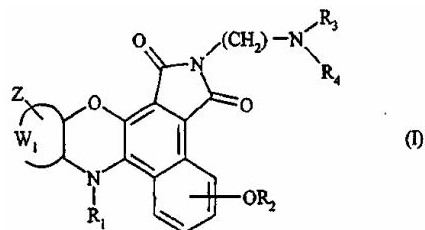


Даний винахід відноситься до нових сполук бензо[e][1,4]оксазино[3,2-g]ізоіндолу, до способу їх одержання і до фармацевтичних композицій, які їх містять. Сполуки за даним винаходом є корисними у терапевтичному застосуванні завдяки їх протипухлинній активності.

В літературі, [J. Pharm. Sciences, 1974, 63(8), стор.1314-1316] розкритий синтез сполук бензоксазинохіноліну, які володіють протипухлинними властивостями. Заявка на патент [EP 0841337] заявляє заміщені сполуки 7,12-діоксабензо[а]антрацену і розкриває їх протипухлинні властивості.

Новизна сполук за даним винаходом виявляється як в їх структурі, так і у їх застосуванні як протипухлинних агентів. Їх біодоступність також є дуже переважною у порівнянні зі сполуками попереднього рівня техніки.

Даний винахід відноситься більш конкретно до сполук формули (I):



де:

- $W_1$  являє собою, з атомами вуглецю, до яких він прикріплений, фенільну групу або піридилну групу,
- $Z$  являє собою групу, вибрану з водню, галогену, і груп лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкілу, арилу, арил-( $C_1-C_6$ )алкілу, в якому алкільна частина може бути лінійною або розгалуженою, арилокси, арил-( $C_1-C_6$ )алкокси, в якому алкокси частина може бути лінійною або розгалуженою, гідрокси і лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкокси,

- $R_1$  являє собою групу, вибрану з водню і груп лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкілу, арилу, арил-( $C_1-C_6$ )алкілу, в якому алкільна частина може бути лінійною або розгалуженою,  $-C(O)-R_5$  і лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкіленового ланцюга, які заміщені однією або більше однаковими або різними групами, вибраними з галогену і груп ціано,  $-OR_6$ ,  $-NR_6R_7$ ,  $-CO_2R_6$ ,  $-C(O)R_6$  і  $-C(O)-NHR_6$ , де:

$R_5$  являє собою групу, вибрану з водню і груп лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкілу, гідрокси, лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкокси, арилу, арил-( $C_1-C_6$ )алкілу, в якому алкільна частина може бути лінійною або розгалуженою і арилокси,

$R_6$  і  $R_7$ , які можуть бути однаковими або відрізнятись, кожний являє собою групу, вибрану з водню і груп лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкілу, арилу і арил-( $C_1-C_6$ )алкілу, в якому алкільна частина може бути лінійною або розгалуженою, або

$R_6+R_7$  разом утворюють з атомом азоту, який несе їх, моноциклічний гетероцикл, який має 5 або 6 кільцевих членів і необов'язково містить в кільцевій системі другий гетероатом, який вибирають з кисню і азоту,

- $R_2$  являє собою атом водню або групу формули  $-CH_2CH_2O-R_8$ , де:

$R_8$  являє собою групу, вибрану з водню і груп лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкілу, арилу, арил-( $C_1-C_6$ )алкілу, в якому алкільна частина може бути лінійною або розгалуженою,  $-S(O)_n-R_6$  (де  $R_6$  є таким же, як визначено вище і  $n$  являє собою ціле число від 0 до 2, включно) і  $T_1-R_9$  (де  $T_1$  являє собою лінійний або розгалужений ( $C_1-C_6$ )алкіленовий ланцюг і  $R_9$  являє собою групу, вибрану з галогену, ціано,  $-OR_6$ ,  $-NR_6R_7$ ,  $-C(O)H$ ,  $-C(O)OR_6$  і  $-C(O)NR_6R_7$ , де  $R_6$  і  $R_7$  є такими ж, як визначено вище),

- $R_3$  і  $R_4$ , які можуть бути однаковими або відрізнятись, кожний являє собою, незалежно від іншого, групу, вибрану з водню і груп лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкілу, арилу і арил-( $C_1-C_6$ )алкілу, в якому алкільна частина може бути лінійною або розгалуженою, або  $R_3$  і  $R_4$  разом утворюють з атомом азоту, який несе їх, моноциклічний гетероцикл, який має 5 або 6 кільцевих членів і необов'язково містить в кільцевій системі другий гетероатом, який вибирають з кисню і азоту,

- $n$  являє собою ціле число від 1 до 6 включно,

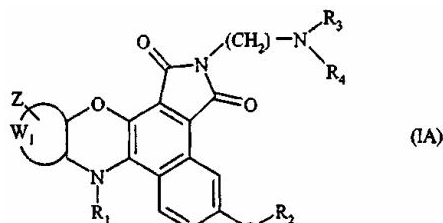
до їх енантіомерів, діастереоізомерів, N-оксиду і до адитивних солей з фармацевтично прийнятною кислотою або основою,

де "арил", як повинно бути зрозумілим, означає фенільну, нафтильну, дигідронафтильну, тетрагідронафтильну, інданільну або інданільну групу, кожна з яких необов'язково заміщена однією або більше однаковими або різними групами, вибраними з галогену, лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкілу, лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )тригалоалкілу, гідрокси, лінійного або розгалуженого ( $C_1-C_6$ )алкокси і аміно, необов'язково заміщеного однією або двома лінійними або розгалуженими ( $C_1-C_6$ )алкільними групами.

Серед фармацевтично прийнятних кислот можуть бути згадані, без будь-якого обмеження, хлористоводнева кислота, бромистоводнева кислота, сірчана кислота, фосфонова кислота, оцтова кислота, трифтороцтова кислота, молочна кислота, піровиноградна кислота, малінова кислота, янтарна кислота, глутарова кислота, фумарова кислота, винна кислота, малеїнова кислота, лимонна кислота, аскорбінова кислота, метансульфонова кислота, камфорна кислота і т.д.

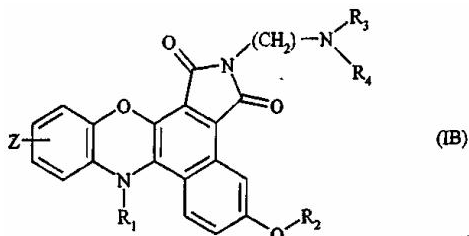
Серед фармацевтично прийнятних основ можуть бути згадані, без будь-якого обмеження, гідроксид натрію, гідроксид калію, триетиламін і т.д.

Переважні сполуки за даним винаходом являють собою сполуки формули (I), які відповідають більш конкретно формулі (IA):



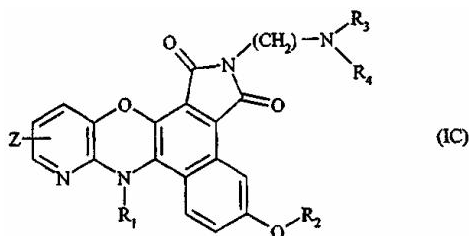
де  $R_1, R_2, R_3, R_4, W_1, Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено для формули (I).

Відповідно до другого переважного втілення, переважні сполуки за даним винаходом являють собою сполуки формули (I), які відповідають більш конкретно формулі (IB):



де  $R_1, R_2, R_3, R_4, Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище.

Відповідно до третього переважного втілення, переважні сполуки за даним винаходом являють собою сполуки формули (I), які відповідають більш конкретно формулі (IC):



де  $R_1, R_2, R_3, R_4, Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище.

В одному втіленні, яке представляє інтерес, група  $Z$ , якій віддають перевагу згідно з даним винаходом, являє собою атом водню.

В іншому втіленні, яке представляє інтерес, група  $R_1$ , якій віддають перевагу згідно з даним винаходом, являє собою атом водню і групу  $-C(O)-R_5$ , де  $R_5$  являє собою більш конкретно атом водню.

Переважно, група  $R_2$ , якій віддають перевагу згідно з даним винаходом, являє собою атом водню і групу  $-CH_2CH_2O-R_8$ , де  $R_8$  являє собою більш конкретно атом водню.

Особливо переважно, переважними сполуками за даним винаходом є ті, де  $n$  являє собою ціле число 2.

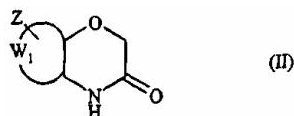
Особливо переважно, групи  $R_3$  і  $R_4$ , яким віддають перевагу згідно з даним винаходом, які можуть бути однаковими або відрізнятись, кожна являє собою незалежно від іншої лінійну або розгалужену ( $C_1-C_6$ ) алкільну групу.

Сполуки, яким віддають перевагу згідно з даним винаходом, являють собою:

- 2-[2-(диметиламіно)етил]-5-гідроксибензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон,
- 2-[2-(діетиламіно)етил]-5-гідроксибензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон,
- 2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)-2,3-дигідробензо[а]піроло-[3,4-с]-феноксазин-8-карбальдегід-1,3-діон,
- 2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)бензо[а]піроло[3,4-с]-феноксазин-1,3-діон,
- 2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетилметансульфонат)бензо[а]піроло-[3,4-с]феноксазин-1,3-діон,
- 2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)бензо[е]піридо[2',3':5,6][1,4]-оксазино[3,2-g]ізоіндол-1,3-діон.

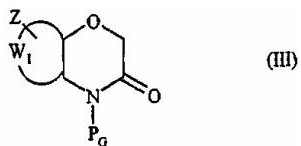
Енантіомери, діастереоізомери, N-оксиди, і адитивні солі з фармацевтично прийнятною кислотою або основою переважних сумішей утворюють невід'ємну частину винаходу.

Винахід відноситься також до способу одержання сполук формули (I), який відрізняється тим, що як вихідний матеріал використовують сполуку формули (II):



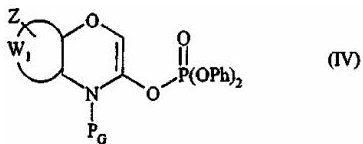
де  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено для формули (I),

аміно функцію сполуки формули (II) захищають захисною групою  $R_6$ , добре відомою кваліфікованому в даній галузі техніки фахівцю з тим, щоб одержати сполуку формули (III):



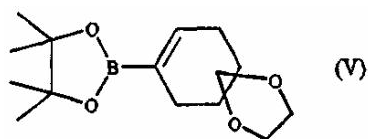
де  $P_G$  являє собою трет-бутоксикарбонільну або феноксикарбонільну групу і  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,

сполуку формули (III) обробляють літій діізопропіламідом, з наступним дифеніл хлорфосфатом з тим, щоб одержати сполуку формули (IV):

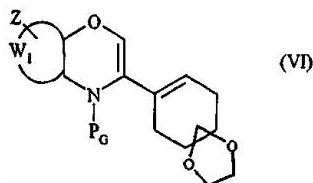


де  $P_G$ ,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,

сполуку формули (IV) обробляють у присутності біс(трифеніл-фосфін)паладій хлориду сполукою формули (V):



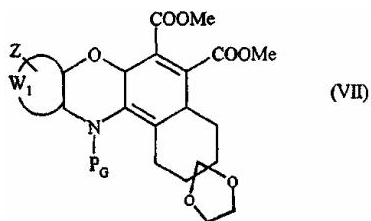
з тим, щоб одержати сполуку формули (VI):



де  $P_G$ ,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,

сполуку формули (VI):

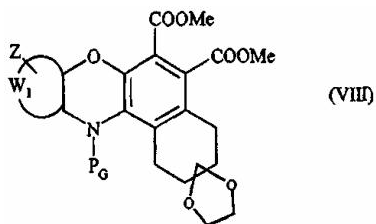
- або обробляють в інертній атмосфері диметил ацетилендикарбоксилатом з тим, щоб одержати сполуку формули (VII):



де  $P_G$ ,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,

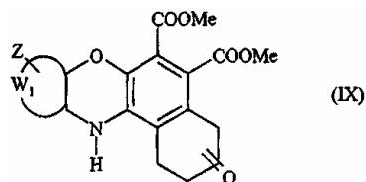
сполуку формули (VII):

- або обробляють N-бромсукцинімідом і бензоїл пероксидом з тим, щоб одержати сполуку формули (VIII):

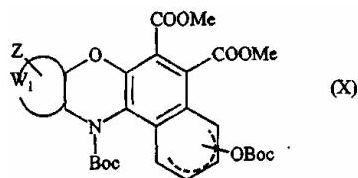


де  $P_G$ ,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,

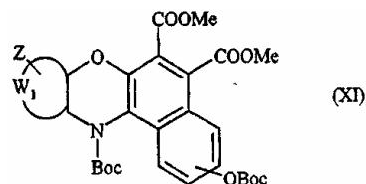
сполуку формули (VIII) піддають дії хлористоводневої кислоти з тим, щоб одержати сполуку формули (IX):



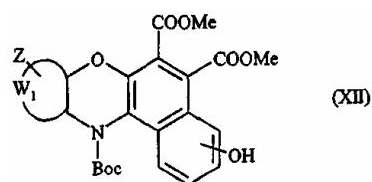
де  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,  
 сполуку формули (IX) піддають дії ди-трет-бутил дикарбонату у присутності 4-диметиламінопіридину з  
 тим, щоб одержати сполуку формули (X):



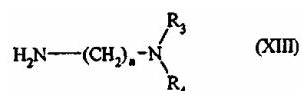
де ..... являє собою одинарний або подвійний зв'язок, Boc являє собою трет-бутоксикарбонільну  
 групу і  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,  
 сполуку формули (X) піддають дії 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінону з тим, щоб одержати сполуку  
 формули (XI):



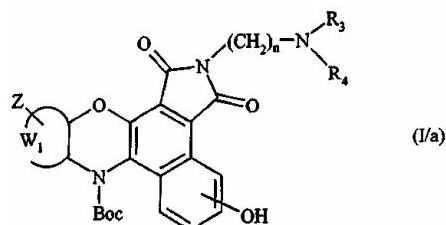
де Boc,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,  
 сполуку формули (XI) піддають дії натрій метанолату і потім гідролізують з тим, щоб одержати сполуку  
 формули (XII):



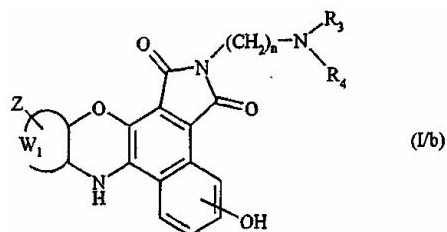
де Boc,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,  
 сполуку формули (XII) піддають дії сполуки формули (XIII):



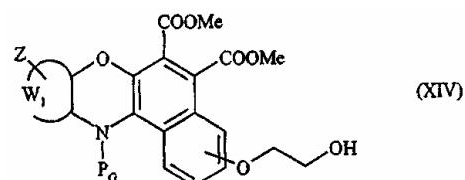
де  $R_3$ ,  $R_4$  і  $n$  є такими ж, як визначено для формули (I) з тим, щоб одержати сполуку формули (I/a),  
 конкретний випадок сполук формули (I):



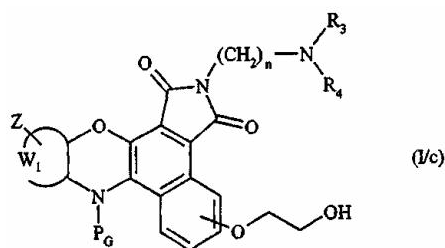
де Boc,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
 сполуку формули (I/a) необов'язково піддають тим же умовам реакції, що і сполуку формули (VII) з тим,  
 щоб одержати сполуку формули (I/b), конкретний випадок сполук формули (I):



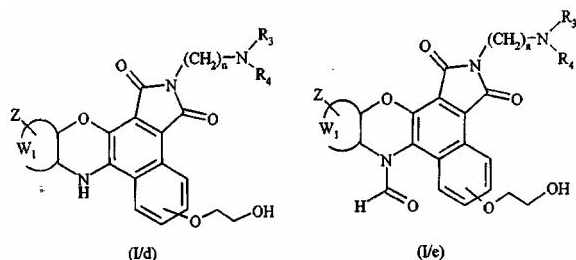
де  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
- або піддають тим же умовам реакції, що і сполуку формули (X) з тим, щоб одержати сполуку формули (XIV):



де  $P_G$ ,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,  
сполуку формули (XIV) піддають тим же умовам реакції, що і сполуку формули (XII) з тим, щоб одержати сполуку формули (I/c), конкретний випадок сполуки формули (I):



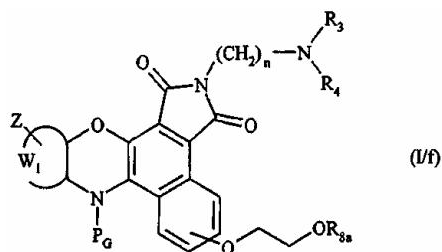
де  $P_G$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
сполуку формули (I/c):  
- або необов'язково піддають дії мурашиної кислоти з тим, щоб одержати сполуки формул (I/d) і (I/e), конкретні випадки сполук формули (I):



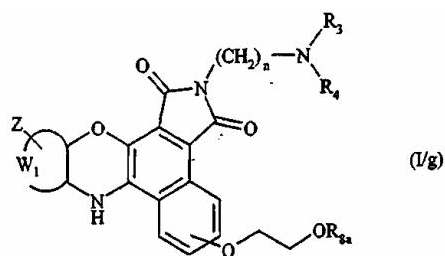
де  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
- або необов'язково піддають дії сполуки формули (XV):



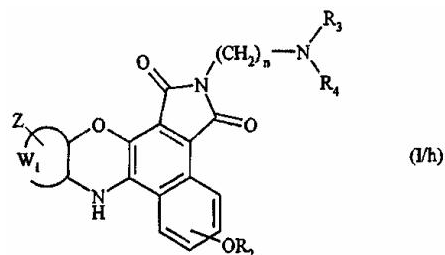
де  $G$  являє собою відхідну групу і  $R_{8a}$ , який відрізняється від атома водню, має те ж визначення, що і  $R_8$  у формулі (I) з тим, щоб одержати сполуку формули (I/f), конкретний випадок сполук формули (I):



де  $P_G$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_{8a}$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
для аміно функцій сполук формули (I/f) необов'язково знімають захист відповідно до звичайних методів органічного синтезу з тим, щоб одержати сполуку формули (I/g), конкретний випадок сполук формули (I):



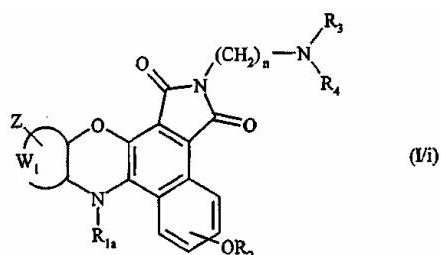
де  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_{8a}$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
сполуки формул (I/b), (I/d) і (I/g) складають сполуки формули (I/h):



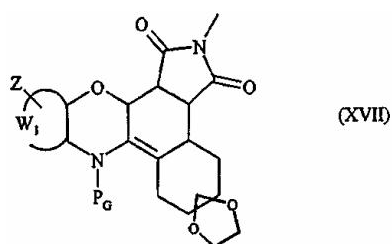
де  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
сполуки формули (I/h) необов'язково піддають дії сполуки формули (XVI):



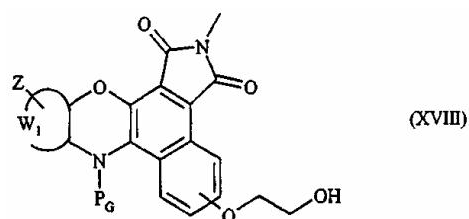
де  $R_{1a}$ , який відрізняється від атома водню, має те ж визначення, що і  $R_1$  у формулі (I), і  $G$  є таким же, як визначено вище з тим, щоб одержати сполуку формули (I/i), конкретний випадок сполук формули (I):



де  $R_{1a}$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $W_1$ ,  $Z$  і  $n$  є такими ж, як визначено вище,  
- обробляють N-метилмалеїмідом з тим, щоб одержати сполуку формули (XVII):



де  $P_G$ ,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,  
сполуку формули (XVII) піддають тим же умовам реакції, що і сполуку формули (VI) з тим, щоб одержати сполуку формули (XVIII):



де  $P_G$ ,  $W_1$  і  $Z$  є такими ж, як визначено вище,  
сполуку формули (XVIII) піддають тим же умовам реакції, що і сполуку формули (XII) з тим, щоб одержати сполуку формули (I/d), як описано вище,  
сполуки формул (I/a)-(I/i) складають сукупність сполук формули (I), сполуки якої необов'язково

очищують, відповідно до звичайної техніки очищення, можуть, якщо бажано, бути розділені на їх різні ізомери відповідно до звичайної техніки розділення і, якщо бажано, перетворені у їх N-оксиди і, необов'язково, в адитивні солі з фармацевтично прийнятною кислотою або основою.

Винахід відноситься також до сполук формули (X), (XI) і (XIV), які є проміжними сполуками синтезу для застосування при одержанні сполук формули (I).

Сполуки формул (II), (V), (XII), (XV) і (XVI) є або комерційно доступними сполуками, або сполуками, які одержують відповідно до звичайних способів органічного синтезу, добре відомими кваліфікованому в даній галузі фахівцю.

Сполуки формули (I) володіють цінними фармакологічними властивостями. Вони мають відмінну *in vitro* цитотоксичність не тільки на лініях лейкемії, але також на лініях солідних пухлин, і також мають дію на клітинний цикл і є активними *in vivo* на моделі лейкемії. Такі властивості дають їм можливість бути використаними терапевтично як протипухлинні агенти.

Серед типів раку, які піддаються лікуванню сполуками за даним винаходом, можуть бути згадані наступні, без будь-якого обмеження: аденокарциноми і карциноми, саркоми, гліоми і лейкемії.

Даний винахід відноситься також до фармацевтичних композицій, які включають продукти формули (I), їх енантіомери, діастереоізомери, N-оксиди або одну з фармацевтично прийнятних адитивних солей з основою або кислотою, самі або у поєднанні з одним або більше інертними, нетоксичними ексципієнтами або носіями.

Серед фармацевтичних композицій відповідно до даного винаходу можуть бути згадані більш конкретно ті, які придатні для орального, парентерального, назального, ректального, під'язикового, очного або респіраторного введення, і особливо таблетки або драже, під'язикові таблетки, саше, желатинові капсули, коржики, супозиторії, креми, мазі, шкірні гелі, ін'єктовані або придатні для пиття препарати, аерозолі, очні краплі або краплі для носа.

Беручи до уваги характеристику фармакологічних властивостей сполук формули (I), фармацевтичні композиції, які включають вказані сполуки формули (I) як активний інгредієнт, таким чином є особливо корисними у лікуванні різних типів раку.

Корисне дозування змінюється відповідно до віку і ваги пацієнта, шляху введення, природи терапевтичного показання і будь-якого пов'язаного лікування і варіює від 0,1 до 400мг на день за одне або більше введення.

Наступні Приклади ілюструють винахід, але не обмежують його жодним чином. Вихідні матеріали, які залучаються, являють собою відомі продукти або продукти, одержані відповідно до відомих методик.

Структури сполук, які описуються у Прикладах, були визначені відповідно до звичайної спектrophотометричної техніки (інфрачервоний, ядерний магнітний резонанс, мас-спектрометрія і т.д.).

Приготування А: трет-Бутил 3-[(дифеноксифосфорил)окси]-4Н-1,4-бензоксазин-4-карбоксилат

Стадія А: трет-Бутил 2,3-дигідро-4Н-1,4-бензоксазин-3-он-4-карбоксилат

В інертній атмосфері, 73ммол 2Н-1,4-бензоксазин-3-ону розчиняють у 100мл ацетонітрилу у присутності 3,65ммол 4-диметиламінопіридину і 80ммол ди-трет-бутил дикарбонату. Суміш перемішують протягом 4 годин. Після концентрування, залишок додають до етилацетату. Органічну фазу промивають насиченим розчином хлориду натрію, сушать над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують. Після випаровування розчинника і очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 8/2) виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 72°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}$  1713, 1779 $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}$  1148 $\text{cm}^{-1}$ .

Мас-спектр: m/z 250 (M+1).

Стадія В: трет-Бутил 3-[(дифеноксифосфорил)окси]-4Н-1,4-бензоксазин-4-карбоксилат

У безводній атмосфері, 12ммол TMEDA додають до розчину 10ммол продукту, одержаного на попередній Стадії А, у 50мл безводного ТГФ. Після охолодження розчину до -78°C, 12ммол 2М LDA (у розчині гептан/ТГФ) додають краплями. Після перемішування протягом 2 годин, 12ммол дифеніл хлорфосфату додають краплями до реакційної суміші, яка підтримується при -78°C протягом наступних 2 годин. Після повернення до температури навколишнього середовища, розчин гідролізують і потім екстрагують етилацетатом. Органічну фазу сушать над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують. Після очищення залишку хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 9/1), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 64°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}$  1732 $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu_{P=O}$  1313 $\text{cm}^{-1}$ .

Мас-спектр: m/z 482 (M+1).

Приготування В: Феніл 3-[(дифеноксифосфорил)окси]-2,3-дигідро-4Н-піrido-[3,2-b][1,4]оксазин-4-карбоксилат

Стадія А: Феніл 2,3-дигідро-4Н-піrido[3,2-b][1,4]оксазин-3-он-4-карбоксилат

У безводній атмосфері, розчин 10ммол 2Н-піrido[3,2-b][1,4]оксазин-3-ону в 50мл тетрагідрофурану охолоджують до -78°C. При цій температурі, 11ммол 1,6М розчину n-бутиллітію в гексані додають краплями. Після 30 хвилинного контакту при -78°C, 11ммол феніл хлорформіату додають краплями і перемішування підтримують протягом наступних 2 годин. Після повернення до температури навколишнього середовища, розчин гідролізують і потім екстрагують етилацетатом. Органічну фазу сушать над сульфатом магнію, фільтрують і випаровують. Після очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 8/2) виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 97°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}$  1717 $\text{cm}^{-1}$ ; 1803 $\text{cm}^{-1}$ .

Мас-спектр: m/z 271 (M+1).

Стадія В: Феніл 3-[(дифеноксифосфорил)окси]-4Н-піrido[3,2-b][1,4]оксазин-4-карбоксилат

Очікуваний продукт одержують згідно з методикою, описаною на Стадії В Приготування А, починаючи зі сполуки вищезазначеної Стадії.

Точка плавлення: 82°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1749\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{P=O}=1294\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  503 (M+1).

Приготування С: 8-(Пінаколбороніл)-1,4-діоксаспіро[4.5]дец-7-ен

Стадія А: 8-(Трифторметил)сульфоніокси-1,4-діоксастро[4.5]дец-7-ен

У безводній атмосфері, 2М розчин 6,4ммол LDA в суміші ТГФ/гептан розбавляють 8мл ТГФ. Температуру знижують до -78°C і потім повільно додають 6,4ммол 1,4-діоксаспіро[4.5]декан-8-ону, розчиненого у 8мл ТГФ. Реакційну суміш перемішують протягом 2 годин при вказаній температурі і додають 9,6ммол N-фенілтрифторметансульфоніміду, розчиненого у 8мл ТГФ. Після перемішування протягом 15 хвилин при -78°C і потім повернення до температури навколишнього середовища протягом ночі, суміш концентрують. Після очищення на нейтральному алюмогелі (нафтовий ефір/етилацетат: 95/5) виділяють очікуваний продукт.

ІЧ (плівка NaCl):  $\nu_{C=C}=1692\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{SO_2}=1418\text{см}^{-1}$ .

Стадія В: 8-(Пінаколбороніл)-1,4-діоксаспіро[4.5]дец-7-ен

В інертній атмосфері, 0,7ммол продукту, одержаного на попередній Стадії А, 1,05ммол пінаколборану, 0,028ммол біс(трифенілфосфін)паладій(II) хлориду, 0,084ммол трифенілларзину і 2,1ммол триетиламіну перемішують у 3мл толуолу і потім нагрівають при 80°C протягом 2 годин. Після охолодження, залишок додають до етилацетату і промивають насиченим розчином хлориду натрію. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують. Після очищення залишку хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 9/1), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 58°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=C}=1635\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}$  1115, 1143 $\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  267 (M+1).

Приклад 1: 8-(трет-Бутоксикарбоніл)-2-[2-(диметиламіно)етил]-5-гідрокси-2,3-дигідробензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон

Стадія А: трет-Бутил 3-(1,4-діоксаспіро[4.5]дец-7-ен-8-іл)-4Н-1,4-бензоксазин-4-карбоксилат

В інертній атмосфері, 1М розчин 1ммол продукту Приготування А і 5% біс(трифенілфосфін)паладій(II) хлориду в тетрагідрофурані перемішують протягом 10 хвилин при температурі навколишнього середовища. 1,5ммол продукту Приготування С, кілька крапель етанолу і 2ммол 2М водного розчину карбонату натрію додають до реакційної суміші, яку потім нагрівають зі зворотним холодильником протягом однієї години. Після охолодження і гідролізу, розчин екстрагують етилацетатом. Органічну фазу сушать над сульфатом магнію, який фільтрують і концентрують. Після очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 6/4), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 92-93°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1711\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}=1113, 1163\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  372 (M+1).

Стадія В: Диметил 12-(трет-бутоксикарбоніл)-3,3-(1,2-етилендіокси)-1,2,3,4,4а,6а-гексагідро-12Н-бензо[а]феноксазин-5,6-дикарбоксилат

У закритій системі 8ммол продукту, одержаного на попередній Стадії А, і 40ммол диметил ацетилендикарбоксилату перемішують при 80°C протягом 22 годин. Після очищення за допомогою хроматографії на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 7/3), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 234-235°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1728\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}=1152\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  514 (M+1).

Стадія С: Диметил 12-(трет-бутоксикарбоніл)-3,3-(1,2-етилендіокси)-1,2,3,4-тетрагідро-12Н-бензо[а]феноксазин-5,6-дикарбоксилат

В інертній атмосфері, 0,92ммол продукту, одержаного на попередній Стадії В, і 2,75ммол перекристалізованого N-бромсукциніміду нагрівають у 23мл дистильованого тетрахлориду вуглецю протягом 10 хвилин зі зворотним холодильником, використовуючи 60W лампу, у присутності каталітичної кількості бензоїл пероксиду. Після охолодження, розчин фільтрують і потім концентрують. Після очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 6/4), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: <50°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1701, 1717, 1733\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}=1152, 1195\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  512 (M+1).

Стадія D: Диметил 3-оксо-1,3,4,12-тетрагідро-2Н-бензо[а]феноксазин-5,6-дикарбоксилат

3мл 12М хлористоводневої кислоти додають краплями до 0,6ммол продукту, одержаного на попередній Стадії С, розчиненого у 3мл етанолу. Суміш перемішують протягом 1,5 години при температурі навколишнього середовища. Після нейтралізування насиченим розчином гідрокарбонату натрію і екстрагування етилацетатом, органічну фазу сушать над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують. Після очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 5/5 до 0/10), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 250-251°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1695, 1720\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{NH}=3430\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  366 (M+1).

Стадія Е: Диметил 12-(трет-бутоксикарбоніл)-3-[(трет-бутоксикарбоніл)-окси]-1,2-дигідро-12Н-бензо[а]феноксазин-5,6-дикарбоксилат

В інертній атмосфері, 0,69ммол сполуки, одержаної на попередній Стадії D, розчиняють в 10мл тетрагідрофурану, 1,73ммол 4-диметил-амінопіридину і 1,73ммол ди-трет-бутил дикарбонату, суміш перемішують протягом 12 годин. Після концентрування, залишок додають в етилацетат і промивають двічі розчином 1М хлористоводневої кислоти. Органічну фазу сушать над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують, дозволяючи одержати очікуваний продукт.

ІЧ (плівка NaCl):  $\nu_{C=O}=1728, 1756\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}=1139\text{см}^{-1}$ .



Мас-спектр:  $m/z$  568 ( $M+1$ ).

Стадія F: Диметил 12-(трет-бутоксикарбоніл)-3-[(трет-бутоксикарбоніл)-окси]-12Н-бензо[а]феноксазин-5,6-дикарбоксилат

В інертній атмосфері, 0,62ммол сполуки, одержаної на попередній Стадії E, розчиняють в 5мл толуолу у присутності 4,96ммол 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінону і суміш нагрівають при 90°C протягом 24 годин. Після охолодження і концентрування, реакційну суміш додають у дихлорметан і промивають 8% розчином гідроксиду натрію. Водну фазу екстрагують дихлорметаном і органічні фази об'єднують, сушать над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують.

Після очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 7/3), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 101-102°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1731, 1739, 1756, 1766\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}=1149\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  566 ( $M+1$ ).

Стадія G: Диметил 12-(трет-бутоксикарбоніл)-3-гідрокси-12Н-бензо[а]-феноксазин-5,6-дикарбоксилат

В інертній атмосфері 0,28ммол сполуки, одержаної на попередній Стадії F, розчиняють в 2мл метанолу у присутності 0,34ммол метанолату натрію. Суміш перемішують при температурі навколишнього середовища протягом 12 годин. Після концентрування і гідролізу, суміш екстрагують етилацетатом, сушать над сульфатом магнію, фільтрують і випаровують. Після очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 7/3), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 90-91°C (розкладання).

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1722\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}=1152\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{OH}=3442\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  466 ( $M+1$ ).

Стадія H: 8-(трет-Бутоксикарбоніл)-2-[2-(диметиламіно)етил]-5-гідрокси-2,3-дигідробензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон

В інертній атмосфері, 0,26ммол сполуки, одержаної на попередній Стадії G, нагрівають при 100°C у 4 мл N,N-диметил етилендіаміну протягом 7 годин. Після охолодження, надлишок діаміну випаровують. Після очищення хроматографією на силікагелі (дихлорметан/метанол: 95/5), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 190°C (розпад).

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1705, 1762\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{CO}=1249\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{OH}=3446\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  490,5 ( $M+1$ ).

Приклад 2: 2-[2-(Диметиламіно)етил]-5-гідроксибензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діонгідрохлорид

3мл 12М хлористоводневої кислоти додають краплями до 0,2ммол сполуки Прикладу 1, розчиненої у 4мл етанолу. Реакційну суміш перемішують протягом 1,5 години при температурі навколишнього середовища і потім концентрують. Шляхом додавання етилового ефіру утворюється осад, який відфільтровують, дозволяючи одержати очікуваний продукт.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1686, 1744\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{NH,OH}=3431\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  390 ( $M+1$ ).

Приклад 3: 8-(трет-Бутоксикарбоніл)-2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)-2,3-дигідробензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон

Стадія A: Диметил 12-(трет-бутоксикарбоніл)-3-(2-гідроксіетокси)-12Н-бензо[а]феноксазин-5,6-дикарбоксилат

Очікуваний продукт одержують згідно з методикою, описаною на Стадії F Прикладу 1, починаючи зі сполуки Стадії B Прикладу 1.

Точка плавлення: 87-88°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1725\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{OH}=3440\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  510 ( $M+1$ ).

Стадія B: 8-(трет-Бутоксикарбоніл)-2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)-2,3-дигідробензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон

Очікуваний продукт одержують згідно з методикою, описаною на Стадії H Прикладу 1, починаючи зі сполуки вищезазначеної Стадії A.

Точка плавлення: >80°C (розпад).

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1707, 1763\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{OH}=3447\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  534 ( $M+1$ ).

Приклад 4: 8-(трет-Бутоксикарбоніл)-2-[2-(диметиламіно)етил]-5-{2-[(метилсульфоніл)окси]етокси}-2,3-дигідробензо[а]піроло-[3,4-с]феноксазин-1,3-діон

В інертній атмосфері, 0,93ммол триетиламіну і потім 0,93ммол мезил хлориду додають до розчину 0,06ммол сполуки Прикладу 3 в 3мл дихлорметану при 0°C. Перемішування підтримують при 0°C протягом 8 годин. При температурі навколишнього середовища, розчин гідролізують і потім екстрагують дихлорметаном. Органічну фазу сушать над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують. Після очищення за допомогою хроматографії на силікагелі (дихлорметан/метанол: 95/5), виділяють очікуваний продукт.

Точка плавлення: 70-80°C (смола).

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1707, 1763\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  612 ( $M+1$ ).

Приклад 5: 2-[2-(Диметиламіно)етил]-5-{2-[(метилсульфоніл)окси]етокси}-1,2,3,8-тетрагідробензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон

0,03ммол сполуки Прикладу 4 розчиняють в 1мл мурашиної кислоти і перемішують при температурі навколишнього середовища протягом 3 годин. Після концентрування, залишок додають до дихлорметану і промивають 2М розчином карбонату натрію і потім водою. Органічні фази об'єднують, сушать над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують. Після очищення хроматографією на силікагелі (дихлорметан/метанол: 9/1), виділяють очікуваний продукт.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1686, 1702\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{NH}=3432\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  512 ( $M+1$ ).

Приклад 6: 2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)бензо-[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон  
Очікуваний продукт одержують відповідно до методики Прикладу 5, починаючи зі сполуки Прикладу 3.

Точка плавлення: 216°C (смола).

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1690, 1741\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{NH}=3427\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  434 ( $M+1$ ).

Приклад 7: 8-(Форміл)-2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)-бензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-1,3-діон

Очікуваний продукт одержують в ході очищення хроматографією на силікагелі Прикладу 6.

Точка плавлення: 202°C.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1693, 1732\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{NH}=3428\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  462 ( $M+1$ ).

Приклад 8: 8-(Феноксикарбоніл)-5-(2-гідроксіетокси)-2-метил-2,3-дигідробензо[е]піrido[2',3':5,6][1,4]оксазино[3,2-г]ізоіндол-1,3-діон

Стадія А: Феніл 3-(1,4-діоксаспіро[4.5]дец-7-ен-8-іл)-4Н-піrido[3,2-б][1,4]-оксазин-4-карбоксилат

Очікуваний продукт одержують відповідно до методики Стадії Прикладу 1, починаючи зі сполуки Приготування В.

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=\nu_r$ ;  $m/z$  393 ( $M+1$ ).

Стадія В: 8-(Феноксикарбоніл)-5,5-(1,2-етилendioкси)-2-метил-2,3,3а,3b,4,5,6,7,13а,13b-декагідробензо[е]піrido[2',3':5,6][1,4]оксазино[3,2-г]ізоіндол-1,3-діон

У закритій системі, 1ммол продукту, одержаного на попередній Стадії А, і 3ммол N-метилмалеїміду перемішують при 95°C протягом 2 годин у присутності декількох крапель толуолу. Після очищення хроматографією на силікагелі (нафтовий ефір/етилацетат: 6/4), виділяють продукт.

Точка плавлення: 150°C (смола).

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1701, 1786\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  504 ( $M+1$ ).

Стадія С: 8-(Феноксикарбоніл)-5-(2-гідроксіетокси)-2-метил-2,3-дигідробензо[е]піrido[2',3':5,6][1,4]оксазино[3,2-г]ізоіндол-1,3-діон

Очікуваний продукт одержують згідно з методикою, описаною на Стадії С Прикладу 1, починаючи зі сполуки вищезазначеної Стадії В.

Точка плавлення: 250°C (смола).

ІЧ (KBr):  $\nu_{C=O}=1707, 1752\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{COC}=1191\text{см}^{-1}$ ;  $\nu_{OH}=3463\text{см}^{-1}$ .

Мас-спектр:  $m/z$  498 ( $M+1$ ).

Приклад 9: 2-[2-(диметиламіно)етил]-5-(2-гідроксіетокси)бензо[е]піrido-[2',3':5,6][1,4]оксазино[3,2-г]ізоіндол-13-діон

Очікуваний продукт одержують згідно з методикою, описаною на Стадії Н Прикладу 1, починаючи зі сполуки Прикладу 8.

Мас-спектр:  $m/z$  435 ( $M+1$ ).

Приклад 10: 8-(трет-Бутоксикарбоніл)-2-[2-(діетиламіно)етил]-5-гідрокси-2,3-дигідробензо[а]піроло[3,4-с]феноксазин-13-діон

Очікуваний продукт одержують згідно з методикою, описаною на Стадії Н Прикладу 1, починаючи зі сполуки Стадії G Прикладу 1 і N,N-діетилетилendioаміну.

Приклад 11: 2-[2-(Діетиламіно)етил]-5-гідроксибензо[а]піроло[3,4-с]-феноксазин-1,3-діон

Очікуваний продукт одержують згідно з методикою Прикладу 2, починаючи зі сполуки Прикладу 10.

Фармакологічні дослідження сполук за даним винаходом

Приклад 12: In vitro активність

L1210 мишача лейкемія

L1210 мишачу лейкемію використовували in vitro. Клітини культивували в RPMI 1640 повному культуральному середовищі, яке містить 10% фетальну бичачу сироватку, 2мМ глутаміну, 50одиниць/мл пеніциліну, 50μГ/мл стрептоміцину і 10мМ Нерес, рН=7,4. Клітини розподіляють на мікропланшетах і піддають дії цитотоксичних сполук протягом 4 дублюючих періодів, або 48 годин. Кількість життєздатних клітин потім визначають шляхом колориметричного аналізу, Microculture Tetrazolmm Assay [J. Carmichael et al., Cancer Res.; 47, 939-942 (1987)]. Результати виражають як IC<sub>50</sub>, концентрація цитотоксичного агента, що інгібує проліферацію оброблених клітин до 50%. Всі сполуки даного винаходу показують хорошу цитотоксичність відносно цієї клітинної лінії. З метою прикладу, сполука Прикладу 2 має IC<sub>50</sub>, що складає 0,25μМ щодо L1210.

Людські клітинні лінії

Сполуки даного винаходу також були тестовані на людських клітинних лініях, що походять від солідних пухлин, згідно з тим же тест-протоколом, що був описаний для L1210 мишачої лейкемії, але з інкубаційними періодами, що складають 4 дні замість 2 днів. З метою прикладу, сполука Прикладу 2 має IC<sub>50</sub>, що складає 0,27μМ щодо DU145 карциноми простати, 0,16μМ щодо A549 недрібноклітинної легеневої карциноми легень, 0,6μМ щодо HT-29 карциноми ободової кишки і 0,26μМ щодо KB-3-1 епідермоїдної карциноми.

Такі різні результати очевидно демонструють сильний протипухлинний потенціал сполук за даним винаходом щодо лейкемії і солідних пухлин.

Приклад 13: Дія на клітинний цикл

L1210 клітини інкубують протягом 21 годин при 37°C у присутності різних концентрацій тестованих сполук. Клітини потім фіксують 70% (об./об.) етанолу, двічі промивають в PBS та інкубують протягом 30 хвилин при 20°C в PBS, що містить 100μг/мл РНК і 50μГ/мл пропідій йодиду. Результати виражають як процент клітин, які накопичились у G2+М фазі через 21 годину, порівняні з контролем (контроль: 20%). Сполуки винаходу представляють особливий інтерес; у концентрації менше ніж 2,5μМ вони індукують накопичення щонайменше 80% клітин у G2+М фазі через 21 годину.

Приклад 14: In vivo активність

Протипухлинна активність на Р 388 лейкемію

Лінію Р388 (мишача лейкемія) одержували від National Cancer Institute (Frederick, USA). Пухлинні клітини ( $10^6$  клітин) інокулювали у день 0 в черевну порожнину самиць мишей B6D2F1 (Iffa Credo, France). Використовують шість мишей, які важать від 18 до 20г, на тест-групу. Продукти вводять інтраперітонеальним шляхом у день 1. Протипухлинну активність виражають як % Т/С:

$$\% \text{ Т/С (миша)} = \frac{\text{Середній час виживання тварин, яких обробляють}}{\text{Середній час виживання контрольних тварин}} \times 100$$

Одержані результати демонструють відмінну *in vivo* активність на Р 388 моделі лейкемії, з Т/С, що складає 210% для дози 50мг/кг, разом з низькою токсичністю сполук, вказуючи на відмінний терапевтичний індекс.

Приклад 15: Фармацевтична композиція: ін'єкційний розчин

Сполука Прикладу 2 10мг

Дистильована вода для ін'єкційних розчинів 25мг