 45 %-os hozammal kaptuk meg a trifluor-acetát-sót, amelyet feloldottunk 30 ml telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldatban, és háromszor 30 ml metilén-kloriddal extraháltuk a keletkezett oldatot. A diklór-metánt vízzel mostuk, nátrium-szulfáttal megszáritottuk, szűrtük, sósavgázzal telítettük és szárazra pároltuk. Így 0,35 g mennyiségben, 63 %-os - az egész eljárást tekintve 28 %-os - hozammal kaptuk meg a címszerűti vegyületet vörös színű szilárd anyag formájában. Az előállított (21) képletű vegyület $194-195^\circ\text{C}$ -on olvad meg.

Ultraibolya spektrum (λ_{max}): 260, 306, 388, 479.

Az elementáranalízis eredményei a $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_4\text{HCl}$ összegképletre:

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	43,50	5,34	23,43
- mért értékek:	43,20	5,37	23,11.



A következő 12.-15. példák redukív dezaminálási reakciókra, vagyis X helyén hidrogénatomot tartalmazó - azaz a 3-as helyzetben nem szubsztituált - (I) általános képletű vegyületek előállítására vonatkoznak.

12. példa

1,2,4-Benzotriazin-1,4-dioxid előállítása 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid redukív dezaminálásával

A (9) képletű, cím szerinti vegyület előállítását a (22) képletű 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidból kiindulva a XI. reakcióvázlaton mutatjuk be.

20 ml dimetil-formamidban feloldottunk 867 mg (1,0 ml; 8,41 mmol) terc-butil-nitritet, majd az így keletkezett oldathoz intenzív kevertetés közben 60-65 °C-on kis részletekben 5 perc alatt hozzáadtunk 500 mg (2,81 mmol) 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot, amelyet Seng és munkatársai módszerével [Angew. Chem. Internat. Edit., 11 (1972)] állítottunk elő. A beadagolás befejezése, valamint a beadagolással járó pezsgés megszűnte után - mintegy 5 perc elteltével - az oldatot elválasztottuk és nagyvákuumban bepároltuk. A bepárlási maradékként kapott sötét színű, viaszhoz hasonló anyagot flash-kromatografálással tisztítottuk. Eluálószerként etil-acetát és metilén-klorid 30:70 térfogatarányu elegyét használtuk fel. Az így kapott sárga színű, szilárd anyagot - amelynek bomlás közben mért olvadáspontja 188-189,5 °C - etanolból átkristályosítottuk. Ilyen módon sárga színű, fényes lemezkék formájában kaptuk meg 43 %-os hozammal, 195 mg mennyiségben a (9) képletű, cím szerinti vegyületet, amely bomlás közben olvad meg 192-194 °C-on.

NMR-vizsgálat (δ , 400 MHz, d_6 -acetón):

8,04 (1H, ddd, J = 8,5; 7; 1,5 Hz), 8,15 (1H, ddd, J = 8,5;



7; 1,5 Hz), 8,42 (1H, dd, J = 8,5; 1,5 Hz), 8,43 (1H, dd, J = 8,5; 1,5 Hz), 9,05 (1H, s, H-3).

Ultraibolya spektrum (λ_{\max}): 405, 300 és 225.

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) = 147(13), 136(19) (intenzitás), 164(9), 163(100, M+), 147(13), 136(19), 90(7), 78(27), 76(26), 75(8), 64(9), 63(10), 52(12), 51(48), 50(28), 38(8), 37(5), 30(18), 28(6) és 27(7).

Az elementáranalízis eredményei a $C_7H_5N_3O_2$ összegképletre:

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	51,54	3,09	25,76
- mért értékek:	51,42	3,02	25,66.

13. példa

7-(Allil-oxi)-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállítás
reduktív dezaminálással

15 ml dimetil-formamidban feloldottunk 271 mg (0,312 ml; 2,63 mmol) terc-butyl-nitritet, majd az így kapott oldathoz 5 perc alatt kis részletekben hozzáadtunk 60-65 °C-on 205 mg (0,875 mmol) (23) képletű 7-(allil-oxi)-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot. Fél órával később további 271 mg (0,312 ml; 2,63 mmol) mennyiségű terc-butyl-nitritet adagoltunk be. Röviddel ezután azt tapasztaltuk, hogy a mélyvörös színű oldat pezsegni kezdett, és a színe néhány perc alatt világos lett. További fél óra elteltével a narancsszínűvé vált oldatot vákuumban bepároltuk. A bepárlási maradékként kapott barna színű, szilárd anyagot ezután flash-kromatografáltuk. Eluálószerként etil-acetát és metilén-klorid 10:90 térfogatarányu elegyét használtuk. A cím szerinti, (24) képletű 7-(allil-oxi)-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot metilén-klorid és petroléter elegyből kristályosítottuk ki világos

narancsszinű kristályok formájában, 72 mg mennyiségben, amely 38 %-os hozamnak felel meg. A termék olvadáspontja 147-148 °C.

NMR-vizsgálat (δ , 400 MHz, d_6 -aceton):

4,89 (2H, ddd, H-1', $J_{1,2} = 5,5$ Hz, $J_{1,3,cisz} = J_{1,3,transz} = 1,5$ Hz), 5,36 (1H, ddd, H-3', $J_{3,2,cisz} = 10,5$ Hz, $J_{3,3} = 1,5$ Hz), 5,52 (1H, ddd, H-3', $J_{3,2,transz} = 17,5$ Hz, $J_{3,3} = 3$ Hz, $J_{3,1} = 1,5$ Hz), 6,14 (1H, ddd, H-2', $J_{2,3,cisz} = 10,5$ Hz, $J_{2,1} = 5,5$ Hz), 7,70 (1H, d, H-8, $J_{8,6} = 2,5$ Hz), 7,74 (1H, dd, H-6, $J_{6,5} = 9,5$, $J_{6,8} = 2,5$ Hz), 8,33 (1H, d, H-5, $J_{5,6} = 9,5$ Hz), 8,93 (1H, s, H-3).

Ultraibolya spektrum (λ_{max}): 425, 410, 365, 355, 320, 245, 200.

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) 220(4), 219 (34 M+), 103(4), 77(4), 75(4), 63(13), 62(4), 42(3), 41(100), 39(16).

Az elementáranalízis eredményei a $C_{10}H_9N_3O_3$ összegképletre:

	C, m%	H, m%	N, m%
- számított értékek:	54,79	4,14	19,17
- mért értékek:	54,73	4,16	19,15.

14. példa

7-[3-(N-Etil-acetamido)-2-acetoxi-propoxi]-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid [26] képletű vegyület] előállítása reduk-tív aminálással

Az eljárást a (25) képletű 7-[3-(N-etil-acetamido)-2-acetoxi-propoxi]-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidból kiindulva a XII. reakcióvázlat szemlélteti.

5 ml dimetil-formamidban feloldottunk 185 mg (1,79 mmol) terc-butyl-nitritet, majd a keletkezett oldathoz 60 °C-on 1 perc alatt injekcióstű segítségével hozzáadtunk 5 ml dimetil-formamidban



feloldva 125 mg (0,329 mmol) (25) képletű 7-[3-(N-etil-acetamido)-2-acetoxi-propoxi]-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot. Öt perc elteltével további terc-butyl-nitritet adagoltunk be 217 mg (2,10 mmol) mennyiségben. A reakció azonnal megindult, amint ezt a gázfejlődés, valamint az mutatta, hogy az oldat színe vörösről világosnarancsra változott. Vártunk még tíz percet, majd az oldatot addig sztripeltük, amíg sárgásbarna szilárd anyag nem maradt vissza, amelyet szilikagélen kromatografálva tisztítottunk. Eluálószerként metanol és metilén-klorid 5:95 térfogatarányu elegyét használtuk. A kromatografálással tisztított anyagot metilén-klorid és ligroin elegyéből átkristályosítottuk. Ilyen módon sárga színű, szilárd anyag formájában, 90 mg mennyiségben, 75 %-os hozammal kaptuk meg a cím szerinti vegyületet, amely 179-180,5 °C-on olvad meg.

NMR-vizsgálat (δ , 400 MHz, d_4 -metanol, a rotációs izomerek mintegy 2:1 arányu elegye):

1,12-1,22 (t-k, 1:2,3 H összes, $J = 7$ Hz), 2,0-2,6; 2,07 (s-ek, 2:1, 3H összes), 2,11; 4,34-4,48 (m, 2H), 5,48-5,58 (m, 1H), 7,76-7,86 (m, 2H), 8,36-8,42 (m, 1H), 9,04; 9,06 (s-ek, 2:1, 1H összes).

Ultraibolya spektrum (λ_{\max}): 420, 405, 365, 350, 315, 240, 200.

Tömegspektrum: m/z (relativ intenzitás) = 365(0,5), 364 (1,4, M+), 349 (0,5), 348 (1,1), 347 (0,5), 332(1,2), 331(3,6), 187(7), 186(66), 102(6), 100(21), 84(30), 63(6), 58(100), 56(8), 43(65), 42(9), 41(9), 41(5), 30(14), 29(5), 28(8).

15. példa

7-Nitro-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállításáa redukтив dezaminálással



A (27) képletű, cím szerinti vegyület előállítását a (14) képletű 7-nitro-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidból kiindulva a XIII. reakcióvázlattal szemléltetjük.

5 ml dimetil-formamidban feloldottunk 988 mg (0,85 mmol) terc-butil-nitritet, majd az így kapott oldathoz kevertetés közben 60 °C-on hozzáadtunk 38 mg (0,17 mmol) 7-nitro-3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot [(14) képletű vegyület]. Fél óra elteltével 175 mg (1,70 mmol) mennyiségben további terc-butil-nitritet adagoltunk be a sötétvörös zagyba. A beadagolást azonnal színváltozás és pezsgés kísérte. További 10 perc elteltével a narancsszinű oldatot vákuumban bepároltuk. A bepárlási maradékként kapott vörös színű, szilárd anyagot kromatografálással tisztítottuk. Eluálószerként 1 v% ecetsavat tartalmazó metilén-kloridot alkalmaztunk. Ilyen módon 3 mg mennyiségben, 10 %-os hozammal állítottuk elő sárga színű, szilárd anyag formájában a (27) képletű, cím szerinti vegyületet.

NMR-vizsgálat (δ , 90 MHz, d_6 -dimetil-szulfoxid):

7,68 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 7,92 (dd, 1H, J = 9,2; 2,2 Hz), 8,10 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 8,65 (s, 1H).

Ultraibolya spektrum (λ_{max}): 420, 310, 240, 205.

Tömegspektrum: m/z (relatív intenzitás) 209(9), 208(100, M+), 192(54), 181(14), 162(16), 105(9), 77(28), 75(52), 74(27), 63(21), 62(16), 30(77), 18(26).

16. példa

3-Etil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállítása

A (31) képletű, cím szerinti vegyület előállítását a (28) képletű fenil-hidrazon-származékból kiindulva a XIV. reakcióvázlaton szemléltetjük.

A propionaldehid és fenil-hidrazin kondenzáltatásával elő-



állított (28) képletű fenil-hidrazon-származékot benzoldiazónium-kloriddal ecetsav, nátrium-nitrit és sósav elegyében reagáltattuk. Az így előállított (29) képletű formazánszármazékból bór-trifluorid és ecetsav elegyében 90-95 °C-on végrehajtott ciklizálással olajszerű anyag formájában kaptuk meg a (30) képletű 3-etil-1,2,4-benzotriazint, amelyet desztillálással tisztítottunk. A tisztított 3-etil-1,2,4-benzotriazin trifluor-ecetsavanhidrid (TFAA) és metilén-klorid elegyében 70 m%-os hidrogén-peroxid-oldattal végzett oxidálásával kaptuk meg a (31) képletű 3-etil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot. A (31) képletű, cím szerinti vegyületet normálfázisu oszlopkromatografálással, majd vizes etanolból végzett átkristályosítással tisztítottuk. Az ilyen módon előállított, 99,8 m%-os tisztaságú 3-etil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid 141-142 °C-on olvad meg.

17. példa

3-Propil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállítása

A (32) képletű, cím szerinti vegyületet a 16. példában a 3-etil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxid előállításával kapcsolatban ismertetett módon szintetizáltuk, azzal a különbséggel, hogy propionaldehid és fenil-hidrazin kondenzáltatásával készített fenil-hidrazon-származék helyett butiraldehid és fenil-hidrazin kondenzáltatásával előállított fenil-hidrazon-származékot használtunk fel a benzoldiazónium-klorid reakciópartnereként. Az így előállított (32) képletű vegyület 114-116 °C-on olvad meg.

18. példa

3-(1-Hidroxi-etil)-1,2,4-benzotriazin-1-oxid előállítása

A (34) képletű, cím szerinti vegyület 3-klór-1,2,4-benzotriazin-1-oxidből kiinduló előállítását a XV. reakcióvázlattal szem-

léltetjük.

Leforrasztott csőben 100 °C-on 48 órán keresztül reagáltattunk acetonitril, tritoluil-foszgén és trietil-amin elegyében, palládium(II)-acetát katalizátor jelenlétében 3-klór-1,2,4-benzotriazin-1-oxidot kis feleslegben alkalmazott tri(n-butil)-vinil-ónnal.

Az oldószer eltávolítása után visszamaradt anyagot oszlop-kromatografálással tisztítottuk. A tisztított anyag 3-vinil-1,2,4-benzotriazin-1-oxid [(33) képletű vegyület], amelyből 9-bora-biciklo[3.3.1]nonánnal (9-BBN) végrehajtott redukálással, majd nátrium-hidroxid és hidrogénperoxid elegyével végzett oxidálással állítottuk elő a (34) képletű, cím szerinti vegyületet.

19. példa

Tirapazamint és ciszplatint vizsgáltunk in vivo RIF-1-es daganatmintában. Vizsgáltuk a tirapazamint és a ciszplatint in vitro körülmények között is, amikor is RIF-1-es sejteket használtunk fel oxigénhiányos és oxigénnel ellátott állapotban.

Kísérleti állatok és daganatok

Egy korábban nyilvánosságra hozott laboratóriumi jegyzőkönyv szerint [Twentyman és munkatársai: J. Nat'l Cancer Inst., 64. 595-604] tartottunk fenn in vivo és in vitro körülmények között rostos szarkómát C3H/Km egerekben, amelyeket meghatározott növényi táplálékon tartottunk. A rostos szarkómát Dr. Martin Brown laboratóriumában [Department of Radiation Oncology, Stanford University, Stanford, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok) fejlesztették ki és tartották fenn [Twentyman és munkatársai: J. Nat'l Cancer Inst., 64. 595-604]. Az egereket a Stanford University Medical School sugárbiológiai osztályán



szaporították és tenyésztették. 15 v% borjumagzatszérummal kiegészített Waymouth-közegben tenyésző, sejtvastagságu hárttyákat alkotó daganatsejteket 0,05 m% tripszin beadagolásával összegyűjtöttünk. Az így keletkezett szuszpenzióból befecskendeztünk minden egyes egér bőre alá 0,05 ml közegben 2×10^5 sejtet. Az injekciós tüvel minden esetben az egerek hátán hatoltunk be a bőrbe, 2 cm-rel a faroktól felfelé. A kísérleteket 2 héttel később kezdtük, amikor az átlagos tumortérfogat már mintegy 200 mm^3 volt.

Hatóanyagok

A felhasznált tirapazamin (SR 4233) a Sterling Drug Inc.-től (New York, N.Y., Amerikai Egyesült Államok) származik. Az állatkísérletekhez ennek a hatóanyagnak az 1 mg/ml töménységű, vizes nátrium-klorid-oldattal készített oldatát használtuk fel, amelyet intraperitoneálisan (i.p.) fecskendeztünk az egerekbe az adott mmol/kg testtömeg dózisonak megfelelő mennyiségben.

A Bristol Laboratories (Princeton, New Jersey, Amerikai Egyesült Államok) által szállított ciszplatint (c-DDP) steril vízben oldottuk fel, majd az így kapott oldatot 0,01 ml/g testtömeg dózisban intraperitoneálisan alkalmaztuk.

A sejtek túlélésének vizsgálata

Az állatkísérleteknél a RIF-1-es sejtek túlélését egy *in vivo/in vitro* kimetszéses módszerrel határoztuk meg, amely szerint a ciszplatinnal végzett kezelés után 24 órával megöltük az egereket, a daganatokat kimetszettük, felaprítottuk és egy enzimeleggyel (lásd Twentymán és munkatársainak már hivatkozott cikkét) alkotórészeire bontottuk, és a sejtekből lemeztenyészetet készítettünk a klonogénelemzéshez. A keletkező tumorsejt-tenyészeteket megfestettük kristályibolyával, majd kéthetes, 37

^oC-on, 5 v% szén-dioxidot tartalmazó, nedvesített atmoszférában végzett inkubálás után sejtszámlálást hajtottunk végre. A klonogén sejtek tumoronkénti viszonyszámát úgy határoztuk meg, hogy a kezelt tumorokban talált daganatos sejtek számát megszoroztuk a lemeztenyésztési hatásfokkal, majd az így kapott számot elosztottuk a kezeletlen kontroll-tumorokban talált daganatos sejtek számával, amelyet párhuzamosan végzett vizsgálat keretében állapítottunk meg.

Az in vitro sejtvizsgálatokhoz RIF-1-es sejteket 60 mm átmérőjű Petri-csészékben 15 v% borjumagzatszérummal kiegészített Waymouth-közegre oltottunk rá olyan mennyiségben, hogy edényenként 2×10^4 volt a sejtek száma. A kísérleteket 4-5 nappal később végeztük el, amikor a kezeléskor már mintegy 10^6 sejt volt jelen egy-egy Petri-csészében. A tápközeget ezután tirapazamint 2 vagy 4 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban tartalmazó, 2 ml mennyiségű, szérumtól mentes közeggel helyettesítettük. Minden egyes kísérlet során csoportokat alakítottunk ki, amelyeken a tirapazaminos és a ciszplatinos kezelést egyidejűleg, illetve a két hatóanyaggal való kezelést eltérő időpontokban, bizonyos időközök beiktatásával valósítottuk meg. Azoknál a csoportoknál, amelyeknél tartottunk bizonyos időközöt a tirapazaminos kezelés után, a sejteket kétszer öblítettük, és a közeget "full growth" közeggel helyettesítettük a második - a ciszplatinos - kezelésig hátralevő idő elteltéig. A ciszplatinos kezelést ugyancsak szérumot nem tartalmazó közegben végeztük el. Mind a tirapazaminos, mind a ciszplatinos kezelés alatt egy-egy órán át oxigénhiányos állapotot tartottunk fenn, amelyet úgy hoztunk létre, hogy a Petri-csészéket erre a célra gyártott, előmelegített, alumíniumból készült gázkamrákban helyeztük el, amelyeket rázóasztalra tettünk.



A gázkamrákat gázelosztó vezetékhez csatlakoztattuk, amelyen volt egy kimeneti csatlakozóvezeték a vákuumhoz, valamint egy-egy bemeneti csatlakozóvezeték az 5 v% szén-dioxidot tartalmazó levegő, illetve nitrogén betáplálására. Az alumíniumkamrákban úgy hoztuk létre az oxigénhiányos állapotot, hogy a kamrákat öt ciklusban 2-3 percre - a 10^4 Pa nyomás eléréséig - vákuum alá helyeztük, majd 5 v% szén-dioxidot tartalmazó nitrogéngázzal feltöltöttük. Gázzal való feltöltés után a kamrákat leforrasztottuk, majd 37°C -on 1 órán keresztül inkubáltuk. A közegben Clarke-elektóddal végzett oxigénkoncentráció-mérések eredményei azt mutatták, hogy az oxigénhiányos állapotot **gyorsan** elértük. (Az oxigénhiányos állapot 1 órás időtartama alatt az átlagos oxigénkoncentráció hozzávetőlegesen 10 perc alatt 200 ppm alá csökkent.) A sejteket közvetlenül a ciszplatinos kezelés után "trip-szinezttük", megszámoltuk, majd ismét lemeztenyészetet készítettünk belőlük műanyag Petri-csészékben levő, 15 v% borjumagzatszérummal kiegészített Weymouth-közegben. A tenyészetet 14 napon keresztül 5 v% szén-dioxidot tartalmazó atmoszférában 37°C -on inkubáltuk, majd a sejteket kristályibolyával megfestettük és megszámoltuk.

Normális szövet vizsgálata

A normális szövet tirapazaminra és ciszplatinra való reagálását vesében és csontvelőben vizsgáltuk a vérben levő karbamid nitrogéntartalmának (BUN) meghatározásával, valamint perifériás fehérvérsejt-számlálással. Vérmintákat a farokvénákból vettünk vagy szívpunkciót alkalmaztunk. Semmilyen véralvadásgátló szert nem használtunk. A perifériás fehérvérsejteket minden egyes egér esetében 20 μl teljes vérből határoztuk meg 0,280 ml 3 m%-os ecetsavval végzett higitás után. A szérumban BUN vizs-

gálatokhoz két egér vérét összegyűjtöttük, megalvasztottuk, "vortexeltük", majd 830 g gyorsulásnak megfelelő fordulatszámmal 15 percen át centrifugáltuk. A szérum kiszívása után a BUN-értékeket közönséges állatklinikai laboratóriumban határoztuk meg. Egy másik kísérlet keretében meghatároztuk a 30 napos túlélések számát is.

Eredmények

a) In vivo körülmények között vizsgált daganatokra vonatkozó eredmények

Az 1. ábrán két olyan kísérlet eredményei láthatók, amelyeket 0,35 mmol/kg testtömeg (63 mg/kg testtömeg) tirapazamin adagolásával hajtottunk végre tumorban szenvedő egereken. A tirapazamint különböző időpontokban juttattuk be az egerek szervezetébe egy olyan időintervallumban, amely a 8 mg/kg testtömeg ciszplatindózis alkalmazása előtt 3 órával kezdődött és a ciszplatin alkalmazása után két órával fejeződött be. A klonogén túlélést 24 órával később határoztuk meg. Az y-tengelyen a klonogén sejtek tumoronkénti arányszámát ábrázoltuk, az x-tengelyen meg a a tirapazamin alkalmazásának időpontját a ciszplatin alkalmazásának időpontjához képest. (A -2 órához olyan adatok tartoznak, amelyeket olyan egerekre vonatkozóan kaptunk, amelyeknek szervezetébe a ciszplatin befecskendezése előtt két órával juttattuk be a tirapazamint.) A körök az önmagában alkalmazott tirapazaminra, a négyzetek az önmagában alkalmazott ciszplatindra, a háromszögek pedig az együttesen alkalmazott tirapazaminra és ciszplatindra mért eredményeket mutatják. Az 1. ábrából kitűnik, hogy abban az esetben, amikor a tirapazamint 3 órával a ciszplatin alkalmazása előtt, illetve két órával a ciszplatin alkalmazása

után juttattuk be az egerek szervezetébe, a klonogénsejtek tumoronkénti arányszáma mintegy 10^{-4} -ről körülbelül 10^{-7} -re csökkent. A tumoronkénti klonogén sejtek vonatkozásában ezek a számok tízszeres-ezerszeres csökkenést mutatnak ahhoz az esethez képest, ha a tirapazamint a ciszplatinnal egyidőben alkalmazzuk. A tirapazamin és a ciszplatin közötti szinergikus hatás abban az esetben volt a legkifejezettebb, ha a tirapazamint 1-3 órával a ciszplatin előtt alkalmaztuk. A két hatóanyag közötti legnagyobb kölcsönhatás akkor tapasztalható, ha a tirapazamint 2,5 órával a ciszplatin előtt juttatjuk be az egerek szervezetébe.

Tekintettel arra, hogy nagyszámu elpusztult sejtet figyeltünk meg az 1. ábra legalacsonyabb értékénél (amely a klonogén vizsgálat határértékeinek közelében van), az alkalmazott tirapazamindózist 0,35 mmol/kg testtömeg értékről 0,27 mmol/kg testtömeg (48,6 mg/kg testtömeg) értékre csökkentettük, és a kísérleteket megismételtük. A megismételt kísérlet során a ciszplatin és a tirapazamin alkalmazása közötti időintervallumot 24 órára növeltük. Az eredményeket a 2. ábrán lehet tanulmányozni, amelynek x-tengelyére és y-tengelyére ugyanazok a változók kerültek, mint az 1. ábrán, és a szimbólumok jelentése is ugyanaz, mint az 1. ábra esetében. A 2. ábrából kitűnik, hogy a tirapazamin és a ciszplatin közötti megnövekedett kölcsönhatás még abban az esetben is jelentkezik, ha a tirapazamint akár 24 órával a ciszplatin előtt alkalmazzuk.

Annak ellenére, hogy a második kísérletsorozatnál az alkalmazott tirapazamin mennyiségét csökkentettük, a három vizsgálat ugyanazzal az eredménnyel zárult: gyakorlatilag összegződtek a toxikus hatások, amikor a két hatóanyagot egy időben alkal-



maztuk, és nagyobb volt a citotoxikus kölcsönhatás, ha a hatóanyagokat különböző időpontokban juttattuk be az egerek szervezetébe. A klonogén sejtek tumoronkénti számában a legnagyobb csökkenést akkor tapasztaltuk, amikor a tirapazaminos kezelés mintegy 2,5 órával előzte meg a ciszplatinos kezelést.

További kísérleteket végeztünk különböző tirapazamin dózisokkal, amelyeket 2,5 órával azelőtt alkalmaztunk, hogy 4 mg/kg testtömeg, illetve 8 mg/kg testtömeg mennyiségben ciszplatint juttattunk be az egerek szervezetébe. Mindkét ciszplatindózisnál körülbelül exponenciálisan csökkent a túlélő daganatos sejtek száma a tirapazamin dózis növekedésével.

b) Normális szövetre vonatkozó eredmények

C3H egerekkel folytatott előzetes kísérletek eredményei azt mutatták, hogy a fehérvérsejtek száma mélypontra a tirapazaminnal és a ciszplatinnal végrehajtott kezelés utáni 3. napon kerül, majd ismét emelkedik és az 5. napon a kontroll-szinthez közeli értéket ér el. A szervezet különböző dózisokra való reagálását ezért a 3. napon vizsgáltuk olyan módon, hogy a ciszplatint 10, 14 és 18 mg/kg dózisokban önmagában, illetve a ciszplatint alkalmazása előtt 2,5 órával az egerek szervezetébe juttatott 0,35 mmol/kg tirapazamin dózissal együtt alkalmaztuk. Mind a tirapazamin, mind a ciszplatint ^{enyhén} fehérvérsejt-hiányos állapotot eredményezett, és a két hatóanyag kombinálása esetén olyan hatás jelentkezett, amely az egyes hatóanyagok hatásainak az összege volt.

A szérumban BUN-értékeit a tirapazamin és a ciszplatint befecskendezése után hat nappal határoztuk meg, mert egy előzetes vizsgálat során kiderült, hogy ha magas dózisban alkalmazunk ciszplatint, ennyi idő elteltével tapasztalható a legnagyobb nö-

vekedés a BUN-értékeknél. A C3H egereknél 6 nappal azután határoztuk meg tehát a BUN-értékeket, hogy külön-külön alkalmaztunk 0,27 mmol/kg testtömeg dózisban tirapazamint és 10, 14, valamint 18 mg/kg testtömeg dózisban ciszplatint, illetve együtt alkalmaztuk ezt a két hatóanyagot olyan módon, hogy a tirapazamint a ciszplatint előtt 2,5 órával fecskendeztük be. Amikor a ciszplatint 10 és 14 mg/kg testtömeg dózisban önmagában alkalmaztuk, hasonló BUN-értékeket - 30 mg/dl körüli koncentrációkat - mértünk, mint kezeletlen egerek esetében. Amikor azonban a ciszplatint 18 mg/kg testtömeg dózisban fecskendeztük be önmagában, 80 mg/dl körüli BUN-értékeket mértünk. Ezzel szemben ha a két hatóanyagot együttesen alkalmaztuk, a kezelt egerek BUN-értékei mindhárom ciszplatindózis esetében alacsonyabbak voltak a kezeletlen egerek BUN-értékeinél. Ezekből az eredményekből kitűnik, hogy ha a tirapazamint ciszplatinnal együtt alkalmazzuk, a ciszplatint vesére gyakorolt mérgező hatásához nem adódik hozzá semmilyen mérgezőhatás, sőt a legnagyobb dózis esetében még védőhatás is kimutatható.

Egy további vizsgálatot is elvégeztünk, hogy megtudjuk, növeli-e a tirapazamin a ciszplatint szisztémás toxicitását. LD₅₀-értékeket mértünk úgy, hogy a ciszplatint először önmagában, majd tirapazaminnal együtt olyan módon alkalmaztuk, hogy a tirapazamint 2,5 órával a ciszplatint előtt fecskendeztük be. A ciszplatint mellett 0,35 mmol/kg testtömeg dózisban alkalmazott tirapazaminnal is kezelt egerek esetében az LD₅₀-érték 17,7 mg/kg testtömeg volt (a 95 %-os megbízhatósági határ figyelembevételével 16,8-18,7 mg/kg testtömeg), a csak ciszplatinnal kezelt egereknél pedig 17,8 mg/kg testtömeg (17,1-18,5 mg/kg testtömeg) értékeket mértünk.

c) Az in vitro körülmények között végzett kísérletek eredményei

Oxigénhiányos körülmények között egy órán át sejteket tettünk ki 2 $\mu\text{g/ml}$, illetve 4 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban jelenlevő tirapazamin hatásának, majd később - különböző időpontokban - ugyancsak egy órán át 2 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban jelenlevő ciszplatin hatásának. Mind a két hatóanyag koncentrációját úgy választottuk meg, hogy hasonló arányszámban pusztuljanak el az oxigénhiányos sejtek, mint a RIF-1-es tumorokban in vivo körülmények között; a 2, illetve a 4 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban alkalmazott tirapazamin esetében ez az arányszám 0,3, illetve 0,009 volt, míg a 2 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban alkalmazott ciszplatin esetében $3,5 \times 10^{-3}$. Minden kísérletnél voltak olyan csoportok, amelyeknél nem különítettük el a két hatóanyag expozíciós idejét, vagyis a tirapazamint és a ciszplatint egyszerre alkalmaztuk egy órán keresztül oxigénhiányos körülmények között. Voltak olyan csoportok is, amelyeknél a két hatóanyag expozíciós időtartama között 1-4 óra eltérés volt. Az egyidejűleg alkalmazott hatóanyagok esetében a sejtek túlélésére kapott eredmények nem tértek el lényeges mértékben azoktól az eredményektől, amelyeket a két hatóanyag külön-külön alkalmazása esetén kaptunk. Ez a tapasztalat az addíciós hatást igazolja. Abban az esetben viszont, ha a két hatóanyagot időben elkülönítve együttesen alkalmaztuk, akár százszor annyi is lehetett az elpusztult sejtek száma. Az elpusztult sejtek számának időbeni növekedése hasonló volt az in vivo körülmények között megfigyelthez, bár a két hatóanyag dózis alkalmazásának időbeli szétválasztása kisebb mértékben befolyásolta az abszolút értékeket, mint in vivo körülmények között. Annak igazolására, hogy a két hatóanyag közötti kölcsönhatás függ az oxigénhiányos állapottól,

a kísérleteket olyan módon ismételtük meg, hogy a sejteket aerob körülmények között - vagyis oxigén jelenlétében - tettük ki tirapazamin hatásának, majd 3 órával később oxigénhiányos körülmények között. Ezeknek a kísérleteknek a során a tirapazamin részéről nem tapasztaltunk citotoxicitást, és nem növekedett az elpusztított sejtek arányszáma azokhoz az esetekhez viszonyítva, amelyeknél - ugyanebben a kísérletsorozatban - a ciszplatint csak önmagában alkalmaztuk.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás tömör daganatokkal szemben hatásos kemoterápiás anyagok citotoxicitásának növelésére, azzal j e l l e m e z - v e , hogy daganatos betegségekben szenvedő emlősök szervezetébe az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása előtt mintegy 0,5-24 órával vagy az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása után mintegy 1-2 óra elteltével a citotoxicitás növeléséhez ele- g e n d ő mennyiségben juttatunk be szabad formában vagy farmakoló- g i a i szempontból elfogadható sók alakjában olyan vegyületeket, amelyek (I) általános képletében

- X jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos szénhidrogén- csoport, hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, -NHR álta- lános képletű csoporttal, -NRR általános képletű csoport- tal, 1-4 szénatomos alkoxics csoporttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos szénhidrogénecs csoport, halo- géenatom, hidroxilcsoport, 1-4 szénatomos alkoxics csoport, aminocsoport, -NHR általános képletű csoport vagy -NRR általános képletű csoport, ahol

-- az R szubsztituensek jelentése - egymástól függet- lenül - 1-4 szénatomos alkilcsoport, 1-4 szénato- mos acilcsoport, hidroxilcsoporttal, aminocso- porttal, 1-4 szénatomos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal, 1-4 szénatomos alkoxics csoporttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos alkilcsoport vagy hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénato- mos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos al- kil)-amino-csoporttal, 1-4 szénatomos alkoxics csoporttal,

porttal vagy halogénatommal helyettesített 1-4 szénatomos acilcsoport, azzal a megjegyzéssel, hogy abban az esetben, ha X jelentése -NRR általános képletű csoport, a két R szubsztituens közvetlenül vagy oxigénatomon keresztül összekapcsolódhat és ilyen módon morfolinocsoportot, pirrolidinocsoportot vagy piperidinocsoportot képezhet;

- n jelentése 0 vagy 1; és
- Y^1 , valamint Y^2 jelentése - egymástól függetlenül - hidrogénatom, nitrocsoport, halogénatom, 1-14 szénatomos szénhidrogéncsoport - beleértve a halogénatommal, hidroxilcsoporttal, epoxicssoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal, 1-4 szénatomos alkil-tio-csoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénatomos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoporttal, a di(1-4 szénatomos alkil)-amino-csoport két alkilcsoportjának összekapcsolódásával létrejövő morfolino-, pirrolidino- vagy piperidinocsoporttal, 1-4 szénatomos acil-oxi-csoporttal, 1-4 szénatomos acil-amido-csoporttal és ezeknek a csoportoknak tioanalogonjaival, acetil-amino-(1-4 szénatomos alkil)-csoporttal, karboxilcsoporttal, 2-5 szénatomos alkoxi-karbonil-csoporttal, karbamoilcsoporttal, 2-5 szénatomos alkil-karbamoil-csoporttal, 1-4 szénatomos alkil-szulfonil-csoporttal és/vagy 1-4 szénatomos alkil-foszfonil-csoporttal adott esetben egyszeresen vagy kétszeresen helyettesített, adott esetben egyetlen oxigénatommal éterszerűen megszakított láncu ciklusos, aciklusos és telítetlen szénhidrogéncsoportokat is; illetve Y^1 és Y^2 jelentése

- egymástól függetlenül - morfolinocsoport, pirrolidinocsoport, piperidinocsoport, aminocsoport vagy olyan csoport, amelynek $-NHR'$, $-NR'R'$, $O(CO)R'$, $-NH(CO)R'$, $-O(SO)R'$ vagy $O(POR')R'$ általános képletében R' jelentése olyan 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport, amely helyettesítve lehet hidroxilcsoporttal, aminocsoporttal, 1-4 szénatomos alkil-amino-csoporttal, di(1-4 szénatomos alkil)-aminocsoporttal, morfolinocsoporttal, pirrolidinocsoporttal, piperidinocsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal és/vagy halogénatommal.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal j e l l e m e z - v e , hogy a citotoxicitás növelésére olyan vegyületet alkalmazunk, amelynek (I) általános képletében

- X jelentése hidrogénatom, aminocsoport vagy - adott esetben helyettesített - egyenes vagy elágazó szénláncu, 1-4 szénatomos szénhidrogéncsoport;
- n jelentése 1; és
- Y^1 , valamint Y^2 jelentése - egymástól függetlenül - hidrogénatom, nitrocsoport, karboxilcsoport, alkoxicssoport, karbonilcsoport vagy alkil-szulfonil-csoport.

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, azzal j e l l e m e z - v e , hogy a citotoxicitás növelésére

- 1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot;
- 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot;
- 3-etil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot;
- 3-propil-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot; vagy
- 3-(hidroxil-etil)-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot

alkalmazunk.

4. A 3. igénypont szerinti eljárás, azzal j e l l e m e z - v e , hogy a citotoxicitás növelésére 3-amino-1,2,4-benzotriazin-1,4-dioxidot alkalmazunk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal j e l l e m e z - v e , hogy kemoterápiás anyagként valamilyen DNS-alkilező kemoterápiás hatóanyagot alkalmazunk.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, azzal j e l l e m e z - v e , hogy DNS-alkilező kemoterápiás hatóanyagként ciszplatint alkalmazunk.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal j e l l e m e z - v e , hogy a citotoxicitást növelő hatóanyagot az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása előtt mintegy 1-18 órával juttatjuk be emlősök szervezetébe.

8. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal j e l l e m e z - v e , hogy a citotoxicitást növelő hatóanyagot az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása előtt mintegy 2-3 órával juttatjuk be emlősök szervezetébe.

9. Gyógyszerkészlet emlősök daganatos betegségeinek kezelésére, azzal j e l l e m e z v e , hogy

- valamilyen kemoterápiás hatóanyagot; és

- a citotoxicitás növeléséhez elegendő mennyiségben az 1.-4. igénypontok bármelyike szerint definiált (I) általános képletű hatóanyagot tartalmaz.

10. Az 1.-4. igénypontok bármelyike által meghatározott, rákos daganatokra citotoxikus aktivitást növelő hatást gyakorolni képes (I) általános képletű vegyületek alkalmazása szabad formá-

ban vagy farmakológiai szempontból elfogadható sók alakjában, azzal j e l l e m e z v e , hogy a (I) általános képletű vegyületeket olyan gyógyszerkészítményekké dolgozzuk fel, amelyeket mintegy 0,5-24 órával azelőtt juttatunk gyógykezelés céljából rákos daganatos betegségben szenvedő emlősök szervezetébe, hogy a rákos daganat kezelésére valamilyen kemoterápiás hatóanyagot alkalmazunk.

11. A 10. igénypont szerinti alkalmazás, azzal j e l l e m e z v e , hogy kemoterápiás hatóanyagként az 5. vagy a 6. igénypont szerinti alkilezőszerek valamelyikét alkalmazzuk.

12. A 10. igénypont szerinti alkalmazás, azzal j e l l e m e z v e , hogy a citotoxicitásnövelő hatóanyagot mintegy 1-18 órával az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása előtt juttatjuk be beteg emlősök szervezetébe.

13. A 12. igénypont szerinti alkalmazás, azzal j e l l e m e z v e , hogy a citotoxicitásnövelő hatóanyagot mintegy 2-3 órával az adott kemoterápiás hatóanyag alkalmazása előtt juttat-

14. Gyógyszerkészítmények kemoterápiás hatóanyagok rákos daganatokra gyakorolt citotoxikus hatásának növelésére, azzal j e l l e m e z v e , hogy hatóanyagként az 1. igénypontban definiált (I) általános képletű 1,2,4-benzotriazin-származékok valamelyikét tartalmazzák szokásosan alkalmazott gyógyszeripari hordozóanyagok és adott esetben más segédanyagok mellett.

10 lines
211

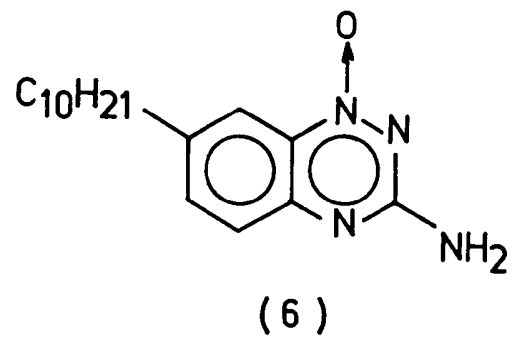
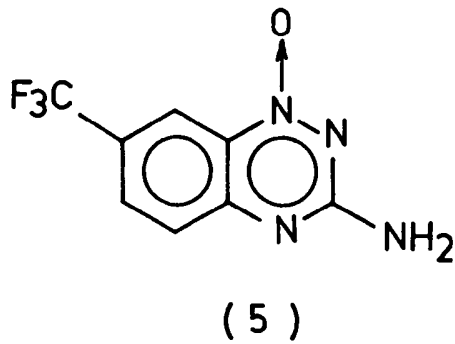
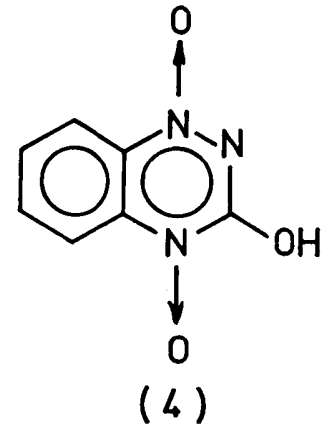
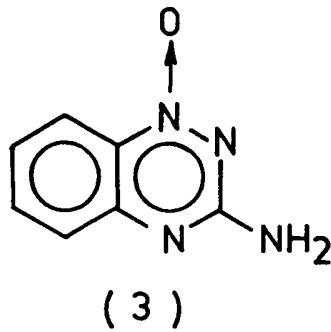
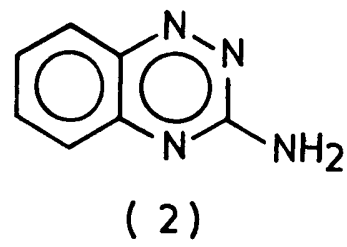
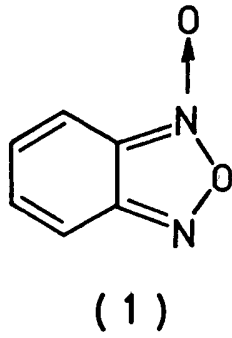
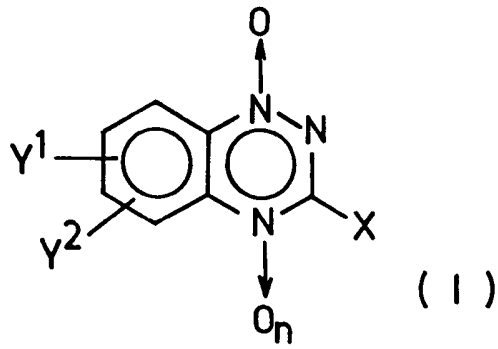
THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY helyett:

a meghatalmazott:

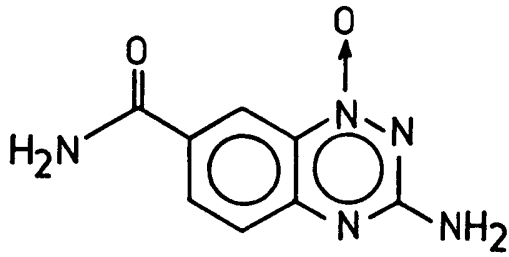
DANUBIA
Szabadalmi és Ipari Hivatal

16m

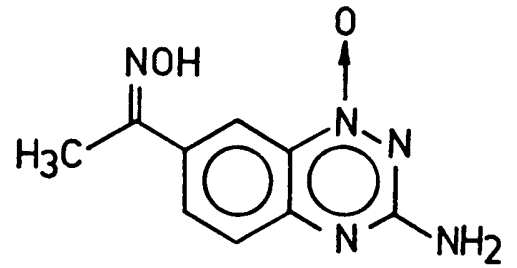
71119



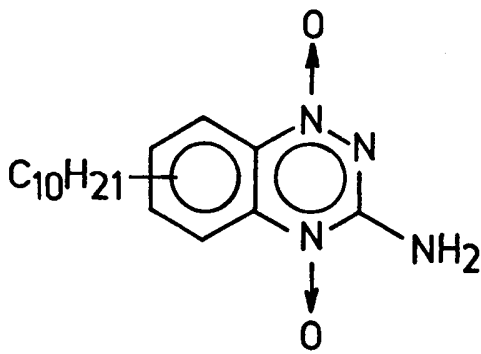
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



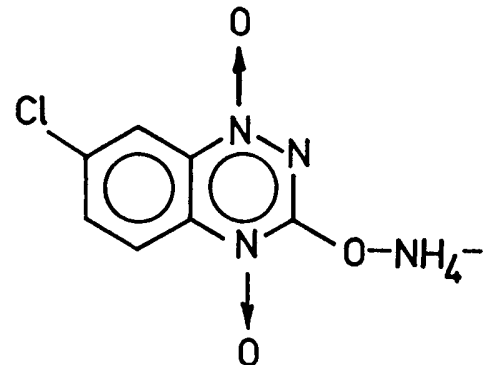
(7)



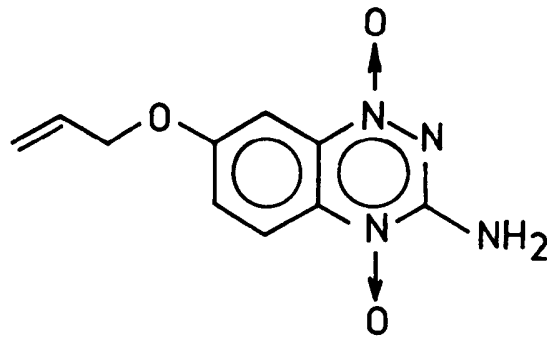
(8a)



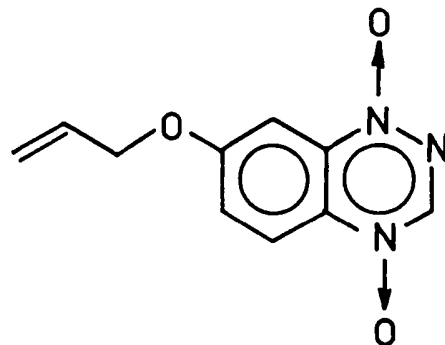
(9a)



(13)

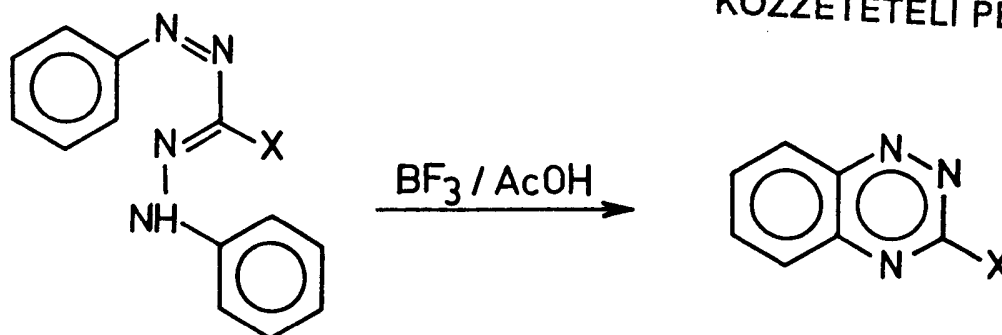


(23)



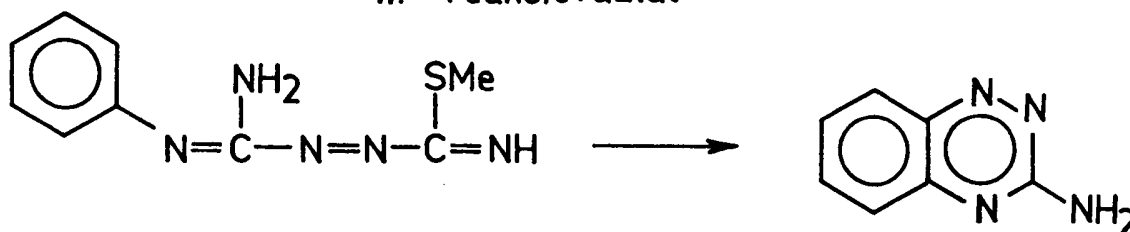
(24)

I. reakcióvázlat

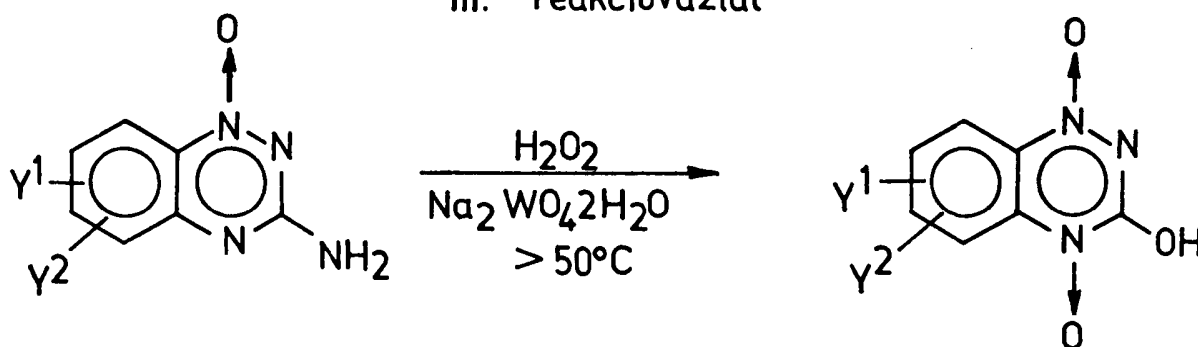


KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

II. reakcióvázlat

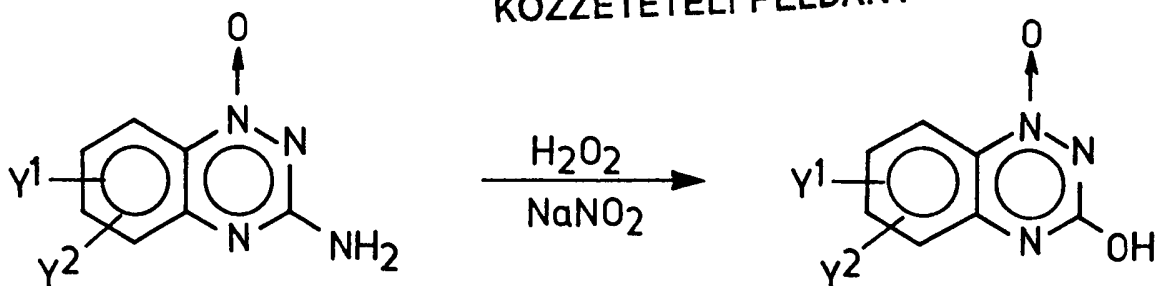


III. reakcióvázlat

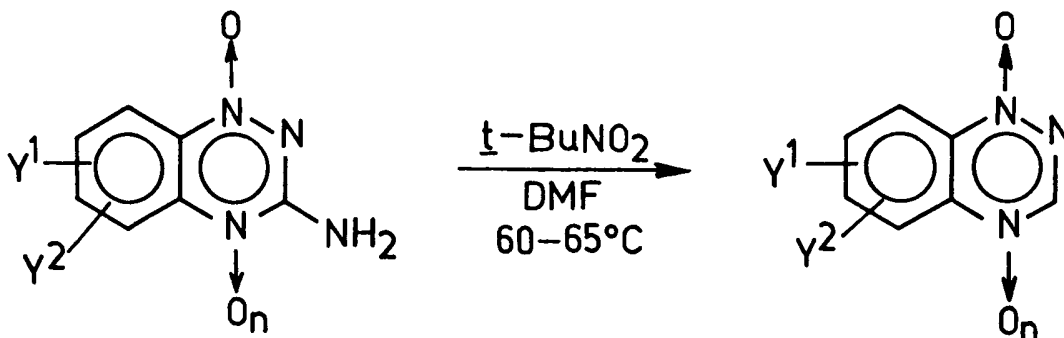


IV. reakcióvázlat

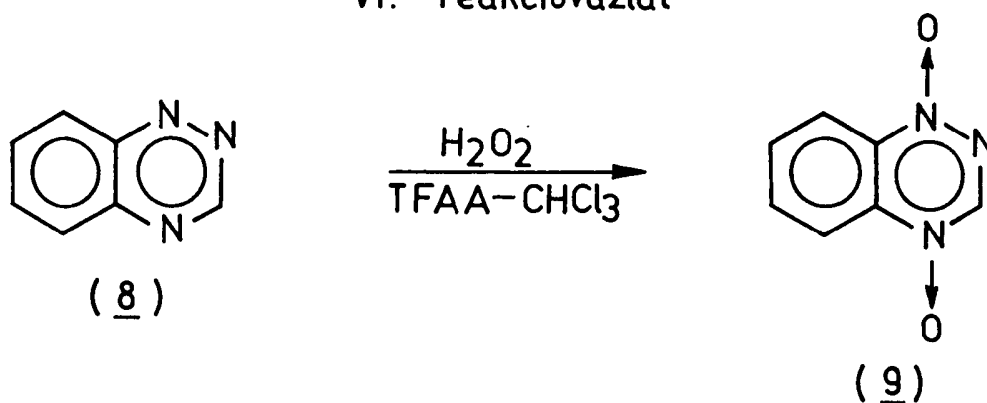
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



V. reakcióvázlat

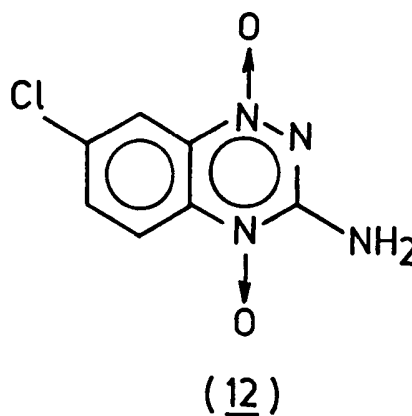
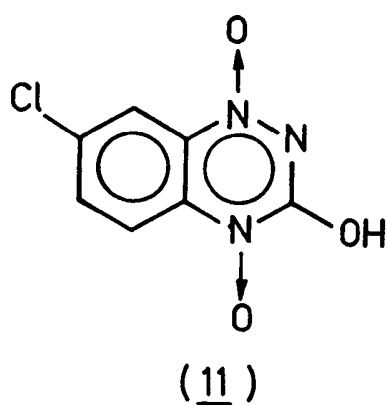
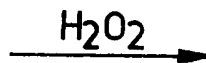
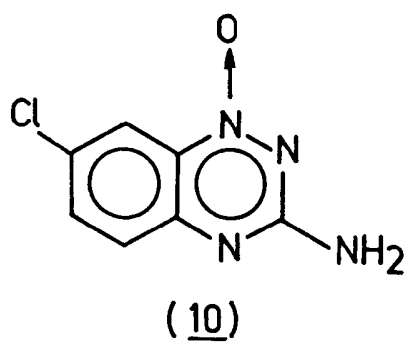


VI. reakcióvázlat

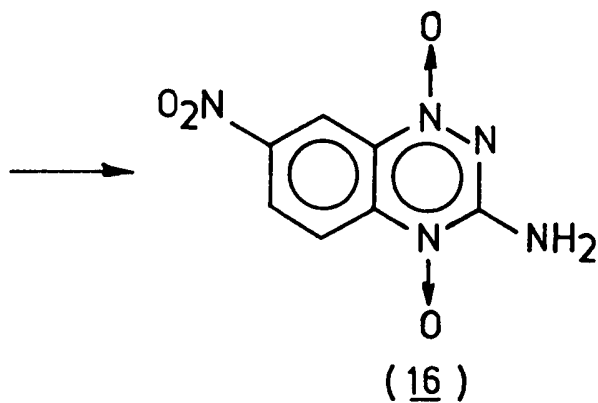
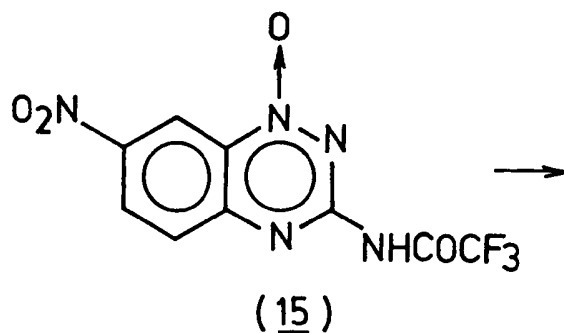
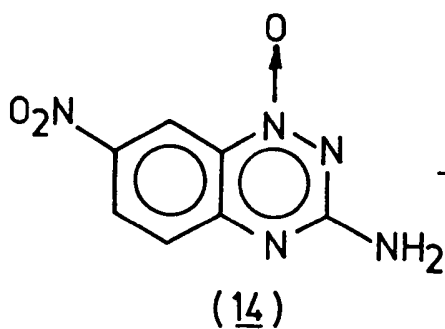


VII. reakcióvázlat

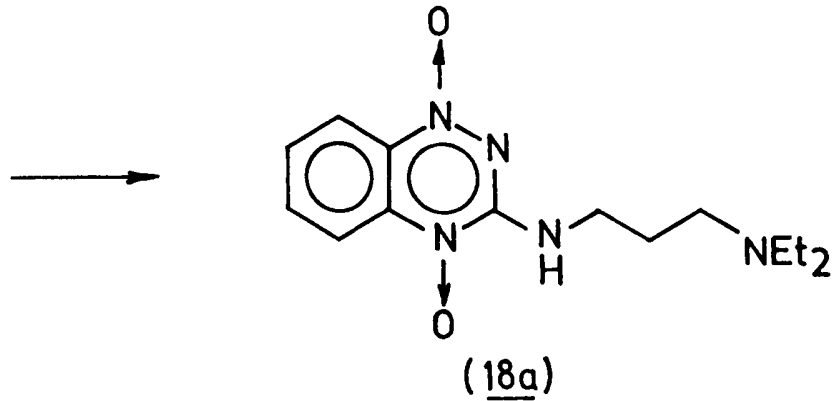
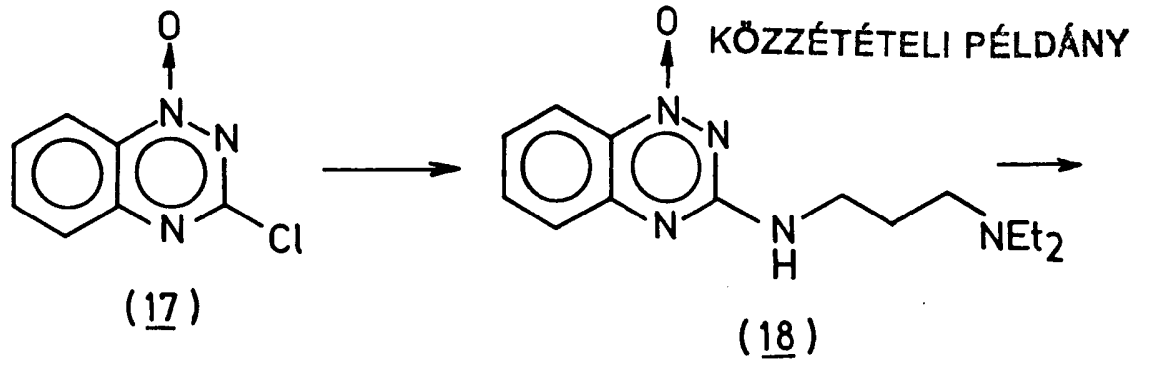
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



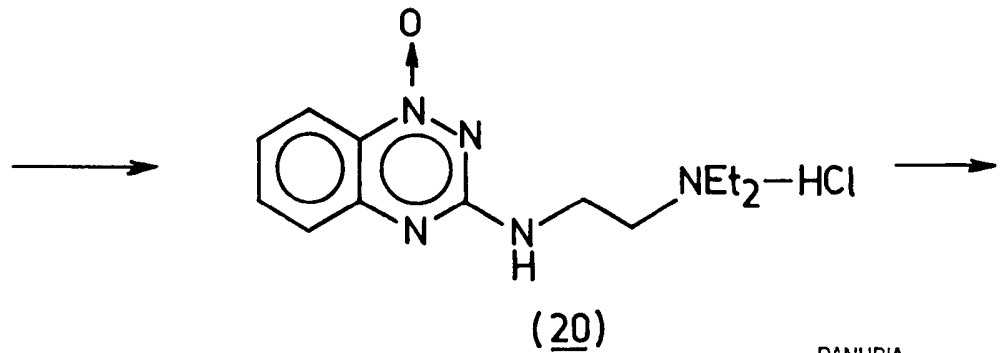
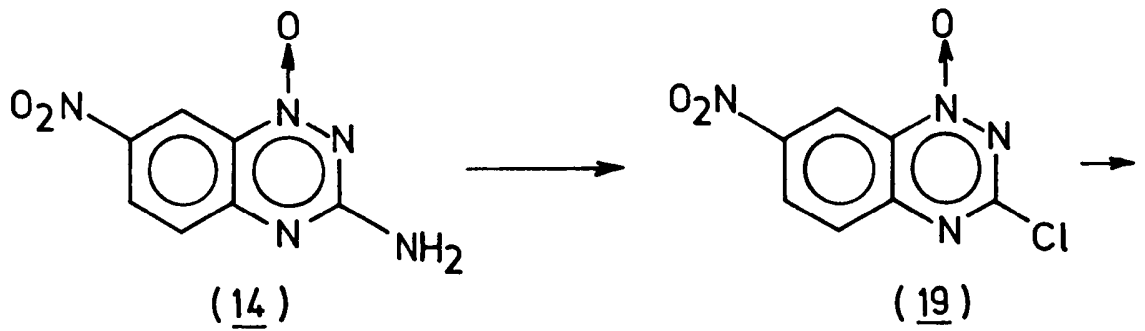
VIII. reakcióvázlat



IX. reakcióvázlat

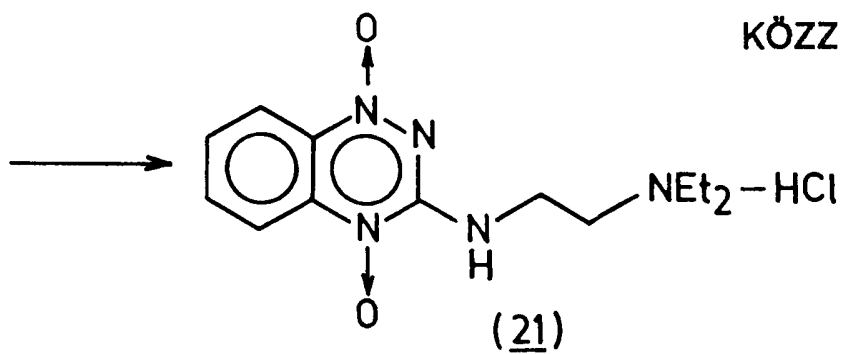


X. reakcióvázlat

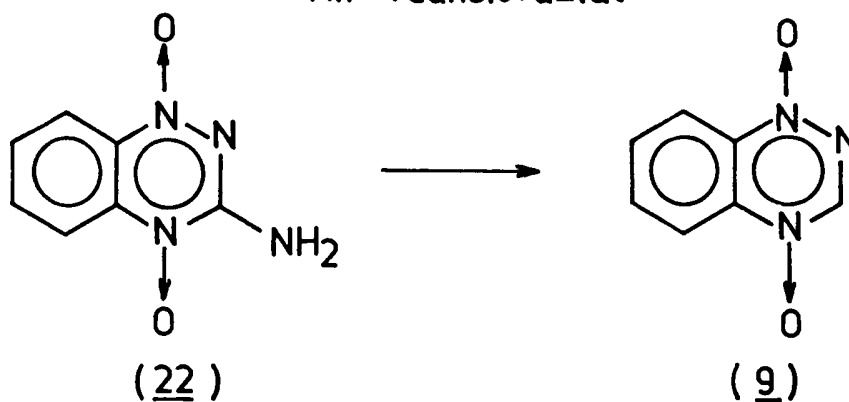


X. reakcióvázlat folytatása

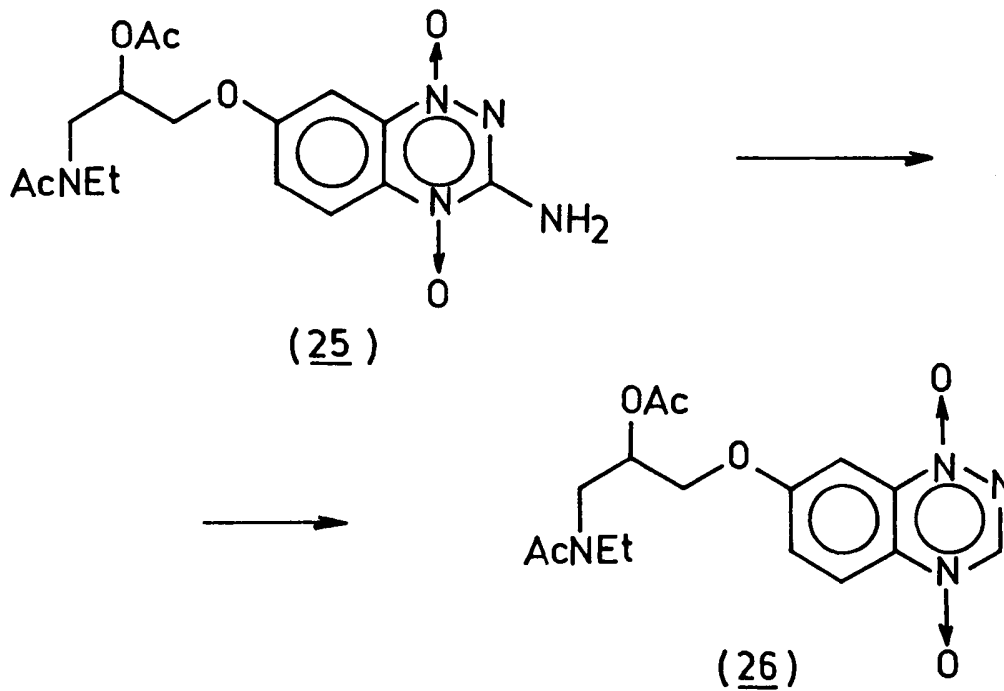
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



XI. reakcióvázlat

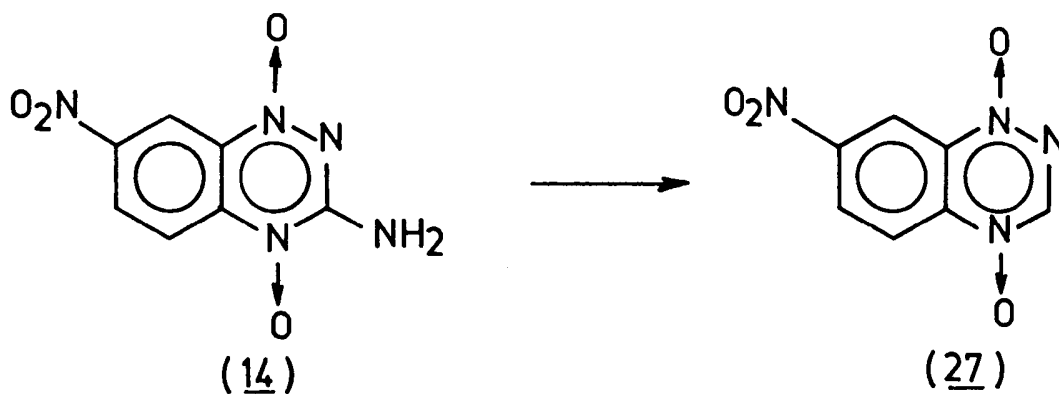


XII. reakcióvázlat

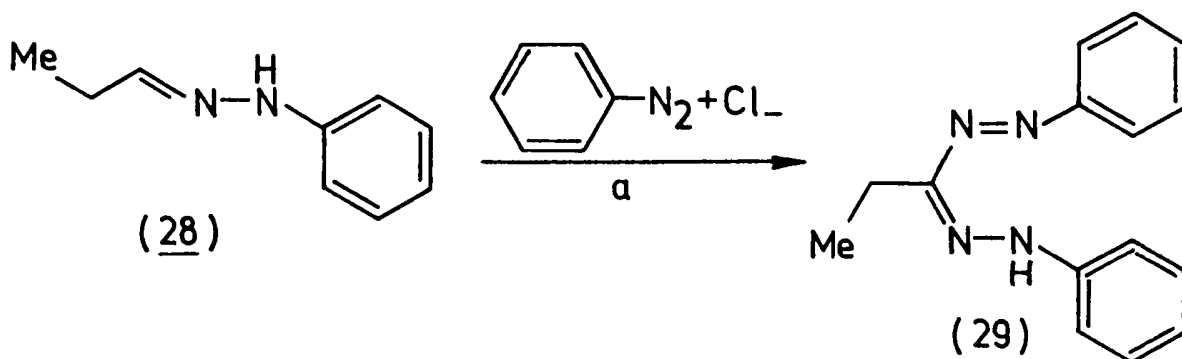


XIII. reakcióvázlat

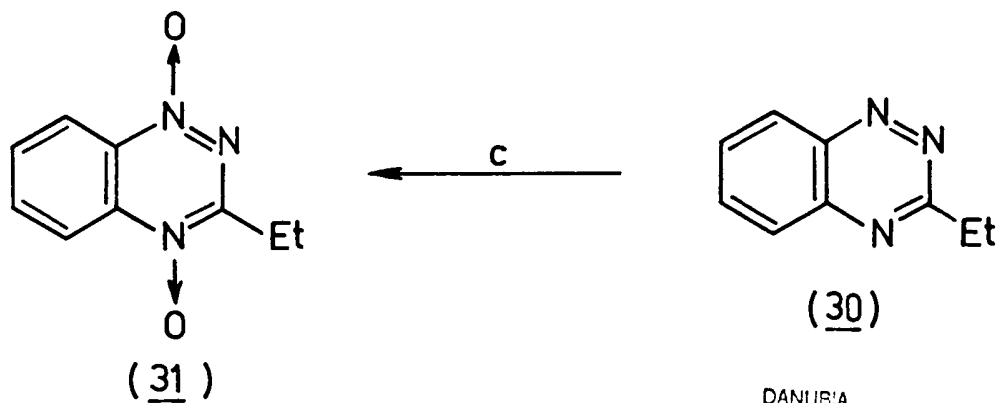
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



XIV. reakcióvázlat

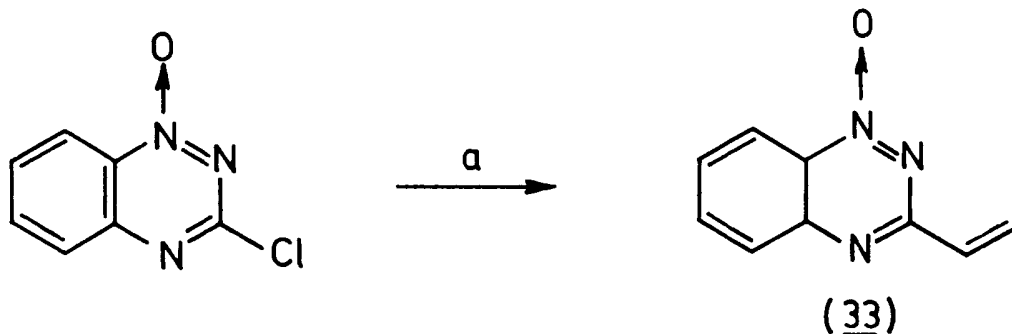
(a) $\text{NaNO}_2, \text{HCl}, \text{AcOH}$;(b) $\text{BF}_3\text{-AcOH}, 90\text{-}95^\circ\text{C}$;(c) $70\% \text{H}_2\text{O}_2, \text{TFAA}, \text{NaOAc}, \text{CH}_2\text{Cl}_2$

b



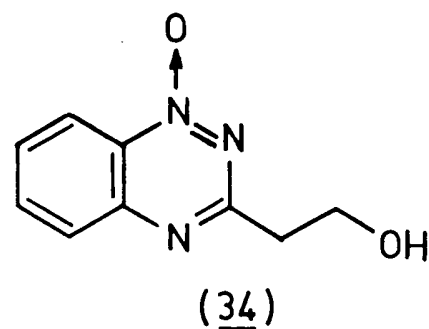
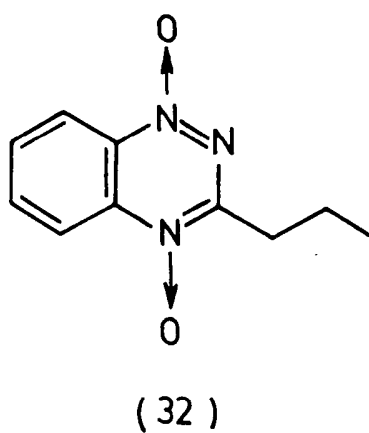
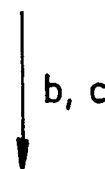
2726/94

2726

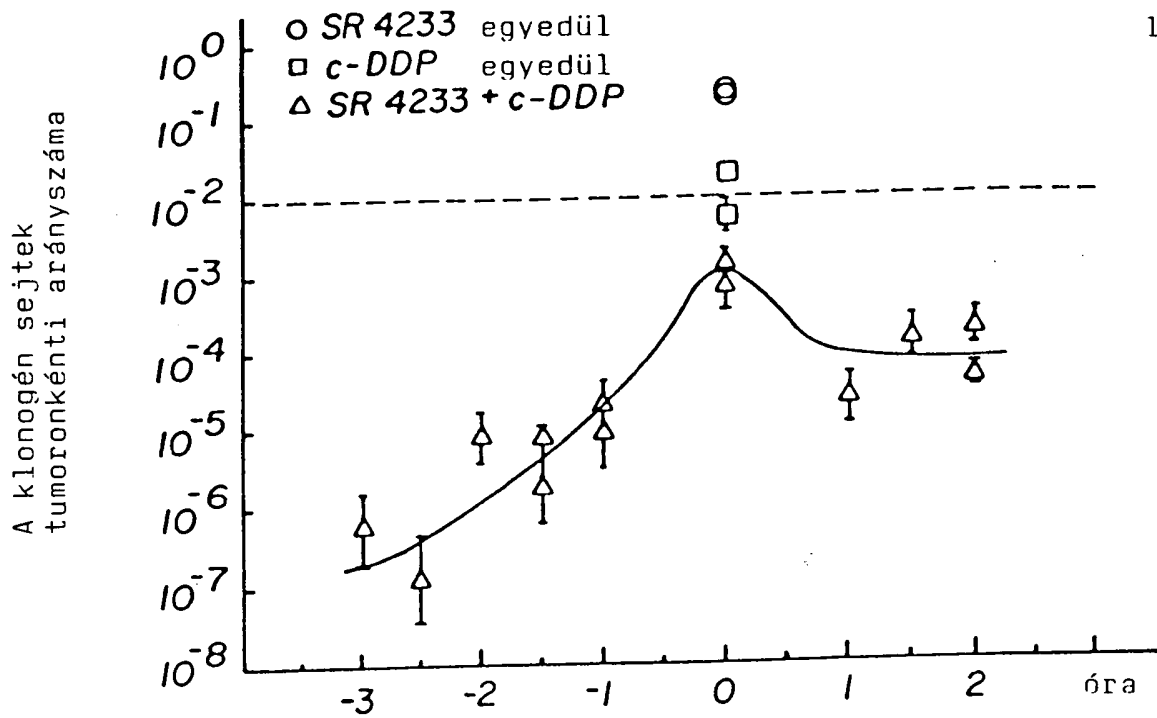
XV. reakcióvázlat **KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY**_{10/9}

(a) Tri-*n*-butil-vinil-ón; Pd(OAc)₂,
(Tol)₃P, Et₃N, CH₃CN, 100°C

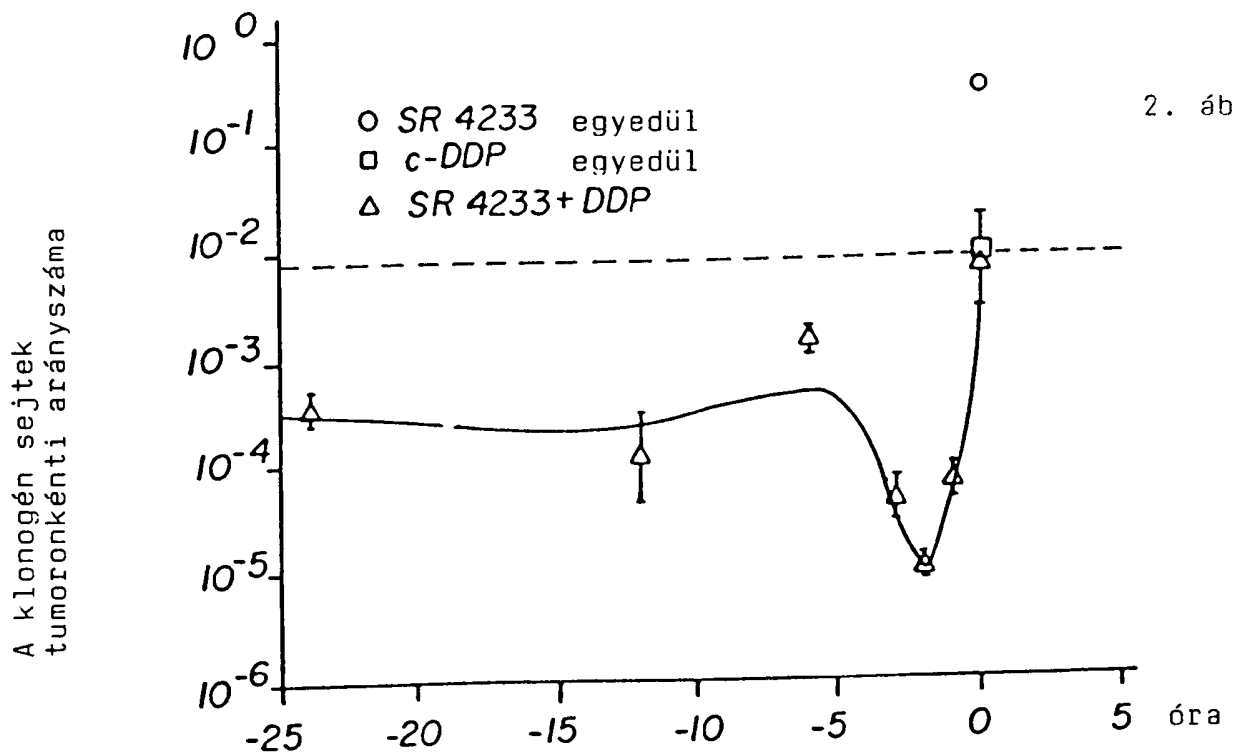
(b) 9-BBN; (c) NaOH, H₂O₂



KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



Az SR 4233 alkalmazásának időpontja
a c-DDP alkalmazásának időpontjához képest



Az SR 4233 alkalmazásának időpontja
a c-DDP alkalmazásának időpontjához képest