



ОПИСАНИЕ КЪМ ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 98531

(22) Заявено на 23.02.94

(24) Начало на действие на патента от: 23.02.94

Приоритетни данни

(31) (32) (33)

(41) Публикувана заявка в бюлетин № на

(45) Отпечатано на 27.10.95

(46) Публикувано в бюлетин № 7 на 28.07.95

(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег.

(73) Патентоприетател(и):

Farmitalia Carlo Erba S.p.A., Milan (IT)

(72) Изобретател(и):

Alberto Bargiotti

Pierangelo Zini

Sergio Penco

Fernando Giuliani

(74) Представител по индустриална собственост:

Георги Цветанов Перев, 1000 София, бул. "Васил Левски" 68, вх. 2, ап. 31

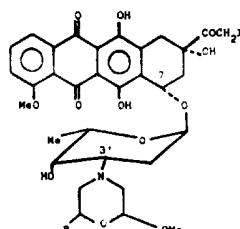
(86) № и дата на РСТ заявка:

(87) № и дата на РСТ публикация:

Издава се съгласно § 4 от Преходните и заключителни разпоредби на ЗП на основание издаден патент на : BE № 904431 от 16.07.86

(54) МОРФОЛИНОВИ ПРОИЗВОДНИ НА ДАУНОРУБИЦИНА И ДОКСОРУБИЦИНА

(57) Изобретението се отнася до антитуморни гликозиди на антрациклините с формула



и до методи за тяхното получаване. Съединенията имат ценни фармакологични свойства и намират приложение като лекарствени средства. Изобретението се отнася също и до съставите, които съдържат тези съединения като активни вещества, и до приложението на съединенията.

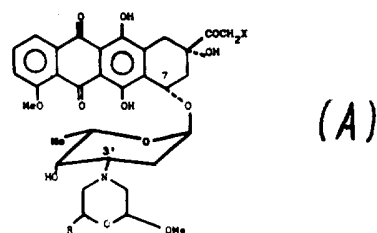
14 претенции

(54) МОРФОЛИНОВИ ПРОИЗВОДНИ НА ДАУНОРУБИЦИНА И НА ДОКСОРУБИЦИНА

Настоящото изобретение се отнася до антитуморни гликозиди на антрациклините, до методите за тяхното получаване, до съставите, които ги съдържат и до приложението на тези съединения.

Даунорубицинът (дауномицин) и доксорубицинът (адриамицин) са добре известни антитуморни гликозиди на антрациклините; освен това тяхното получаване и приложение са нашироко описани в досегашната техника. Дауномицинонът (агликон на даунорубицина), който представлява един от изходните материали, използвани за получаване на съединенията съгласно изобретението е също така добре познато вещество и той е описан и защитен в британски патент № 1 003 383.

Съгласно един от аспектите на настоящето изобретение, то предлага нов клас антибиотици на гликозидите на антрациклините с формула А:



в която X е водороден атом или хидроксигрупа, а R е водороден атом, метилова група или хидроксиметилова група, както и техните фармацевтично приемливи соли като например хлорхидратите. В частност новите гликозиди на антрациклините са следните:

I: 3'-деамино-3'-(2''-метокси-4''-морфолинил)даунорубицин (X=R=H)

II: 3'-деамино-3'-(2''-метокси-4''-морфолинил)доксорубицин (R=H; X=OH);

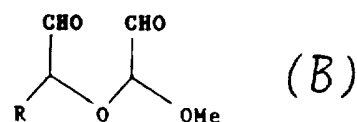
III: 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил)даунорубицин (R=CH₃; X=H);

IV: 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил) доксорубицин (R=CH₃; X=OH);

V: 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил) даунорубицин (R=CH₂OH; X=H);

VI: 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил) доксорубицин (R=CH₂OH; X=OH);

Съединенията с формула (A) се получават чрез образуване на морфолинилово ядро, заместено в C-3' положение върху захарната фракция на антрациклините даунорубицин и доксорубицин чрез редукиционно алкилиране чрез използването на хирален диалдехид с обща формула (B):

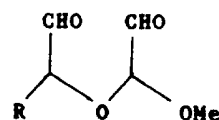


в която R представлява водороден атом, метилова група или хидроксиметилова група.

Следователно настоящето изобретение предлага метод за получаване на гликозид на антрациклина с формула (A), дефинирана в претенция 1 или някоя от неговите фармацевтично приемливи соли, като метода се състои във взаимодействие на даунорубицина, доксорубицина или някоя от техните кисели присъединителни соли с излишък на алдехид с формула (B), в присъствие на цианоборхидрид на алкален метал и евентуално превръщане на така полученото съединение с формула (A) в някоя от неговите фармацевтично приемливи соли.

Редукиционното алкилиране се осъществява при използването на излишък от диалдехид в среда на смес на полярен органичен разтворител и вода, като например смес на вода и ацетонитрил, обикновено при рН около 7 в присъствие на цианоборхидрид на алкален метал, например цианоборхидрид на натрия или цианоборхидрид на калия. Реакцията обикновено завършва за два часа при стайна температура. Желаният продукт се изолира от реакционната смес чрез екстракция с разтворител и се пречиства чрез колонна хроматография.

Така например за получаването на хлорхидрат съгласно изобретението, даунорубицинът или доксорубицинът под формата на хлорхидрат се разтваря в смес 1:1 обем/обем на ацетонитрил и вода и след като рН се установи на 7.4 с воден разтвор на натриев бикарбонат, провежда се взаимодействие при стайна температура с излишък (7-10 еквивалента) на диалдехид с формула (B):



в която R е водороден атом, метилова група или хидроксиметилова група в присъствие на воден разтвор на NaBH_3CN в количество еквивалентно на изходния даунорубин и след разбъркване в продължение на 15 минути при стайна температура се получава суровото гликозидно съединение с формула (A) ($\text{X}=\text{H}$ или OH), което се изолира под формата на хлорхидрат след пречистване с колонна хроматография под налягане върху силикагел и при използването на елуент, смес на 96:5 обем/обем метиленхлорид и ацетон.

Диалдехидът с формула (B) се получава по реакцията на Maillard от метилгликозид на захар в пиранова форма. В частност с тази цел се прибегва до окисление с периодна киселина на метилгликозида на:

i) арабинозата в пиранова форма, за да се получи диалдехида (BI) ($\text{R}=\text{H}$);

ii) рамнозата, за да се получи (BII) ($\text{R}=\text{Me}$);

iii) гликозата, за да се получи (BIII) ($\text{R}=\text{CH}_2\text{OH}$).

Освен това изобретението предлага фармацевтични състави, съдържащи гликозид на антрациклина с формула (A) или негова фармацевтично приемлива сол в смес с фармацевтично приемлив носител или разредител. Тези състави съдържат гликозида или негова сол в терапевтично ефективно количество. Изобретението предлага освен това методи за приложение на гликозидите или техните соли за лечение на някои тумори при бозайници чрез администрирането на пациента на ефикасно терапевтично количество.

Следващите по-долу примери илюстрират изобретението.

Пример 1. Получаване на 1-метокси-2,2'-оксиацеталдехид (BI).

Разтвор на 1,64 г (10 ммол) метил- α -L-арабинопиранозид в 25 мл вода се обработва при 0°C и на части с 4,3 г натриевперйодит. След три часа йодатът и перйодатът в излишък се утаяват чрез добавянето на разтвор на бариев хлорид. Сместа се неутрализира (BaCO_3) и се филтрува, като неразтворимото вещество се промива с вода. Към филтратата се добавя етанол и след това сместа се поставя в хладилник в продължение на една нощ, така че неорганичното вещество да се утаи. След филтруване разтворът се концентрира в сироп, който се екстрахира с 10 мл ацетонитрил.

Екстрактът се използва за следващия етап без допълнително пречистване.

Пример 2. Получаване на 3'-деамино-3'-(2''-метокси-4''-морфолинил)даунорубин (I).

Към разтвор на 0,57 г (1,0 ммол) хлорхидрат на даунорубина в 40 мл смес на ацетонитрил и вода в отношение 1:1 се добавя разтвор на диалдехид, получен както е описано в пример 1. рН се установява на 7,4 чрез добавянето на разтвор на натриев бикарбонат. След два часа сместа се обработва при разбъркване с разтвор на 0,064 г (1,0 ммол) NaBH_3CN в 5 мл вода. След 15 минути сместа се обработва като се разрежда с 100 мл вода и се екстрахира с метиленхлорид. Органичната фаза се изпарява под вакуум. Получената утайка се пречиства чрез колонна хроматография под налягане върху силикагел при използването на елуираща система смес на 96:5 обем/обем метиленхлорид и ацетон. Получават се 0,360 г (добив: 55%) от съединение I, което се изолира под формата на хлорхидрат. Точка на топене: $160-161^\circ\text{C}$.

Ядреномагнитен резонанс-спектър (200 MHz, CDCl_3): 13,98 (s, 1H, OH-6), 13,28 (s, 1H, OH-11), 8,02 (d, $J=8$, OH, 1H, H-1), 7,77 (t, $J=8$, OH, 1H, H-2), 7,38 (d, $J=8$, OH, 1H, H-3), 5,54 (m, 1H, H-1'), 5,26 (dd, $J=2,2$, 4, 2Hz, 1H, H-7), 4,64 (s, 1H, OH-9),

4,49 (dd, $J=2,6$, 4, OH, $\text{NCH}_2-\text{CH}_{\text{eq}}-\text{O}$), 4,07 (s, 3H, OCH_3 -4), 4,01 (qd, $J=1,0$, 6, 5Hz, 1H, H-5'), 3,90 (m, 1H, $\text{NH}_2-\text{CH}(\text{H})\text{O}$), 3,65 (m, 1H, H-4'), 3,4-3,6 (m, 1H, $\text{NCH}_2-\text{CH}(\text{H})\text{O}$), 3,38 (s, 3H, $\text{OCH}_3-\text{CHCH}_2\text{N}$), 3,21 (dd, $J=1,8$, 19, OH, 1H, H-10e), 2,93 (d, $J=19$, OH, 1H, H-10ax), 2,61 (dd, $J=4,0$, 11, 4Hz, $\text{NCH}_2(\text{H})-\text{CHOCH}_3$), 2,3-2,5 (m, 3H, H-8e, H-3', $\text{NCH}_2(\text{H})-\text{CHOCH}_3$), 2,40 (s, 3H, CH_3 -14, 2,08 (dd, $J=4,2$, 15, OH, 1H, H-8ax), 1,7-1,8 (m, 2H, CH_2 -2'), 1,36 (d, $J=6,5$ Hz, 3H, CH_3 -5').

Пример 3. Получаване на 3'-деамино-3'-(2''-метокси-4''-морфолинил)доксорубин (II).

Синтезата на съединение II се осъществява като се излиза от 0,58 г (1,0 ммол) хлорхидрат на доксорубина и разтвор на 1-метокси-2,2-оксибисацеталдехида от пример 1 съгласно метода, описан в пример 2. Получава се 3'-деамино-3'-(2''-метокси-4''-морфолинил)доксорубин (II) под формата на хлорхидрат в количество 0,38 г (добив: 55%); точка на топене: $163-164^\circ\text{C}$.



Ядреномагнитен резонанс-спектр (200 MHz, CDCl₃): 13,97 (s, 1H, OH-6), 13,26 (s, 1H, OH-11), 8,03(dd, J=1,2, 8,0Hz, 1H, H-1), 7,78(t, J=8,0Hz, 1H, H-2), 7,40(dd, J=1,2, 8,0Hz, 1H, H-3), 5,55(J=2,6Hz, 1H, H-1'), 5,29(dd, J=2,2, 3,9Hz, 1H, H-7), 4,74(d, J=3,0Hz, 2H, CH₂FH-14), 4,49(dd, J=2,5,

4,0Hz, 1H, N-CH₂-CH_{eq}-O), 4,08(s, 3H, OCH₃-4), 3,93(qd, J=1,0, 6,5Hz, 1H, H-5'), 3,92(m, 1H, NCH₂CH(H)O), 3,67(dd, J=2,0, 1,0Hz, 1H, H-4'), 3,54(m, 1H, NCH₂-CH(H)O), 3,38(s, 3H, NCH₂-CH-FCH₃), 3,26(dd, J=1,7, 19,0Hz, 1H, H-10e), 3,00(d, J=19,0Hz, 1H,

H-10ax), 2,60(dd, J=4,0, 11,4Hz, 1H, N-CH_{eq}-(H)), 2,47(m, 2H,

NCH₂CH₂O), 2,45(m, 1H, N-CH_{ax}-(H)-CHOCH₃), 2,3-2,4(m, 1H, H-8e), 8,34(m, 1H, H-3'), 2,14(dd, J=3,9, 15,0Hz, 1H, H-8ax), 1,76(m, 2H, CH₂-2'), 1,36(d, J=6,5Hz, 3H, CH₃5').

Пример 4. Получаване на 1-метил-1'-метокси-2,2'-оксиацеталдехид (ВІІ).

Разтвор на 1,78 г (10 ммол) метил-α-L-рамнопиранозид в 25 мл вода се обработва при 0°C и с 4,3 г натриевперодат. След три часа внимателно се добавя натриев бикарбонат за неутрализиране на киселината, сместа се излива в 100 мл етанол и неразтворимото вещество се филтрува. Филтратът се концентрира в сироп, който се екстрахира с 15 мл ацетонитрил. Екстрактът се използва за следващия етап без допълнително пречистване.

Пример 5. Получаване на 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил)даунорубин (ІІІ).

Синтезата на съединение ІІІ се осъществява като се излива от 0,57 г (1,0 ммол) хлорхидрат на даунорубина и разтвор на 1-метил-1'-метокси-2,2'-оксиацеталдехида от пример 4 съгласно метода, описан в пример 2. Получава се 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил)даунорубин под формата на хлорхидрат в количество 0,34 г (добив: 50%); точка на топене: 152°C.

Ядреномагнитен резонанс-спектр (200 MHz, CDCl₃): 13,97(s, 1H, OH-6), 13,29(s, 1H, OH-11), 8,02(dd, J=1,2, 8,0Hz, 1H, H-1), 7,77(t, J=8,0Hz, 1H, H-2), 7,39(dd, J=1,2, 8,0Hz, 1H, H-3), 5,53(m, 1H, H-1'), 5,26(dd, J=2,0, 4,0Hz, 1H, H-7),

4,67(s, 1H, OH-9), 4,59(d широк, J=2,0Hz, 1H, N-CH₂-CH_{eq}-O),

4,08(s, 3H, OCH₃-4), 3,9-4,03(m, 1H, NCH₂-CH_{ax}-O), 4,0(qd, J=1,5, 6,6Hz, 1H, H-5'), 3,71(m, 1H, H-4'), 3,34(s, 3H, -CH-OCH₃), 3,21(dd, J=2,0

19,2Hz, H-10e), 2,93(d, J=19,2Hz, 1H, H-10ax), 2,95(d широк, J=11,0Hz, 1H,

N-CH_{eq}(H)-CH-O), 2,83(d

широк, J=11,5Hz, 1H, NCH₂(H)-CH-O), 2,40(s, 3H, CH₃-14), 2,35(ddd, J=2,0, 15,0Hz, 1H, H-8e), 2,17(dd, J=2,8, 11,5Hz,

1H, NCH(H_{ax})-CH-O), 2,07(dd, J=4,0, 15,0Hz, 1H, H-8ax), 1,82(dd, J=11,0, 11,0, 1H,

NCH(H_{ax})-CH-O), 1,7-1,8(m, 2H, CH₂-2'), 1,36(d, J=6,6Hz, 3H, CH₃5-5'), 1,09(d, J=6,2Hz, 3H, NCH₂-CH-CH₃).

Пример 6. Получаване на 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил)доксорубицин (ІV).

Синтезата на съединение ІV се осъществява като се излива от 0,56 г (1,0 ммол) хлорхидрат на доксорубина и разтвор на 1-метил-1'-метокси-2,2'-оксиацеталдехида от пример 4 съгласно метода, описан в пример 2. Получава се 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил)доксорубицин (ІV) под формата на хлорхидрат в количество 0,35 г (добив: 51%); точка на топене: 162°C.

Ядреномагнитен резонанс-спектр (200 MHz, CDCl₃):

13,88(s, 1H, OH-6), 13,15(s, 1H, OH-11), 7,97(dd, J=1,0, 8,0Hz, 1H, H-1), 7,76(t, J=8,0Hz, 1H, H-2), 7,37(dd, J=1,0, 8,0Hz, 1H, H-3), 5,53(m, 1H, H-1'), 5,30(dd, J=2,1, 4,0Hz, 1H, H-7), 4,74(s, 2H, CH₂-OH-14), 4,60(d широк, J=2,3Hz, 1H,

N-CH₂-CH_{eq}-O), 4,08(s, 3H, OCH₃-4), 4,0(m, 1H, NCH₂-CH_{ax}-O), 3,92(qd, J=1,0, 6,5Hz, 1H, H-5'), 3,71(m, 1H, H-4'), 3,34(s, 3H,

NCH₂-CH-OCH₃), 3,27(dd, J=1,5, 19,0Hz, 1H, H-10e), 3,03(d, J=19,0Hz, 1H, H-10ax), 2,97(d

широк, $J=11,5\text{Hz}$, 1H,

$\text{N-CH}_2\text{-(H)-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-O}$, 2,82 (d широк, $J=11,5\text{Hz}$, 1H,

$\text{NCH}_2\text{-(H)-}\overset{\text{OCH}_3}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-O}$, 2,1-2,4 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-8}$, H-3,

$\text{NCH}_{\text{ax}}\text{-(H)-}\overset{\text{OCH}_3}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-O}$, 1,83 (dd, $J=11,5$, 11,5Hz, 1H,

$\text{NCH(H}_{\text{ax}})\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-O}$, 1,75 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-2'}$), 1,36 (d, $J=6,5\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3\text{-5'}$), 1,10 (d, $J=6,5\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_2\text{N}$).

O

Пример 7. Получаване на 1-хидроксиметил-1'-метокси-2,2'-оксидиацеталдехид (VIII).

Разтвор на 1,95 г (10 ммол) метил- α -D-глюкопиранозид в 20 мл вода се обработва на части при 0°C и с 4,3 г натриев периодат. Работейки както е описано в пример 1 се получава разтвор на 1-хидроксиметил-1'-метокси-2,2'-оксидиацеталдехид.

Пример 8. Получаване на 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил)даунорубин (V).

Синтезата на съединение V се осъществява като се излиза от 0,57 г (1,0 ммол) хлорхидрат на даунорубина и разтвор на 1-хидроксиметил-1'-метил-2,2'-оксидиацеталдехида от пример 7 съгласно метода, описан в пример 2. Получава се 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил)даунорубин (V) под формата на хлорхидрат в количество 0,35 г (добив: 50%); точка на топене: 164°C .

Ядреномагнитен резонанс-спектр (200 MHz, CDCl_3):

13,98 (s, 1H, OH-6), 13,28 (s, 1H, OH-11), 8,02 (dd, $J=1,0$, 8,0Hz, 1H, H-1), 7,78 (t, $J=8,0\text{Hz}$, 1H, H-2), 7,38 (dd, $J=1,0$, 8,0Hz, 1H, H-3), 5,54 (m, 1H, H-1'), 5,28 (dd, $J=2,0$, 4,0Hz, 1H, H-7),

4,66 (s широк, 1H, $\text{N-CH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-OCH}_3$), 4,63 (s, 1H, OH-9), 4,08 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-4}$), 4,02 (qd, $J=2,0$, 6,5Hz, 1H, H-5'),

3,95-4,05 (m, 1H, $\text{NCH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-CH}_2\text{OH}$), 3,67 (m, 1H, H-4'),

3,65 (dd, $J=3,0$, 12,0Hz, 1H, $\text{NCH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-CH(H)OH}$), 3,55 (dd,

$J=5,0$, 12,0Hz, 1H, $\text{NCH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-CH(H)}$), 3,34 (s, 3H,

$\text{NCH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-OCH}_3$), 3,23 (dd, $J=1,0$, 19,0Hz, 1H, H-10'), 3,08 (d

широк, $J=11,0\text{Hz}$, 1H, $\text{NCH}_{\text{eq}}\text{-(H)-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-OCH}_3$), 2,95 (d, $J=19,0\text{Hz}$,

1H, H-10_{\text{ax}}), 2,75 (d широк, $J=11,0\text{Hz}$, 1H,

$\text{NCH}_{\text{eq}}\text{-(H)-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-CH}_2\text{OH}$), 2,40 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-1H}$), 2,3-2,43 (m, 2H, H-3', H-8'), 2,17 (dd, $J=4,0$, 13,0Hz, 1H, H-8'), 2,15 (m, 1H,

$\text{NCH(H}_{\text{ax}})\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-OCH}_3$), 2,07 (dd, $J=11,0$, 11,0Hz, 1H, $\text{NCH(H}_{\text{ax}})\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-CH}_2\text{OH}$), 1,79 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-2'}$), 1,36 (d, $J=6,5\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3\text{-5'}$).

Пример 9. Получаване на 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил)доксорубин (VI).

Синтезата на съединение VI се осъществява като се излиза от 0,58 г (1,0 ммол) хлорхидрат на доксорубина и разтвор на 1-хидроксиметил-1'-метил-2,2'-оксидиацеталдехида от пример 7 съгласно метода, описан в пример 2. Получава се 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил)доксорубин (VI) под формата на хлорхидрат в количество 0,36 г (добив: 51-52 %); точка на топене: 165°C .

Ядреномагнитен резонанс-спектр (200 MHz, CDCl_3):

13,92 (s, 1H, OH-6), 13,17 (s, 1H, OH-11), 7,99 (d, $J=8,0\text{Hz}$,

1H, H-1), 7,76 (t, $J=8,0\text{Hz}$, 1H, H-2), 7,38 (d, $J=8,0\text{Hz}$, 1H, H-3), 5,52 (m, 1H, H-1'),

5,25 (m, 1H, H-7), 4,734 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-OH-14}$), 4,70 (s, 1H, OH-9), 4,66 (s широк, 1H,

$\text{N-CH}_2\text{-}\overset{\text{OCH}_3}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-O}$), 4,06 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-4}$),

3,9-4,0 (m, 1H, $\text{N-CH}_2\text{-}\overset{\text{CH}_2\text{OH}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-O}$), 3,92 (qd, $J=2,0$, 6,5Hz, 1H, H-5'), 3,68 (m, 1H,

H-4'), 3,61 (dd, $J=4,0$, 11,5Hz, 1H,

$\text{N-CH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-CH-CH(H)-OH}$), 3,51 (dd, $J=5,5$, 11,5Hz, 1H,

$\text{NCH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-CH(H)OH}$), 3,33 (s, 3H, $\text{NCH}_2\text{-CH-OCH}_3$), 3,20 (dd, $J=1,05$, 19,0Hz, 1H, H-10'),

3,00 (d широк, $J=11,0\text{Hz}$, 1H,

$\text{N-CH}_2(\text{H})-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH-OCH}_3$, 2,93(d, J=19,0Hz, 1H, H-10_{ax}), 2,73(d широк, J=11,0Hz, 1H,

$\text{NCH}_2(\text{H})-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2\text{O}$, 2,3-2,5(m, 2H, H-3', H-8'), 2,20(dd, J=4,0, 13,0Hz, 1H, H-8_{ax}), 2,15(dd, J=3,0, 11,0Hz, 1H,

$\text{N-CH}(\text{H}_{ax})-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH-OCH}_3$, 2,04(dd, J=11,0, 11,0Hz, 1H,

$\text{NCH}(\text{H}_{ax})-\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2\text{OH}$, 1,80(m, 2H, CH₂-2'), 1,35(d, J=6,5Hz, 3H, CH₃-5').

Биологична активност на съединенията от I до VI.

Съединенията се подлагат на изпитания в различни експериментални системи с цел да се определи тяхната цитотоксичност и тяхната антитуморна активност при експериментални животни.

Представените в таблица I резултати показват, че всички съединения са по-цитотоксичност от сродните медикаменти, а именно даунорубицина и доксорубицина.

Началната селекция е осъществена върху CDF-1 мишки, притежаващи водна левкемия Р 388 (10⁶ клетки/мишка). Получените резултати са представени в таблица II. Всички съединения са активни; в частност съединение V е по-активно от даунорубицина, което води до същата оптимална доза и по-голямо нарастване на продължителността на живота на

мишките. Аналозите II, IV и VI на доксорубицина са по-силни от сродния медикамент. В частност съединение II е 60 пъти по-силно и показва най-голяма ефективност (Т/С %, 295).

- 5 Аналозите II, IV и VI на доксорубицина се подлагат на експерименти със СЗН мишки, притежаващи левкемия на Gross, инжектирана интравенозно (2x10⁶ клетки/мишка). Получените резултати са представени в
- 10 Таблица III. Един ден след заразяването с тумора, администрираните интравенозно съединения са по-мощни от доксорубицина. Съединение II е изследвано върху клетките на Р388 левкемия, устойчива на доксорубицин (Р388/DX) *in vitro* и *in vivo*.
- 15 Цитотоксичните експерименти са осъществени чрез подлагане на клетките на въздействието на различни концентрации медикамент в продължение на 48 часа. В края на периода на експозиране се преброяват клетките с Coulter брояч и се изчислява стойността DI₅₀ (доза, водеща до 50 %-но понижение на броя на клетките по отношение на необработените свидетели). Резултатите, представени в таблица IV показват, че съединение II е 40 пъти по-цитотоксично от доксорубицина спрямо клетките на Р388 левкемията и, че е също така много активно спрямо клетките на Р388/DX левкемията, докато в това отношение доксорубицинът е очевидно неактивен. Със съединение II са проведени също така *in vivo* експерименти с мишки BDF-1, заразени с левкемия Р388/DX. Резултатите, обобщени в таблица V показват, че при 0,15 mg/kg съединението е много активно (Т/С % 165).
- 20
- 25
- 30
- 35

Таблица I - Опити за инхибиране на колонните срещу клетките на HeLa *in vitro* (обработка в продължение на 24 часа)

Съединение	DI ₅₀ (ng/ml)
Даунорубицин	18,6
I	2,0
III	1,8
V	10,5
Доксорубицин	18,0
II	0,96
IV	0,32
VI	9,0

Таблица II - Антитуморна активност спрямо P388 левкемия.

Интраперитонеално третиране на първия ден.

Съединение	Доза	T/C $\bar{x}^a$	LTS ^b	Смъртност, дълга се на токсичност ^в
Даунорубицин	2,9	145	0/10	0/10
	4,4	150	0/10	0/10
I	0,13	136	0/10	0/10
V	2,0	145	0/10	0/10
	3,0	164	0/10	0/10
Доксорубицин	6,6	214	0/10	0/10
	10	214	1/10	0/10
II	0,15	295	2/10	0/10
IV	0,2	173	0/10	0/10
VI	1,33	164	0/10	0/10
	2,0	195	0/10	0/10

а) Средна продължителност на живота; $\bar{x}$ по отношение на нетретирани свидетели.

б) Преживели голям период (>60 дни).

в) Изчисления на базата на подложени на аутопсия умрели мишки.

Таблица III - Активност спрямо левкемия на Gross (IV-1)

Съединение	Доза	T/C % ^a	LTS ^б	Смъртност, дължаща се на токсичност ^в
Доксорубидин	10	183	0/10	0/10
	13	200	0/10	0/10
II	0,16	150	0/10	0/10
IV	0,27	142	0/10	0/10
VI	2	150	0/10	0/10

а, б, в: виж таблица II

Таблица IV - Ефект спрямо P388 левкемия, чувствителна и резистентна на доксорубидин in vitro

Съединение	DI ₅₀ (ng/ml) ^a	
	P388 ^б	P388/DX ^в
Доксорубидин	12	1.500
II	0,3	3

а) Доза, водеща до 50%-но намаляване на броя на клетките в сравнение с нетретиранни свидетели.

б) Клетки на P388 левкемията, чувствителни ^{към} доксорубидина.

в) Клетки на P388 левкемията, резистентни ^{спрямо} доксорубидина.

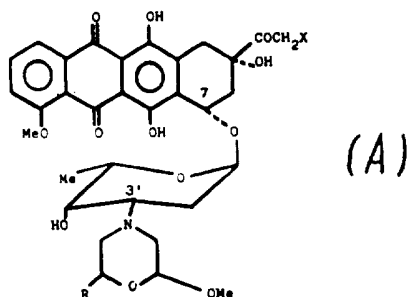
Таблица V – Ефект спрямо P388 левкемия, резистентна на доксорубин *in vivo*

Съединение	Доза	T/C % ^a	LTS ^b	Смъртност, дълга се на токсичност ^b
Доксорубин	4,4	110	0/10	0/10
	6,6	100	0/10	0/10
II	0,075	100	0/10	0/10
	0,15	165	0/10	1/10

а, б, в: виж таблица II.

Патентни претенции

1. Гликозид на антрацилина с обща формула A:



в която X е водороден атом или хидроксигрупа, а R е водороден атом, метилова група или хидроксиметилова група, както и техните фармацевтично приемливи соли.

2. Съединение съгласно претенция 1, а именно 3'-деамино-3'-(2''-метокси-4''-морфолинил)даунорубин или неговият хлорхидрат.

3. Съединение съгласно претенция 1, а именно 3'-деамино-3'-(2''-метокси-4''-морфолинил)доксорубин или неговият хлорхидрат.

4. Съединение съгласно претенция 1, а именно 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил)даунорубин или неговият хлорхидрат.

25

5. Съединение съгласно претенция 1, а именно 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-метил-4''-морфолинил)доксорубин или неговият хлорхидрат.

30

6. Съединение съгласно претенция 1, а именно 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил)даунорубин или неговият хлорхидрат.

35

7. Съединение съгласно претенция 1, а именно 3'-деамино-3'-(2''-метокси-6''-хидроксиметил-4''-морфолинил)доксорубин или неговият хлорхидрат.

40

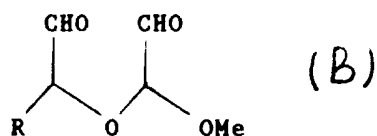
8. Метод за получаване на гликозид на антрацилина с формула (A), дефинирана в претенция 1 или някоя от неговите фармацевтично приемливи соли, характеризиращ се с това, че се състои във взаимодействие на даунорубина или доксорубина или някоя от техните присъединителни соли с киселини с излишък от алдехид с формула (B), в присъствие на цианоборхидрид на алкален метал и евентуално превръщане на така полученото съединение с формула (A) в някоя от неговите фармацевтично приемливи соли.

45

50

9. Метод съгласно претенция 8, характеризиращ се с това, че даунорубинът или доксорубинът под формата на хлорхидрат се разтваря в смес 1:1 обем/обем на ацетонит-

рил и вода и след като рН се установи на 7,4 с воден разтвор на натриев бикарбонат, провежда се взаимодействие при стайна температура с излишък (7-10 еквивалента) на диалдехид с формула (В):



в която R е водороден атом, метилова група или хидроксиметилова група в присъствие на воден разтвор на NaBH_3CN в количество еквивалентно на изходния даунорубин и след разбъркване в продължение на 15 минути при стайна температура се получава суровото гликозидно съединение с формула (А) ($\text{X}=\text{H}$ или OH), което се изолира под формата на хлорхидрат след пречистване с високоефективна течна хроматография върху силикагел и при използването на елуент, смес на 96:5 обем/обем метиленхлорид и ацетон.

10. Фармацевтичен състав, характеризира

ращ се с това, че съдържа гликозид на антрациклина или негова фармацевтично приемлива сол, съгласно коя да е от претенции от 1 до 7 или получен съгласно метода от претенции 8 и 9 в смес с фармацевтично приемлив носител или разредител.

11. Приложение на гликозид на антрациклина с формула (А) съгласно претенция 1 или негова фармацевтично приемлива сол, при метод за лечение на човека или животните чрез хирургия или терапия или също така за практическа диагностика на тялото на човека или животното.

12. Приложение на гликозид или негова сол съгласно претенция 11, като антибиотик.

13. Приложение на гликозид или негова сол съгласно претенция 11, като антитуморно средство.

14. Метод за получаване на фармацевтично приемлива сол на гликозид на антрациклина съгласно претенция 1, както е описано по-горе, в кой да е от примери 2, 3, 5, 6, 8 и 9.

Издание на Патентното ведомство на Република България
1113 София, бул. "Д-р Г. М. Димитров" 52-Б

Експерт: Р. Йовович

Редактор: Р. Георгиева

Пор. 37540

Тираж: 40 ЮМ