



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

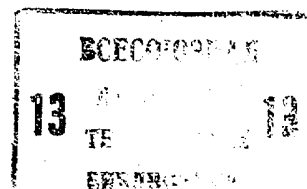
(19) **SU** (11) **1378784** **A3**

(51) 4 C 07 H 15/252, A 61 K 31/70

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

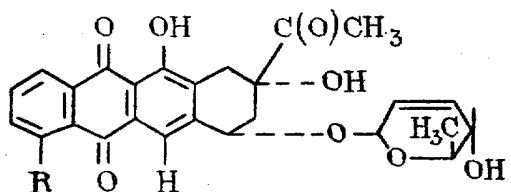
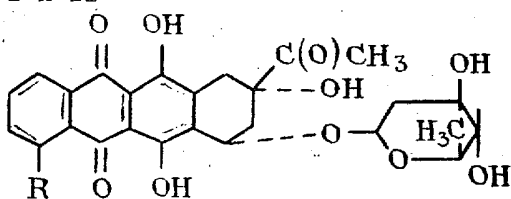
ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

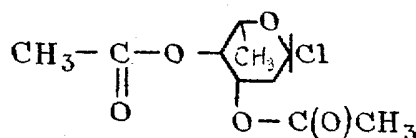
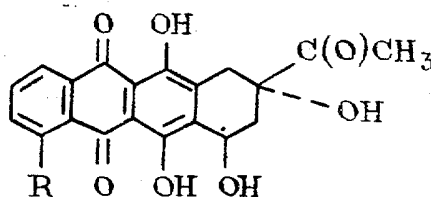


- (21) 3590801/23-04
(22) 17.05.83
(31) 8215083
(32) 24.05.82
(33) GB
(46) 29.02.88. Бюл. № 8
(71) Фармиталия Карло Эрба С.п.А. (ИТ)
(72) Альберто Барджиотти, Серджио Пен-
ко и Мисс Анна Мария Казацца (ИТ)
(53) 547.455.566.07(088.8)
(56) Патент СССР № 728719,
кл. C 07 H 15/252, 1980.
Патент СССР № 826956,
кл. C 07 H 15/252, 1981.
Патент СССР № 867315,
кл. C 07 H 15/252, 1981.

- (54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНТРАЦИКЛИН-
ГЛИКОЗИДОВ
(57) Изобретение касается замещенных
гликозидов, в частности получения
антрациклингликозидов общих формул
I и II



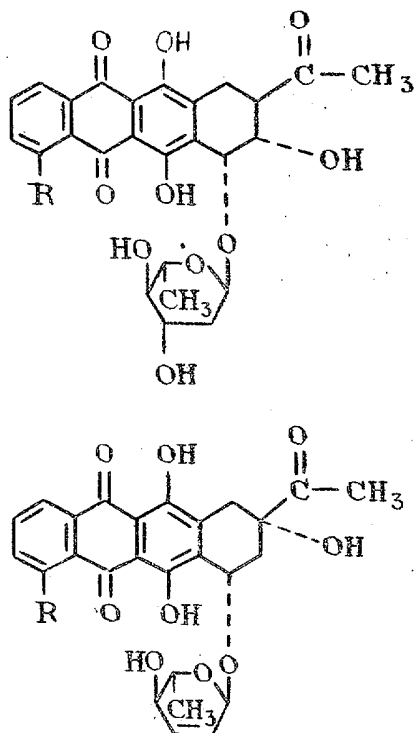
где R - H (а); OCH_3 (б), которые об-
ладают противоопухолевой активно-
стью. Цель изобретения - разработка
нового способа получения более актив-
ных веществ указанного класса. Син-
тез соединений I и II ведут реакцией
соединений формул III и IV



Процесс ведут в хлористом метиле-
не в присутствии трифторметансульфо-
ната серебра и молекулярных сит с по-
следующим разделением и очисткой
хроматографией на колонке. Последняя
заполнена силикагелем и процесс ве-
дут с использованием смеси этилацета-
та и циклогексана (равные объемы) в
качестве элюента. Защитные 0-ацетиль-
ные группы удаляют обработкой 0,2 н.
раствором NaOH при комнатной темпе-
ратуре. Новые вещества обладают луч-
шим противоопухолевым действием, чем
известные - доксорубин и дауно-
рубин. Активная доза 3-4,4 мг/кг,
7 табл.

(19) **SU** (11) **1378784** **A3**

Изобретение относится к способу получения новых антрациклингликозидов общих формул I и II



где R - H (а) и R - OCH₃ (б), обладающих противоопухолевой активностью.

Цель изобретения - разработка способа получения гликозидных производных антрациклина, обладающих улучшенными свойствами по сравнению с противоопухолевыми препаратами-структурными аналогами: даунорубицином и доксорубицином.

Пример 1. Получение 7-О-(2,6-дидеокси-α-L-арабиногексопиранозил)-дауномицинона (Ia) и 7-О-(2,3,6-тридеокси-α-L-эритрогекс-2-енопиранозил)-дауномицинона (IIa).

К раствору, содержащему 2 г дауномицинона в 200 мл безводного хлористого метилена, прибавляют 1,25 г хлорида 3,4-ди-О-ацетил-2,6-дидеокси-α-L-арабиногексопиранозилла, растворенные в 30 мл хлористого метилена, и 12 г молекулярных сит (4 Å "Мерк"). Смесь обрабатывают 1,28 г трифторметансульфоната серебра, растворенными в 30 мл безводного диэтилового эфира. Через 5 мин смесь нейтрализуют прибавлением 0,65 мл безводного коллидина. После выдержки в течение 30 мин при комнатной температуре органический раствор промывают насыщенным водным раствором кислого углекислого натрия, водой, 0,1 н.

водным раствором хлористоводородной кислоты и, наконец, водой. Органическую фазу отделяют и упаривают в вакууме до получения сухого остатка. Полученный остаток подвергают очистке с помощью хроматографии на колонке, наполненной кремневой кислотой, при применении в качестве элюирующего средства смеси этилового эфира уксусной кислоты и циклогексана (1:1 по объему). В результате порознь получают 0,9 г соединения формулы Va, т.пл. 117-118°C, ПМР (CDCl₃): inter alia около 1,23 δ (d, CH₃-C-5); 1,95 δ (s, CH₃COOC); 2,07 δ (s, CH₃COOC); 2,43 δ (s, CH₃CO); 5,20 δ (CH-7); 5,53 δ (CH-1) и 0,9 г соединения формулы VIa, т.пл. 83-84°C.

Соединение формулы Va (0,7 г) растворяли в ацетоне (45 мл) и производили обработку 50 мл 0,2 н. водного раствора гидроокиси натрия при комнатной температуре. Через 1 ч значение pH раствора довели до 7, после чего производили экстрагирование хлороформом. После отгонки органического растворителя в вакууме получали чистое соединение Ia с количественным выходом, т.пл. 161-162°C, FD-МС: m/z 528 (M⁺). После обработки соединения формулы VIa в основных условиях получали в чистом виде соединение формулы IIa, т.пл. 181-182°C. FD-МС: m/z 510 (M⁺) ПМР (CDCl₃): inter alia около 1,40 δ (d, CH₃-C-5), 2,42 δ (s, CH₃CO); 5,33 δ (CH-7); 5,58 δ (CH-1) и 5,5-6,0 δ/m; CH-2 (CH-3).

Пример 2. Получение 4-деметокси-7-О-(2,6-дидеокси-α-L-арабиногексопиранозил)-дауномицинона (Iв) и 4-деметокси-7-О-(2,3,6-тридеокси-α-L-эритрогекс-2-енопиранозил)-дауномицинона (IIв).

К раствору 0,74 г 4-деметоксидауномицинона (IIIв) в безводном хлористом метилена (70 мл) прибавляют 0,65 г галогенида сахара формулы IV, растворенные в 10 мл хлористого метилена, и 5 г молекулярных сит (4 Å "Мерк"). Смесь обрабатывают 0,64 г трифторметансульфоната серебра, растворенными в 15 мл безводного диэтилового эфира. Через 5 мин реакционную смесь нейтрализуют прибавлением 0,4 мл безводного коллидина. После выдержки в течение 1 ч при комнатной температуре органический раствор

промывают насыщенным водным раствором кислого углекислого натрия, водой, водным 0,1 н. раствором хлористоводородной кислоты и снова водой. Органическую фазу отделяют, после чего раствор упаривали до получения сухого остатка в вакууме. Полученный в результате этого остаток подвергают очистке с помощью хроматографии на колонке, заполненной кремневой кислотой, при применении в качестве элюирующего средства смеси хлороформа и ацетона (96:4 по объему). В результате получают 0,48 г соединения формулы Vb, т.пл. 65-66°C, FD-МС: m/z 582 (M^+), и 0,45 г соединения формулы VIb. Соединение Vb растворяют в 20 мл ацетона и производят обработку 20 мл 0,2 н. водного раствора гидроокиси натрия при комнатной температуре. Через 1 ч значение pH раствора доводят до 7 и экстрагируют хлороформом. После отгонки органического растворителя в вакууме получают чистое соединение формулы Ib с количественным выходом, т.пл. 165-166°C, FD-МС: m/z 498 (M^+). После обработки соединения формулы VIb в основных условиях получали чистое соединение формулы IIb. ИМР ($CDCl_3$) *inter alia* около 1,39 (CH_3-C-5); 2,42 δ (s, CH_3-CO), 3,50-4,00 δ (m, C-H-4' и C-H-5'); 4,08 δ (s, CH_3-O); 5,33 δ (bs, C-H-7), 5,58 δ (bs, C-H-1'), 5,65 (d, C-H-3'), 5,93 δ (d, C-H-2').

Биологическая активность соединений IIa, Ib.

Соединения IIa и Ib были испытаны в сравнении с даунорубицином (ДНР) и доксорубицином (ДК) в *in vitro* и *in vivo* системах с целью установления их цитотоксичности и противоопухолевой активности.

В табл. 1 приведены активности на Hela клетках, размножающихся продуктивно *in vitro* (обработка 24 ч).

Соединение IIa примерно в 25 раз менее цитотоксично, чем ДНР, и в 40 раз менее цитотоксично, чем ДК.

Первичные исследования *in vitro* были проведены на CDF-1 мышах, страдающих асцитической P388 лейкемией (10^6 клеток/мышь). Результаты представлены в табл. 2 (обработка i.p. 1 раз в сутки). Соединения IIa суспендировали в 10%-ном Tween 80 и инъецировали внутривенно. Соединение IIa оказалось менее токсич-

ным и было инертным по отношению к P388 асцитической лейкемии при двухдозном испытании, включая максимальную переносимую дозу (МПД) 100 мг/кг.

Соединение Ib было изучено *in vitro* на Hela и P388 лейкемических клеток чувствительных (P388) и устойчивых (P388/ДК) к ДК, а *in vitro* на P388 и Gross leukemia. Значения, приведенные в табл. 3, показывают, что соединения Ib, исследованное на Hela клетках, размножающихся продуктивно *in vitro*, в сравнении с известными соединениями ДНР и 4-деметокси-ДНР (4-дм-ДНР), в 3 и 6 раз менее цитотоксично, чем ДНР и 4-дм-ДНР.

Соединение Ib было изучено на P388/ДК *in vitro*.

P388 и P388/ДК лейкемические клетки были отобраны из асцитической жидкости мышей и помещены для выращивания в суспензию *in vitro*. Тесты на цитотоксичность осуществляли путем воздействия на клетки препаратов в различных концентрациях в течение 48 ч. В конце экспозиционного периода клетки были подсчитаны с помощью счетчика Coulter клеток, а LD_{50} доза, которая дает 50%-ное уменьшение количества клеток, в сравнении с необработанными контрольными клетками была рассчитана.

Табл. 4 показывает, что соединения Ib было приблизительно таким же цитотоксичным, как ДНР на P388 лейкемических клетках, и было очень активно по отношению к P388/ДК лейкемическим клеткам. ДНР было приблизительно в 500 раз менее активно по отношению к устойчивым клеткам, чем к чувствительным клеткам.

Результаты первичного исследования *in vivo*, проведенного на CDF-1 мышах, страдающих асцитической P388 лейкемией и обработанных i.p. через сутки после трансплантации опухоли, показаны в табл. 5.

Сравнение на максимальную переносимую дозу показало, что соединение Ib менее активно, чем ДНР и 4-дм-ДНР.

Результаты исследований, проведенных на СЗН/Ме мышах с i.v. трансплантированной Gross leukemia, обработанных i.v. через сутки после трансплантации опухоли, приведены в табл. 6. Соединения Ib оказались более токсичными и более сильнодействующими, чем родственные соедине-

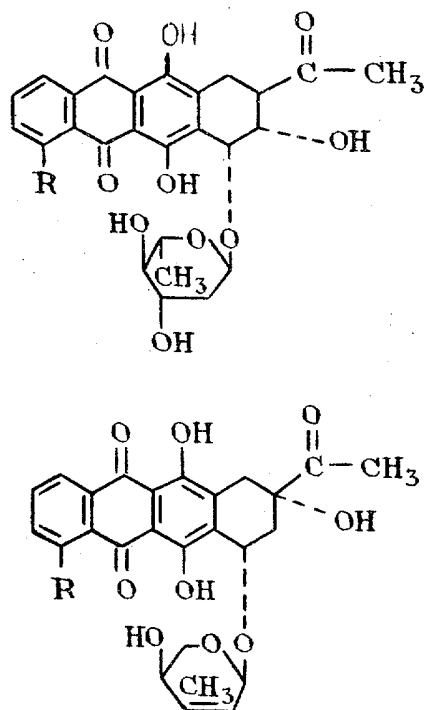
ния. Сравнение максимальных переносимых доз показывает, что Ib более активно, чем ДНР. Соединение Ib далее исследовали на активность при введении через рот, на Gross leukemia: трансплантированную i.v., в сравнении с ДНР, ДК, вводимыми i.v., и в сравнении с 4-дм-ДНР, вводимым через рот.

Данные, приведенные в табл. 7, показывают, что Ib обладает хорошей противоопухолевой активностью при введении через рот 1 раз в сутки в сравнении с активностью 4-дм-ДНР (где продемонстрирована как активная при введении через рот) и ДНР при введении i.v.

Таким образом, соединения Ib и IIIa обладают улучшенными свойствами по сравнению с противоопухолевыми препаратами - доксорубицином и даунорубицином.

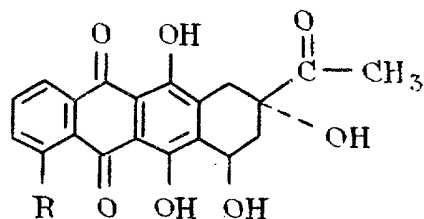
Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ получения антрациклин-гликозидов общих формул



где R - H (а), ОСН₃ (б),
отличающийся тем, что
антрациклин общей формулы

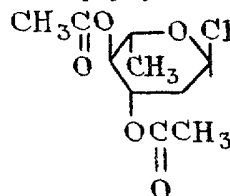
5



10

где R имеет указанные значения,
растворяют в хлористом метиле и
обрабатывают хлористым 3,4-ди-0-аце-
тил-2,6-дидезокси- α -L-арабиногек-
сопиранозилом формулы

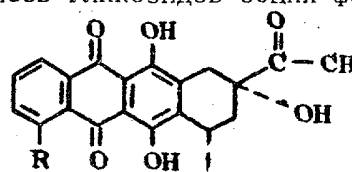
15



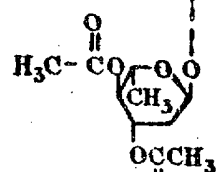
20

в присутствии трифторметансульфоната
серебра и молекулярных сит, получен-
ную смесь гликозидов общих формул

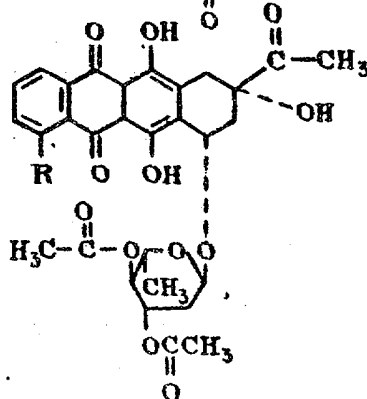
25



35



40



45

где R имеет указанные значения,
разделяют и очищают хроматографи-
рованием на колонке, заполненной сили-
кагелем, с использованием смеси этил-
ацетата и циклогексана 1:1 (по объ-
ему) в качестве элюента, защитные 0-
ацетильные группы удаляют обработкой
0,2 н. водным раствором гидроокиси
натрия при комнатной температуре.

55

Т а б л и ц а 1

Соединение	Доза, кг/мл	%,*	LD ₅₀ (кг/мл)
ДНР	25	12	
	12,5	74	~16
	6,2	106	
Соединение IIa	400	146	
	100	136	400
	25	143	
	6,2	127	
	1,5	120	
ДК	25	24	~10
	12,5	40	
	6,2	69	

* Число колоний, % от необработанных контрольных.

Т а б л и ц а 2

Соединение	Доза, мг/кг	Т/С, %	ВПВ**	Toxic dea the ***
ДНР	2,9	160	0/10	0/10
	4,4****	165-170	0/10	0/20
	6,6****	150-160	0/10	7/20
Соединение IIa	75	120	0/5	0/5
	100	90	0/10	1/10
ДК	4,4****	220-227	2/18	0/18
	6,6*****	227-305	2/26	0/26
	10	268-610	6/26	3/26

* Среднее время выживания, % по отношению к необработанным контрольным клеткам;

** Выжившие на продолжительное время (>60 сут);

*** Оцененные на основе аутоптических исследований на мертвых мышах;

**** Данные двух экспериментов (range);

***** Данные трех экспериментов (range).

Т а б л и ц а 3

Соединение	Доза, мг/мл	% *	LD ₅₀ (мг/мл)
ДНР	25	9	
	12,5	51	~ 12
	6,2	83	
4-дмн-ДНР	25	0	
	12,5	18	~ 6,3
	6,2	53	
	3,1	84	
Соединение Гб	100	0	
	25	67	~ 35
	6,2	87	
	1,5	107	
ДК	25	0	
	12,5	28	~ 7,5
	6,2	59	

* Число колоний, % от необработанных контрольных.

Т а б л и ц а 4

Соединение	LD ₅₀ , мг/мл, *		R****
	Р388**	Р388/ДК***	
ДНР	1,7	800	470
Соединение Гб	1,2	30	25

* Доза, приводящая к 50%-ному уменьшению количества клеток, в сравнении с необработанными контрольными;

** Р388 лейкемические клетки, чувствительные к ДК;

*** Р388, устойчивые к ДК;

**** Отношение между LD₅₀ на Р388/ДК и LD₅₀ на Р388.

Т а б л и ц а 5

Соединение	Доза, мг/кг	Т/С, %	ВПВ	Toxic deaths
ДНР	2,9	159-194	0/18	0/8
	4,4	140-184	0/18	7/18
4-дм. ДНР	0,75	163	0/8	0/8
Соединение Ib	1,25	140	0/8	0/8
	2,5	163	0/9	3/9
	5	63	0/10	10/10
ДК	4,4	220	1/10	0/10
	6,6	305	0/10	0/10
	10	≥ 610	5/10	0/10

Т а б л и ц а 6

Соединение	Доза, мг/кг	Т/С, %	Toxic deaths
ДНР	15	171	0/8
	22,5	171	0/8
Соединение I	2,9	214	0/7
	4,4	100	7/8
ДК	10	171	0/10
	13	200	0/10
	16,9	207	3/10

Т а б л и ц а 7

Обработка				Т/с, %	Toxic deaths
Способ введения	График*	Соединение	Доза, мг/кг		
i.v.	+1	ДНР	15	200	0/10
			22,5	125	6/10
Через рот	+1	2-дм-ДНР	3	150	0/6
			3,6	150	0/6

Продолжение табл.7

Обработка				Т/с, %	Toxic deaths
Способ введения	График*	Соединение	Доза, мг/кг		
			4,3	216	0/3
Через рот	+1	Соединение Ib	2,9	167	0/10
			4,4	208	0/10
			6,6	116	4/9
i.v.	+1	ДК	10**	171-171	1/20
			13**	200-200	1/20
			16,9**	200-207	3/13

* День после трансплантации опухоли;

** Данные двух экспериментов (rande).

Редактор А.Долиннич Составитель Г.Коннова
 Техред Л.Олийнык Корректор М.Шароши

Заказ 896/59 Тираж 348 Подписное

ВНИИИ Государственного комитета СССР
 по делам изобретений и открытий
 113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4