

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT



(11) 157676 B

(21) Patentansøgning nr.: 0488/81

(51) Int.Cl.⁵ C 07 C 217/24

(22) Indleveringsdag: 04 feb 1981

(41) Alm. tilgængelig: 05 aug 1981

(44) Fremlagt: 05 feb 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 04 feb 1980 CS 753/80

(71) Ansøger: *SPOFA SPOJENE PODNIKY PRO ZDRAVOTNICKOU VYROBU; Husinecká Ila; Praha, CS

(72) Opfinder: Jiri *Krepelka; CS, Iva *Vancurova; CS, Karel *Rezabek; CS, Milan *Melka; CS, Vojtech *Pujman; CS, Stanislava

*Pokorna; CS, Ruzena *Reichlova; CS, Slavjanka *Cernochova; CS

(74) Fuldmægtig: Firmaet Chas. Hude

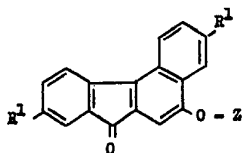
(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af basiske ethere af 7-oxo-7H-benzo(c) fluoren

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

488-81

Opfindelsen angår basiske ethere af 7-oxo-7H-benzo[c]fluoren med den almene formel I



(I)

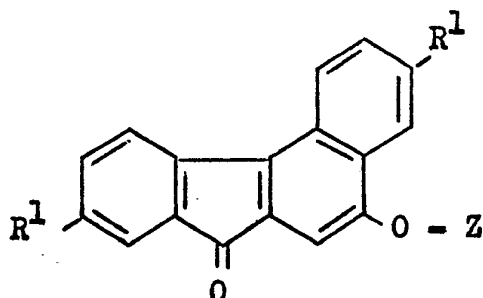
hvor R¹ er et hydrogenatom eller en methyl- eller ethylgruppe, og Z er en omega-(N,N-dialkylamino)alkylgruppe og deres syreadditionssalte med farmaceutisk anvendelige uorganiske og organiske syrer. Opfindelsen angår også en fremgangsmåde til fremstilling af de ovennævnte forbindelser med den almene formel I ved aminoalkylering af 5-hydroxy-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren og dens tilsvarende kernesubstituerede derivater på det hydroxyliske oxygenatom i stilling 5. Forbindelserne af den almene formel I udviser udtalt anti-neoplastisk virkning i dyr med faste og ascitiske transplanterbare tumorer og to slags leukæmi. For en af forbindelserne er der også påvist immunundertrykkende virkning på antistofdannelsen.

DK 157676 B

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af basiske ehtere af 7-oxo-7H-benzo[c]fluoren med den almene formel:

5

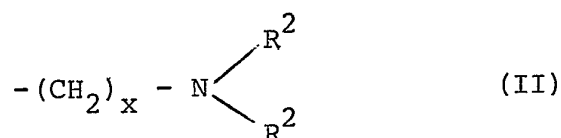
10



(I)

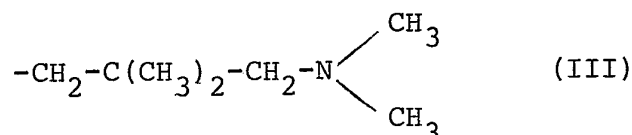
hvor R¹ er et hydrogenatom eller en methyl- eller ethylgruppe, og Z er en gruppe med den almene formel II

15



20 hvor R² er en methyl- eller ethylgruppe, og x er et helt tal på 2 eller 3, eller en gruppe af formlen III

25



eller deres syreadditionssalte med farmaceutisk anvendelige uorganiske eller organiske syrer.

30 Farmakologiske resultater.

Stofferne med den almene formel I, hvor R¹ og Z har den førnævnte betydning, udviste ved biologiske prøver virkninger, der hæmmede væksten af transplanterede tumorer i laboratoriedyr og virkninger, der forlængede overlevelsestiden for dyr, der bærer sådanne tumorer. Eksempler på sådanne virkninger er vist i tabel 1-3.

35

Stoffet 13468 hæmmede endvidere i forsøg in vitro udtalt inkorporeringen af radioaktivitet af ^{14}C -adenin og ^{14}C -valin i den cellefraktion, der er uopløselig i trichloreddikesyre af Ehrlich ascites tumorer (dvs. overvejende proteiner). I denne henseende var det mere end 10 gange så effektivt som Tiloron (NSC 143969, 2,7-bis-[2-(diethylamino)ethoxy]fluoren-9-on). Eksempler på resultater af sådanne undersøgelser er vist i tabel 4. Hæmningen af inkorporering af adenin og valin i det anvendte system af tumorceller anses for en indikation af hæmningen af en antitumorøs, cytostatisk virkning. Denne biologiske virkning af forbindelsen 13468 er meget større end virkningen af det ligeartede Tiloron.

Endvidere udviste stoffet 13468 i mus immunundertrykkende virkninger på antistofdannelsen. Et eksempel på sådanne virkninger er vist i tabel 5. (Samme metode som i meddelelsen fra M. Svorcová, K. Rezábek og M. Semonský i *Arzneimittelforschung* 30 (I), 6, 978-980, (1980)).

En hæmning af dannelsen af immunologiske serumantistoffer med forbindelsen 13468 fremgår af tabellen.

På basis af de viste resultater kan der også forventes anti-tumor og immunundertrykkende virkninger af de førnævnte stoffer hos mennesket.

Forklaringer til tabel 1-3.

$\overset{\circ}{\Delta}$ = statistisk signifikant forskel fra kontrol ved $P = 0,05$.
K = kontrol

La: La leukæmi hos mus C57Bl

La 1210: Leukæmi, der vokser i form af ascites tumorer i hybrid DBA/H-mus

Sa 37: Ascites tumorer i H-mus

Kr 2: Faste tumorer, oprindeligt spontane brystkirteladenocarcinomer i H-mus

EST: Ehrlich's fast tumorer i H-mus

Y: Yoshida's ascites tumor i Wistar-rotter

13466: 5-(3-dimethylamino-propoxy)-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren
hydrochlorid

5 13467: 5-(3-dimethylamino-2,2-dimethylpropoxy)benzo[c]fluoren
hydrochlorid

13468: 5-(2-dimethylaminoethoxy)-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren
hydrochlorid.

Tabel 1. Virkning af stoffet 13466 på forløbet af transplanterede tumorer i forsøgsdyr.

Art	Tumor	Admini- strations- vej	Antal deldoser	Delvis total dosis i mg/kg	Injektionsdage (efter trans- plantation)	Dag for be- dømmelse af tumorstør- relse	Relativ tumorstør- relse (% af kontrol vær- di)	Overlevelses-tid af dyr i forhold til geom.middel middel
Mus	LA	s.c.	1x	200	3	-	-	113 %
	HK	s.c.	8x	400	5-10,12,13	14	66%	121% δ
		o.	8x	400	5-10,12,13	14	82%	131% δ
		o.	8x	800	5-10,12,13	14	76%	112% δ
Rotte	Y	s.c.	5x	250	1-5	-	-	177% δ
		o.	5x	500	1-5	-	-	135% δ

DK 157676B

Tabel 2. Virkning af stoffet 13467 på forløbet af transplanterede tumorer i forsøgsdyr.

Art	Tumor	Admini- strations- vej	Antal del-doser	Delvis total dosis i mg/kg	Injektionsdage (efter trans- plantation)	Dag for be- dømmelse af tumorstørrel- se	Relativ tu- morstørrelse (% af kontrol værdi)	Overlevelsestid af dyr i forhold til geom. middel middel
Mus	LA	s.c.	1x	300	3	-	-	186% _δ
	L 1210	s.c.	1x	250	1	-	-	136% _δ
	HK	s.c.	8x	25	5-10,12,13	14	45% _δ	89%
Rotte	Y	s.c.	5x	50	1-5	-	-	232% _δ
		o.	5x	100	1-5	-	-	256% _δ

Tabel 3. Virkning af stoffet 13468 på forløbet af transplanterede tumorer i forsøgsdyr.

Art	Tumor	Admini- strations- vej	Antal doser	Delvis total dosis i mg/kg	Injektionsdage (efter trans- plantation)	Dag for bet- dømmelse af tumor- størrelse	Relativ tumorstør- relse (% af kon- trol værdi)	Overlevelsestid af dyr i forhold til geom.middel	% dyr der over- lever 35 dage efter trans- plantation
Mus	La	s.c.	1x	250	3	-	-	500% δ	
	L 1210	s.c.	6x	50	1;5;8;12;15; 19;	-	-	117% δ	
		s.c.	6x	75	1;5;8;12;15; 19;	-	-	142% δ	
		s.c.	6x	100	1;5;8;12;15; 19;	-	-	142% δ	
		s.c.	6x	125	1;5;8;12;15; 19;	-	-	168%	
	Sa 37	p.o.	3x	75	1,4,7,	10	92%	123% δ	
	Kr 2	p.o.	2x	150	1,8	10	62% δ	128% δ	
	HK	s.c.	8x	50	5-10,12,13	14	58% δ	107%	
		p.o.	8x	50	5-10,12,13	14	73% δ	102%	
		p.o.	4x	100	5,7,9,12	14	48% δ	125% δ	
		p.o.	2x	150	5,12	14	66% δ	123% δ	
	EST	p.o.	4x	50	5,7,9,12	14	77%	135% δ	
		p.o.	4x	100	5,7,9,12	14	70% δ	134% δ	

Fortsættes

DK 157676 B

Tabel 3 (fortsat). Virkning af stoffet 13468 på forløbet af transplanterede tumorer i forsøgsdyr.

Art	Tumor	Admini- strations- vej	Antal doser	Delvis total dosis i mg/kg	Injektionsdage (efter trans- plantation)	Dag for be- dømmelse af tumor- størrelse	Relativ tumorstør- relse (% af kon- trol værdi)	Overlevelsestid af dyr i forhold til geom.middel middel	% dyr der over- lever 35 dage efter trans- plantation
Rotte	Y	s.c.	5x	50	1-5	-	-	103 %	50% (K=0%)&
		o.	3x	50	1,4,8	-	-	152 %&	40% (K=0%)&
		o.	3x	75	1,4,8	-	-	140 %&	
		o.	5x	100	1-5	-	-	135 %&	

DK 157676 B

Tabel 4. Virkninger af Tiloron og stoffet 13468 på inkorporering af ¹⁴C-adenin og ¹⁴C-valin i cellefraktioner af Ehrlichs ascites carcinomer, uopløselig i trichloredidkysyre, in vitro. Inkorporering af radioaktivitet udtrykt i cpm. IC₅₀ = koncentration, der hæmmer inkorporeringen 50%.

Koncentration (µM)	0	18,75	37,5	75	150	300	600	IC ₅₀
Stof								
	Inkorporeret aminosyre							
Tiloron	Adenin 1060 (100%)	-	1160 (109%)	1252 (118%)	1096 (103%)	979 (92%)	563 (53%)	600 µM
	Valin 2455 (100%)	-	2395 (98%)	2374 (97%)	2247 (92%)	2443 (100%)	1944 (79%)	600 µM
13 468 HCl	Adenin 1060 (100%)	757 (71%)	714 (67%)	266 (25%)	59 (6%)	-	-	53 µM
	Valin 2455 (100%)	2394 (98%)	2253 (92%)	887 (36%)	349 (14%)	-	-	65 µM

DK 157676 B

Tabel 5. Hæmagglutinin og hæmolysintitære i museserum den 9. dag efter væddererythrocyt immunisering under virkning af stoffet 13468. Stoffet injiceres subkutan 1 gang daglig, enten i 5 dage (2 dage før, på selve dagen og 2 dage efter immunisering) eller i 11 dage (2 dage før, på selve dagen og 8 dage efter immunisering). Grupper på 12 dyr hver. Titeren udtrykt ved middelværdien af højeste svækkelse af serum, der udløser fuldstændig agglutinerings eller fuldstændig hæmolyse.

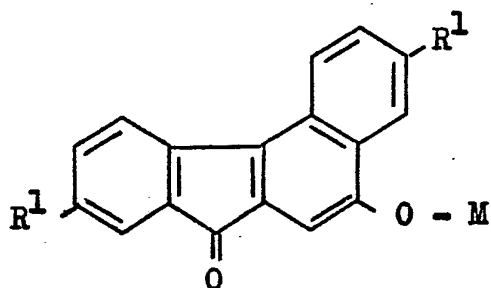
Antal doser	Deldosis (mg/kg)	Total dosis (mg/kg)	Hæmagglutinin Titer	Hæmagglutinin %	Hæmolysiner Titer	Hæmolysiner %
0	0	0	343	100%	37	100%
5x	8	40	243	71%	49	132%
5x	40	200	12	3,5%	Undertrykt (under 10)	(under 27%)
11x	8	88	243	71%	Undertrykt (under 10)	(under 27%)
11x	40	440	Undertrykt (under 10)	(under 2,9%)	Undertrykt (under 10)	(under 27%)

DK 157676 B

Forbindelserne af den almene formel I, hvor R^1 og Z har den ovennævnte betydning, fås ifølge opfindelsen ved reaktion af en forbindelse af den almene formel IV

5

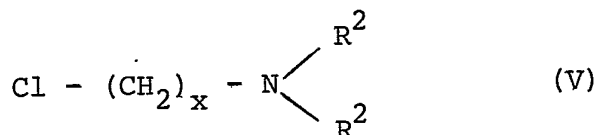
10



(IV)

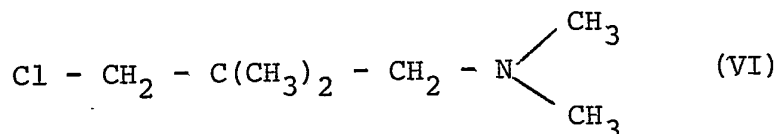
hvor R^1 har samme betydning som i formel I, og M er et natrium- eller kaliumatom, med en forbindelse af den almene formel V

15



20

hvor R^2 og x har samme betydning som i formel II, eller med en forbindelse af formlen VI



25

hvorefter det dannede produkt, isoleret i form af en base, neutraliseres med en farmaceutisk anvendelig uorganisk eller organisk syre til dannelse af det tilsvarende syreadditions-salt.

30

Disse forbindelser af den almene formel V eller af formlen VI anvendes i en mængde på 1 til 3 molær ækvivalenter, og reaktionen udføres enten i et vandfrit medium i et vandfrit indifferent opløsningsmiddel, fortrinsvis en chloreret, aromatisk hydrocarbon ved opløsningsmidlets kogetemperatur eller i et tofaset system bestående af et indifferent med

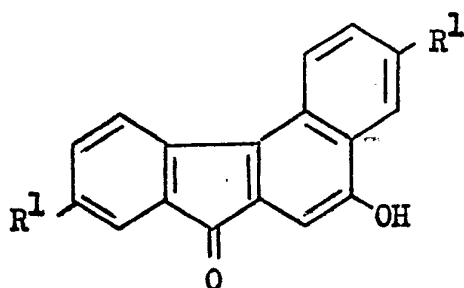
35

vand ublandbart organisk opløsningsmiddel, såsom en aromatisk hydrocarbon, fortrinsvis toluen, og en vandig natriumhydroxid eller kaliumhydroxidopløsning ved reaktionsblandingsens kogetemperatur.

5

Forbindelserne af den almene formel IV, hvor R^1 og M har den ovennævnte betydning, fås af forbindelserne af den almene formel VII

10



15

(VII)

hvor R^1 har samme betydning som ovenfor, ved substitution på det kernestillede hydroxyliske oxygenatom med et alkalimetalt ved hjælp af velkendte metoder, i et vandigt eller vandfrit reaktionsmedium.

20

Reaktionen af forbindelserne med den almene formel IV med forbindelserne af formlen V eller VI udføres også i et vandfrit indifferent opløsningsmiddel eller i et tofasesystem bestående af en vandig natriumhydroxid eller kaliumhydroxidopløsning og et indifferent med vand ublandbart organisk opløsningsmiddel.

25

Passende indifferente opløsningsmidler, der er egnede til udførelse af de to alternative fremgangsmåder, kan vælges blandt aromatiske hydrocarboner, f.eks. benzen, toluen og xylener eller chlorerede opløsningsmidler, som f.eks. dichlorethan og tetrachlorethan, men anvendelse af toluen eller chlorbenzen til det givne formål er bedst med hensyn til udbyttet af det ønskede produkt.

35

Reaktionen i det nævnte tofasede system kan også udføres ved anvendelse af faseoverføringskatalysatorer, men en sådan teknik giver ingen væsentlig fordel.

5 Reaktionsblandingerne efter reaktionen forarbejdes ved almindelige metoder, der er egnede til de pågældende alkyle-
ringsreaktionstyper, afhængende af den valgte fremgangsmåde. F.eks. er fremgangsmåden ifølge E.R. Andrews m.fl., J. Med.
Chem. 17, 882 (1974) bekvem. Det rå reaktionsprodukt renses
10 ved krystallisation af et egnet individuelt opløsningsmiddel eller opløsningsmiddelblanding og karakteriseres i form af en base eller alternativt behandles det med et ca. 10% over-
skud af en farmaceutisk anvendelig uorganisk eller organisk syre i et medium af lavere alkohol, fortrinsvis methanol
15 eller ethanol til dannelselse af det respektive additionssalt, som til sidst renses ved krystallisation af et passende opløsningsmiddel.

Egnede syrer til fremstilling af nævnte additionssalte er
20 nogle typiske uorganiske syrer, f.eks. saltsyre, svovlsyre eller phosphorsyre, og organiske syrer, f.eks. maleinsyre, vinsyre, methan- og ethansulfonsyre, napsylinsyre, fumarsyre og citronsyre.

25 Udgangsforbindelserne til de førnævnte reaktioner, dvs. forbindelserne af den almene formel VII, hvor R^1 har den ovennævnte betydning, er kendte stoffer, som er let tilgængelige, jf. C.F. Koelsch, J.Org.Chem. 26, 2590 (1961) og J. Krepelka m.fl. Czech.Pat. 200.094, 202.213 og 204.211.

30 En mere detaljeret beskrivelse af fremgangsmåden til fremstilling af forbindelserne af den almene formel I med den ovennævnte betydning af R^1 og Z og til fremstilling af deres additionssalte med uorganiske og organiske syrer, er vist i
35 de følgende eksempler på en fremgangsmåde, hvilke eksempler dog ikke er begrænsende i nogen henseende for opfindelsen. Smeltepunkterne i eksemplerne blev bestemt på Kofler apparat og er ukorrigerede. Temperaturen er udtrykt i $^{\circ}\text{C}$.

Eksempel 1.

5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren.

En natriummethylatopløsning, fremstillet ved at opløse
2,76 g (0,12 mol) natrium i 45 ml methanol, behandles med
5 150 ml chlorbenzen og 14,8 g (0,06 mol) 5-hydroxy-7-oxo-
7H-benzo[c]fluoren, og reaktionsblandingen opvarmes gradvis
til kogetemperaturen af chlorbenzen under samtidig afdestil-
lering af methanol. En opløsning af 13,0 g (0,12 mol) 2-
(dimethylamino)ethylchlorid i 30 ml chlorbenzen tilsættes
10 så, og reaktionsblandingen opvarmes under tilbagesvaling i
5 timer. Efter afkøling og dekomponering med vand fraskilles
det organiske lag, ekstraheres med 10% kaliumhydroxidopløs-
ning, tørres over vandfri natriumsulfat og inddampes til
tørhed. Den krystallinske remanens renses ved krystallisa-
15 tion af tetrachlormethan-hexan (1:1) til dannelse af 14,8 g
(78,3%) af titelproduktet, smeltepunkt 91-93°C.

Eksempel 2.

5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren
hydrogenmaleat.

20 En opløsning af 318 mg (1 mmol) 5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-
7-oxo-7H-benzo[c]fluoren, fremstillet ved fremgangsmåden i
eksempel 1, i 5 ml methanol behandles med 127 mg (1,1 mmol)
maleinsyre. Efter afkøling til -5°C isoleres det udfældede
faste stof ved sugning og krystalliseres af ethanol til dan-
25 nelse af titelproduktet, smeltepunkt 119-124°C.

På lignende måde fremstilles

5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren napsy-
lat, smeltepunkt 85-87°C (ethanol);

5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren hydro=

chlorid, smeltepunkt 268-269°C (ethanol).

Eksempel 3.

3,9-diethyl-5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]-fluoren hydrochlorid.

- 5 En natriummethylatopløsning, fremstillet ved at opløse
0,92 g (0,04 mol) natrium i 15 ml methanol, behandles med
50 ml chlorbenzen og 6,04 g (0,02 mol) 3,9-diethyl-5-hydroxy-
7-oxo-7H-benzo[c]fluoren, og reaktionen udføres på samme
måde som beskrevet i eksempel 1, med anvendelse af 4,3 g
10 2-(dimethylamino)ethylchlorid. Den fremkomne rå produktbase
(smeltepunkt 88-90°C) opløses i ethanol og syrnes med en
ethanolisk saltsyreopløsning. Efter afkøling udfældes et
krystallinsk fast stof, som fraskilles ved sugning og renses
ved krystallisation af ethanol til dannelsen af 6,2 g (76%)
15 af titelproduktet, smeltepunkt 241-243°C.

På lignende måde fremstilles

3,9-dimethyl-5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]-fluoren hydrochlorid, smeltepunkt 250-252°C (ethanol-hexan).

Eksempel 4.

- 20 5-[2-(diethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren hydrochlorid.

- En blanding af 320 ml toluen og 80 ml vand indeholdende
13,2 g (0,24 mol) kaliumhydroxid behandles med 9,84 g (0,04
mol) 5-hydroxy-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren og 14,9 g (0,088 mol)
25 2-(diethylamino)ethylchlorid hydrochlorid. Reaktionsblandingen
opvarmes under tilbagesvaling i 12 timer, og efter afkøling
skilles toluenlaget fra det vandige lag og oparbejdes på
samme måde som beskrevet i eksempel 1 og 3. Krystallisation
af det rå produkt af ethanol giver 13,6 g (89,5%) af

titelforbindelsen, som smelter ved 248-250°C.

Analogt fremstilles

3,9-dimethyl-5-[2-(diethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]-fluoren hydrochlorid, smeltepunkt 251-253°C (ethanol-hexan),

5 5-[3-(dimethylamino)propoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren hydrochlorid, smeltepunkt 242-244°C (ethanol-tetrachlormethan),

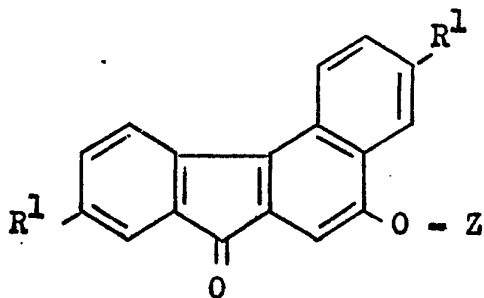
3,9-diethyl-5-[2-(diethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]-fluoren hydrochlorid, smeltepunkt 190-192°C (ethanol-hexan),

10 5-[3-(dimethylamino)-2,2-dimethylpropoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]-fluoren hydrochlorid, smeltepunkt 216-218°C (methanol-acetone),

5-[2-(dimethylamino)ethoxy]-7-oxo-7H-benzo[c]fluoren hydrochlorid, smeltepunkt 268-269°C (ethanol).

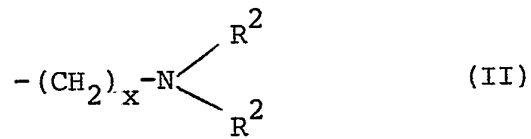
P a t e n t k r a v .

1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af basiske ethere af 7-oxo-7H-benzo[c]fluoren med den almene formel I

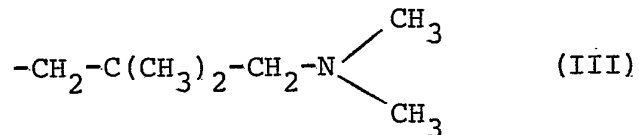


(I)

hvor R¹ er et hydrogenatom eller en methyl- eller ethylgruppe, og Z er en gruppe med den almene formel II



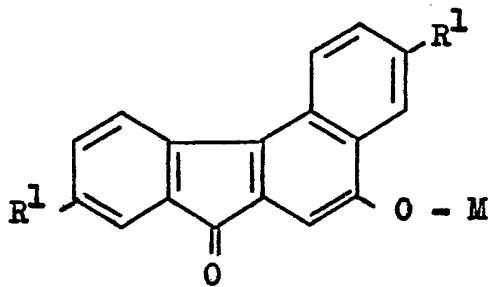
5 hvor R^2 er en methyl- eller ethylgruppe, og x er et helt tal på 2 eller 3, eller en gruppe af formlen III



10

eller deres syreadditionssalte med farmaceutisk anvendelige, uorganiske eller organiske syrer, k e n d e t e g n e t ved, at en forbindelse med den almene formel IV

15

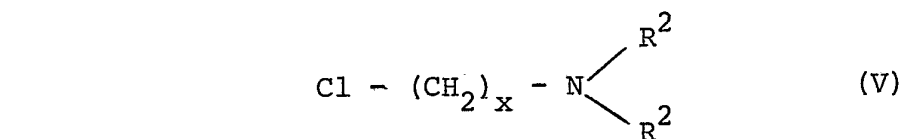


(IV)

20

hvor R^1 har samme betydning som i formel I, og M er et natrium- eller kaliumatom, bringes til at reagere med en

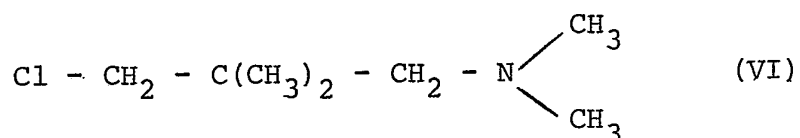
25



30

hvor R^2 og x har samme betydning som i formel II, eller med en forbindelse af formlen VI

35



hvorefter det dannede produkt, isoleret i form af en base, neutraliseres med en farmaceutisk anvendelig uorganisk eller organisk syre til dannelselse af det tilsvarende syreadditions-salt.

5

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at reaktionen af en forbindelse af den almene formel IV, hvor R^1 og M har den ovenfor anførte betydning, med en forbindelse af den almene formel V eller VI, anvendt i en mængde på 1 til 3 molære ækvivalenter, udføres i et tofaset system bestående af en vandig natriumhydroxid- eller kaliumhydroxidopløsning og et indifferert, med vand ublandbart organisk opløsningsmiddel, fortrinsvis toluen, ved reaktionsblandingsens kogetemperatur.

10
15

20

25

30

35