



(51) МПК

A61K 31/045 (2006.01)*A61K 31/357* (2006.01)*A61K 31/396* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2008131054/15, 29.12.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.12.2006

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
29.12.2005 GB 0526552.5

(43) Дата публикации заявки: 10.02.2010 Бюл. № 4

(45) Опубликовано: 20.03.2012 Бюл. № 8

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **Knox RJ, Chen S., Quinone reductase-mediated nitro-reduction: clinical applications., Methods Enzymol. 2004; 382, p.p.194-221. Knox RJ, et al., Identification, synthesis and properties of 5-(aziridin-1-yl)-2-nitro-4-nitrosobenzamide, a novel DNA crosslinking agent derived from CB1954. Biochem Pharmacol. 1993, V.46, №5, p.p.797-803. Kammerer (см. прод.)**

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 29.07.2008

(86) Заявка РСТ:
GB 2006/004947 (29.12.2006)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2007/074344 (05.07.2007)

Адрес для переписки:

103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент", пат.пов. А.П.Агурееву

(72) Автор(ы):

НОКС Ричард Джон (GB)

(73) Патентообладатель(и):

МОРВУС ТЕКНОЛОДЖИ ЛИМИТЕД (GB)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ АЛЬФА-ГИДРОКСИКАРБОНИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЧЕСТВЕ ВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

(57) Реферат:

Заявленное изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности и касается применения в качестве восстановителей альфа-гидроксикарбонильных соединений, способных образовывать циклические димеры. Также предоставлены соответствующие способы восстановления восстанавливаемых соединений, особенно

активируемых восстановлением соединений. Примерами используемых альфа-гидроксикарбонильных соединений являются дигидроацетон, глицеральдегид, эритроза, ксилулоза, эритрулоза или 3-гидрокси-2-бутанон. Восстановление происходит в мягких условиях и обеспечивает селективное получение одного из изомеров восстановленного соединения. 12 н. и 42 з.п. ф-

лы, 9 пр., 7 ил.

(56) (продолжение):

C., Getoff N., Synergistic effect of Dehydroascorbic acid and mixtures with vitamin E and beta-carotene on mitomycin C efficiency under irradiation in vitro. In Vivo, 2004, №18, p.p.795-798.

R U 2 4 4 5 0 7 8 C 2

R U 2 4 4 5 0 7 8 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 31/045 (2006.01)**A61K 31/357** (2006.01)**A61K 31/396** (2006.01)**A61P 35/00** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2008131054/15, 29.12.2006**(24) Effective date for property rights:
29.12.2006

Priority:

(30) Priority:
29.12.2005 GB 0526552.5(43) Application published: **10.02.2010 Bull. 4**(45) Date of publication: **20.03.2012 Bull. 8**(85) Commencement of national phase: **29.07.2008**(86) PCT application:
GB 2006/004947 (29.12.2006)(87) PCT publication:
WO 2007/074344 (05.07.2007)

Mail address:

**103735, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO
"Sojuzpatent", pat.pov. A.P.Agureevu**

(72) Inventor(s):

NOKS Richard Dzhon (GB)

(73) Proprietor(s):

MORVUS TEKNOLODZHI LIMITED (GB)**(54) USE OF ALPHA-HYDROXYCARBONYL COMPOUNDS AS REDUCING SUBSTANCES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: declared invention refers to chemical-pharmaceutical industry and concerns the use of alpha-hydroxycarbonyl compounds as reducing substances able to form cyclic dimers. Also, there are presented related methods for reducing the reduced compounds, especially activated by

compound reduction. The examples of the used alpha-hydroxycarbonyl compounds are dihydroacetone, glyceraldehyde, erythrose, xylulose, erythrulose or 3-hydroxy-2-butanone.

EFFECT: reduction takes place in mild conditions and provides selective production of one of isomers of the reduced compound.

54 cl, 9 ex, 7 dwg

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к применению определенных соединений в качестве восстанавливающих веществ. В частности, это относится к применению соединений для восстановления активируемых восстановлением пролекарств, производящих активные субстанции, которые можно использовать в борьбе с болезнями. Активная субстанция может быть, в частности, вызывающим поперечные связи ДНК веществом, которое можно применять для борьбы с нежелательным клеточным ростом или пролиферацией.

Внесение в список или обсуждение ранее опубликованного документа в этом описании не обязательно должно восприниматься как подтверждение того, что документ является частью существующего уровня техники или является частью общего уровня знания.

α -Гидроксикарбонильные соединения, хотя и представляют собой молекулы, которые могут быть окислены, не признаны являющимися пригодными в качестве восстановительных веществ при условиях низкой щелочности ($\text{pH} < 11$).

Определенные α -гидроксикарбонильные соединения (ацилоины) упомянуты в патенте США 5831097 и Европейском патенте 0364752 как являющиеся пригодными в качестве восстановителей в красильной индустрии. Однако условия, точно определенные в Европейском патенте 0364752, требуют минимального значения pH 13 для достижения восстановительного эффекта. Подобным образом, патент США 4950306 раскрывает, что определенные соединения (включая α -гидроксикарбонильные соединения) могут быть использованы в качестве восстановителей в красильном процессе, но только если в реакционную среду добавлено достаточное количество щелочи для установления значения pH , по меньшей мере 11.

Более того, хотя другие документы (например, США 3208999 и Textil-Praxis 20(11), 916-20 (1965)) упоминают применение ряда других α -гидроксикарбонильных соединений (например, моногидроксиацетона и дигидроацетона) как являющихся пригодными в качестве восстановителей для определенных соединений (цианэтилированные крахмалы и кубовые красители), реакционные условия, упомянутые в этих документах, являются высокощелочными (т.е. требующими применения значительных количеств концентрированных растворов или аммиака или гидроксида натрия, давая в результате реакционные значения pH выше 13).

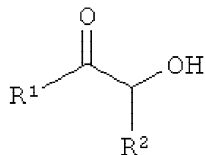
Кроме того, ни один из вышеупомянутых документов не раскрывает (в отношении к восстановлению с использованием α -гидроксикарбонильных соединений)

применение систем растворителей, содержащих больше чем 10% веса органического растворителя.

Раскрытие изобретения

Теперь изобретатели неожиданно открыли, что определенные α -гидроксикарбонильные соединения действительно обладают пригодной восстановительной способностью при относительно низких значениях pH и могут, следовательно, применяться в мягких условиях (и/или в присутствии существенных количеств безводных (органических) растворителей) для восстановления различных компонентов, включая широкий диапазон органических соединений.

Таким образом, первый аспект изобретения обеспечивает применение соединения, имеющего формулу I, в качестве вещества для восстановления восстанавливаемой группы в органическом соединении, содержащем одну или больше таких групп, в котором соединение формулы I имеет структуру



в которой

R^1 представляет собой H, арил, Нет или C_{1-12} алкил, последняя группа которого необязательно замещена одним или больше заместителями, выбранными из OH, гало и C_{1-3} алкокси,

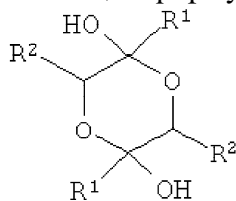
R^2 представляет собой H или C_{1-6} алкил, последняя группа которого необязательно замещена одной или больше группами OH,

арил представляет собой C_{6-10} карбоциклическую ароматическую группу, которая может быть замещена одним или больше заместителями, выбранными из гало,

C_{1-6} алкил и C_{1-6} алкокси,

Нет представляет собой гетероциклическую группу, состоящую из 4-14 членов, включающую один или больше гетероатомов, выбранных из кислорода, азота и/или серы, гетероциклическую группу, которая может содержать одно, два или три кольца и может быть замещена одним или больше заместителями, выбранными из гало, C_{1-6} алкил и C_{1-6} алкокси,

соединение, отличающееся тем, что оно способно образовывать циклический димер, имеющий формулу Ia



в которой R^1 и R^2 - как определено выше.

Если не указано иное, алкильные группы и алкокси группы, как определено здесь, могут быть с неразветвленной цепью или, когда имеется достаточное количество (т.е. минимум три) атомов углерода, могут быть с разветвленной цепью и/или

циклическими. Затем, когда имеется достаточное количество (т.е. минимум четыре) атомов углерода, такие алкильные или алкокси группы также могут быть частично циклическими/ациклическими. Такие алкильные или алкокси группы также могут быть насыщенными или, когда имеется достаточное количество (т.е. минимум два) атомов углерода, быть ненасыщенными и/или прерванными одним или больше атомами кислорода и/или серы. Если не указано иное, алкильные или алкокси группы могут также быть замещены одним или больше атомами гало, и особенно фтора.

Примеры арильных групп, которые могут быть упомянуты, включают фенил, нафтил и тому подобное.

Гетероциклические (Нет) группы могут быть полностью насыщенного, частично ненасыщенного или полностью ароматического или частично ароматического характера. Значения гетероциклических (Нет) групп, которые можно упомянуть, включают

1-азабицикло[2.2.2]октанил, бензимидазолил, бензо[с]изоксазолидинил, бензизоксазолил, бензодиоксанил, бензодиоксепанил, бензодиоксолил, бензодиоксолил, бензофуранил, бензофуразанил, бензоморфолинил, 2,1,3-бензоксадиазолил, бензоксазолидинил, бензоксазолил, бензопиразолил, бензо[е]пиримидин, 2,1,3-бензотиадиазолил, бензотиазолил, бензотиэнил, бензотриазолил,

хроманил, хроменил, циннолинил, 2,3-дигидробензилимидазолил, 2,3-дигидробензо[b] фуранил, 1,3-дигидробензо[c]фуранил, 1,3-дигидро-2,1-бензизоксазолил, 2,3-дигидропирроло[2,3-b]пиридинил, диоксанил, фуранил, гексагидропиримидинил, гидантоинил, имидазолил, имидазо[1,2-a]пиридинил, имидазо[2,3-b]тиазолил, индолил, 5 изохинолинил, изоксазолидинил, изоксазолил, малеимидо, морфолинил, нафто[1,2-b] фуранил, оксадиазолил, 1,2- или 1,3-оксазинанил, оксазолил, фталазинил, пиперазинил, пиперидинил, пуринил, пиранил, пиразинил, пиразолил, пиридинил, пиримидинил, пирролидинонил, пирролидинил, пирролинил, пирроло[2,3-b]пиридинил, пирроло[5,1-b]пиридинил, пирроло[2,3-c]пиридинил, пирролил, хиназолинил, хинолинил, 10 сульфоланил, 3-сульфоленил, 4,5,6,7-тетрагидробензимидазолил, 4,5,6,7-тетрагидробензопиразолил, 5,6,7,8-тетрагидробензо[e]пиримидин, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, 3,4,5,6-тетрагидропиридинил, 1,2,3,4-тетрагидропиримидинил, 3,4,5,6-тетрагидропиримидинил, тиadiaзолил, тиазолил, тиэнил, тиено[5,1-c] 15 пиридинил, тioxроманил, триазолил, 1,3,4-триазоло[2,3-b]пиримидинил, ксантенил и тому подобное.

Заместители на гетероциклические (Het) группы могут быть, где уместно, расположены на любом атоме в системе колец, включая гетероатом. Местом 20 присоединения гетероциклических (Het) групп может быть любой атом в системе колец, включая (где уместно) гетероатом или атом на любом конденсированном углеродном кольце, которое может присутствовать как часть системы колец.

Термин «галo», при использовании здесь, включает фторзамещенный, хлорзамещенный, бромзамещенный и йодзамещенный.

Соединения формулы I, которые могут быть упомянуты (относительно всех 25 аспектов изобретения), включают те, в которых:

(1) R^1 не является H;

(2) R^1 представляет H или, особенно, C_{1-2} алкил, замещенный одной или больше OH 30 группами (например, CH_2OH);

(3) R^2 представляет C_{1-4} алкил, замещенный одной или больше OH группами (например, CH_2OH или $CH(OH)CH_2OH$) или, особенно, H.

Дополнительно, конкретные соединения формулы I, которые могут быть 35 упомянуты (относительно всех аспектов изобретения), включают дигидроксиацетон (DNA, альтернативно называемый 1,3-дигидрокси-2-пропанон), гликольальдегид, глицеральдегид, эритрозу, ксилулозу и их димеры. Другие особые соединения формулы I, которые могут быть упомянуты, включают эритрозу и 3-гидрокси-2-бутанон. В одном конкретном варианте осуществления изобретения (все 40 аспекты этого) соединение формулы I представляет собой DNA или его димер.

Для избежания неопределенности, так как соединения формулы I могут находиться и в димерной и в мономерной формах, ссылки в данном описании на соединение формулы I включают ссылки на такие соединения в любой форме (если не указано 45 иначе). Более того, способность соединений формулы I существовать в форме циклического димера формулы Ia является свойственной структуре этих соединений. Таким образом, ссылки в данном описании на в общем или специально определенные соединения формулы I, все из которых способны образовывать циклический димер формулы Ia, включают ссылки на (в общем или специально определенные) соединения 50 как таковые (т.е. без вышеописанных определяющих признаков, относящихся к образованию циклического димера). Способно или не способно соединение формулы I образовывать циклический димер формулы Ia, может быть определено, например, изучением склонности отдельного соединения образовывать указанный циклический

димер в любом твердом состоянии или в состоянии раствора (например, водного раствора или органического раствора).

Альтернативный аспект изобретения обеспечивает применение соединения формулы I, как определено выше, в качестве агента для восстановления

восстанавливаемого неорганического соединения.

В одном варианте осуществления этого аспекта изобретения неорганическое соединение не является йодом или не содержит ионы меди или феррицианид.

Неорганическое соединение может, в конкретных вариантах осуществления, содержать лантанид (например, церий) или, особенно, переходный металл (т.е. металл группы с IIIA по IIB). Неорганическое соединение может содержать координационный комплекс указанного лантанида или переходный металл. Отдельные переходные металлы, которые могут быть упомянуты, включают те, которые находятся в группах кобальта и никеля (т.е. металлы, имеющие d^9 или d^{10} электронные конфигурации в нейтральном состоянии), такие как кобальт или платина. Металл может находиться (в координационном комплексе или иначе) в более высоком состоянии окисления, чем другое, стабильное состояние окисления для металла. Например: для кобальта степень окисления III может быть уменьшена до степени окисления II; для платины степень окисления IV может быть снижена до степени окисления II. В определенных вариантах осуществления данного аспекта изобретения переходный металл представляет собой металл, кроме железа или меди.

В конкретном варианте осуществления первого аспекта изобретения применение соединения формулы I в качестве вещества для восстановления восстанавливаемой группы в органическом соединении включает применение такого соединения, как восстановителя для какого-либо соединения за исключением фермента.

В другом варианте осуществления первого аспекта изобретения восстановление восстанавливаемого соединения случается в безводной растворяющей системе. При использовании в данном описании термин "безводная система растворителей" включает ссылки на хлорированные углеводороды (такие как дихлорометан), углеводороды (например, гексан), ароматические углеводороды (например, толуол или ксилол), дипольные апротонные растворители (например, N,N-диметилформамид, N,N-диметилацетамид, диметилсульфоксид или N-метилпирролидинон), ацетонитрил, сложные эфиры (например, этилацетат) или, особенно, низшие (C_{1-4}) алкил спирты (такие как изопропанол, этанол или метанол). Термин "безводная система растворителей" также включает ссылки на смеси таких растворителей.

Было обнаружено, что восстановлению соединениями формулы I может способствовать добавление основания. Таким образом, конкретный вариант осуществления первого аспекта изобретения относится к применению соединения формулы I, как определено выше, и основания для восстановления восстанавливаемой группы в органическом соединении, содержащем одну или больше таких групп.

В этом варианте осуществления основание может быть органическим или неорганическим. Например, основание может быть амином (например, первичным, вторичным или, особенно, третичным амином, таким как триэтиламин, триметиламин или диэтилизопропиламин), азотсодержащим гетероциклом (например, N-метилморфолином или пиридином), алкоксидом (например, алкоксидом щелочного металла, таким как этоксид натрия), солями гидроксидов (например, аммонием или гидроксидом щелочного металла, таким как гидроксид натрия или калия) или, особенно, углекислой или двууглекислой солью (например, карбонатом или

бикарбонатом щелочно-земельного или, особенно, щелочного металла).

Количество использованного основания может изменяться в зависимости от таких факторов, как выбранное конкретное соединение формулы I, особенности соединения которое следует восстановить, от желательной скорости реакции и т.д. Однако в
 5 определенных вариантах осуществления первого аспекта изобретения количество использованного основания может составлять, например, четыре (например, три, два или один) или меньше эквивалентов относительно соединения формулы I, например каталитическое количество основания (например, 0,1 эквивалентов или меньше) N,N-
 10 диметилформамида. Альтернативно, основание может обеспечивать реакционную смесь с определенным уровнем pH. Таким образом, в других вариантах осуществления первого аспекта изобретения соединение формулы I используют в качестве восстановителя, который осуществляет восстановление при значениях pH (например, в водном растворе) между 7 и 11 (например, при pH от 7,1 (таким как 7,2; 7,3; 7,4 или 7,5)
 15 до 10,9 (таким как 10,8; 10,7; 10,6; 10,5; 10,4; 10,3; 10,2; 10,1 или 10,0)).

При использовании в данном описании термин "водный раствор" относится к растворам веществ, в которых растворяющая система содержит воду и, кроме того, необязательно включает один или больше других растворителей, таких как
 20 водорастворимые органические растворители (например, низшие (такие как C₁₋₄), алкил спирты, такие как этанол, изопропанол или, особенно, метанол). Кроме того, при упоминании в данном описании значений pH эти значения могут быть определены с помощью методов, известных специалистам в данной области техники (например, с помощью потенциометрических измерений с применением рабочего электрода и
 25 электрода сравнения), например, при комнатной температуре (такой как 25°C).

Соединение формулы I также может быть использовано в способе восстановления восстанавливаемого соединения. Таким образом, согласно второму аспекту изобретения, предоставлен способ восстановления восстанавливаемой группы в
 30 органическом соединении, указанный способ, включающий взаимодействие указанного соединения с соединением формулы I, как определено выше.

В конкретном варианте осуществления второго аспекта изобретения предоставлен способ для восстановления какого-либо соединения за исключением фермента.

В другом варианте осуществления второго аспекта изобретения способ включает
 35 взаимодействие восстанавливаемого соединения с соединением формулы I в присутствии системы безводного растворителя, как определено выше. В конкретном варианте восстановления происходит в указанной системе безводного растворителя.

В другом конкретном варианте осуществления второго аспекта изобретения способ
 40 осуществляют в присутствии основания, такого как основание, как определено в отношении первого аспекта изобретения. Количество использованного основания может составлять, например, один или меньше эквивалентов относительно соединения формулы I, такого как каталитическое количество основания (например, 0,1 эквивалентов или меньше).

В другом конкретном варианте осуществления второго аспекта изобретения способ
 45 включает взаимодействие восстанавливаемого соединения с соединением формулы I, как определено выше, в присутствии раствора (например, водного раствора) или суспензии, имеющей значение pH между 7 и 11 (например, значение pH от 7,1 (такое как 7,2; 7,3; 7,4 или 7,5) до 10,9 (такое как 10,8; 10,7; 10,6; 10,5; 10,4; 10,3; 10,2; 10,1
 50 или 10,0)). Альтернативно, способ включает взаимодействие восстанавливаемого соединения с соединением формулы I, как определено выше, в присутствии раствора или суспензии (в определенном объеме главным образом безводной растворяющей

системы, как определено ниже) такого количества основания, которое при растворении или суспендировании в эквивалентном объеме воды будет давать значение pH между 7 и 11 (например, pH от 7,1 (таком как 7,2; 7,3; 7,4 или 7,5) до 10,9 (таком как 10,8; 10,7; 10,6; 10,5; 10,4; 10,3; 10,2; 10,1 или 10,0)).

В первом и втором аспектах изобретения группа, которая восстанавливается, может быть группой, например, нитро, оксо (например, кето, такой как хинон карбонил), amino, азо, N-оксид или пиридиний. В частности, группа, которая восстанавливается, может представлять собой, например, нитро или пиридиний.

Как указано выше, неожиданно было открыто, что восстановления, использующие α -гидроксикарбонильные соединения, могут быть выполнены в присутствии значительных количеств (или исключительно в) безводных (органических) растворителей.

Таким образом, альтернативный аспект изобретения относится к применению соединений формулы I, как определено выше, в качестве восстанавливающего вещества в по существу безводной растворяющей системе.

При использовании в данном описании термин "по существу безводные растворяющие системы" включает ссылки на растворяющие системы, содержащие самое большее 80% воды (например, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 1 или 0,1%) по весу. В этих растворяющих системах остаток растворителя (т.е., по меньшей мере, 20% по весу) представляет собой органический растворитель. Органические растворители, которые можно упомянуть в этом отношении, включают те, которые упомянуты выше в отношении к термину "безводная система растворителей". Термин "по существу безводная система растворителей" также включает ссылки на полностью безводные системы растворителей (например, системы растворителей, содержащие исключительно органические растворители).

Как указано ранее, конкретный вариант осуществления этого аспекта изобретения относится к применению соединения формулы I, как определено выше, и основания в качестве восстановителя в по существу безводных системах растворителей.

В этом аспекте изобретения соединение формулы I может быть использовано для восстановления или органического или неорганического соединения (например, органического соединения, как описано ниже).

Кроме того, изобретение предоставляет соответствующий способ восстановления, использующий соединение формулы I и по существу безводные растворяющие системы. Таким образом, следующий аспект изобретения относится к способу восстановления восстанавливаемого соединения, к указанному способу, включающему взаимодействие указанного восстанавливаемого соединения с соединением формулы I, как определено выше, и по существу безводной растворяющей системы.

В конкретном варианте осуществления этого аспекта изобретения способ включает контактирование восстанавливаемого соединения с соединением формулы I, как определено выше, и основания.

Также в этом аспекте изобретения восстанавливаемое соединение может быть органическим или неорганическим соединением (например, органическим соединением, как определено ниже).

Когда в этом аспекте изобретения восстанавливаемое соединение является неорганическим соединением, неорганическое соединение может в конкретных вариантах осуществлений:

(i) не быть йодом или не содержать ионы меди или феррицианид;

(ii) содержать лантанид (например, церий) или, особенно, переходный металл (т.е. металл группы с IIIA по IIB); и/или

(iii) содержать координационный комплекс указанного лантанида или переходного металла.

Конкретные переходные металлы, которые можно упомянуть, включают металлы в группах кобальта и никеля (т.е. металлы, имеющие d^9 или d^{10} электронные конфигурации в нейтральном состоянии), такие как кобальт или платина. Металл может находиться (в координационном комплексе или иначе) в более высоком состоянии окисления, чем другое, стабильное состояние окисления для металла. Например: для кобальта степень окисления III может быть уменьшена до степени окисления II; для платины степень окисления IV может быть снижена до степени окисления II. В определенных вариантах осуществления данного аспекта изобретения переходный металл не является железом или медью.

Продукт восстановления может быть биологически активным веществом. Таким образом, третий и четвертый аспекты изобретения предоставляют, соответственно:

(i) применение соединения формулы I, как определено выше, в качестве активатора для преобразования активированного восстановлением пролекарства в соответствующее активное вещество; и

(ii) способ восстановления активированного восстановлением пролекарства, способ, включающий взаимодействие активированного восстановлением пролекарства с соединением формулы I, как определено выше.

Конкретный вариант осуществления третьего аспекта изобретения относится к применению как активатора для преобразования активированного восстановлением пролекарства в соответствующую активную субстанцию соединения формулы I, как определено выше, и основания. Идентичность и количество использованного основания, так же как и pH, при котором соединение формулы I осуществляет активацию (восстановлением) пролекарства, может быть определено относительно применения первого аспекта изобретения.

Соответственно, в конкретном варианте осуществления четвертого аспекта изобретения способ осуществляют в присутствии основания, такого как основание, как определено относительно первого аспекта изобретения. Идентичность и количество использованного основания может быть, как определено относительно применения первого аспекта изобретения. Кроме того, в другом конкретном варианте осуществления четвертого аспекта изобретения способ включает взаимодействие активированного восстановлением пролекарства с соединением формулы I, как определено выше, в присутствии раствора (например, водного раствора) или суспензии, имеющей значение pH между 7 и 11 (например, значение pH от 7,1 (такое как 7,2; 7,3; 7,4 или 7,5) до 10,9 (такое как 10,8; 10,7; 10,6; 10,5; 10,4; 10,3; 10,2; 10,1 или 10,0)). Альтернативно, способ включает взаимодействие активированного восстановлением пролекарства с соединением формулы I, как определено выше, в присутствии раствора или суспензии (в определенном объеме по существу безводной растворяющей системы, как определено выше) такого количества основания, которое при растворении или суспендировании в эквивалентном объеме воды будет давать значение pH между 7 и 11 (например, pH от 7,1 (такое как 7,2; 7,3; 7,4 или 7,5) до 10,9 (такое как 10,8; 10,7; 10,6; 10,5; 10,4; 10,3; 10,2; 10,1 или 10,0)).

Термин "пролекарство" будет хорошо понятен специалистам в данной области техники. Для избежания неопределенности, однако, термин "активированное восстановлением пролекарство" используется здесь, чтобы включить ссылки на

соединения, которые могут или не могут обладать фармакологической активностью как таковые, но которые могут быть преобразованы с помощью процесса, включающего стадию восстановления, в вещество (т.е. "соответствующее активное вещество"), обладающее фармакологической активностью, или, по меньшей мере, существенно большей фармакологической активностью, чем "пролекарство".

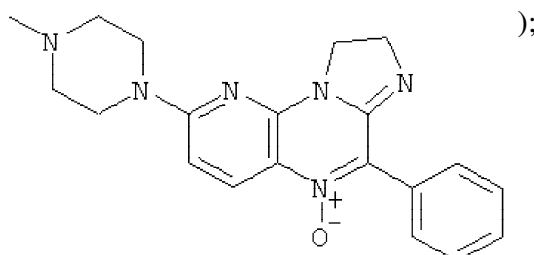
При использовании в данном описании термин "активатор (активирующее вещество)" включает ссылки на соединения формулы I, действующие с помощью процесса восстановления, чтобы превратить или инициировать превращение пролекарства в соответствующую биологически активную субстанцию.

Активируемые восстановлением пролекарства, которые можно упомянуть в этом отношении (и относительно всех важных аспектов изобретения), включают:

- (a) Метронидазол (2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-этанол);
- (b) Хлорамфеникол (2,2-дихлоро-N-[(α R, β R)- β -гидрокси- α -гидроксиметил-4-нитрофенетил]ацетамид);
- (c) Нитрофуразон (2-[(5-нитро-2-фуранил)метилен]гидразинкарбоксамида);

Метронидазол, хлорамфеникол и нитрофуразон являются цитотоксическими для клеток млекопитающих, если активированы (Bailey et al (1996)).

- (d) E09 (3-[5-азиридирил-4,7-диоксо-3-гидроксиметил-1-метил-1H-индол-2-ил]-проп- β -ене- α -ол);
- (e) SR-4233 ("тирапазамин", 3-амино-1,2,4-бензотриазин-1,4-диоксид);
- (f) RSU-1069 (1-(1-азиридирил)-3-(2-нитро-1-имидазолил)-2-пропанол);
- (g) RB-6145 (1-[3-(2-бромозетиламино)-2-гидроксипропил]-2-нитроимидазол);
- (h) AQ4N (1,4-бис([2-(диметиламино-N-оксид)этил]амино)5,8-дигидрокси-антрацен-9,10-дион);
- (i) RB90003X



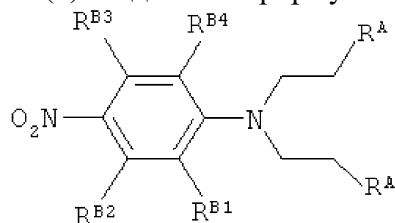
(J) Митомицин С;

(k) Митосен;

(l) циклопропамитоген;

(m) Динемидин А;

(n) соединение формулы



в которой

каждый R^A независимо представляет хлор, бром, йод или $-OS(O)_2R^C$,

R^C представляет C_{1-8} алкил (необязательно замещенный одним или больше атомами фтора) или фенил (необязательно замещенный одним или больше заместителями,

выбранными из галогена, нитро, C₁₋₄алкил и C₁₋₄алкокси),

R^{B1}-R^{B4} независимо представляют H, CN, C(O)N(R^D)R^E, C(S)N(R^D)R^E, C(O)OH, S(O)₂NHR^F,

5 или R^{B1} может дополнительно представлять NO₂,

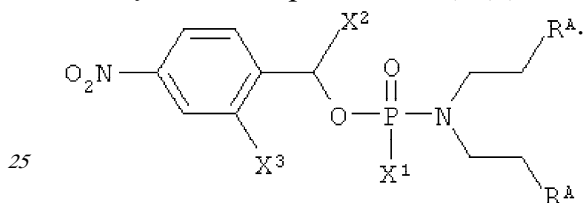
R^D и R^E независимо представляют H или C₁₋₄алкил (последняя группа которого необязательно замещена одним или больше заместителями, выбранными из OH, N(H)-C₁₋₂алкил, N(C₁₋₂алкил)₂, 4-морфолинил и C(O)OH),

10 или R^D и R^E, вместе с N-атомом, к которому они присоединены, представляют 4-морфолинил, и

R^F представляет H или S(O)₂CH₃,

обеспечивая, что R^{B2} является H, когда R^{B1} не является H,

15 например, любое одно из соединений вышеприведенной формулы, раскрытое в Anlezark et al, 1992 и 1995, таких как SN 23163, SN 23849, SN 23777, SN 23428, SN 23759, SN 24927, SN 24928, SN 24926, SN 25402, SN 25079, SN24939, SN 24935, SN 25923, SN25313, SN23856, SN 25066, SN 23816, SN 25015, SN 24971, SN 25260, SN 25261, SN 25263, SN 25084, SN 25188, SN 25507 или, особенно, SN 23862 (5-{N,N-бис[2-хлорэтил] амин}-2,4-динитробензамид); (o) соединение формулы



в которой

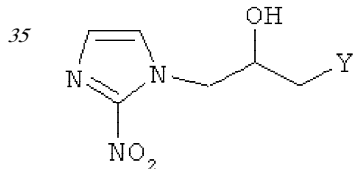
RA представляет собой, как определено выше (например, Cl), и любой

30 X¹ представляет собой NH₂, и X² и X³ оба представляют собой H,

-X¹-X²- представляет -NH-CH₂-CH₂ и X³ представляет H или

-X¹-X³- представляет -NH- и X² представляет H;

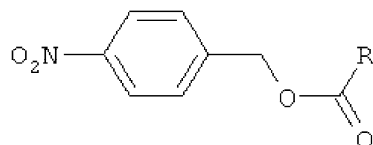
(p) соединение формулы (формулу исправить, добавить Y, OH)



40 в которой Y представляет

1-азиридилил (необязательно замещенный во 2-положении метилом), метокси (таким образом, образуя соединение мизонидазол) или N(H)CH₂CH₂Br (таким образом, образуя соединение RB6145);

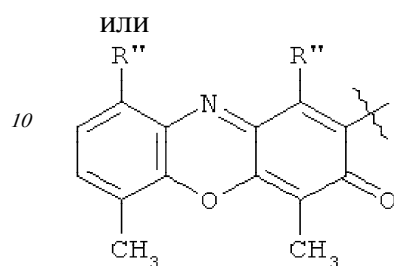
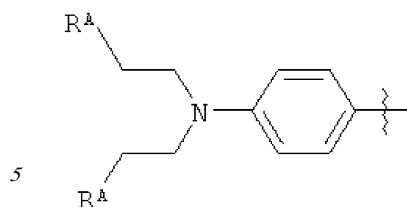
45 (q) self-immolative (саморазрушающееся) пролекарство формулы



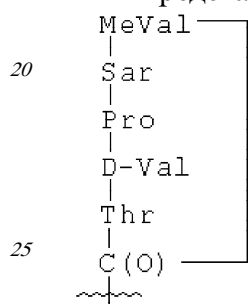
50 в которой

R представляет -O-R' или -NH-R';

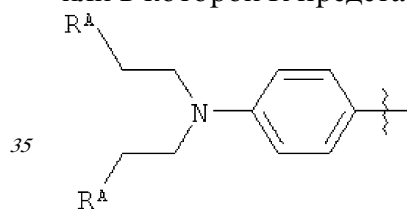
R' представляет



15 в которой волнистая линия указывает положение присоединения фрагментов,
 R^A представляет собой, как определено выше (например, Cl) и
 R'' представляет следующий пептидный лактон

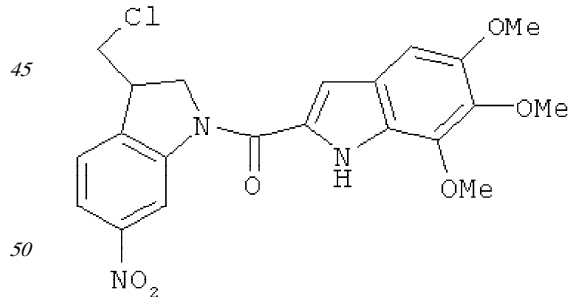


30 в котором волнистая линия указывает положение присоединения фрагмента,
 например, соединений вышеуказанной формулы, в которой R представляет $-NH-R'$,
 или в которой R представляет $-O-R'$ и R' представляет



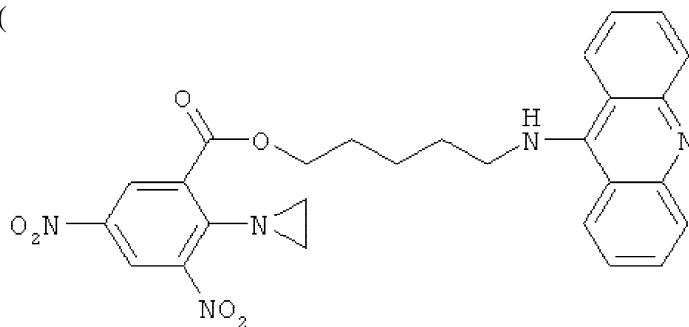
40 в которой
 R^A представляет собой, как определено выше (например, Cl);
 Саморазрушающиеся пролекарства описаны в Hu et al, 2003; Li et al, 2003 and
 Manger et al, 1994.

(г) нитроиндолиновое соединение формулы



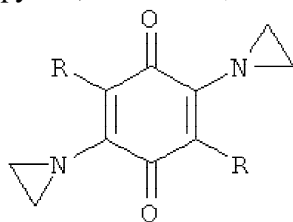
(s) акридин-СВ1954

(



(t) третазикар (5-(азиридин-1-ил)-2,4-динитробензамид);

(u) бензохинон, нафтохинон или антрахинон для применения в противораковой химиотерапии или лечении болезни, когда эффективность зависит от восстановления функции хинона, такой как 2,5-бис(1-азиридирил)-1,4-бензохинон формулы



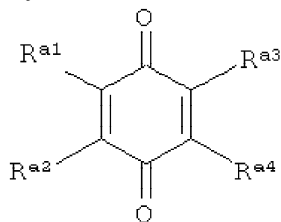
в которой каждый R независимо представляет H или $\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{OR}''$ и

в которой R' представляет H или C_{1-4} алкил, и R'' представляет C_{1-4} алкил (например, каждый R представляет $\text{NHC}(\text{O})\text{OC}_2\text{H}_5$, таким образом, образуя диазихинон ("AZQ"), или каждый R представляет H, таким образом, образуя 2,5-бис(1-азиридирил)-1,4-бензохинон ("DZQ")),

бензохинон горчичный (2-(N,N-бис[2-хлорэтил]амино)-1,4-бензохинон), адриамицин или

митомицин;

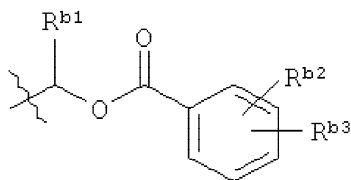
(v) конъюгированные связанные пролекарства, содержащие хиноидный остаток, который высвобождает цитотоксическое вещество после активации восстановлением (например, как описано в WO 99/61409, раскрытия которых таким образом включены путем отсылки), такое как соединение формулы



в которой R^{a1} представляет метил, $\text{N}(\text{C}_{1-2}\text{алкил})_2$ или, вместе с R^{a2} , представляет конденсированное пирроловое или фурановое кольцо (кольцо, которое необязательно замещено одним или больше заместителями, выбранными из метила и гидроксиметила),

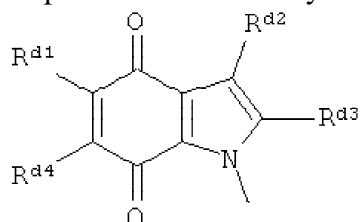
R^{a2} представляет метил или, вместе с R^{a1} , представляет конденсированное пирроловое или фурановое кольцо (кольцо, которое необязательно замещено одним или больше заместителями, выбранными из метила и гидроксиметила),

R^{a3} представляет структурный фрагмент формулы

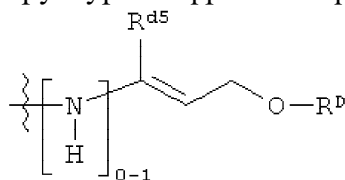


в которой волнистая линия представляет место присоединения фрагмента,
 R^{b1} представляет Н или метил,
 R^{b2} представляет $N(CH_2CH_2Cl)_2$ (например, в 3- или 4-положении) и
 R^{b3} представляет метил (например, в 4-положении) или OR^{c1} (например, в 3-положении, в котором R^{c1} представляет C_{1-6} алкил (такой как n-бутил) или C_{3-6} циклоалкилметил (такой как циклопропилметил или циклобутилметил);

(w) восстанавливаемый бензохинон, нафтохинон, антрахинон или индолохинон используют как нецитотоксическую основу для конъюгатов пролекарств, где хинон действует как триггерный (запускающий) компонент для высвобождения лекарства (например, как описано в WO 97/23456 или WO 98/35701, раскрытия которых таким образом включены путем отсылки), такого как соединение формулы



в которой R^{d1} представляет C_{1-4} алкокси, азиридин-1-ил (необязательно замещенный одной или двумя металльными группами), $-N(H)CH_2C(CH_3)_2OH$ или структурный фрагмент формулы



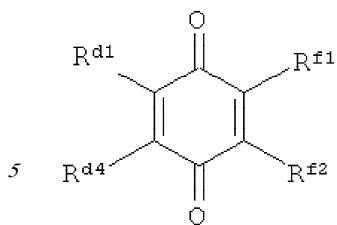
в котором волнистая линия представляет место присоединения фрагмента,
 R^{d5} представляет Н или метил и R^D представляет часть вещества (drug moiety),
 R^{d2} представляет метил, $-C(O)O(C_{1-4}$ алкил) или $-OCH_2OR^{e1}$,
 R^{e1} представляет часть вещества, Н, $R^{e2}-C(O)OR^{e3}$ или $-C(O)NH_2$,
 R^{e2} и R^{e3} независимо представляют фенил, бензил или циклогексил, последние три группы необязательно замещены одним или больше заместителями выбранными из гало, нитро, ацилокси и $-SH$,

R^{d3} представляет C_{1-3} алкил, необязательно замещенный ОН (например, метил, изопропил или 2-гидроксиэтил), или C_{3-6} циклоалкил (например, циклопропил или циклогексил),

R^{d4} представляет Н, C_{1-4} алкил, $N(R^{e4})R^{e5}$ или $N(R^{e6})C(O)OR^{e7}$,

$R^{e4}-R^{e6}$ независимо представляют Н или C_{1-4} алкил и

R^{e7} представляет C_{1-4} алкил,
или соединение формулы

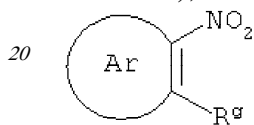


в которой R^{f1} и R^{f2} независимо представляют H , C_{1-4} алкил или R^{f1} и R^{f2} вместе представляют конденсированное бензольное кольцо (кольцо, которое необязательно замещено одним или больше заместителями, выбранными из метила и метокси)

и

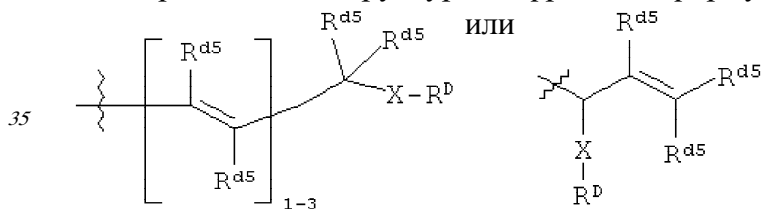
R^{d1} и R^{d4} - определено выше; и

(х) нитроароматическое или нитрогетероциклическое соединение для применения в качестве триггерной (запускающей) основы пролекарства через "самоалкилирование" после активации восстановлением в препаратывсвобождающей системе (например, как описано в WO 00/10611, раскрытия которых таким образом включены путем отсылки), такое как соединение формулы



в которой Ar представляет ароматическое (например, фенил, нафтил или антраценил) кольцо или гетероароматическое (например, пирролил, имидазолил, (бензо)фуранил, (бензо)тиенил, (бенз)оксазолил, (бензо)тиазолил, пиридинил, пиримидинил, пиразинил, индолил или (изо)хинолинил) кольцо, которое необязательно замещено одним или больше заместителями, выбранными из C_{1-4} алкил, C_{1-4} алкокси, OH , гало, $N(R^{e4})R^{e5}$ и $C(O)OR^{e6}$ (в котором R^{e4} - R^{e6} являются как определено выше),

R^g представляет структурный фрагмент формулы



или

в котором волнистая линия представляет место присоединения фрагмента, и каждый R^{d5} и R^D является, независимо в каждом случае, как определено выше, или фармацевтически приемлемой солью и/или сольватом этого (например, соединение как определено в пунктах от (a) до (t) выше).

В этом аспекте изобретения варианты осуществления, которые могут быть упомянуты, включают те, в которых активированное восстановлением пролекарство преобразуется в соответствующую активную субстанцию посредством восстановления нитрогруппы.

Действительно, в отдельном варианте осуществления соединения формулы I используют для активирования пролекарства третазикара (5-(азиридин-1-ил)-2,4-динитробензамид; известный также как CB1954; его структуру см. на фигуре 1).

Третазикар представляет собой пример вещества, которое можно использовать для

борьбы с пролиферативными расстройствами. Существует много расстройств, при которых желательно предотвратить или уменьшить клеточный рост или пролиферацию. Некоторые из этих болезней, такие как рак, являются опасными для жизни, а другие, хотя не являются опасными для жизни, являются ослабляющими (такие как псориаз) или вызывающими раздражение и приносящими неудобство (такие как бородавки). Одной стратегией борьбы с этими болезнями, особенно раком, является применение химических веществ, которые способны осуществлять образование поперечных связей ДНК и которые предотвращают или уменьшают клеточный рост или пролиферацию. Третазикар добивается образования таких поперечных связей; но только после того, как он восстановлен (по нитрогруппе) до соответствующего гидроксилamina (который затем активируется, как рассмотрено ниже).

Третазикар являлся предметом непрерывного интереса в течение 35 лет. Он был впервые синтезирован в конце 1960-х как часть серии потенциальных противораковых соединений, которые были исследованы, начиная с ранних 1950-х. Когда третазикар синтезировали и исследовали, он, по-видимому, олицетворял собой взгляд на химиотерапию рака - небольшое соединение с низким молекулярным весом, которое могло лечить раковые заболевания с минимальными токсическими побочными эффектами. Как противораковое вещество, он представляет одно из очень немногих примеров соединений, которые демонстрируют несомненную противоопухолевую селективность. К несчастью, для лечения рака у человека эта противоопухолевая селективность наблюдалась только при определенных опухолях у крыс. Основой для противоопухолевой селективности третазикара является то, что он является пролекарством, которое ферментативно активируется для получения дифункционального вещества, которое может образовывать ДНК-ДНК межнитевые поперечные сшивки. Биоактивация третазикара в клетках крысы включает аэробное восстановление его 4-нитрогруппы до 4-гидроксилamina при помощи фермента NQO1 (DT-диафораза) (фигура 2). Человеческая форма NQO1 метаболизирует третазикар намного менее эффективно, чем крысиная NQO1. Таким образом, человеческие клетки и опухоли являются нечувствительными к третазикару.

Существует дополнительный эндогенный фермент, восстанавливающий третазикар в опухолевых клетках человека, и его активность намного больше, чем активность, которую можно отнести за счет NQO1 (Knox et al, 2000) (Wu et al, 1997). Однако эта активность является латентной и определяемой только в присутствии дигидроникотинамидрибоза (NRH) (Knox et al, 2000) и не определяемой в присутствии NADH или NADPH. Ферментом, ответственным за эту активность, является NAD(P)H хиноноксидоредуктаза 2 человека (NQO2) (Knox et al, 2000) (Wu et al, 1997). В присутствии NRH, NQO2 может катализировать двухэлектронное восстановление хинонов и четырехэлектронное нитровосстановление третазикара (Wu et al, 1997). NQO2 можно рассматривать, как человеческую NRH-зависимую нитроредуктазу.

5-(Азиридин-1-ил)-4-гидроксилamina-2-нитробензамид является высокоцитотоксическим даже по отношению к клеткам, устойчивым к третазикару, и может образовывать межнитевые поперечные связи в их ДНК. Он представляет собой соединение, которое отвечает за чувствительность клеток, когда они способны активировать третазикар. Независимо от способности биоактивировать третазикар все типы клеток, по-видимому, имеют сравнимую чувствительность по отношению к восстановленному производному 4-гидроксилamina (Boland et al, 1991). Так как 5-

(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид может вызывать ДНК-ДНК межнитевые поперечные сшивки в клетках, он не может вызывать эти повреждения в «голой» (депротеинизированной) ДНК (Кнох et al, 1991a). Существует стадия дальнейшей активации, которая превращает 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид в проксимальные, ДНК-сшивающие, цитотоксические разновидности. Ферментативная эстерификация и активация гидроксиламина аналогичного, образованному при метаболизме 4-нитрохинолин-N-оксида и N-ацетиламинофлуорена, была предложена (Кнох et al, 1991a). Фактически, 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид может быть неферментативно активирован до формы, способной реагировать с «голой» ДНК с образованием межнитевых поперечных сшивок, прямой химической реакцией с ацетил-коэнзимом А и другими тиоэфирами (Кнох et al, 1991a) (фигура 2). Окончательным, ДНК-взаимодействующим, производным третазикара вероятно является 4-(N-ацетокси)-5-(азиридин-1-ил)-2-нитробензамид.

Биоактивация третазикара приводит к значительному увеличению его цитотоксичности и итоговая доза модифицированного вещества (модификации) может быть выше вплоть до 100,000 раз. Это больше, чем можно было предсказать даже при превращении моно- в дифункциональное вещество. Когда монофункциональные представители дифункциональных веществ являются пригодными, как в случае с полугорчичными (half mustards) и монофункциональными соединениями платины, эквитоксичная доза для модифицированного вещества, как видно, была выше только приблизительно в 50-200-раз (Кнох et al, 1991b; Кнох et al, 1987). Однако наблюдения относительно образования ДНК межнитевых поперечных сшивок и их свойств объясняют, почему имеет место такое большое увеличение цитотоксичности третазикара после его активации.

(i). Третазикар, вызывающий межнитевые поперечные сшивки, образуется с очень высокой частотой и может вызывать до 70% общих повреждений (Friedlos et al, 1992). Эта частота намного выше, чем частота, которая известна для большинства других веществ. Например, межнитевые поперечные сшивки представляют 2% или меньше общих реакций ДНК на цисплатин или карбоплатин (Кнох et al, 1986). Межнитевая поперечная связь является, в показателях молярной эффективности, по существу более токсичным повреждением, чем одно-нитевые диаддукты и монофункциональные повреждения. Можно ожидать, что вещество, которое порождает очень высокую долю поперечных сшивок, будет более токсичным, чем вещество, которое порождает образование поперечных сшивок только с низкой частотой.

(ii). Поперечные сшивки плохо репарируются, что может быть причиной того, что они по существу являются даже более цитотоксичными, чем индуцированные другими дифункциональными веществами (Friedlos et al, 1992).

(iii). В результате биоактивации третазикара наблюдается 10-кратное увеличение количества ДНК-связанного вещества в клетках Уокера по сравнению с клетками, которые не могут восстанавливать третазикар (Friedlos et al, 1992).

Эти необычные свойства межнитевой поперечной связи, индуцированной третазикаром, наводят на мысль, что она не похожа на те связи, которые образованы другими веществами. Межнитевую поперечную связь(и), индуцированную третазикаром, еще надо полностью идентифицировать. Однако 4-гидроксиламин (после активации, как подробно описано выше) преимущественно реагирует в С8 положении дезоксигуанозина. В ДНК это будет передавать функцию азиридина (leave the aziridine function poised to react) реагировать на противоположной нити и

образовывать наблюдаемые поперечные сшивки. Исследования с помощью молекулярного моделирования показывают, что это второе плечо реакции предпочтительно будет происходить в положении Об дезоксигуанозина на противоположной нити ДНК (Knox et al, 2003; Knox et al, 1991a). Такая С8-Об ДНК
 5 межнитевая поперечная связь должна быть уникальной, так как она не вызывается другими типами алкилирующих или платинирующих веществ и может являться причиной уникальных свойств третазикара.

Эти свойства, в совокупности с селективностью стадии биоактивации, объясняют, почему третазикар был так исключительно эффективен в качестве
 10 противоопухолевого вещества у крысы, обеспечивают логическое обоснование для его применения в G(V)DEPT и активацию посредством NQO2 у человека (Knox et al, 2003) (Burke & Knox, 1998).

Третазикар также можно использовать для селективного удаления клеток у трансгенных мышей. Обусловленное нацеленное удаление клеточных популяций у живых трансгенных животных представляет собой очень мощную стратегию для определения клеточных функций in vivo. Нацеленное удаление достигается с помощью конструирования трансгена, включающего бактериальную нитроредуктазу, которая
 15 может активировать третазикар аэробным путем (NTR) (Anlezark et al, 1992; Knox et al, 1992) и предопределять тканеспецифические промоторы, и введения его в фертилизированные яйца (ооциты) исследуемого животного - обычно мыши. После рождения устанавливают геномную интеграцию трансгена, и мышь-основательница дает начало созданию трансгенных линий. Животных обрабатывают третазикаром на различных стадиях развития для того, чтобы оценить действие отдельного удаления
 20 клеточной популяции, которую исследуют. Клеточное удаление происходит очень быстро, начинаясь уже через 7 часов после введения пролекарства, и, по-видимому, является независимым от функционального p53 (On et al, 1999). Примеры применения этой системы включают люминальные клетки молочной железы трансгенной мыши.
 30 Обработка мышей, экспрессирующих NTR, приводит к быстрому и селективному уничтожению этой популяции клеток, тогда как тесно связанные миоэпителиальные клетки не были затронуты. Другие примеры селективного удаления с использованием этой системы наблюдали в адипоцитах (Felmer et al, 2002), астроцитах (Cud et al, 2001) и нейронах (Isles et al, 2001; Ma et al, 2002).

Отсутствие влияния на расположенные рядом клеточные популяции является важным. Известно, что гидроксилламин способен мигрировать на короткие дистанции, и таким образом можно ожидать, что он будет влиять на расположенные рядом
 40 клетки (Bridgewater et al, 1997; Friedlos et al, 1995). В вышеупомянутых экспериментах фундаментальное различие состоит в том, что клеточные популяции-мишени делятся, тогда как расположенная рядом ткань вероятно не делится. Известно, что активация третазикара является эффективной против неделящихся (ациклических) клеток (Bridgewater et al, 1995). Однако этот эффект может быть измерен только с
 45 помощью предоставления возможности этим клеткам вступить в деление. Таким образом, вот что, по-видимому, происходит: третазикар, вызывающий повреждение ДНК (т.е. ДНК межнитевые поперечные сшивки), вызывает повреждение в обеих клеточных популяциях, и делящихся и неделящихся, но это только приводит к
 50 клеточной цитотоксичности, когда клетка стремится войти в деление, в то время как ее ДНК по-прежнему повреждена. Наоборот, S-фаза - специфические вещества, такие как антифолаты, действуют только на клетки, которые находятся в стадии деления в то время, когда вещество там присутствует.

В экспериментах по удалению ткань, которая должна быть удалена, является делящейся, а прилегающие ткани, вероятно, - нет, соответственно получается очень чистый результат. Повреждение ДНК не является постоянным и медленно восстанавливается (репарируется) (Friedlos et al, 1992). Следствием является промежуток времени, в который неделящиеся ткани могут репарировать повреждения, но любые клетки, вступившие в деление, будут уничтожены. Продолжительность этого промежутка будет зависеть от количества первоначально вызванного повреждения ДНК. В клеточных линиях перекрестные сшивки, вызванные третазикаром, репарируются с полупериодом около 55 часов (Friedlos et al, 1992). Это намного длиннее, чем для других веществ, вызывающих образование поперечных сшивок в ДНК (Friedlos et al, 1992), и, экстраполируя это на ситуацию *in vivo*, дает промежуток времени (10х полупериоды) около 3-х недель.

При лечении рака подобная ситуация будет возникать, и непролиферирующая ткань должна быть устойчива к действиям активированного третазикара, пока она входит в клеточное деление в этот промежуток времени.

Подобные аргументы могут быть приведены для других дифункциональных алкилирующих веществ и платинирующих веществ. Однако их вводят системно и в результате получают токсическое действие на нормальные ткани хозяина, которые наиболее быстро делятся, такие как костный мозг, слизистая оболочка пищеварительного канала и лимфатическая система. Так как третазикар является пролекарством, этого можно избежать посредством подходящего распространения активирующего фермента (NQO2) или путем введения вируса (G(V)DEPT). Активное производное 4-гидроксиламин имеет очень короткий период полураспада и не может очень далеко мигрировать от места активации, так что не существует эффекта «депо». Кроме того, большинство солидных раков человека не имеет высокой доли клеток, которые пролиферируют сколько-нибудь одновременно, и более широкий промежуток времени уничтожения, получающийся в результате относительно плохого восстановления вызванной третазикаром перекрестной сшивки, может быть преимуществом.

Фаза I и фармакокинетическое исследование третазикара были выполнены ранее (Chung-Faye et al, 2001), из которых можно было заключить, что третазикар может быть безопасно введен человеку в дозе вплоть до 24 мг/м² без какой-либо значительной токсичности (было найдено, что MTD составляет 37,5 мг/м²).

Применение третазикара на людях ограничивается или практическим аспектом G(V)DEPT технологии, или распределением NQO2. Однако третазикар может быть терапевтически выгодным для лечения других видов рака (или других болезней нежелательного клеточного роста или пролиферации), если он будет активирован поблизости. Таким образом, система для активирования третазикара, например, в шейке матки, мочевом пузыре, мозге, грудной клетке или локально, должна изолировать активирующую систему от системной циркуляции и позволить этому произойти. Теоретически, это может быть сделано с применением фермента и ко-субстрата, хотя с практическими трудностями. Однако существуют альтернативные способы восстановления нитрогрупп. Электролитическое восстановление не является реальным *in vivo*, но нитрогруппы могут быть восстановлены химическим путем.

Было сообщено о химическом восстановлении третазикара до 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида с применением цинковой пыли и карбоната аммония в ацетоне с 13% выходом (Knox et al, 1988) или с применением гидрата гидразина/Pd-C в тетрагидрофуране с 28% выходом (Knox et al, 1993). Ни один из этих

синтетических путей не может рассматриваться для применения *in vivo*.

Подобные рассуждения применяют к другим пролекарствам, активируемым восстановлением.

Изобретатель неожиданно обнаружил новую химическую систему восстановления, которая позволяет активируемому восстановлением пролекарству быть восстановленным до соответствующего активного вещества, например, и в водных растворах, и в кремах. Открытие делает возможным потенциально новое лечение, при котором желательно применять активное вещество непосредственно на пациенте (например, для лечения определенных видов рака, предраковых состояний (например, злокачественного лангига или, особенно, старческого кератоза) и болезней кожи, таких как псориаз, который является по существу сверхпродукцией клеток кожи).

Как подробно описано в примерах, изобретатель обнаружил, что соединение формулы I, такое как ДНА, может быть применено для преобразования активируемого восстановлением пролекарства (такого как третазикар) в соответствующее активное вещество (например, в случае третазикара, 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид).

Таким образом, пятый аспект изобретения обеспечивает композицию, включающую:

- (a) активируемое восстановлением пролекарство, как определено выше; и
- (b) соединение формулы I, как определено выше.

Когда пролекарство является, например, третазикаром, такая композиция, при подходящих условиях, обсужденных ниже, будет со временем производить 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид, который способен вызывать поперечные сшивки ДНК в клетках, как рассмотрено выше.

Следует принять во внимание, что вышеупомянутую композицию, содержащую активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I, легко получают смешиванием композиции, содержащей активируемое восстановлением пролекарство, и композиции, содержащей соединение формулы I. Таким образом, шестой аспект изобретения обеспечивает набор, состоящий из частей, включающий первую часть, которая содержит активируемое восстановлением пролекарство, как описано выше, и вторую часть, которая содержит соединение формулы I, как определено выше.

Обычно две части набора являются композициями, которые совместимы друг с другом (например, они обе имеют один и тот же физический вид, такой как кремы, водные растворы и гели) и при смешивании способны производить соответствующее активное вещество (например, в случае третазикара, 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид) из реакции между активируемым восстановлением пролекарством и соединением формулы I (например, ДНА) при подходящих условиях.

Такой набор из частей может также рассматриваться как являющийся терапевтической системой, которая находит применения в борьбе с нежелательным клеточным ростом или пролиферацией, как подробно рассмотрено ниже.

Удобно, что набор, состоящий из частей, или терапевтическая система содержит инструкции по применению активируемого восстановлением пролекарства и соединения формулы I и, в частности, они содержат инструкции по объединению частей, которые содержат активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I, включая установление времени, когда их объединяют перед применением получающейся в результате композиции, содержащей активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I для лечения (например, в борьбе с

нежелательным клеточным ростом и пролиферацией).

Обычно композиция пятого аспекта изобретения, содержащая активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I, и композиция каждой части набора, состоящего из частей шестого аспекта изобретения, представляют собой

5 фармацевтические композиции, в которых комбинация активируемого восстановлением пролекарства и соединения формулы I, и отдельно активируемого восстановлением пролекарства и соединения формулы I в частях набора, состоящего из частей, объединяют (комбинируют) с фармацевтически приемлемым носителем.

10 Подобным образом, изобретение также включает фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы I, как определено выше, и фармацевтически приемлемый носитель и фармацевтическую композицию, содержащую 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и фармацевтически приемлемый носитель.

15 Тип фармацевтической композиции будет зависеть от способа, с помощью которого она используется в лечении пациента, и, в частности, будет зависеть от способа введения пациенту.

Обычно композиция или фармацевтическая композиция согласно пятому аспекту изобретения или набор, состоящий из частей, или терапевтическая система согласно

20 шестому аспекту изобретения, является композицией для лечения расстройств кожи или мембран, доступных при пальпировании (таких как мембрана рта, вагины, шейки матки, ануса и ректума), которая пригодна для местного применения. Такие фармацевтические композиции включают кремы, мази, лосьоны, спреи и гели.

Обычно для лечения расстройств в организме (и, в частности, в полостях тела)

25 фармацевтическая композиция находится в форме стерильного, апирогенного водного раствора или суспензии. Обычно соединение формулы I может находиться в растворе. Обычно активируемое восстановлением пролекарство может быть изготовлено как суспензия.

30 Способы получения фармацевтических композиций, таких как кремы, мази, лосьоны и стерильные, апирогенные водные растворы или суспензии, хорошо известны в данной области техники. Например, мази могут быть приготовлены суспендированием или растворением компонентов композиции, набора, состоящего из частей, или терапевтической системы, например, в смеси с одним или больше из

35 следующего: минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, соединения полиоксиэтилен полиоксипропилен, эмульгирующий воск и вода. Также для лосьонов или кремов, компоненты композиции, набора, состоящего из частей, или терапевтической системы могут быть суспендированы или растворены, например, в

40 смеси одного или больше из следующего: минеральное масло, сорбитмоностеарат, полиэтиленгликоль, ланолин, жидкий парафин, белый мягкий парафин, полисорбат 60, цетилэфир воск, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и вода.

В настоящем случае является предпочтительным, если композиция или фармацевтическая композиция согласно пятому аспекту изобретения является

45 умеренно щелочной. Что касается композиции, содержащей комбинацию третазикара и соединения формулы I, является особенно предпочтительным, если композиция является умеренно щелочной, так как умеренная щелочность способствует выработке 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида из третазикара и

50 соединения формулы I, и комбинация третазикара и соединения формулы I может быть нереагирующей при нейтральном или кислотном pH.

Относительно композиций или фармацевтических композиций, которые представляют компоненты набора, состоящего из частей, или терапевтической

системы согласно шестому аспекту изобретения (т.е. композиции, включающие, отдельно, активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I), является особенно предпочтительным то, что, когда они объединены, получающаяся в результате комбинация является умеренно щелочной.

Предпочтительно, если отдельное соединение компонента формулы I является умеренно кислым. Предпочтительно, если компонент активируемого восстановлением пролекарства является умеренно щелочным (особенно для таких соединений, как третазикар, который является нестабильным при кислом pH). Предпочтительно, что объединенный продукт является умеренно щелочным.

Посредством "умеренно щелочной" мы включаем значения pH, которые имеет композиция от 8 до 10,5, более предпочтительно от 9 до 10.

Следует принять во внимание, что когда фармацевтическая композиция является водным раствором, ее щелочность (pH) может быть измерена непосредственно, например, с помощью полос индикаторной бумаги для измерения pH или растворов, или с помощью pH электрода. Что касается оценки щелочности (pH) других композиций, таких как кремы, композицию можно смешать или экстрагировать с водой и можно измерить pH водного раствора, полученного при смешивании или экстракции.

Например, что касается крема, pH крема легко измерить, смешав с помощью мешалки 0,2 мг крема с 1 мл воды в течение 10 секунд. Суспензию делают прозрачной с помощью центрифугирования и измеряют pH воды.

Щелочность композиции можно контролировать посредством применения буферов, что хорошо известно в данной области техники. Физиологически приемлемые и принятые для использования в медицине буферы также хорошо известны в данной области техники.

Предпочтительной буферной системой является комбинация бикарбоната натрия (NaHCO_3) и карбоната натрия (Na_2CO_3). Этот буфер особенно пригоден для применения в креме.

Изобретатель обнаружил, что посредством изменения исходных концентраций буферов можно контролировать и продолжительность и степень реакции между активируемыми восстановлением пролекарствами (например, третазикар) и соединениями формулы I (например, ДНА). Значение pH действует на скорость реакции и таким образом на протяженность реакции в течение данного периода времени. Продолжительность реакции можно проконтролировать посредством силы буфера. При реакции, по-видимому, образуются протоны, и это будет истощать буфер. Когда буфер истощен, pH будет падать, и реакция будет эффективно остановлена. Посредством изменения силы буфера (концентрации) время, когда это происходит, может быть изменено. Предпочтительно буферная система выбрана так, что когда активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I смешаны, 50% реакции осуществляется в течение 60 минут.

Предпочтительно, если композиция пятого аспекта изобретения, которая включает активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I, содержит молярный избыток соединения формулы I по сравнению с активируемым восстановлением пролекарством. Подобным образом, предпочтительно, если в наборе, состоящем из частей, или терапевтической системе, когда части объединены, существует молярный избыток соединения формулы I по сравнению с активируемым восстановлением пролекарством. Предпочтительно, молярный избыток соединения формулы I по сравнению с активируемым восстановлением пролекарством составляет

больше чем 4:1, такой как >5:1 (соединение формулы I: активируемое восстановлением пролекарство, например, ДНА: третазикар), более предпочтительно >10:1.

В композиции или фармацевтической композиции согласно пятому аспекту изобретения, или в наборе, состоящем из частей, или в терапевтической системе

5 согласно шестому аспекту изобретения, предпочтительным является, что:
(а) концентрация активируемого восстановлением пролекарства (например, третазикара) в композиции, содержащей указанный компонент, находится в пределах от 0,5 до 5% вес./вес. (например, от 0,5 до 1% вес./вес.) композиции (например, от 5 до 10 мг на грамм композиции); и

10 (b) концентрация соединения формулы I (например, ДНА) в композиции, содержащей указанный компонент, находится в пределах от 2,5 до 10% вес./вес (например, от 5 до 10% вес./вес.) композиции (например, от 50 до 100 мг на грамм композиции).

15 Насколько известно изобретателю, никто ранее не предлагал применение третазикара для местного введения, например в креме или лосьоне или мази. Таким образом, следующий аспект изобретения обеспечивает композицию, включающую третазикар, для местного введения; предпочтительно, фармацевтическую композицию. Композиция может быть в форме крема или лосьона или мази.

20 Применение определенных соединений формулы I (ДНА и глицеральдегида) для лечения (лечения микробных инфекций или для уничтожения раковых клеток) раскрыто в WO 2006/003492, Naturwissenschaften 51, 217-218 (1964) и Cancer Chemother. Rep, (Part I) 52(7), 687-696 (1968). Однако, насколько известно изобретателю, никто ранее не предполагал, что соединение формулы I, помимо ДНА или глицеральдегида, может быть использовано в медицине. Таким образом, следующий аспект изобретения предоставляет соединение формулы I, как определено выше, для применения в

25 медицине, при условии, что соединение не является ДНА или глицеральдегидом. Соединение формулы I оформлено и представлено для применения в медицине.

30 Изобретение также включает фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы I, как определено выше, и фармацевтически приемлемый носитель при условии, что соединение не является ДНА или глицеральдегидом. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция не является кремом или лосьоном или мазью или спреем. Предпочтительно, если фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I, является стерильным, апиrogenным

35 инъектируемым водным раствором. Хотя 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиамино-2-нитробензамид известен как продукт нитровосстановления третазикара, насколько известно изобретателю, никто не предполагал, что композиция, такая как фармацевтическая композиция, как рассмотрено выше, содержащая его, может быть использована в медицине. Таким образом, еще один аспект изобретения предоставляет 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиамино-2-нитробензамид для применения в медицине.

40 Как детализировано выше, четвертый аспект изобретения относится к способу восстановления активируемого восстановлением пролекарства, включающему взаимодействие активируемого восстановлением пролекарства с соединением формулы I, как определено выше. Обычно активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I взаимодействуют в подходящем водном растворе. Предпочтительно, раствор является умеренно щелочным, как описано выше.

45 Изобретатель обнаружил, что когда этот способ выполняют с третазикаром и ДНА, осуществление реакции при pH 9 дает более быструю скорость восстановления, чем

при pH 10, и дает наиболее предпочтительный продукт 4-гидроксиламин (по сравнению с продуктом 2-гидроксиламином) с очень высоким выходом. Также предпочтительно в этих способах существует молярный избыток соединения формулы I по сравнению с активируемым восстановлением пролекарством, предел и предпочтительный молярный избыток является таким, как описано выше. При использовании реакции третазикара с соединениями формулы I способы могут также включать добавочную стадию очистки продукта 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида из реакционной смеси, например, с помощью любого подходящего метода разделения, такого как HPLC.

Примечательно, что нитрогруппы в таких соединениях, как третазикар, восстанавливаются только до гидроксиламиновой группы (а не до другой группы, такой как нитрозо или аминокгруппа).

Таким образом, согласно следующему аспекту изобретения, обеспечено применение соединения формулы I, как определено выше, для селективного восстановления органического нитросоединения до соответствующего гидроксиламина. В отдельном варианте осуществления этого аспекта изобретения имеет место применение соединения формулы I и основания. Идентичность и количество использованного основания, так же как и pH, при котором соединение формулы I влияет на восстановление нитросоединения, может быть, как определено в отношении применения первого аспекта изобретения.

Подобным образом, изобретение также предоставляет способ для селективного восстановления органического нитросоединения до соответствующего гидроксиламина, указанный способ, включающий взаимодействие указанного органического нитросоединения с соединением формулы I, как определено выше. В отдельном варианте осуществления способ включает взаимодействие органического нитросоединения с соединением формулы I и основанием. Идентичность и количество использованного основания может быть, как определено в отношении применения первого аспекта изобретения. Кроме того, в другом отдельном варианте осуществления способ включает взаимодействие органического нитросоединения с соединением формулы I, как определено выше, в присутствии раствора (например, водного раствора) или суспензии, имеющей значение pH между 7 и 11 (например, при значении pH от 7,1 (таком как 7,2; 7,3; 7,4 или 7,5) до 10,9 (таком как 10,8; 10,7; 10,6; 10,5; 10,4; 10,3; 10,2; 10,1 или 10,0)).

Органическое нитросоединение может быть, например, любым из нитросоединений, описанных выше. Особенно, однако, органическое нитросоединение является ароматическим или гетероароматическим нитросоединением.

При использовании здесь термин "ароматическое нитросоединение" включает ссылки на соединения, содержащие C_{6-14} карбоциклическую ароматическую группу (например, фенил, нафтил, антраценил, или фенантренил группу), ароматическую группу, которая несет нитрозаместитель. В добавление к тому, что она несет нитрозаместитель, ароматическая группа необязательно, кроме того, замещена одним или больше заместителями, выбранным из C_{1-6} алкил, C_{1-6} алкокси (у которого последние две группы необязательно замещены одним или больше заместителями, выбранным из гало, OH, C_{1-4} алкокси, Het и арил), OH, гало (такой как фтор, хлор, бром, йод), циано, нитро, CO_2R^a , $C(O)NR^bR^c$, $S(O)_{1-2}R^d$, $S(O)_2NR^bR^c$, $N(R^b)R^c$, Het, азиридирил и арил, в котором с R^a по R^d независимо представляют C_{1-6} алкил (необязательно замещенный одним или больше заместителями, выбранным из гало, OH, C_{1-4} алкокси, Het и арил), Het или арил, или с R^a по R^c могут альтернативно (и

независимо) представлять Н, и в котором Het и арил являются такими, как определено выше.

В определенных вариантах осуществления карбоциклическая ароматическая группа несет, кроме того, по меньшей мере, один электроноакцепторный заместитель, например один или больше (например, один или два) заместителей, выбранных из гало (такой как фтор, хлор, бром или йод), циано, нитро, CO_2R^a , $\text{C}(\text{O})\text{NR}^b\text{R}^c$, $\text{S}(\text{O})_{1-2}\text{R}^d$ и $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^b\text{R}^c$, в котором с R^a по R^d являются, как определено выше. Как будет понятно специалистам в данной области техники, модель (образец) замещения карбоциклической ароматической группы будет влиять на восстановительный потенциал нитрокомпонента, присоединенного к этой группе. Как правило, можно предполагать, что добавление электроноакцепторных заместителей к этой группе увеличит (т.е. сделает менее отрицательным) восстановительный потенциал (E^2 или E^0 , как измерено, например, с помощью полярографии). В еще одном отдельном варианте осуществления карбоциклическая ароматическая группа несет, кроме того, по меньшей мере, один нитрозаместитель.

При использовании здесь термин «гетероароматическое нитросоединение» включает ссылки на соединения, содержащие гетероароматическую группу (состоящую из 5-14 членов), содержащую один или больше гетероатомов, выбранных из кислорода, азота и/или серы, гетероароматическую группу, которая может включать одно, два или три кольца, и гетероароматическую группу, которая несет нитрозаместитель. Гетероароматическая группа необязательно несет один или больше заместителей, выбранных из C_{1-6} -алкил, C_{1-6} -алкокси (у которого последние две группы необязательно замещены одним или больше заместителями, выбранным из гало, ОН, C_{1-4} -алкокси, Het и арил), ОН, оксо, гало (такой как фтор, хлор, бром или йод), циано, нитро, CO_2R^a , $\text{C}(\text{O})\text{NR}^b\text{R}^c$, $\text{S}(\text{O})_{1-2}\text{R}^d$, $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^b\text{R}^c$, $\text{N}(\text{R}^b)\text{R}^c$, Het, азиридирил и арил, в котором с R^a по R^d являются, как определено выше. Для избежания неопределенности термин «гетероароматическое нитросоединение» включает упоминание частично-ароматических гетероциклических групп, содержащих два или три кольца, в которых, по меньшей мере, одно кольцо (но не все кольца) является ароматическим. В этой системе колец предпочтительно, что нитрогруппа присоединяется к ароматическому кольцу.

Отдельная гетероароматическая система колец, которая может быть упомянута в связи с термином "гетероароматическое нитросоединение", включает бензимидазолил, бензо[с]изоксазолидинил, бензисоксазолил, бензофуранил, бензофуразанил, 2,1,3-бензоксадиазолил, бензоксазолил, бензопиразолил, бензо[е]пиримидин, 2,1,3-бензотиадиазолил, бензотиазолил, бензотиенил, бензотриазолил, циннолинил, фуранил, имидазолил, имидазо[1,2-а]пиридинил, имидазо[2,3-б]тиазолил, индолил, изохинолинил, изоксазолил, нафто[1,2-б]фуранил, оксадиазолил, оксазолил, фталазинил, пуринил, пиазинил, пиазолил, пиридинил, пиримидинил, пирроло[2,3-б]пиридинил, пирроло[5,1-б]пиридинил, пирроло[2,3-с]пиридинил, пирролил, хинолинил, хинолинил, тиадиазолил, тиазолил, тиенил, тиено[5,1-с]пиридинил, триазолил, 1,3,4-триазоло[2,3-б]пиримидинил, ксантенил, бензодиоксанил, бензодиоксепанил, бензодиоксолил, бензоморфолинил, бензоксазолидинил, хроманил, хроменил, 2,3-дигидробензимидазолил, 2,3-дигидробензо[б]фуранил, 1,3-дигидробензо[с]фуранил, 1,3-дигидро-2,1-бензизоксазолил, 2,3-дигидропирроло-[2,3-б]пиридинил, 4,5,6,7-тетрагидробензимидазолил, 4,5,6,7-тетрагидробензопиразолил, 5,6,7,8-тетрагидробензо[е]пиримидин, тioxроманил и тому подобное.

Изобретатель неожиданно обнаружил, что восстановление восстанавливаемых соединений (например, восстанавливаемых органических соединений, таких как органические нитросоединения или активируемые восстановлением пролекарства) посредством соединения формулы I, как определено выше, может быть эффективно выполнено добавлением соединения формулы I к заранее образованной смеси (например, раствору или суспензии) восстанавливаемого соединения и основания.

Таким образом, согласно следующему аспекту настоящего изобретения обеспечен способ восстановления восстанавливаемого соединения, указанный способ, включающий добавление соединения формулы I, как определено выше, к смеси указанного восстанавливаемого соединения и основания, в котором основание представляет собой, как определено выше в отношении первого аспекта изобретения.

Восстанавливаемое соединение может быть восстанавливаемым органическим соединением, таким как органическое нитросоединение или активируемое восстановлением пролекарство, как определено выше (например, третазикар). В этом аспекте изобретения соединение формулы I может быть, в частности, ДНА.

Смесь восстанавливаемого соединения и основания может быть, например, раствором или суспензией в воде или, особенно, в органической системе растворителей. Отдельные системы растворителей, которые могут быть упомянуты в этом отношении, включают низшие (C_{1-4})алкил спирты (такие как изопропанол, этанол или метанол), хлорированные углеводороды (такие как дихлорометан), воду и смеси этого (или моно- или двухфазные). Отдельные основания, которые могут быть упомянуты, включают бикарбонаты щелочного металла (например, натрия или калия) или, особенно, карбонаты (например, карбонат калия, такой как безводный карбонат калия).

Восстановление может быть выполнено, например, при температуре внешней среды или выше. В отдельных вариантах осуществления изобретения реакцию проводят при повышенной температуре (например, выше 25°C), такой как между 30 и 100°C (например, от 40 до 70°C , такой как приблизительно 60°C). Восстановление может быть также выполнено при реальном отсутствии окислительных агентов, таких как атмосферный кислород. Таким образом, в отдельных вариантах осуществления изобретения реакцию проводят в инертной атмосфере (например, в атмосфере азота или аргона) и/или используя дезоксигенированные (или дегазированные) растворители и/или реактивы.

В более конкретном варианте осуществления изобретения восстанавливаемое соединение поддерживают в стехиометрическом избытке по сравнению с вычисленным числом молей соединения формулы I, необходимым для выполнения требуемого восстановления. В этом отношении и без желания быть ограниченным теорией полагают, что соединение формулы I обеспечивает один моль эквивалента гидрида на моль димера формулы Ia (т.е. один моль эквивалента гидрида на два моля соединения формулы I). Таким образом, например, для восстановления нитро до гидроксиламина (восстановление двумя электронами, требующее предоставления двух эквивалентов гидрида) число молей соединения формулы I, необходимых для выполнения требуемого восстановления, это четыре моля на моль нитросоединения.

Соединение формулы I может быть добавлено с любой скоростью к смеси восстанавливаемого соединения и основания. Однако в отдельных вариантах осуществления изобретения соединение формулы I добавляют к смеси медленно, такой как самое большее 2 молярных эквивалента (относительно восстанавливаемого соединения) в минуту (например, самое большее 1,75; 1,5; 1,25; 1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6;

0,5; 0,4, 0,3 или особенно, 0,2 или 0,15 молярных эквивалентов в минуту).

Как упомянуто выше, восстанавливаемое соединение может быть третазикаром. Таким образом, отдельный вариант осуществления этого аспекта изобретения относится к способу получения 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-
5 нитробензамида (или 5-(азиридин-1-ил)-2-гидроксиламино-4-нитробензамида), указанному способу, включающему:

(а) обеспечение смеси третазикара и основания; и

(б) добавление самое большее четырех молярных эквивалентов соединения
10 формулы I (или, в альтернативе, самое большее двух молярных эквивалентов димерной формы соединения формулы I (т.е. соединения формулы Ia)).

Соединение формулы I может, в конкретном варианте осуществления, быть ДНА. Эта реакция может быть выполнена при условиях (и с использованием основания и/или растворителей) описанных выше в отношении способа восстановления
15 восстанавливаемого соединения. Кроме того, варианты осуществления этого аспекта изобретения включают те, в которых способ содержит дальнейшую стадию отделения продукта 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида от ко-продукта 5-(азиридин-1-ил)-2-гидроксиламино-4-нитробензамида, если он вырабатывается.
20 Отделение может быть осуществлено с помощью методик, известных специалистам в данной области техники (например, фракционированной кристаллизацией, рекристаллизацией хроматографией, экстракцией растворителем, вакуумной возгонкой и т.д.).

Следующий аспект изобретения обеспечивает способ борьбы с нежелательным
25 ростом или пролиферацией клеток в каком-либо месте у индивидуума, способ, включающий обеспечение активируемого восстановлением пролекарства антипролиферативного средства (например, третазикара), и соединения формулы I, как определено выше, в указанном месте у индивидуума.

При использовании здесь термин "активируемое восстановлением пролекарство
30 антипролиферативного средства" включает ссылку, в частности, на активируемое восстановлением пролекарство, определенное выше, такое как Митомицин С, E09, RSU-1069, RB-6145 и, особенно, третазикар.

Активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I могут быть
35 объединены перед введением индивидууму или они могут быть введены отдельно.

Например, в отношении местного применения удобно объединить композицию, содержащую активируемое восстановлением пролекарство, и композицию, содержащую соединение формулы I (в обоих случаях композиция представляет собой
40 такую композицию, которая пригодна для местного введения), перед введением индивидууму. Этот вариант осуществления описан более подробно (со ссылкой на комбинацию третазикара и ДНА) в случае, когда композиция для местного введения является кремом в примерах 2 и 3 ниже.

Подобным образом, в отношении введения в полости тела, легко объединяют
45 композицию, содержащую активируемое восстановлением пролекарство, и композицию, содержащую соединение формулы I (в обоих случаях композиция является такой композицией, которая пригодна для введения в полость тела) перед введением. Однако также возможно, чтобы объединение происходило внутри полости
50 тела (например, отдельные стерильные апиогенные растворы или суспензии активируемого восстановлением пролекарства и соединения формулы I могут быть введены в полость тела), и первоначальное взаимодействие активируемого восстановлением пролекарства и соединения формулы I будет происходить в полости

тела. В одном варианте осуществления активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I могут быть введены совместно, например, при нейтральных условиях и затем может быть введено вещество (такое как буфер), чтобы сделать окружающую среду в полости тела умеренно щелочной. Обычно, однако,

активируемое восстановлением пролекарство (или его объединение с соединением формулы I) находится в щелочной среде.

Следует принять во внимание, что когда активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I объединяют при подходящих условиях перед введением индивидууму, образуется соответствующая активная субстанция (например, в случае третазикара, 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид), которую затем вводят индивидууму. Таким образом, еще один аспект изобретения предоставляет способ борьбы с нежелательным ростом и пролиферацией клеток в каком-либо месте у индивидуума, способ, включающий введение или обеспечение композиции, содержащей 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид в указанном месте у индивидуума.

Кроме того, дальнейшие аспекты изобретения обеспечивают:

- (i) применение комбинации активируемого восстановлением пролекарства антипролиферативного средства, как определено выше, и соединения формулы I, как определено выше, для получения медикамента для борьбы с нежелательным ростом и пролиферацией клеток у индивидуума; и
- (ii) применение 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида для получения медикамента для борьбы с нежелательным ростом и пролиферацией клеток у индивидуума.

Соответствующие аспекты изобретения относятся к способу лечения нежелательного роста или пролиферации клеток, указанному способу, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении:

- (i) комбинированного продукта, содержащего активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства, или фармацевтически приемлемую соль и/или их сольват, и соединение формулы I; или
- (ii) эффективное количество 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида.

Комбинированный продукт может представлять собой набор из частей или комбинированный препарат. Таким образом, этот аспект изобретения осуществляет введение пациенту:

- (a) композиции, содержащей
- (I) активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства, или фармацевтически приемлемую соль и/или их сольват,
- (II) соединение формулы I, как определено выше и, необязательно
- (III) фармацевтически приемлемый адъювант, растворитель (разбавитель) или носитель; или

- (b) набор из частей, включающий
- (I) первую часть, которая содержит активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства, или фармацевтически приемлемую соль и/или их сольват, и

- (II) вторую часть, которая содержит соединение формулы I, как определено выше.

Следующие аспекты изобретения относятся к комбинированному продукту (т.е. композиции или набору из частей) самому по себе (per se). В этих аспектах изобретения активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства является тем как определено выше.

Обычно, две части набора из частей являются композициями, которые совместимы друг с другом (например, они обе имеют физический вид, такой как кремы, водные растворы и гели) и при смешивании способны производить соответствующее активное вещество (например, в случае третазикара, 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-
5 нитробензамид) в результате реакции активируемого восстановлением пролекарства и соединения формулы I (например, ДНА) при подходящих условиях.

Такой набор из частей также можно рассматривать как являющийся терапевтической системой, которая находит применение в борьбе с нежелательным
10 ростом клеток или пролиферацией.

Удобно, что набор из частей или терапевтическая система содержит инструкции по применению активируемого восстановлением пролекарства антипролиферативного средства и соединения формулы I и, в частности, они содержат инструкции по
15 объединению частей, которые содержат активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства и соединение формулы I, включая установление времени, когда их объединяют перед применением получающейся композиции, содержащей активируемое восстановлением пролекарство и соединение формулы I, в лечении (например, в борьбе с нежелательным ростом клеток или пролиферацией).

Обычно композиция, содержащая активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства и соединение формулы I, и композиция каждой части
20 набора из частей, являются фармацевтическими композициями, в которых комбинацию активируемого восстановлением пролекарства антипролиферативного средства и соединения формулы I и отдельно активируемое восстановлением
25 пролекарство антипролиферативного средства и соединение формулы I в частях набора из частей комбинируют с фармацевтически приемлемым носителем.

При лечении нежелательного роста клеток или пролиферации клеток комбинированный продукт (комбинированная композиция или набор из частей) или 5-
30 (азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид может быть введен как одна-единственная терапевтическая система или средство или, альтернативно, может быть введен в соединении с (т.е. или сопутствующим образом или последовательно) одним или больше активными средствами (например, активными средствами, известными для лечения конкретного данного расстройства).

Нежелательный рост или пролиферация клеток, с которым надлежит бороться, может быть любым таким нежелательным ростом или пролиферацией клеток, особенно таким, который является чувствительным к образованию поперечных связей их ДНК.
35

Нежелательный рост или пролиферация клеток может быть доброкачественной, такой как в случае обыкновенных бородавок или псориаза, или другими состояниями
40 кожи, которые затрагивают нежелательный рост или пролиферацию клеток, или она может быть неопластической, такой как при опухоли или ее метастазах.

Таким образом, способы и медикаменты изобретения (т.е. включающие
45 активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид или применение любого) могут быть использованы в лечении бородавок и других кожных болезней, таких как псориаз, других доброкачественных новообразований, предракового состояния или
50 рака, включая рак шейки матки, мочевого пузыря, грудной клетки и матки.

Особенно предпочтительно, если для борьбы с болезнью способы и медикаменты используют местно.

Также особенно предпочтительно, если для борьбы с болезнью используют

способы и медикаменты посредством введения в полости тела, такие как мочевого пузыря или брюшина или грудная клетка. Что касается третазикара, его активное производное 4-гидроксиламин имеет очень короткий период полураспада после применения или доставки и не может очень далеко мигрировать от места активации, поэтому эффект «депо» отсутствует, и активное вещество не попадает в циркуляцию и не вызывает системные эффекты.

Отдельные варианты осуществления изобретения, которые могут быть упомянуты, включают:

(a) местную композицию (например, крем, лосьон или мазь), содержащую активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства (например, RSU-1069, Митомицин С или, особенно, третазикар или E09), соединение формулы I (например, ДНА) и местно-приемлемый адъювант, разбавитель или носитель (например, основа лосьона, крема или мази);

(b) пилюлю или подобное твердое средство доставки, содержащее активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства (например, RSU-1069, Митомицин С или, особенно, третазикар или E09), соединение формулы I (например, ДНА) и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель; и

(c) раствор или суспензию, содержащую активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства (например, RSU-1069, митомицин С или, особенно, третазикар или E09), соединение формулы I (например, ДНА) и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель (например, стерильную систему растворителей, такую как стерильная водная система растворителей).

Что касается (a) и (b) выше, определенная композиция может также содержать основание (например, основание, как определено выше в отношении первого аспекта изобретения) и/или pH буферную систему, которая во время применения композиции обеспечивает локальное значение pH в месте введения между 7 и 11 (например, для композиций, содержащих третазикар, между pH 7,5; 8,0; 8,5 или 9,0 и 10,5 или, особенно, 10; или образует композиции, содержащие E09 между значениями pH 7,1 и 8,0, такой как около pH 7,5).

Местная композиция (или крем, лосьон или мазь) пункта (a) выше может быть применена, например, при лечении рака кожи, не-меланомы на коже, рака простаты, предраковых состояний (например, злокачественного лентигио или, особенно, старческого кератоза), бородавок или псориаза. Такую композицию можно также применять как ректальный крем при лечении таких состояний, как рак кишечника.

Твердое средство доставки, по пункту (b) выше, когда оно содержит E09, может быть особенно пригодно для лечения рака простаты. Так как известно, что предстательная железа является особенно чувствительной к высоким уровням pH, и, как найдено настоящим изобретателем, E09 намного быстрее восстанавливается при относительно низком значении pH (например, около pH 7,5), чем такие соединения, как третазикар.

Раствор или суспензию пункта (c) (выше) можно использовать посредством инъекции, через катетер или другим методом вливания в полость тела или область, в которой возникает нежелательный рост или пролиферация клеток. Например, раствор может быть введен в мочевой пузырь для лечения таких состояний, как рак мочевого пузыря, приведен в контакт с шейкой матки для лечения цервикального рака, введен в брюшину для лечения, например, рака яичника или может быть введен в мозг для лечения рака мозга.

В отдельном варианте осуществления, раствор или суспензия, содержащая соединение формулы I (например, ДНА) и активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства (например, третазикар или E09) может быть введена внутривенной инфузией с помощью катетера с целью лечения рака мочевого пузыря.

Таким образом, следующий аспект изобретения относится к способу лечения рака мочевого пузыря, указанному способу, включающему введение посредством внутривенной инфузии с помощью катетера эффективного количества раствора или суспензии, содержащей соединение формулы I (например, ДНА) и активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства (например, третазикар или E09).

Композиция, описанная выше и содержащая 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид, также может иметь определенные фармацевтические формы, такие как:

(i) местная композиция (например, крем, лосьон или мазь), содержащая 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и местно-приемлемый адъювант, разбавитель или носитель (например, основа лосьона, крема или мази); и

(ii) раствор или суспензия, содержащая 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель (например, стерильная система растворителей, такая как стерильная водная система растворителей).

Композиции (i) и (ii) (выше) могут иметь те же самые окончательные применения, как описано в отношении композиций (a) и (c) выше, соответственно.

Альтернативно, раствор или суспензия пункта (ii) (выше) (так же как и раствор или суспензия пункта (c) (выше) может быть введена путем распыления в рот, носовую полость, глотку, зев, гортань, трахею или легкие для лечения нежелательной пролиферации клеток (например, рака) при любой из этих локализаций.

Таким образом, дальнейшие аспекты изобретения относятся к распыляемому раствору или суспензии, содержащей:

(A) активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства, соединение формулы I, как определено выше, и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель; или

(B) 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель.

Введение путем распыления 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида (или смеси, предоставляющей это соединение) непосредственно в рот, носовую полость, глотку, зев, гортань, трахею или легкие избегает дезактивации 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида белками сыворотки. Кроме того, такой же механизм дезактивации будет обеспечивать, что 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид не будет иметь системного эффекта.

Таким образом, еще один следующий аспект изобретения относится к способу лечения рака рта, носовой полости, глотки, зева, гортани, трахеи или легких, указанному способу, включающему введение путем распыления раствора или суспензии, содержащей:

(A) активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства, соединение формулы I, как определено выше, и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель; или

(B) 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и фармацевтически

приемлемый адъювант, разбавитель или носитель.

Устройства, пригодные для доставки раствора или суспензии в форме спрея, хорошо известны специалистам в данной области техники. Подходящие устройства (включая: механические распылители, которые выкачивают раствор или суспензию из резервуара; и аэрозольные устройства, которые используют сжатые газы для распыления через насадку) включают описанные, например, в WO 2006/005845.

Таким образом, следующий аспект изобретения относится к:

(a) механическому распылителю, имеющему резервуар, наполненный раствором или суспензией, содержащему активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства, соединение формулы I, как определено выше, и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель; или

5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель; и

(b) аэрозольное устройство, содержащее раствор или суспензию, включающую один или больше сжатых газов и

активируемое восстановлением пролекарство антипролиферативного средства, соединение формулы I, как определено выше, и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель; или

5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель.

Устройство, описанное в пункте (b) выше, может представлять собой, в одном варианте осуществления, дозирующее ингаляторное устройство.

В качестве альтернативы жидкому распылению может быть распылен сухой порошок для доставки фармацевтического средства в такие места, как легкие. Таким образом, согласно следующему аспекту изобретения предоставлена сухая порошковая композиция для аэрозоля, содержащая 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид.

Посредством термина "сухая порошковая композиция для аэрозоля" мы включаем ссылки на сухие порошковые комбинации, которые могут быть доставлены с помощью ингаляционного устройства в рот, носовую полость, глотку, зев, гортань, трахею или легкие. Как таковой, термин включает ссылки на сухие порошки, имеющие средний размер частиц 100 мкм (например, 50 или 10 мкм) или меньше. В этом отношении размер частиц можно определить с помощью способов, известных специалистам в данной области техники (например, методами лазерного рассеяния, которые используют устройство, анализирующее размер частиц, такое как Mastersizer™).

Устройства для доставки сухих порошковых аэрозолей (например, ингаляторы для сухого порошка) хорошо известны специалистам в данной области техники и описаны, например, в WO 2004/110536. Таким образом, согласно дальнейшему аспекту изобретения предоставлена терапевтическая система, содержащая:

(i) ингаляторное устройство для сухого порошка, необязательно содержащее источник сжатого газа; и

(ii) одну или больше отдельных доз сухой порошковой аэрозольной композиции, содержащей 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид.

Терапевтическая система может включать устройство и дозу(ы) композиции как физически отдельные субстанции (т.е. эффективно как набор из частей).

Альтернативно, ингаляторное устройство может быть предварительно наполнено одной или больше дозами композиции. При лечении нежелательного роста или

пролиферации клеток вышеупомянутые композиции (включая местные композиции, твердые средства доставки, растворы или суспензии, сухие порошковые аэрозоли и т.д.) могут быть использованы в одиночку для лечения отдельного состояния (нежелательного роста или пролиферации клеток, такого как рак мочевого пузыря, шейки матки, брюшины или мозга, или рака рта, носовой полости, глотки, зева, гортани, трахеи или легких), т.е. введены в качестве одиночной терапевтической системы или средства. Альтернативно, однако, композиции могут быть введены вместе (т.е. сопутствующим образом или последовательно) с одним или больше активными веществами (например, активными веществами, известными для лечения отдельных заданных расстройств).

В этом отношении известные активные вещества для применения в лечении рака мочевого пузыря включают цисплатин, доксорубицин и митомицин С.

Подходящие дозы активируемого восстановлением пролекарства (например, третазикара) для применения на человеке включают от 10 до 30 мг/м², обычно от 15 до 25 мг/м², например, 24 мг/м².

Способы и медикаменты изобретения можно использовать для лечения животных (таких как млекопитающих, не являющихся человеком, в частности, лошадей, коров, овец и тому подобных, кошек и собак) и людей. Предпочтительно, если их применяют для лечения людей.

Дальнейший аспект изобретения обеспечивает способ образования поперечных связей ДНК в клетке, способ, включающий введение в клетку комбинации активируемого восстановлением пролекарства вещества, образующего поперечные связи в ДНК (например, третазикар), и соединения формулы I, как определено выше (например, ДНА), или способ образования поперечных связей ДНК в клетке, способ, включающий введение в клетку композиции, которая включает 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиамино-2-нитробензамид. Обычно клетки являются клетками в культуре, и способ является способом *in vitro*.

При использовании здесь термин «активированное восстановлением пролекарства вещество, образующее поперечные связи ДНК», включает ссылку, в частности, на такие соединения, как:

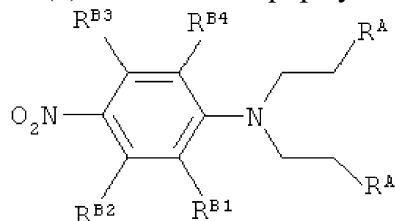
(1) E09 (3-[5-азиридирил-4,7-диоксо-3-гидроксиметил-1-метил-1Н-индол-2-ил]-проп-β-ен-α-ол);

(2) RSU-1069 (1-(1-азиридирил)-3-(2-нитро-1-имидазолил)-2-пропанол);

(3) RB-6145 (1-[3-(2-бромозетиламино)-2-гидроксипролил]-2-нитроимидазол);

(4) Митомицин С;

(5) Соединение формулы



в которой

каждый R^A независимо представляет собой хлор, бром, йод или -OS(O)₂R^C,

R^C представляет собой C₁₋₈алкил (необязательно замещенный одним или больше атомами фтора) или фенил (необязательно замещенный одним или больше заместителями, выбранными из гало, нитро, C₁₋₄алкил и C₁₋₄алкокси),

$R^{B1}-R^{B4}$ независимо представляют H, CN, C(O)N(R^D)R^E, C(S)N(R^D)R^E, C(O)OH, S(O)₂NHR^F,

или R^{B1} может дополнительно представлять собой NO₂,

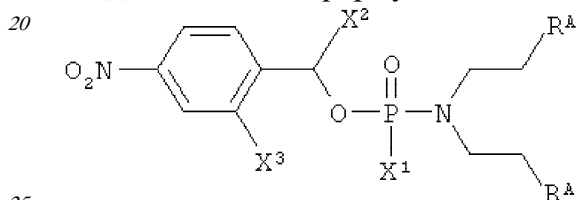
5 R^D и R^E независимо представляют H или C₁₋₄алкил (последняя группа которого необязательно замещена одним или больше заместителями, выбранными из OH, N(H)-C₁₋₂алкил, N(C₁₋₂алкил)₂, 4-морфолинил и C(O)OH),

или R^D и R^E, вместе с атомом N, к которому они присоединены, представляют 4-морфолинил, и

R^F представляет собой H или S(O)₂CH₃,

при условии, что R^{B2} является H, когда R^{B1} не является H, например, любое одно из соединений формулы (выше) раскрытых в Anlezark et al, 1992 и 1995, такие как SN 23163, SN 23849, SN 23777, SN 23428, SN 23759, SN 24927, SN 24928, SN 24926, SN 25402, SN 25079, SN 24939, SN 24935, SN 25923, SN 25313, SN 23856, SN 25066, SN 23816, SN 25015, SN 24971, SN 25260, SN 25261, SN 25263, SN 25084, SN 25188, SN 25507 или, особенно, SN 23862 (5-{N,N-бис[2-хлорэтил]амин}-2,4-динитробензамид);

(6) Соединение формулы



в которой

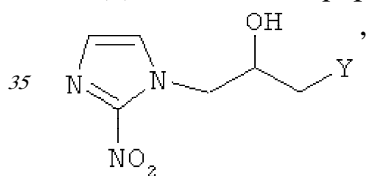
R^A - как определено выше (например, Cl) и любой

X¹ представляет собой NH₂ и X² и X³ оба представляют собой H,

30 -X¹-X²- представляет собой -NH-CH₂CH₂- и X³ представляет собой H или

-X¹-X³- представляет собой -NH- и X² представляет собой H;

(7) Соединение формулы



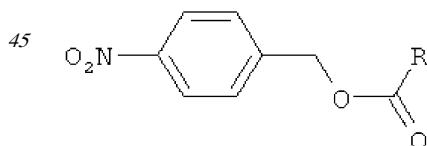
в которой Y представляет собой

40 1-азиридирил (необязательно замещенный метилом в положении 2),

метокси или

N(H)CH₂CH₂Br;

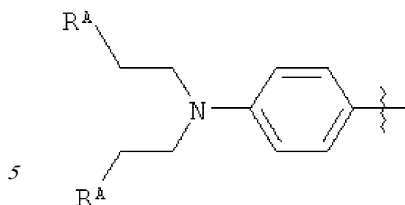
(8) саморазрушающееся (self-immolative) пролекарство формулы



в которой

50 R представляет собой -O-R' или -NH-R',

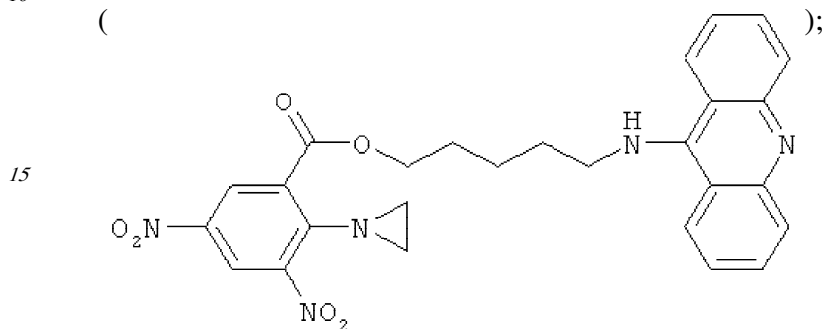
R' представляет собой



в которой волнистая линия представляет положение присоединения фрагмента, и R^A - как определено выше (например, Cl);

10 (9) акридин-СВ 1954

(



20

и

(10) третазикар (5-(азиридин-1-ил)-2,4-динитробензамид),
или фармацевтически приемлемая соль и/или их сольват.

25 Действительно, термин «активированное восстановлением пролекарство вещества, образующего поперечные сшивки ДНК» включает отдельную ссылку на такие соединения, как E09, RSU-1069, RB-6145, митомицин С и особенно третазикар.

Теперь изобретение будет описано более подробно путем отсылки к следующим фигурам и примерам, в которых:

30 фигура 1 показывает структуру третазикара (5-(азиридин-1-ил)-2,4-динитробензамид);

фигура 2 показывает биоактивацию третазикара;

35 фигура 3 показывает структуру дигидроксиацетона (DHA; CAS №62147-49-3, Beil.8, 266, Merck Index 13, 3166). Нормальная форма представляет собой димер, которая в растворе быстро превращается в мономер;

фигура 4 показывает восстановление третазикара посредством DHA;

40 фигура 5 показывает восстановление третазикара посредством DHA в креме с основой E45 (как описано в примере 2 ниже). На А, В и С фигуры 5 верхняя из двух записей измерена при 325 нм, тогда как нижняя измерена при 260 нм;

45 фигура 6 показывает согласование по спектру, наблюдаемое при времени удерживания 5 минут на фигуре 5В с полученным искусственным стандартом 5-(азиридин-1-ил)-2,4-динитробензамида. Непрерывная линия представляет собой стандарт, и пунктирная линия представляет собой образец. Спектры нормализованы для оптической плотности при 260 нм;

фигура 7 показывает процент выживших клеток линии V79 китайского хомячка в течение 2 часов при pH 7,5 и 37°C в 10 mM фосфатном буфере, содержащем 140 mM NaCl и следующее:

50 А: контроль (то есть без дополнительных веществ);

В: 10 mM DHA;

С: 10 мкМ E09;

В+С: комбинация 10 mM DHA и 10 мкМ E09;

D: 100 мкМ E09; и

B+D: комбинация 10 мМ DHA и 100 мкМ E09.

Выживаемость клеток линии V79 определяли, используя следующий метод:

5 Объемы (1 мл, 2×10^5 клеток/мл) клеток линии V79 в 10 мМ фосфатного буфера (pH 7,5), содержащем 140 мМ NaCl, инкубировали при 37°C и затем добавляли реактивы (как определено выше при оговоренных концентрациях) (за исключением контрольного эксперимента). После двух часов инкубации клетки собирали центрифугированием, разводили периодически (4×10 - раз) и клетки высевали в
10 ростовую среду и оценивали на способность к образованию колоний после роста в течение 1 недели во влажной атмосфере 5% CO₂.

Как показывает диаграмма на фигуре 7, цитотоксический эффект E09 сильно увеличивается при добавлении DHA, который способствует образованию активной
15 формы E09.

Что касается примеров ниже, третазикар является коммерчески доступным для исследовательских целей от Morvus Technology Limited и Sigma Chemical Company.

Пример 1: Химическая активация третазикара

Сообщенные химические способы получения активного 4-гидроксиламинового
20 производного из третазикара используют жесткие условия восстановления в органических растворителях с выходом меньше чем 30% (Knox et al, 1993; Knox et al, 1988). Мы обнаружили, что дигидроксиацетон (DHA) может восстанавливать третазикар до требуемого гидроксиламина в водном растворе при умеренно щелочных условиях. При pH 9 выход составляет >85%, другим обнаруженным
25 продуктом восстановления третазикара является 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид.

Дигидроксиацетон (DHA; 1,3-дигидрокси-2-пропанон; CAS №: 62147-49-3, Beil, 8, 266, Merck Index 13, 3166; фигура 3) является активным ингредиентом в лосьонах
30 «загар без солнца» или «автозагар» (self-tanning) лосьонах и получил одобрение FDA. DHA представляет собой бесцветный сахар, который затемняет кожу окрашиванием. Он взаимодействует с мертвыми поверхностными клетками, находящимися в эпидермисе, давая изменение цвета. Поскольку мертвые клетки кожи естественным образом слущиваются, цвет постепенно исчезает, обычно в течение от 5 до 7 дней
35 после использования. Продукты «загар без солнца» содержат концентрации дигидроацетона вплоть до 5%. При более высокой концентрации потемнение будет продолжаться. Как средство для загара он стабилен при условиях pH между 4 и 6. Слишком щелочной pH или слишком кислый pH приводит к образованию коричневых
40 соединений, уменьшая эффективность растворов в качестве средства для загара. Эритрулоза (1,3,4-тригидрокси-2-бутанон) похожа по действию на DHA, но она не вызывает такой глубокий или стойкий загар. DHA получается путем ферментации глицерина и является простым трехуглеродным сахаром, нетоксичным по природе, и представляет собой белый порошок. Нормальная форма является димером, но она
45 быстро превращается в мономер в растворе. FDA одобрил DHA только для наружного применения и рекомендует пользователям принять защитные меры для избежания контакта с глазами, носовой полостью и мембранами слизистых оболочек.

Единственным известным вредным эффектом является аллергический контактный
50 дерматит. Это происходит редко, и в большинстве случаев причинами чувствительности к кремам-загарам являются другие ингредиенты, используемые при приготовлении, такие как консерванты. Смотри Code of Federal Regulations, стр.376:

ЗАГЛАВИЕ 21 - ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ И ЛЕКАРСТВА

ГЛАВА I - АДМИНИСТРАЦИЯ ПО КОНТРОЛЮ ЗА ПРОДУКТАМИ ПИТАНИЯ И ЛЕКАРСТВАМИ, МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНЫХ СЛУЖБ США

ЧАСТЬ 73 - СПИСОК КРАСЯЩИХ ДОБАВОК, ИСКЛЮЧЕННЫХ ИЗ СЕРТИФИКАЦИИ - Оглавление

Подраздел С - Косметика

Параграф. 73.2150 Дигидроксиацетон.

О DHA никогда не сообщалось как о восстанавливающем веществе.

Восстанавливающие сахара известны, но это альдозы, и на одном конце они имеют альдегид. Альдегид ведет себя как восстанавливающее вещество, и в присутствии умеренного окислителя, такого как Cu^{2+} или Fe^{3+} , происходит окисление альдегида до карбоновой кислоты. Равноценная реакция с DHA, как с кетолом, невозможна.

Однако дигидроксиацетон, как было показано, способствует образованию гидроксильных радикалов в присутствии хелатов железа (III) (Malisza & Hasinoff, 1995). Этот тип реакции может быть отнесен к его восстановительной способности и его щелочной нестабильности, которая приводит к образованию коричневых соединений.

При щелочных условиях и использовании избытка DHA существует линейная скорость восстановления третазикара со временем (фигура 4).

Анализ начинали добавлением 100 мкл 100 мМ DHA в воде к смеси третазикара (100 мкМ) в 0,1М бикарбонат-натриевом буфере, pH 9 или pH 10 до получения окончательного объема 1 мл. Смесь инкубировали при 37°C, отбирали аликвоты (10 мкл) каждые 6 мин и немедленно оценивали с помощью HPLC [Partisil 10 SCX (4,2×150 мм) (Whatman, Maidstone, Kent, U.K.) с помощью изократического элюирования с 0,13 М фосфатом натрия (pH 5) при 1,5 мл/мин). Концентрацию третазикара определяли в каждом образце посредством отношения соответствующей площади пика к внешнему стандарту; количественно определяли посредством оптической плотности при 325 нм.

Начальные скорости вычисляли посредством аппроксимации кривой (FigP, Biosoft, Cambridge, U.K.). Восстановленные продукты идентифицировали посредством времени удерживания относительно аутентичного стандарта.

Было отмечено только два продукта восстановления третазикара - 2- и 4-гидроксиламиновые производные. Скорость восстановления третазикара и количественное соотношение продуктов гидроксиламина зависели от pH.

Восстановление при pH 10 (0,69 нмол/мин) было медленнее, чем при pH 9 (0,92 нмол/мин). Через 30 мин отношение гидроксиламинов 4- к 2- составляло 2,7:1 при pH 10 и 9,7:1 при pH 9. Таким образом, при pH 9, восстановление происходит быстрее и дает главным образом предпочтительный продукт 4-гидроксиламин с очень высоким выходом (фигура 4).

DHA или DHA-связанные продукты реакции не были определены с помощью вышеописанного HPLC способа.

Пример 2: Активирование третазикара в креме, разработанном для местного применения

Было сделано два крема, обозначенных А и В. Для использования их смешивали в равных количествах. Крем А состоит из основы Е45 (белый мягкий парафин ВР 14,5% вес./вес., светлый жидкий парафин Ph Eur 12,6% вес./вес., гипоаллергенный безводный ланолин (Medilan) 1,0% вес./вес., Crookes Healthcare Ltd, Ноттингем, Великобритания), содержащей 10 мг третазикара, 10 мг NaHCO_3 & 90 мг Na_2CO_3 на грамм. Крем В содержит Е45 с 100 мг димера DHA на грамм. При смешивании двух компонентов, А и В, получался бледно-желтый крем. Он становился коричневым в течение нескольких

часов и продолжал темнеть в течение около 24 часов. Суспензия из 200 мкг крема в 1 мл воды при сильном перемешивании давала раствор с pH около 10, как было показано с помощью индикаторной бумаги для измерения pH. Предварительные эксперименты с кремами, содержащими 10% вышеуказанных количеств буферных солей, давали раствор с тем же самым исходным pH. Однако через 4 часа раствор, приготовленный, как описано выше, был нейтральным, и крем больше не темнел. Это может означать, что с помощью изменения исходных концентраций буфера можно контролировать и длительность, и степень реакции.

После смешивания и в течение разных периодов времени 200 мкг крема экстрагировали в 1 мл DMSO. Экстракт затем разбавляли 1/100 50 мМ аммоний-бикарбонатным буфером (pH 10) и анализировали с помощью обратно-фазной HPLC. В начальное время анализ экстракта при 325 нм показал только один большой пик, и это соответствовало третазикару, как показано посредством того же самого времени удерживания и согласования по УФ-спектру оптической плотности относительно аутентичного стандарта. Через 4 часа анализ экстракта показал намного больше пиков на обеих записях при 260 нм и при 325 нм (фигура 5).

Крем А (состоящий из основы E45 (белый мягкий парафин BP 14,5% вес./вес., светлый жидкий парафин Ph Eur 12,6% вес./вес., гипоаллергенный безводный ланолин (Medilan) 1,0% вес./вес., Crookes Healthcare Ltd, Ноттингем, Великобритания), содержащий 10 мг третазикара, 10 мг NaHCO_3 & 90 мг Na_2CO_3 на грамм и крем В (содержащий E45 со 100 мг димера ДНА на г) смешивали и в течение разного времени 200 мкг экстрагировали с 1 мл DMSO при сильном перемешивании. Экстракт очищали центрифугированием и затем разбавляли 1/100 50 мМ аммоний-бикарбонатным буфером (pH 10) и анализировали с помощью HPLC. Образец (10 мкл) впрыскивали в колонку Waters Symmetry Shield RP1S (150×3,9 мм) и элюировали с линейным градиентом (1-40% в течение 30 минут) ацетонитрилом в 10 мМ формата аммония (pH 4,5). Элюат непрерывно проверяли на УФ-оптическую плотность между 230 и 400 нм, используя сканирующий детектор TSP UV 3000. А.) Экстракт, приготовленный немедленно после смешивания крема. В.) Экстракт из крема через 4 часа после смешивания. С.) синтетический стандарт 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида. Синяя линия (нижняя линия в каждой паре записей) представляет собой показания, полученные при 260 нм, и красная линия (верхняя линия в каждой паре записей) - запись, полученная при 325 нм. Пик на ~ 13 минут является СВ 1954, и большой пик 260 нм на ~ 19 минут происходит от E45. Не оказалось возможным измерить эффективность способа экстракции.

Третазикар был все же определен, и пик со временем удерживания ~ 5,0 минут был идентифицирован как 4-гидроксиламин третазикара, как показано тем же самым временем удерживания и согласованием по спектру УФ-оптической плотности относительно аутентичного (фигура 6). Другие пики не соответствовали известным продуктам восстановления третазикара и могли являться результатом окисления ДНА или реакции восстановленных продуктов третазикара или с кремом или с ДНА.

Активная форма третазикара, 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамидом образовывалась в креме с основой E45.

Пример 3: Местное применение крема с третазикаром

Крем, сформулированный выше, смешивали и около 0,1 г прикладывали к бородавке (растущая, «купол» 1,5 мм высотой), расположенной на пальце здорового человека-добровольца, и покрывали пластырем. От приложенного крема исходило тепло. Приблизительно через 4 часа пластырь удаляли, и было обнаружено, что

бородавка сошла и оставила углубление ~ 1 мм глубиной. Ближайшая окружающая ткань имела желтую окраску. Она понемногу светлела в течение нескольких дней, и после 6 недель не было сообщено о росте бородавки заново. Вредные эффекты не были видны, и о них не сообщалось.

5 Крем А (состоящий из Е45 основы (белый мягкий парафин br 14,5% вес./вес. светлый жидкий парафин Ph Eur 12,6% вес./вес., гипоаллергенный безводный ланолин (Medilan) 1,0% вес./вес., Crookes Healthcare Ltd, Ноттингем, Великобритания), содержащий 10 мг третазикара, 10 мг NaHCO_3 & 90 мг Na_2CO_3 на грамм, и крем Б
10 (содержащий Е45 со 100 мг димера ДНА на грамм) смешивали и прикладывали (100 мкг) к бородавке (растущая, «купол» 1,5 мм высотой), расположенной на пальце здорового человека-добровольца, и покрывали пластырем. Приблизительно через 4 часа пластырь удаляли, и было обнаружено, что бородавка сошла и оставила углубление ~ 1 мм глубиной. Ближайшая окружающая ткань имела желтую окраску.
15 Она понемногу светлела в течение нескольких дней, и после 6 недель не было сообщено о росте бородавки заново. Вредные эффекты не были видны, и о них не сообщалось.

Фотография была сделана через 1 неделю. Активирование третазикара при местном
20 применении имеет заметное действие на бородавку при минимальном влиянии на нормальную окружающую ткань.

Пример 4. Лечение рака мочевого пузыря

Пузырные химиотерапевтические инстилляции, или внутрипузырная химиотерапия, назначают людям, имеющим поверхностный рак мочевого пузыря, и заключаются в
25 наполнении мочевого пузыря препаратом для борьбы с раковыми клетками. Хотя поверхностные раки мочевого пузыря являются ранней формой рака, многие виды рака снова возникают после первоначального удаления. Однако, используя лечение, которое помещает препарат непосредственно в контакт со стенкой мочевого пузыря,
30 действительно возможно предотвратить рецидив или удлинить время до рецидива. Внутрипузырная химиотерапия является короткой процедурой. Катетер вводят в мочевой пузырь через мочеиспускательный канал. Третазикар в бикарбонатном буфере (рН 9) вливают по капле в течение от 2 до 3 минут с последующим вливанием ДНА в воде в течение такого же времени. Катетер удаляют, и через 2 часа
35 препарат удаляется мочеиспусканием.

Пример 5. ДНА восстановление пролекарства при значении рН, близком к нейтральному

Способ анализа: HPLC

40 Анализируемая смесь, содержащая испытываемое соединение (100 мкМ) и ДНА (10 мМ) в конечном реакционном объеме 1 мл натрий фосфатного буфера (требуемого рН). Реакцию начинали добавлением ДНА, и смесь инкубировали при 37°C. Аликвоты (10 мкл) отбирали каждые 20 мин и немедленно анализировали с помощью HPLC на колонке Partisphere 5 C18 (4,2×150 мм) (Whatman, Maidstone, Кент,
45 Великобритания), элюировали с градиентом ацетонитрила в воде (1-95% в течение 10 минут) при скорости 2 мл в минуту. Элюат непрерывно контролировали по оптической плотности, используя матричный фотодиодный детектор UV-VIS. Концентрацию вещества определяли в каждом образце посредством отношения соответствующей площади пика к внешнему стандарту и определяли количественно
50 посредством оптической плотности при подходящей длине волны, определенной при PDA сканировании. Исходные уровни были вычислены аппроксимацией кривой (FigP программное обеспечение).

Соединение	Структура	Исх. скорость (нмоль/мин/мл)	
		0.1 М PO ₄ , pH 7,5	0.1 М PO ₄ , pH 8
5 Третазикар		<0,01	0,158
10 Метронидазол		0,131	0,369
15 Мизонидозол		0,221	1,922
20 Нитрофуразол		0,177	0,203

25

Соединение	Структура	Исх. скорость 1	НМОЛЬ/МИН/МЛ)
		0.1 М PO ₄ , pH 7,5	0.1 М PO ₄ , pH 8
30 RSU-1069 / RB-1645		<0,01	2,57
35 Тирапазамин		0,523	0,512
40 Митомицин С		1,524 (PBS)	0,052 ^a
45 Е09		0,272	0,605

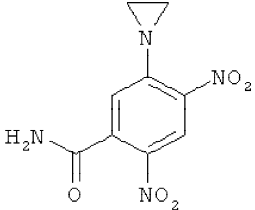
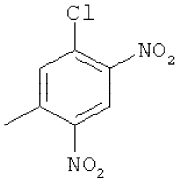
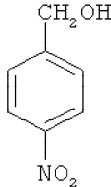
50

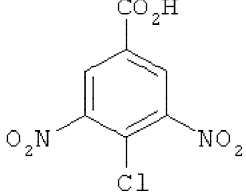
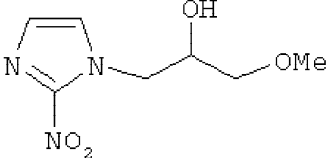
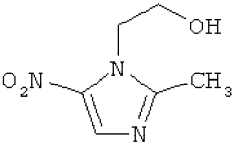
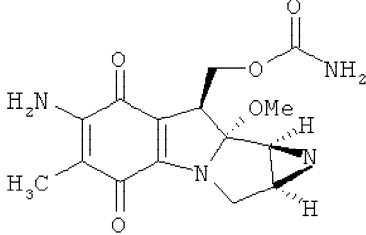
Примечания

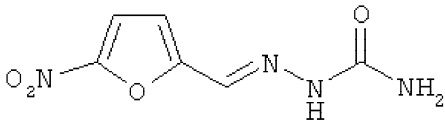
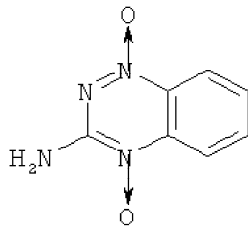
^a 1 мМ DHA использовали (вместо 10 мМ DHA)

Пример 6. DHA восстановление нитросоединений и пролекарств при различных значениях pH

Образцы исследовали, как описано выше в примере 5.

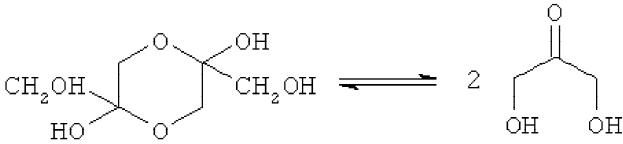
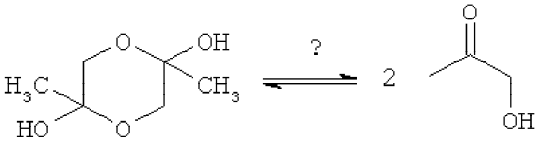
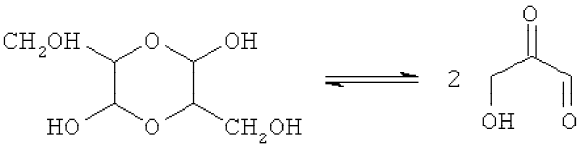
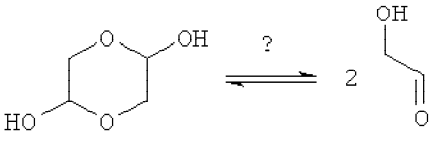
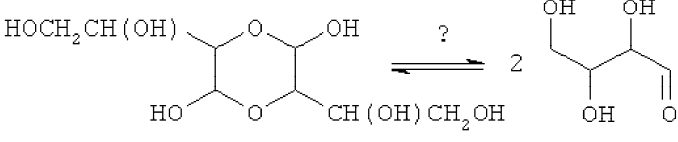
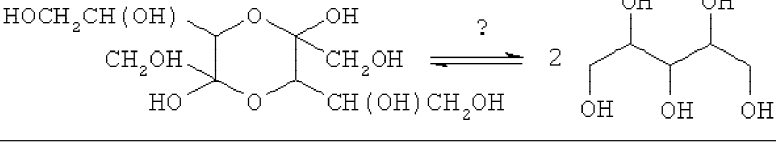
Название	Структура	pH	Исх. скорость (нмоль/мин/мл)
Третазикар		8	0,158
		9	0,933
		10	1,248
		10,6	5,801
5-хлор-2,4-динитротолуол		8	0,132
		9	0,499
		10	0,690
		10,6	1,703
4-нитробензиловый спирт		8	<0,01
		9	<0,01
		10	0,105
		10,6	0,087

Название	Структура	pH	Исх. скорость (нмоль/мин/мл)
4-хлор-3,5-динитробензойная кислота		8	0,195
		9	1,293
		10	1,727
		10,6	2,442
Мизонидазол		8	1,922
		9	1,851
		10	3,180
		10,6	-
Метронидазол		8	0,369
		9	0,890
		10	1,239
		10,6	0,807
Митромицин С		7	1,019
		8	0,052 ^a
		8,5	0,103 ^a
		9	Too fast to measure

Нитрофузанол		7,5	0,177
		8	0,203
		8,5	0,260
		9	2,390
		10	3,789
Тиарапазамин		7,5	0,523
		8	0,512
		8,5	0,639
		9	3,503
		10	4,209
Примечания			
^a 1 mM ДНА использовали (вместо 10 mM ДНА)			

Пример 7. Восстановление NADP^+ α -гидроксикарбонильными соединениями

Аликвоту 10 мкл исследуемого соединения (при концентрации 100 мМ в воде) добавляли к 200 мкМ водного раствора NADP^+ (приблизительно 990 мкл), доведенного буфером до pH 10 (1 мМ NaHCO_3 буфер). Окончательная концентрация испытываемого соединения раствора в исследуемом растворе составляла 1 мМ. Восстановление NADP контролировали измерением увеличения, в течение 2 минут, поглощения при 350 нМ на спектрофотометре. Исходные скорости регистрировали как сдвиг в A_{350} за минуту.

Название	Структура	Скорость
Дигидроксиацетон (димер) ¹		0,063
Гидроксиацетон (ацетол) ²		0,003
D,L-Глицеральдегид ³		0,015
Гликольальдегид димер ⁴		0,029
D(-)-Эритроза ⁵		0,004
L-Ксилоза		0,003

Примечания

1. Допускается образование мономера в растворе.
 2. Использовали технический сорт (>90%). Перед любым увеличением поглощения при 350 нм наблюдалась задержка (отставание) около 60 сек.

3. Концентрация вычислена для мономера.

4. Смесь стереоизомеров. Не наблюдалось влияния на скорость после добавления 1 мМ EDTA в реакционную смесь.

5. Только ~ 50% чистого. Перед любым увеличением поглощения при 350 нм наблюдалась задержка (отставание) около 60 сек.

Без желания быть связанным теорией, полагают, что соединения, показывающие восстановительную активность в вышеописанном исследовании, являются α-гидроксикарбонильными соединениями, которые способны образовывать циклические димеры типа изображенного формулой Ia.

В противоположность, соединения, для которых скорость в вышеописанном исследовании определена как являющаяся ниже 0,001 (т.е. для которых не определена восстановительная активность), включают следующие:

глицерин;

глиоксаль;

D-глюкоза;

Дигликолевый ангидрид;

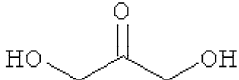
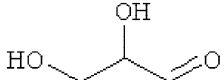
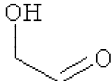
(±)-тетрагидрофурфуриловый спирт;

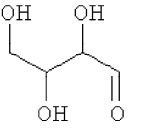
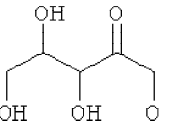
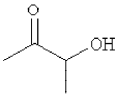
1,4-диоксан-2,3-диол; и

2-(гидроксиметил)тетрагидропиран.

Пример 8. Восстановление третазикара гидроксикарбонильными соединениями

Анализ начинали добавлением 100 мкл исследуемого соединения (соединение формулы I) в воде к смеси третазикара (100 мкМ) в 0,1 М натрий бикарбонатном буфере, pH 9 или pH 10, чтобы получить окончательный объем 1 мл. Смесь инкубировали при 37°C и отбирали аликвоты (10 мкл) каждые 6 минут и немедленно исследовали с помощью HPLC [Partisil 10 SCX (4,2×150 мм) (Whatman, Maidstone, Кент, Великобритания)], элюировали изократически с 0,13 М фосфата натрия (pH 5) при 1,5 мл/мин). Концентрацию третазикара определяли в каждом образце посредством отношения соответствующей площади пика к внешнему стандарту и определяли количественно посредством оптической плотности при 325 нм. Исходные уровни были вычислены аппроксимацией кривой (FigP, Biosoft, Кембридж, Великобритания). Восстановленные продукты идентифицировали посредством времени удерживания относительно аутентичного стандарта.

Название	Структура	pH	Исх. Скорость (нмоль/мин/мл)
Дигидроксиацетон (применяли димерную форму)		9	0,92
		10	0,69
D,L-Глицеральдегид ³		9	0,53
		10	0,62
Гликольальдегид (применяли димерную форму) ⁴		9	0,18
		10	0,14

5	D(-)-Эритроза ⁵		9	<0,01
			10	0,28
5	L-Ксилоза		9	<0,01
			10	0,28
10	3-Гидрокси-2-бутанон		9	0,034
			10	0,184

В противоположность соединения, для которых скорость в вышеописанном исследовании определена как являющаяся ниже 0,001 (т.е. для которых не определена восстановительная активность), включают следующие:

глицерин;
 глиоксаль;
 D-глюкоза;
 Дигликолевый ангидрид;
 (±)-тетрагидрофурфуриловый спирт;
 2-(гидроксиметил)тетрагидропиран;
 4-гидрокси-2-бутанон;
 дихлороацетон;
 1,4-диоксан-2,3-диол; и
 дихлороацетил хлорид.

Пример 9. Крупномасштабное восстановление третазикара до соответствующего гидроксилamina

Раствор 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида («СВ 1954», 1,00 г, 3,97 ммол) в метаноле («AnalaR»-grade, 40 мл) обрабатывали избытком порошкового безводного K_2CO_3 (10,0 г, 72 ммол; приблиз. 18 эквив.) и смесь нагревали до 60°C при помешивании. Суспензию перемешивали при 60°C под blanket stream атмосферой N_2 .
 Раствор 1,3-дигидроацетона (1,50 г как ДНА димер, 8,33 ммол; 2,1 мол эквивал.) в метаноле («AnalaR»-grade, 40 мл), предварительно деаэрированном посредством поливки газом N_2 , затем добавляли в течение 15 минут к реакционной смеси при быстром перемешивании при поддержании температуры 60°C. Наблюдалась быстрая реакция с изменением цвета от светло желто-оранжевого до коричневого.
 Тонкослойная хроматография (TLC; Merck силикагель 60 GF254 на алюминиевых пластинках, 9:1 об./об. CH_2Cl_2 :MeOH) показала количественное удаление СВ 1954 исходного материала (R_f 0,73) и образование двух полярных продуктов при R_f 0,53 и R_f 0,47. Два продукта показали идентичное поведение TLC относительно аутентичных образцов 5-(азиридин-1-ил)-2-гидроксиламино-4-нитробензамида и 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида, соответственно, полученные с помощью опубликованных способов [Knox, R.J., Friedlos, F., Jarman, M., Roberts, J.J. Biochemical Pharmacology 37, 4661-4669 (1988); Knox, R.J., Friedlos, F., Biggs, P.J., Flitter, W.D. Gaskell, M., Goddard, P., Davies, L., Jarman, M. Biochemical Pharmacology 46, 797-803 (1993)].

Реакционную смесь профильтровали, пока она была горячей, и нерастворимый материал вымывали охлажденным метанолом (10 мл). Комбинированный фильтрат охлаждали и выпаривали на ротаторном испарителе (30°C, высоковакуумный) до

получения вязкого желто-коричневого масла (1,02 г, >100%). Исследование TLC подтвердило, что присутствовали два главных продукта. Небольшие пятна (<1-2% всего, Rf 0,62, 0,66), соответствующие продуктам окисления 2-нитрозо и 4-нитрозо, полученным при окислении при щелочных условиях в течение обработки, также были очевидны. (Примечание: экспозиция с воздухом должна быть сведена к минимуму поливкой всех приборов газом N₂ для того, чтобы предотвратить окисление гидроксиламинов до нитрозопродуктов и нежелательных окрашенных побочных продуктов). Был сделан вывод, что продукты реакции 2-гидроксилламин (Rf 0,53) и 4-гидроксилламин (Rf 0,47) образуются в соотношении ~ 40:60. Хроматографическое разделение изомеров затрудняется их близкими свойствами элюирования при использовании доступных систем растворителей. Однако флэш-хроматографическое разделение необработанного смешанного образца (100 мг) (силикагель Merck, с порами 60-200, 9:1 об./об. CH₂Cl₂-MeOH) давало 5-(азиридин-1-ил)-2-гидроксилламино-4-нитробензамид (31 мг) и 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксилламино-2-нитробензамид (49 мг) после удаления растворителя из фракций. Оба продукта давали спектры NMR, совместимые с сообщенными свойствами для изометрических гидроксиламинов, и поведение TLC, которое было неразличимо с аутентичными WG 2007/074344 PCT/GB 2006/004947 соединениями [Knox, R.J., Friedlos, F., Jaxman, M, Roberts, JJ. Biochemical Pharmacology 37, 4661-4669 (1988)].

Примечания:

(1) Предпочтительным реакционным растворителем является метанол. 1,3-Дигидроксиацетон (ДНА) димер имеет ограниченную растворимость во многих обычных растворителях, включая ацетон и высшие спирты.

(2) Реакция является почти мгновенной при 60°C, но является более медленной при более низких температурах. Использование более высокотемпературных реакционных систем может иметь неблагоприятное действие на относительный выход продукта.

Полученные гидроксилламины показывают большую чувствительность к окислению воздухом в присутствии щелочи, следовательно, рекомендуется, чтобы реактив K₂CO₃ удаляли из реакционной смеси насколько возможно быстро. Хроматографическое разделение смеси, содержащей 2- и 4-гидроксилламиновые продукты, требует минимизации любой экспозиции растворенного материала с O₂ (воздух) в течение обработки.

Список литературы

Anlezark, G.M, Melton, K.G., Sherwood, R.F., Coles, B., Friedlos, F. & Knox, R.J. (1992). The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954)-I. Purification and properties of a nitroreductase enzyme from *Escherichia coli*- a potential enzyme for antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). *Biochem Pharmacol*, 44, 2289-95.

Anlezark, G.M, Melton, R.G, Sherwood, R.F, Wilson, W.R., Denny, W.A., Palmer, B.D., Knox, R.J., Friedlos, F. & Williams, A. (1995). Bioactivation of dinitrobenzamide mustards by an *E. coli* B nitroreductase. *Biochem Pharmacol*, 50, 609-18.

Bailey, S.M, Knox, R.J., Hobbs, S.M, Jenkins, T.C., Mauger, A.B., Melton, R.G, Burke, P.J., Connors, T.A. & Hart, I.R. (1996). Investigation of alternative prodrugs for use with *E. coli* nitroreductase in 'suicide gene' approaches to cancer therapy. *Gene Ther*, 3, 1143-50.

Boland, M.P., Knox, R.J. & Roberts, J.J. (1991). The differences in kinetics of rat and human DT diaphorase result in a differential sensitivity of derived cell lines to CB 1954 (5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide). *Biochem Pharmacol*, 41, 867-75.

Bridgewater, J.A., Knox, R.J., Pitts, J.D, Collins, M.K. & Springer, C.J. (1997). The bystander effect of the nitroreductase/CB 1954 enzyme/prodrug system is due to a cell-permeable metabolite. *Hum Gene Ther*, 8, 709-17.

Bridgewater, J.A., Springer, C.J., Knox, R.J., Minton, N.P, Michael, N.P. & Collins, M.K. (1995). Expression of the bacterial nitroreductase enzyme in mammalian cells renders them selectively sensitive to killing by the prodrug CB1954. *Eur J Cancer*, 31a, 2362-70.

Burke, P.J. & Knox, R.J. (1998). Therapeutic systems PCT/GB98/01731;WO 98/57662.

Chung-Faye, G., Palmer, D., Anderson, D., Clark, J., Downes, M., Baddeley, J, Hussain, S, Murray, P.J., Searle, P., Seymour, L., Harris, P.A., Ferry, D. & Kerr, D.J. (2001). Virus-directed, enzyme prodrug therapy with nitroimidazole reductase: a phase I and pharmacokinetic study of its prodrug, CB1954. *Clin Cancer Res*, 7, 2662-8.

Cobb, L.M. (1970). Toxicity of the selective antitumor agent 5-aziridino-2,4-dinitrobenzamide in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, 17, 231-238.

Connors, T.A. & Melzack, D.H. (1971). Studies on the mechanism of action of 5-aziridinyl-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954), a selective inhibitor of the Walker tumour. *Int J Cancer*, 7, 86-92.

Cui, W., Allen, NJX, Skynner, M., Gusterson, B. & Clark, A.J. (2001). Inducible ablation of astrocytes shows that these cells are required for neuronal survival in the adult brain. *Glia*, 34,272-82.

Cui, W., Gusterson, B. & Clark, A.J. (1999). Nitroreductase-mediated cell ablation is very rapid and mediated by a p53-independent apoptotic pathway. *Gene Ther*, 6, 764-70.

Felmer, R., Cui, W. & Clark, A.J. (2002). Inducible ablation of adipocytes in adult transgenic mice expressing the E. coli nitroreductase gene. *J Endocrinol*, 175, 487-98.

Friedlos, F., Court, S., Ford, M., Denny, W.A & Springer, C. (1998). Gene directed enzyme prodrug therapy - quantitative bystander cytotoxicity and DNA damage induced by CB 1954 in cells expressing bacterial nitroreductase. *Gene Therapy*, 5, 105-112. Friedlos, F., Quinn, J., ICnox, R.J., & Roberts, J.J. (1992). The properties of total adducts and interstrand crosslinks in the DNA of cells treated with CB 1954. Exceptional frequency and stability of the crosslink. *Biochem Pharmacol*, 43, 1249-54.

Hu, L., Yu, C., Jiang, Y., Han, I., Li, Z., Browne, P., Race, P.R., Knox, R.J., Searle, P.F. & Hyde, E.I. (2003). Nitroaryl phosphoramides as novel prodrugs for E. coli nitroreductase activation in enzyme prodrug therapy. *J Med Chem*, 46, 4818-21.

Isles, A.R., Ma, D., Milsom, C., Skynner, M.J., Cui, W., Clark, J., Keveme, E.B. & Allen, N.D. (2001). Conditional ablation of neurones in transgenic mice. *J Neurobiol*, 47, 183-93.

Knox, R.J., Burke, P.J., Chen, S. & Kerr, D.J. (2003). CB 1954: from the Walker tumor to NQO2 and VDEPT. *Curr Pharm Des*, 9, 2091-104.

Knox, R.J., Friedlos, F., Biggs, P.J., Flitter, W.D., Gaskell, M., Goddard, P., Davies, L. & Jarman, M. (1993). Identification, synthesis and properties of 5-(aziridin-1-yl)-2-nitro-4-nitrosobenzamide, a novel DNA crosslinking agent derived from CB1954. *Biochem Pharmacol*, 46, 797-803.

Knox, R.J., Friedlos, F., Jarman, M. & Roberts, J.J. (1988). A new cytotoxic, DNA interstrand crosslinking agent, 5-(aziridin-1-yl)-4-hydroxylamino-2-nitrobenzamide, is formed from 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954) by a nitroreductase enzyme in Walker carcinoma cells. *Biochem Pharmacol*, 37, 4661-9.

Knox, R.J., Friedlos, F., Lydall, D.A. & Roberts, J.J. (1986). Mechanism of cytotoxicity of anticancer platinum drugs: evidence that cis-diamminedichloroplatinum(II) and cis-diammine-(1,1-cyclobutanedicarboxylato)platinum(II) differ only in the kinetics of their interaction with DNA. *Cancer Res*, 46, 1972-9.

Knox, R.J., Friedlos, K., Marchbank, T. & Roberts, J.J. (1991a). Bioactivation of CB 1954: reaction of the active 4-hydroxylamino derivative with thioesters to form the ultimate DNA-DNA interstrand crosslinking species. *Biochem Pharmacol*, 42, 1691-7.

Knox, R.J., Friedlos, F., Sherwood, R.F., Melton, R.G. & Anlezark G.M. (1992). The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954) - II. A comparison of an *Escherichia coli* nitroreductase and Walker DT diaphorase. *Biochem Pharmacol*, 44, 2297-301.

Knox, R.J., Jenkins, T.C., Hobbs, S.M., Chen, S., Melton, R.G. & Burke, P.J. (2000). Bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954) by human NAD(P)H quinone

oxidoreductase 2: a novel co-substrate- mediated antitumor prodrug therapy. *Cancer Res*, 60, 4179-86.

Knox, R.J., Lydall, D.A., Friedlos, F., Basham, C, Rawlings, C.J. & Roberts, J.J. (1991b).
5 The Walker 256 carcinoma: a cell type inherently sensitive only to those difunctional agents that can form DNA interstrand crosslinks. *Mutat Res*, 255,227-40.

Knox, R.J., Lydall, D.A., Friedlos, F., Basham, C & Roberts, J.J. (1987). The effect of
10 monofunctional or difunctional platinum adducts and of various other associated DNA damage on the expression of transfected DNA in mammalian cell lines sensitive or resistant to difunctional agents. *Biochim Biophys Acta*, 908, 214-23.

Li, Z., Han, J., Jiang, Y., Browne, P., Knox, R.J. & Hu, L. (2003).
15 Nitrobenzocyclophosphamides as potential prodrugs for bioreductive activation: synthesis, stability, enzymatic reduction, and antiproliferative activity in cell culture. *Bioorg Med Chem*, 11, 4171-8.

Ma, D., Allen, N.D., Van Bergen, Y.C., Jones, C.M., Baum, M.J., Keverne E.B. &
20 Brennan, P.A. (2002). Selective ablation of olfactory receptor neurons without functional impairment of vomeronasal receptor neurons in OMP-ntr transgenic mice. *Eur J Neurosci*, 16, 2317-23.

Malisza, K.L. & Hasinoff, B.B. (1995). Doxorubicin reduces the iron(III) complexes of
25 the hydrolysis products of the antioxidant cardioprotective agent dexrazoxane (ICRF-157) and produces hydroxyl radicals. *Arch Biochem Biophys*, 316, 680-8.

Manger, A.B., Burke, P.J., Somani, H.H., Friedlos, F. & Knox, R.J. (1994). Self-
30 immolative prodrugs: candidates for antibody-directed enzyme prodrug therapy in conjunction with a nitroreductase enzyme. *J Med Chem*, 37, 3452-8.

Sheard, C.E., Double, J.A. & Berenbaum, M.C. (1971). The sensitivity to
35 chemotherapeutic agents of a rat tumour grown in immunosuppressed mice. *Br J Cancer*, 25, 838-844.

Workman, P., Morgan, I.E., Talbot, K., Wright, K.A., Donaldson, J. & Twentyman, P.R.
(1986a). CB 1954 revisited. II Toxicity and antitumour activity. *Cancer Chemother Pharmacol*,
16, 9-14.

40 Workman, P., White, R.A. & Talbot, K. (1986b). CB 1954 revisited. I. Disposition kinetics and metabolism. *Cancer Chemother Pharmacol*, 16,1-8.

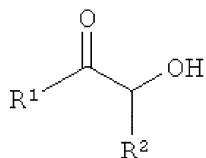
Wu,K., Knox, R, Sun, X.Z., Joseph, P., Jaiswal, A.K., Zhang, D., Deng, P.S, & Chen, S.
45 (1997). Catalytic properties of NAD(P)H:quinine oxidoreductase-2 (NQO2), a dihydronicotinamide riboside dependent oxidoreductase. *Arch Biochem Biophys*, 347, 221-8.

Все ссылки, упомянутые здесь, включены в данное описание путем отсылки.

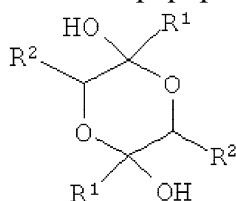
Формула изобретения

1. Применение соединения формулы I, или димера формулы Ia, или 3-гидрокси-2-
бутанона, или его димера в качестве восстановителя нитро, оксо, имино, азо, N-
оксидных или пиридиновых групп у органического соединения, содержащего одну или

более такую группу, при котором соединение формулы I имеет структуру



а димер формулы Ia



15 где R^1 представляет собой H или C_1 алкил, последняя группа которого необязательно замещена одним заместителем, выбранным из OH, гало и C_{1-3} алкокси,

R^2 представляет собой H или C_{1-4} алкил, последняя группа которого замещена одной или больше группами OH,

причем соединение формулы I характеризуется тем, что оно способно образовывать циклический димер, имеющий формулу Ia, и указанное восстановление

(i) осуществляется при pH 7-11; или

(ii) проводится в присутствии основания, представляющего собой амин, основной азотсодержащий гетероцикл или карбонатную или бикарбонатную соль.

2. Применение по п.1, где

R^1 представляет собой H или CH_2OH ; а

R^2 представляет собой H, CH_2OH или $CH(OH)CH_2OH$.

3. Способ восстановления нитро, оксо, имино, азо, N-оксидных или пиридиновых групп у органического соединения, содержащего одну или более такую группу, который включает контактирование указанного органического соединения с соединением формулы I или димером формулы Ia, или

3-гидрокси-2-бутанолом, или его димером,

где соединение формулы I или димер формулы Ia являются такими, как определено по п.1, и где указанное восстановление

(i) осуществляется при pH 7-11; или

(ii) проводится в присутствии основания, представляющего собой амин, основной азотсодержащий гетероцикл или карбонатную или бикарбонатную соль.

4. Способ по п.3, где

R^1 представляет собой H или CH_2OH ; а

R^2 представляет собой H, CH_2OH или $CH(OH)CH_2OH$.

5. Применение по п.1 или 2, при котором органическим соединением является активируемое восстановлением пролекарство, которое представляет собой одно или более соединений, выбранных из:

(a) Метронидазол (2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-этанол);

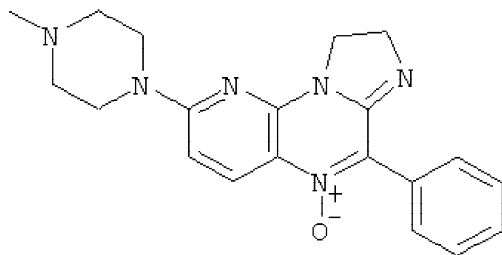
(b) Хлорамфеникол (2,2-дихлоро-N-[(α К, β К)- β -гидрокси- α -гидроксиметил-4-нитрофенэтил]ацетамид);

(c) Нитрофуразон (2-[(5-нитро-2-фуранил)метилден]гидразинкарбоксамид);

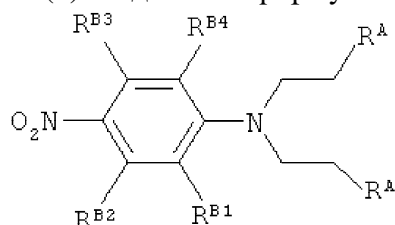
(d) E09 (3-[5-азиридирил-4,7-диоксо-3-гидроксиметил-1-метил-1H-индол-2-ил]-проп- β -ене- α -ол);

(e) SR-4233 (3-амино-1,2,4-бензотриазин-1,4-диоксид);

- (f) RSU-1069 (1-(1-азиридирил)-3-(2-нитро-1-имидазолил)-2-пропанол);
 (g) RB-6145 (1-[3-(2-бромозетиламино)-2-гидроксипропил]-2-нитроимидазол);
 (h) AQ4N (1,4-бис([2-(диметиламино-N-оксид)этил]амино)5,8-дигидрокси-
 антрацен-9,10-дион);
 (i) RB90003X



- (j) Митомицин С;
 (k) Митосен;
 (l) Циклопропамитосен;
 (m) Динемидин А;
 (n) соединение формулы



в которой каждый R^A независимо представляет хлор, бром, йод или $-OS(O)_2R^C$,
 R^C представляет C_{1-8} алкил (необязательно замещенный одним или больше атомами
 фтора) или фенил (необязательно замещенный одним или больше заместителями,
 выбранными из гало, нитро, C_{1-4} алкил и C_{1-4} алкокси),

$R^{B1}-R^{B4}$ независимо представляют H, CN, $C(O)N(R^D)R^E$, $C(S)N(R^D)R^E$, $C(O)OH$,
 $S(O)_2NHR^F$,

или R^{B1} может дополнительно представлять NO_2 ,

R^D и R^E независимо представляют H или C_{1-4} алкил (последняя группа которого
 необязательно замещена одним или больше заместителями, выбранными из OH, $N(H)-$
 C_{1-2} алкил, $N(C_{1-2}алкил)_2$, 4-морфолинил и $C(O)OH$),

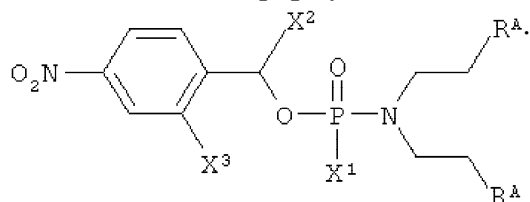
или R^D и R^E вместе с N-атомом, к которому они присоединены, представляют 4-
 морфолинил, и

R^F представляет H или $S(O)_2CH_3$,

при условии, что R^{B2} является H, когда R^{B1} не является H, особенно, SN23862

(5-{N,N-бис[2-[хлорэтил]амин]-2,4-динитробензамид);

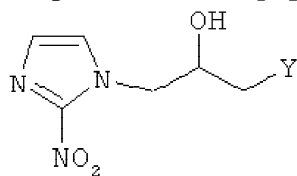
(o) соединение формулы



в которой R^A представляет собой как определено выше и любой

X^1 представляет собой NH_2 , и X^2 и X^3 оба представляют собой H,
 $-X^1-X^2$ - представляет $-NH-CH_2-CH_2$, и X^3 представляет H, или
 $-X^1-X^3$ - представляет $-NH-$, и X^2 представляет H;

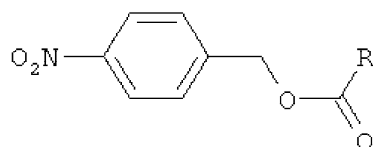
(p) соединение формулы



в которой Y представляет

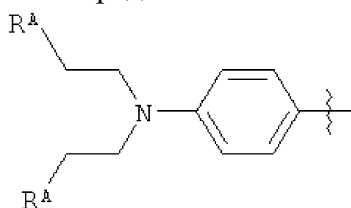
1-азиридирил (необязательно замещенный в 2-положении метилом), метокси (таким образом, образуя соединение мизонидазол) или $N(H)CH_2CH_2Br$ (таким образом, образуя соединение RB6145);

(q) само-разрушающееся (self-immolative) пролекарство формулы

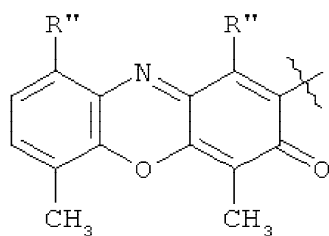


в которой R представляет $-O-R'$ или $-NH-R'$;

R' представляет



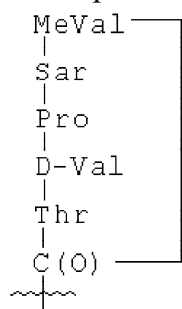
или



где волнистая линия указывает положение присоединения фрагментов,

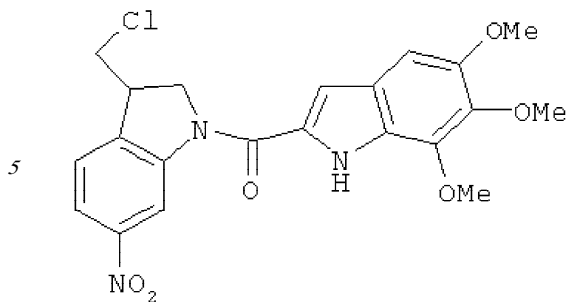
R^A - как определено выше, и

R'' представляет следующий пептидный лактон

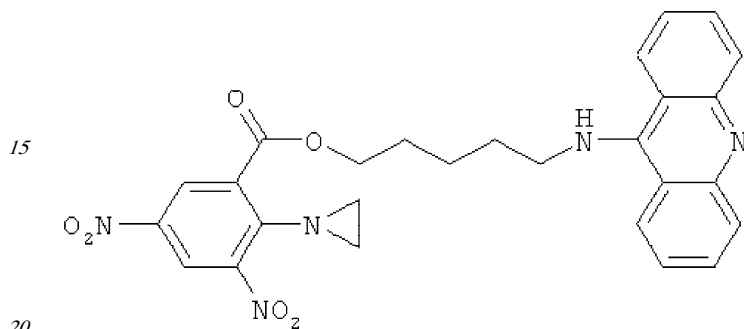


где волнистая линия указывает положение присоединения фрагмента,

(r) нитроиндолиновое соединение формулы



(s) акридин-СВ 1954



(t) третазикар (5-(азиридин-1-ил)-2,4-динитробензамид);

(u) бензохинон, нафтохинон или антрахинон для применения в противораковой химиотерапии или лечении болезни, когда эффективность зависит от восстановления функции хинона;

(v) конъюгированное (связанное) пролекарство, содержащее хиноидный остаток, который высвобождает цитотоксическое вещество при восстановительной активации;

(w) восстанавливаемый бензохинон, нафтохинон, антрахинон или индолохинон, используемый в качестве нецитотоксической основы (платформы) для конъюгатов пролекарств, где хинон действует как триггерный (инициирующий) компонент для высвобождения лекарства; и

(х) нитроароматическое или нитрогетероциклическое соединение для применения в качестве платформы, инициирующей пролекарства, через "само-алкилирование" после восстановительной активации в системе, высвобождающей лекарство, или фармацевтически приемлемая соль и/или сольват этого.

6. Способ по п.3 или 4, где органическим соединением является активируемое восстановлением пролекарство, которое представляет собой одно или более соединений, выбранных из:

(a) Метронидазол (2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-этанол);

(b) Хлорамфеникол (2,2-дихлоро-N-[(αR,βR)-β-гидрокси-α-гидроксиметил-4-нитрофенэтил]ацетамид);

(c) Нитрофуразон (2-[(5-нитро-2-фуранил)метилден]гидразинкарбоксамид);

(d) E09 (3-[5-азиридирил-4,7-диоксо-3-гидроксиметил-1-метил-1H-индол-2-ил]-проп-β-ене-α-ол);

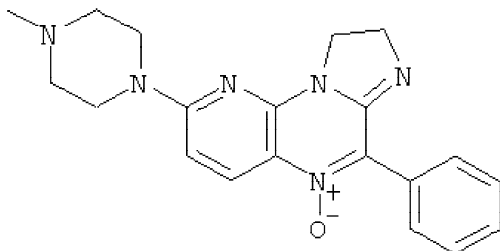
(e) SR-4233 (3-амино-1,2,4-бензотриазин-1,4-диоксид);

(f) RSU-1069 (1-(1-азиридирил)-3-(2-нитро-1-имидазолил)-2-пропанол);

(g) RB-6145 (1-[3-(2-бромозетиламино)-2-гидроксипропил]-2-нитроимидазол);

(h) AQ4N (1,4-бис([2-(диметиламино-N-оксид)этил]амино)5,8-дигидрокси-антрацен-9,10-дион);

(i) RB90003X



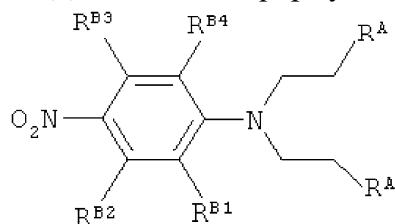
(j) Митомицин С;

(k) Митосен;

(l) Циклопропамитосен;

(m) Динемидин А;

(n) соединение формулы



в которой каждый R^A независимо представляет хлор, бром, йод или $-\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^C$, R^C представляет C_{1-8} алкил (необязательно замещенный одним или больше атомами фтора) или фенил (необязательно замещенный одним или больше заместителями, выбранными из гало, нитро, C_{1-4} алкил и C_{1-4} алкокси),

$\text{R}^{B1}-\text{R}^{B4}$ независимо представляют Н, CN, $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^D)\text{R}^E$, $\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^D)\text{R}^E$, $\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $\text{S}(\text{O})_2\text{NHR}^F$,

или R^{B1} может дополнительно представлять NO_2 ,

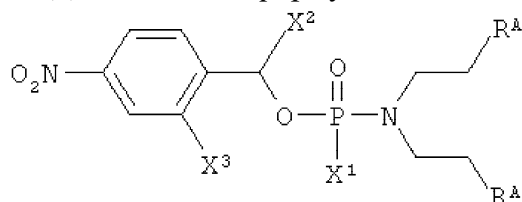
R^D и R^E независимо представляют Н или C_{1-4} алкил (последняя группа которого необязательно замещена одним или больше заместителями, выбранными из OH, $\text{N}(\text{H})\text{C}_{1-2}$ алкил, $\text{N}(\text{C}_{1-2}\text{алкил})_2$, 4-морфолинил и $\text{C}(\text{O})\text{OH}$).

или R^D и R^E вместе с N-атомом, к которому они присоединены, представляют 4-морфолинил, и

R^F представляет Н или $\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$,

при условии, что R^{B2} является Н, когда R^{B1} не является Н, особенно, SN23862 (5-{N,N-бис[2-[хлорэтил]амин]-2,4-динитробензамид);

(o) соединение формулы



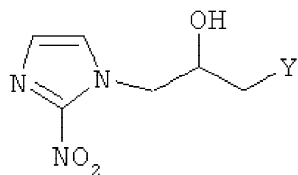
в которой R^A представляет собой как определено выше и любой

X^1 представляет собой NH_2 , и X^2 и X^3 оба представляют собой Н,

$-\text{X}^1-\text{X}^2-$ представляет $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, и X^3 представляет Н, или

$-\text{X}^1-\text{X}^3-$ представляет $-\text{NH}-$, и X^2 представляет Н;

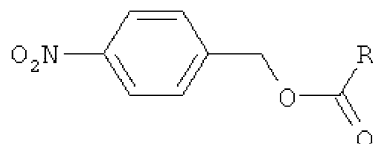
(p) соединение формулы



в которой Y представляет

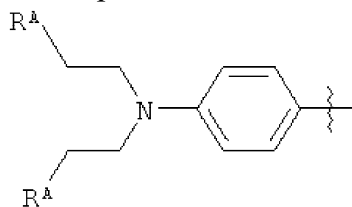
1-азиридирил (необязательно замещенный в 2-положении метилом), метокси (таким образом, образуя соединение мизонидазол) или $N(H)CH_2CH_2Br$ (таким образом, образуя соединение RB6145);

(q) само-разрушающееся (self-immolative) пролекарство формулы

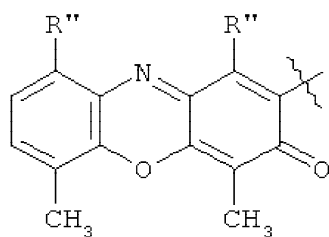


в которой R представляет $-O-R'$ или $-NH-R'$;

R' представляет



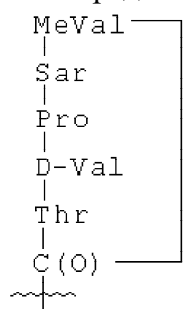
или



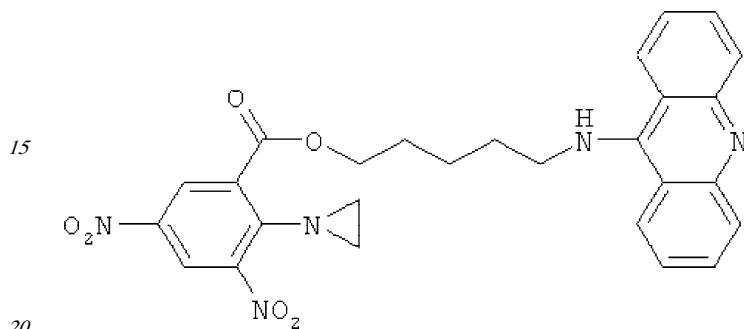
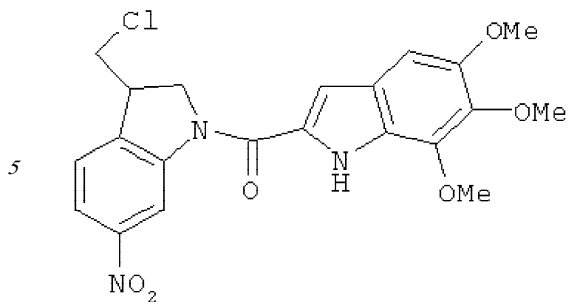
где волнистая линия указывает положение присоединения фрагментов,

R^A - как определено выше, и

R'' представляет следующий пептидный лактон



где волнистая линия указывает положение присоединения фрагмента,
(r) нитроиндолиновое соединение формулы



(t) третазикар (5-(азиридин-1-ил)-2,4-динитробензамид);

(u) бензохинон, нафтохинон или антрахинон для применения в противораковой химиотерапии или лечении болезни, когда эффективность зависит от восстановления функции хинона;

(v) конъюгированное (связанное) пролекарство, содержащее хиноидный остаток, который высвобождает цитотоксическое вещество при восстановительной активации;

(w) восстанавливаемый бензохинон, нафтохинон, антрахинон или индолохинон, используемый в качестве нецитотоксической основы (платформы) для конъюгатов пролекарств, где хинон действует как триггерный (инициирующий) компонент для высвобождения лекарства; и

(х) нитроароматическое или нитрогетероциклическое соединение для применения в качестве платформы, инициирующей пролекарства, через "само-алкилирование" после восстановительной активации в системе, высвобождающей лекарство, или фармацевтически приемлемая соль и/или сольват этого.

7. Применение по п.5, при котором органическое соединение является активируемым восстановлением пролекарством, которое превращается в соответствующую активную субстанцию при восстановлении нитрогруппы.

8. Способ по п.6, где органическое соединение является активируемым восстановлением пролекарством, которое превращается в соответствующую активную субстанцию при восстановлении нитрогруппы.

9. Применение по п.5 или 7, при котором активируемым восстановлением пролекарством является третазикар.

10. Способ по п.6 или 8, где активируемым восстановлением пролекарством является третазикар.

11. Применение по пп.1, 2 или 7, при котором соединение формулы I является дигидроацетоном (ДНА), гликольальдегидом, глицеральдегидом, эритрозой, ксилозой, эритрулозой, 3-гидрокси-2-бутаноном или их димером.

12. Применение по п.5, при котором соединение формулы I является дигидроацетоном (ДНА), гликольальдегидом, глицеральдегидом, эритрозой, ксилозой, эритрулозой, 3-гидрокси-2-бутаноном или их димером.

13. Применение по п.9, при котором соединение формулы I является дигидроацетоном (DHA), гликольальдегидом, глицеральдегидом, эритрозой, ксилозой, эритрулозой или их димером.

14. Способ по пп.3, 4, 6 или 8, где соединение формулы I является дигидроацетоном (DHA), гликольальдегидом, глицеральдегидом, эритрозой, ксилозой, эритрулозой или их димером.

15. Способ по п.6, где соединение формулы I является дигидроацетоном (DHA), гликольальдегидом, глицеральдегидом, эритрозой, ксилозой, эритрулозой или их димером.

16. Способ по п.10, где соединение формулы I является дигидроацетоном (DHA), гликольальдегидом, глицеральдегидом, эритрозой, ксилозой, эритрулозой или их димером.

17. Применение по п.11, при котором соединение формулы I является DHA, эритрозой или их димером.

18. Применение по п.12 или 13, при котором соединение формулы I является DHA, эритрозой или их димером.

19. Способ по п.14, где соединение формулы I является DHA, эритрозой или их димером.

20. Способ по п.15 или 16, где соединение формулы I является DHA, эритрозой или их димером.

21. Применение по п.17, при котором органическим соединением является третазикар, а соединением формулы I-DHA, эритрулоза или их димер.

22. Применение по п.18, при котором органическим соединением является третазикар, а соединением формулы I-DHA, эритрулоза или их димер.

23. Способ по п.19, где органическим соединением является третазикар, а соединением формулы I-DHA, эритрулоза или их димер.

24. Способ по п.20, где органическим соединением является третазикар, а соединением формулы I-DHA, эритрулоза или их димер.

25. Фармацевтическая композиция для борьбы с нежелательным ростом или пролиферацией у индивидуума, включающая 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиамино-2-нитробензамид и фармацевтически приемлемый носитель, полученный способом по п.3.

26. Способ по п.3, включающий добавление к смеси органического соединения и основания соединения формулы I, или димера формулы Ia, или 3-гидрокси-2-бутанона, или его димера.

27. Применение по п.1, при котором восстановление органического соединения выполняют в системе растворителя, содержащей не более чем 5 вес.% воды.

28. Способ по п.3, где восстановление органического соединения выполняют в системе растворителя, содержащей не более чем 5 вес.% воды.

29. Применение по п.1, при котором восстановление органического соединения выполняют в системе растворителя, содержащей не более чем 1 вес.% воды.

30. Способ по п.3, где восстановление органического соединения выполняют в системе растворителя, содержащей не более чем 1 вес.% воды.

31. Способ получения 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиамино-2-нитробензамида, включающий контактирование третазикара с соединением формулы I, или димером формулы Ia, или 3-гидрокси-2-бутанолом, или его димером, где соединение формулы I, или димер формулы Ia, как определено по любому из пп.1, 11-13, 17 или 18.

32. Применение 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиамино-2-нитробензамида,

полученного по способу по п.3, в производстве медикамента для борьбы с нежелательным ростом или пролиферацией клеток у индивидуума.

33. Применение по п.32, при котором нежелательный рост или пролиферация клеток у индивидуума представляет собой бородавку, или псориаз, или предраковую гиперплазию.

34. Применение по п.32, при котором нежелательный клеточный рост или пролиферация у индивидуума является неопластической.

35. Применение по п.34, при котором нежелательный рост или пролиферация клеток является опухолью.

36. Способ селективного восстановления органического нитросоединения до соответствующего гидроксилamina, включающий контактирование указанного органического нитросоединения с соединением формулы I, или димером формулы Ia, или 3-гидрокси-2-бутанолом, или его димером, как определено по любому из пп.1, 11-13, 17 или 18.

37. Способ по п.36, включающий контактирование органического нитросоединения с соединением формулы I и основанием и соединением формулы I, или димером формулы Ia, или 3-гидрокси-2-бутанолом, или его димером.

38. Способ получения 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида (или 5-(азиридин-1-ил)-2-гидроксиламино-4-нитробензамида), включающий:

(а) обеспечение смеси третиакра и основания;

(б) добавление 3-гидрокси-2-бутанона или соединения формулы I, как определено по любому из пп.1, 11-13, 17 или 18, или димерной формы указанного 3-гидрокси-2-бутанона или соединения формулы I.

39. Способ по п.38, в котором соединение формулы I представляет собой ДНА или эритрофулу.

40. Способ по п.37, который включает дополнительную стадию отделения продукта 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида от ко-продукта 5-(азиридин-1-ил)-2-гидроксиламино-4-нитробензамида, если он вырабатывается.

41. Способ по п.38, который включает дополнительную стадию отделения продукта 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамида от ко-продукта 5-(азиридин-1-ил)-2-гидроксиламино-4-нитробензамида, если он вырабатывается.

42. Способ по п.37, в котором основание представляет собой углекислоту или двууглекислоту соль (карбонат или бикарбонат).

43. Способ по любому из пп.38, 39 или 41, в котором основание представляет собой углекислоту или двууглекислоту соль (карбонат или бикарбонат).

44. Фармацевтическая композиция по п.25, которая представляет собой раствор или суспензию, содержащие 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель.

45. Композиция по п.44, в которой раствор или суспензия являются распыляемыми.

46. Композиция для местного нанесения, содержащая 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид и местно-применимый адъювант, разбавитель или носитель.

47. Композиция по п.46, которая представляет собой крем, лосьон или мазь.

48. Композиция по п.44 или 45 для применения при лечении рака мочевого пузыря, цервикального рака, рака яичников или рака мозга.

49. Композиция по п.45 для применения при лечении рака рта, носовой полости, глотки, зева, гортани, трахеи или легких.

50. Механический распылитель, имеющий резервуар, наполненный раствором или

суспензией, включающей 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид, полученный способом по п.3, и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель.

51. Аэрозольное устройство, включающее раствор или суспензию, содержащую один или больше сжатых газов и 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид, полученный способом по п.3, и фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель.

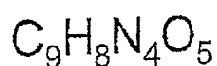
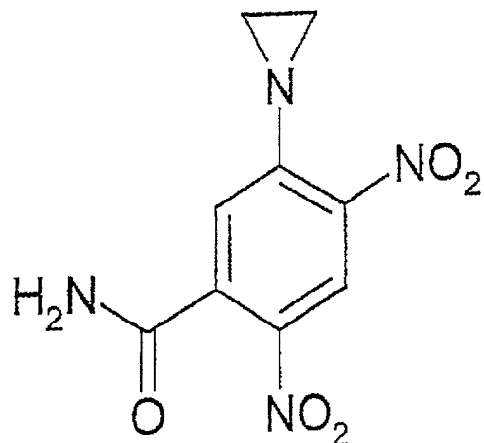
52. Сухая порошковая аэрозольная композиция, включающая 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид, полученный способом по п.3.

53. Терапевтическая система, включающая:

(i) устройство для сухой порошковой ингаляции, необязательно содержащее источник сжатого газа; и

(ii) одну или больше отдельных доз сухой порошковой аэрозольной композиции, включающей 5-(азиридин-1-ил)-4-гидроксиламино-2-нитробензамид, полученный способом по п.3.

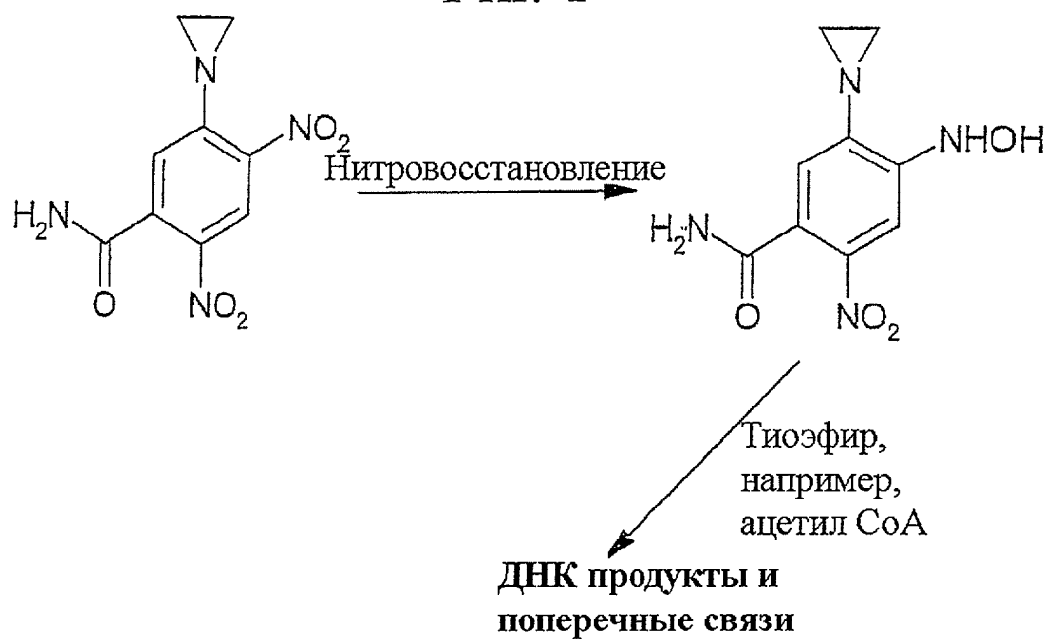
54. Композиция по п.46 или 47 для применения при лечении рака кожи, немеланомы на коже, рака простаты, злокачественного лентиги, старческого кератоза, бородавок, псориаза и рака кишечника.



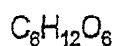
252.18

C 42.9%; H 3.2%; N 22.2%; O 31.7%

Фиг. 1

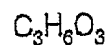


Фиг. 2



Мол. масса : 180.16

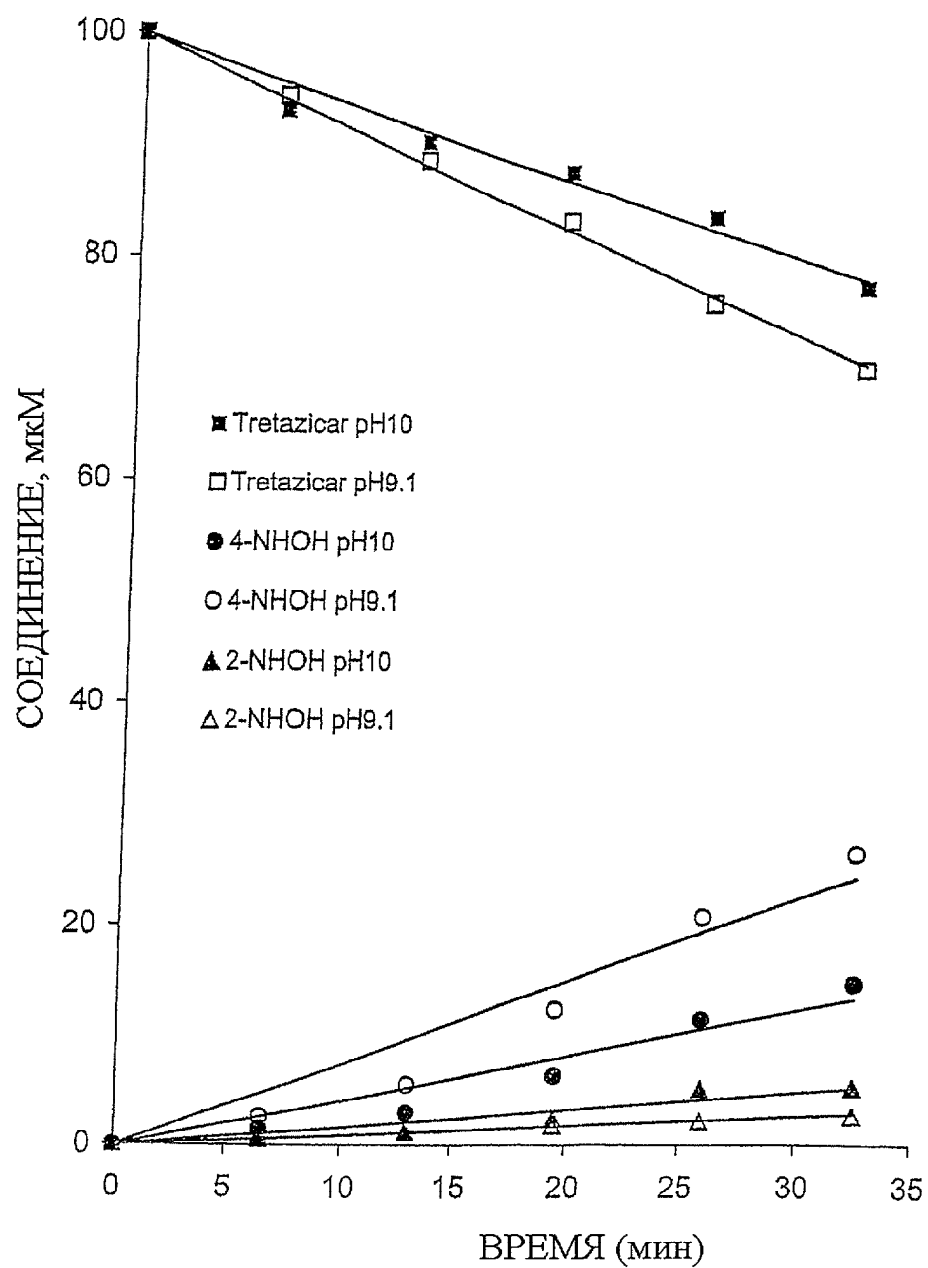
C: 40.00%; H: 6.71%; O: 53.29%



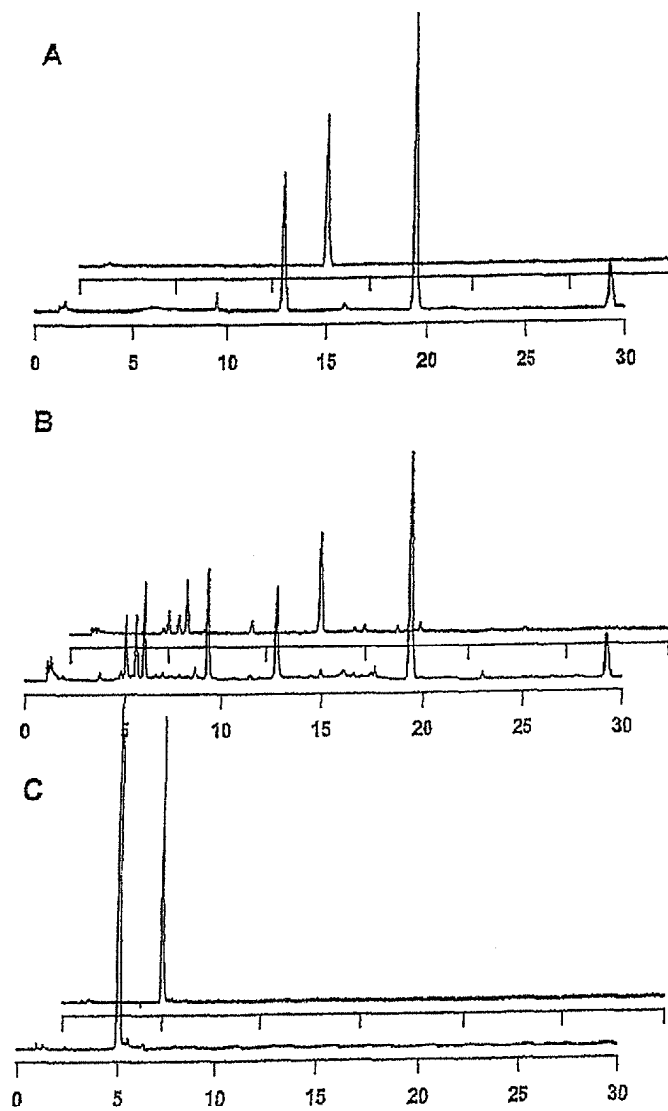
Мол. масса : 90.08

C: 40.00%; H: 6.71%; O: 53.29%

Фиг. 3

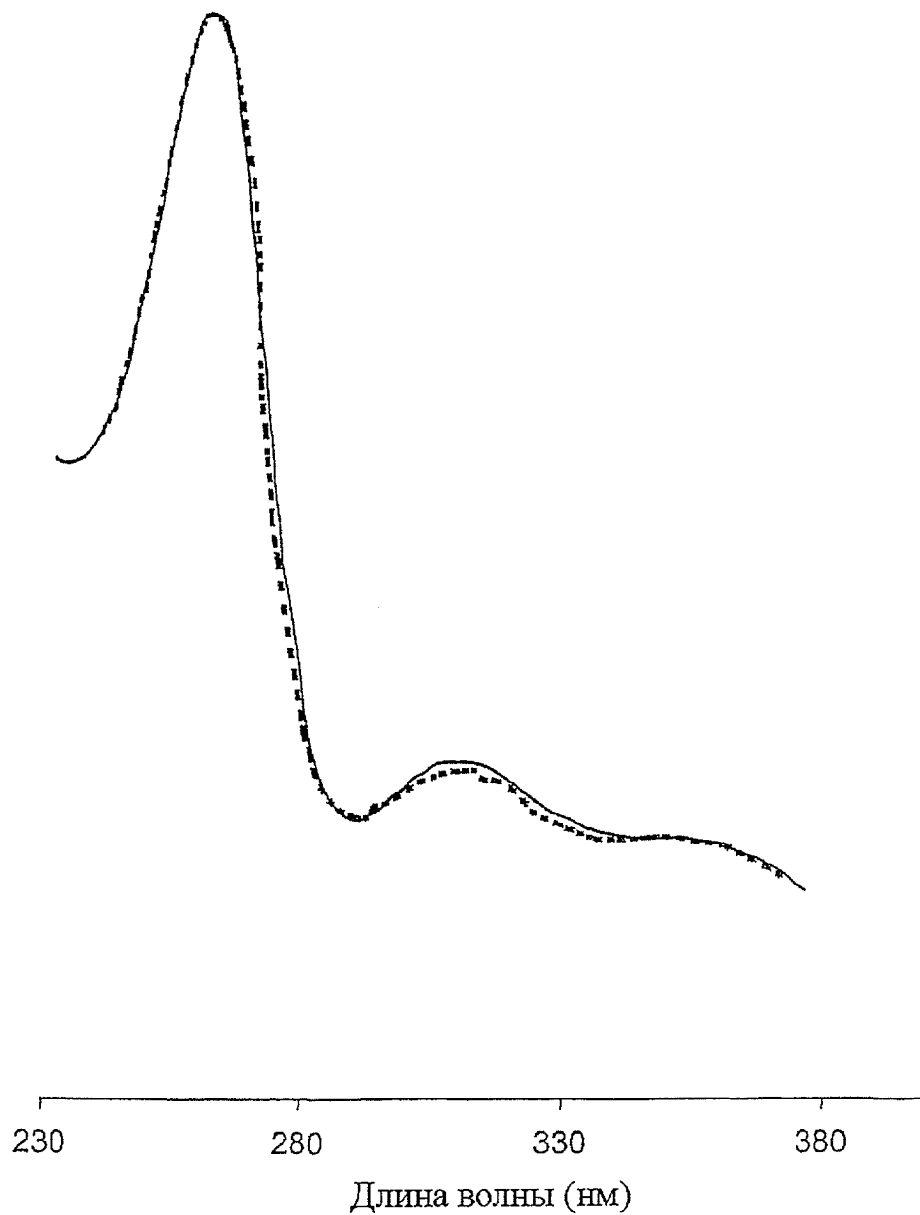


Фиг. 4

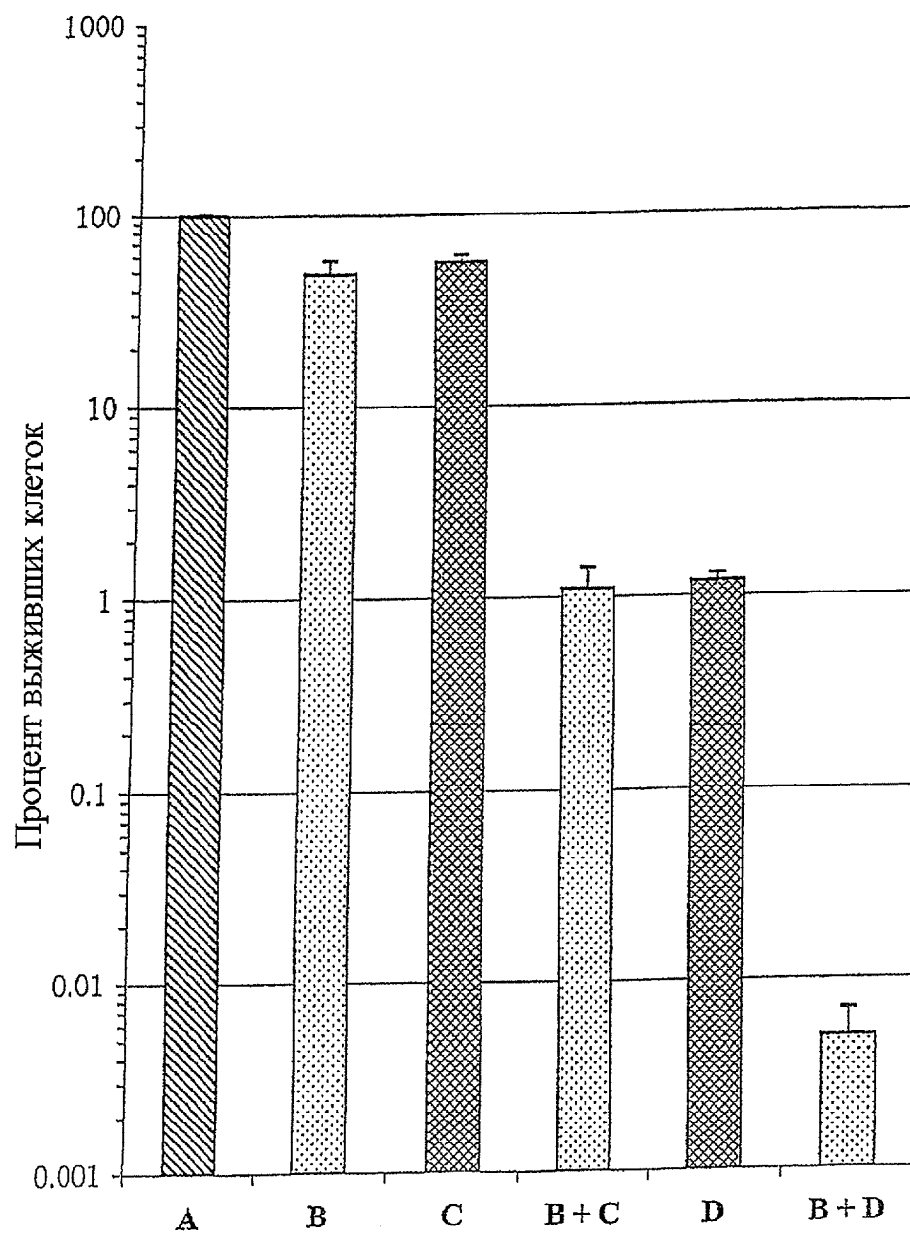


Время удерживания

Фиг. 5



ФИГ. 6



Фиг. 7