



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 146 261** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁷ **C 07 H 15/252, C 07 C 50/36, A 61 K 31/704**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

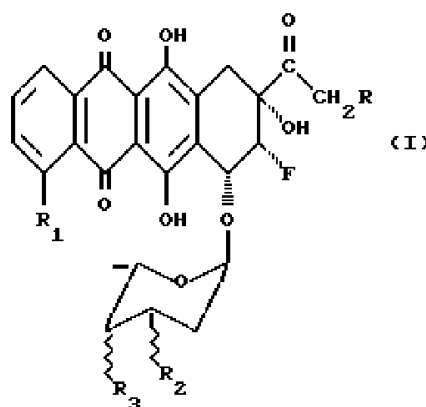
(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 97103523/04, 01.08.1995
(24) Дата начала действия патента: 01.08.1995
(30) Приоритет: 04.08.1994 IT MI 94 A 001696
(46) Дата публикации: 10.03.2000
(56) Ссылки: 1. RU 2015958 C1, 15.07.94. 2. EP 0457215 A1, 21.11.91. 3. WO 85/01726, A1, 19.10.89. 4. Pure and Appl. Chem., v. 66, N 10 - 11, 1994, pp. 2319 - 2322. 5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 1985, т.2, с. 458 - 460.
(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 04.03.1997
(86) Заявка РСТ: EP 95/03061 (01.08.1995)
(87) Публикация РСТ: WO 96/04292 (15.02.1996)
(98) Адрес для переписки: 129010, Москва, ул.Большая Спасская, 25, стр.3, ООО "Городисский и Партнеры"

(71) Заявитель:
А.Менарини Индустрие Фармасаеутике Риуните С.Р.Л. (IT),
Бристоль-Мейерз Сквивбб С.п.А. (IT)
(72) Изобретатель: Фабио Анимати (IT),
Федерико Аркамоне (IT), Джузеппе Джаннини (IT), Паоло Ломбарди (IT), Эдит Монтеагудо (AR)
(73) Патентообладатель:
А.Менарини Индустрие Фармасаеутике Риуните С.Р.Л. (IT),
Бристоль-Мейерз Сквивбб С.п.А. (IT)

(54) **8-ФТОРАНТРАЦИКЛИНЫ, СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И СОДЕРЖАЩИЕ ИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ**

(57) Реферат:
Описаны новые 8-фторантрациклины формулы I, где R = H; R₁=H; OCH₃; R₂= H, NH₂; R₃= OH, NH₂; символ (~~~~~) означает, что заместители R₂, R₃ могут находиться в осевой или экваториальной конфигурации, и группы 8-F и 9-OH находятся в положении цис; или их фармацевтически приемлемые соли. Они проявляют необычайно высокую противоопухолевую активность. Описаны также способ получения заявленных соединений и содержащие их фармацевтические композиции. 5 с. и 1 з.п.ф-лы, 2 табл.





RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 146 261** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁷ **C 07 H 15/252, C 07 C 50/36,**
A 61 K 31/704

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

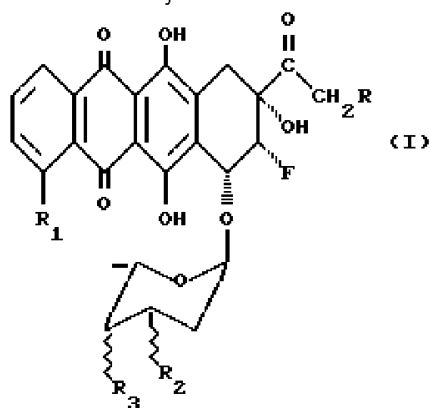
(21), (22) Application: 97103523/04, 01.08.1995
(24) Effective date for property rights: 01.08.1995
(30) Priority: 04.08.1994 IT MI 94 A 001696
(46) Date of publication: 10.03.2000
(85) Commencement of national phase: 04.03.1997
(86) PCT application:
EP 95/03061 (01.08.1995)
(87) PCT publication:
WO 96/04292 (15.02.1996)
(98) Mail address:
129010, Moskva, ul.Bol'shaja Spasskaja, 25,
str.3, OOO "Gorodisskij i Partnery"

(71) Applicant:
A.Menarini Industrie Farmaceutike Riunate
S.R.L. (IT),
Bristol'-Mejertz Skvibb S.p.A. (IT)
(72) Inventor: **Fabio Animati (IT),**
Federiko Arkamone (IT), Dzhuzeppe Dzhannini
(IT), Paolo Lombardi (IT), Ehdit Monteagudo (AR)
(73) Proprietor:
A.Menarini Industrie Farmaceutike Riunate
S.R.L. (IT),
Bristol'-Mejertz Skvibb S.p.A. (IT)

(54) **8-FLUOROANTHRACYCLINES, METHODS OF THEIR SYNTHESIS AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THEREOF**

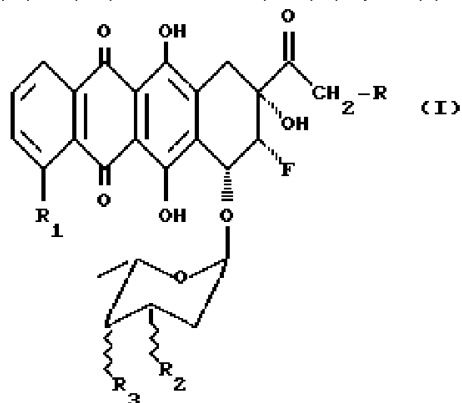
(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry, pharmacy.
SUBSTANCE: invention describes new
8-fluoroanthracyclines of the formula (I)
where



R is H; R₁ is H, OCH₃; R₂ is H, NH₂; R₃ is OH, NH₂; symbol  means that substituents R₂, R₃ can be in axis or equatorial configuration and groups 8-F and 9-OH are at cis-position; or their pharmaceutically acceptable salts. They show the extremely high antitumor activity. Invention describes the method of synthesis of claimed compounds and pharmaceutical compositions containing thereof also. EFFECT: improved method of synthesis, high antitumor activity. 6 cl, 1 dwg, 1 tbl, 7 ex

Описаны гликозидные производные 8-фторантрациклинона общей формулы (1):



где R выбран из группы, состоящей из H, OH, OR₄, где R₄ выбран из группы, состоящей из CHO, COCH₃, ацильного производного, содержащего до 6 углеродных атомов;

R₁ выбран из группы, состоящей из H, OH, OCH₃;

R₂ выбран из группы, состоящей из H, OH, NH₂;

R₃ выбран из группы, состоящей из H, OH, NH₂, остатка формулы (A)



где R₅ и R₆, одинаковые или разные, выбраны из группы, состоящей из H, OH, NH₂, и символ (~~~~~) означает, что заместители R₂, R₃, R₅ и R₆ могут находиться в осевой или экваториальной конфигурации;

и где группы 8-F и 9-OH находятся в положении цис;

их фармацевтически приемлемые соли, способы их получения и содержащие их фармацевтические композиции.

Уровень техники

Даунорубин (дауномицин) и 4-деметоксидаунорубин (идарубин) и их производные, содержащие гидроксильную боковую цепь (доксорубин), являясь гликозидами, обладающими хорошо известными противоопухолевыми свойствами; их получение и применение уже описаны (F. Arcamone "Doxorubicin: Anticancer Antibiotics" Medinal Chemistry Series Vol. 17, Academic press, 1981).

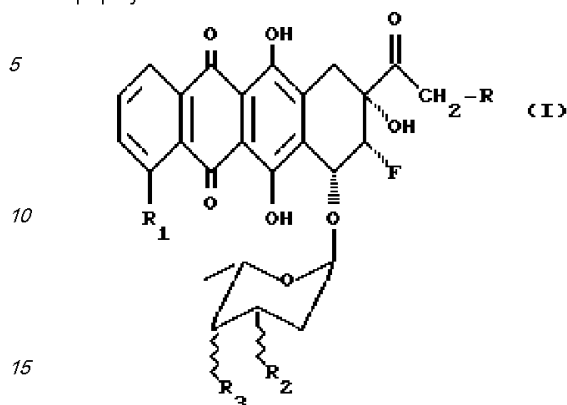
8-фторантрациклины - это класс антрациклинов, уже известных (см., например, EP-A-0436474; EP-A-0457215; WO 95/09173) их более высокими активностью и избирательностью по сравнению с соответствующими нефторированными соединениями.

Теперь неожиданно обнаружено (и это является объектом настоящей заявки), что когда два заместителя 8-F и 9-OH имеют цис-стереохимию, то соответствующие производные необычайно более активны, в частности в отношении опухолевых клеток, стойких к уже известным соединениям.

Подробное описание изобретения

В соответствии с настоящим

изобретением предлагаются гликозидные производные 8-фторантрациклинона общей формулы

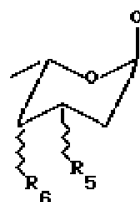


где R выбран из группы, состоящей из H, OH, OR₄, где R₄ выбран из группы, состоящей из CHO, COCH₃, ацильного производного, содержащего до 6 углеродных атомов;

R₁ выбран из группы, состоящей из H, OH, OCH₃;

R₂ выбран из группы, состоящей из H, OH, NH₂;

R₃ выбран из группы, состоящей из H, OH, NH₂, остатка формулы (A)



где R₅ и R₆, одинаковые или разные, выбраны из группы, состоящей из H, OH, NH₂ и символ (~~~~~) означает, что заместители R₂, R₃, R₅ и R₆ могут находиться в осевой или экваториальной конфигурации;

и где группы 8-F и 9-OH находятся в положении цис;

их фармацевтически приемлемые соли, способы их получения и содержащие их фармацевтические композиции.

Более конкретно, в соответствии с настоящим изобретением предлагаются следующие соединения:

1) 4-деметокси-8-(R)-фтордаунорубин (1: R = R₁ = H; R₂ = NH₂; R₃ = OH),

2)

4-диметокси-8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-аминодаунорубин (1: R = R₁ = R₂ = H; R₃ = NH₂),

3)

3-деметокси-8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-эпиаминодаунорубин (1: R = R₁ = R₂ = H; R₃ = NH₂),

4)

4-деметокси-8-(R)-фтор-4'-эпидаунорубин (1: R = R₁ = H; R₂ = NH₂; R₃ = OH),

5)

4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(дауносаминилфукосил) даунорубинон (1: R = R₁ = H; R₃ = A; R₂ = R₆ = OH; R₅ = NH₂),

6)

4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(дауносаминилрамнозил) даунорубинон (1: R = R₁ = H; R₃ = A; R₂ = R₆ = OH; R₅ = NH₂),

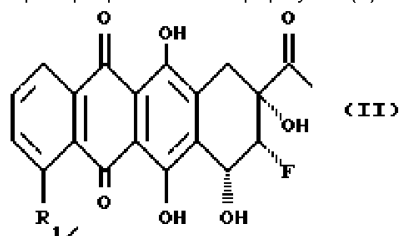
7)

4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-

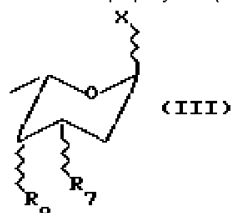
аминоэзапиранозилфукозил)даунорубицинон (1:R = R₁ = R₅ = H; R₂ = A; R₂ = OH; R₆ = NH₂),
 8) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-аминоэзапиранозилрамнозил)даунорубицинон (1:R = R₁ = R₅ = H; R₃ = A; R₂ = OH; R₆ = NH₂),
 9) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-фукозил) даунорубицинон (1:R = R₁ = H; R₃ = A; R₂ = R₅ = R₆ = OH),
 10) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-рамнозил) даунорубицинон (1:R = R₁ = H; R₃ = A; R₂ = R₅ = R₆ = OH),
 11) 8-(R)-фтордаунорубицин (1:R = H; R₁ = OCH₃; R₂ = H₂; R₃ = OH),
 12) 8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-аминодаунорубицин (1:R = R₂ = H; R₁ = OCH₃; R₃ = NH₂),
 13) 8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-эпиаминоддаунорубицин (1:R = R₂ = H; R₁ = OCH₃; R₃ = NH₂),
 14) 8-(R)-фтор-4'-эпидаунорубицин (1: R = H; R₁ = OCH₃; R₂ = NH₂; R₃ = OH),
 15) 8-(R)-фтор-7-(дауносаминилфукозил)даунорубицинон (1: R = H; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₂ = R₆ = OH; R₅ = NH₂),
 16) 8-(R)-фтор-7-(дауносаминилрамнозил)даунорубицинон (1: R = H; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₂ = R₆ = OH; R₅ = NH₂),
 17) 8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-аминоэзапиранозилфукозил)даунорубицинон (1:R = R₅ = H; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₂ = OH; R₆ = NH₂),
 18) 8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-аминоэзапиранозилрамнозил)даунорубицинон (1:R = R₅ = H; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₂ = OH; R₆ = NH₂),
 19) 8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-фукозил)даунорубицинон (1: R = H; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₂ = R₅ = R₆ = OH),
 20) 8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-рамнозил)даунорубицинон (1: R = H; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₂ = R₅ = R₆ = OH),
 21) 4-деметокси-8-(R)-фтордоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₃ = OH; R₁ = H; R₂ = NH₂),
 22) 4-деметокси-8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-аминодоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = PH; R₁ = R₂ = H; R₃ = NH₂),
 23) 4-деметокси-8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-эпиаминодоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = OH; R₁ = R₂ = H; R₃ = NH₂),
 24) 4-деметокси-8-(R)-фтор-4'-эпидоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₃ = OH; R₁ = H; R₂ = NH₂),
 25) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(дауносаминилфукозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по

C-14 (1:R = R₂ = R₆ = OH; R₃ = A; R₁ = H; R₅ = NH₂),
 26) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(дауносаминилрамнозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = R₆ = OH; R₃ = A; R₁ = H; R₅ = NH₂),
 27) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-аминоэзапиранозилфукозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = OH; R₃ = A; R₁ = R₅ = H; R₆ = NH₂),
 28) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-аминоэзапиранозилрамнозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = OH; R₃ = A; R₁ = R₅ = H; R₆ = NH₂),
 29) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-фукозил) доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = R₅ = R₆ = OH; R₃ = A; R₁ = H),
 30) 4-деметокси-8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-рамнозил) доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = R₅ = R₆ = OH; R₃ = A; R₁ = H),
 31) 8-(R)-фтордоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₃ = OH; R₁ = OCH₃; R₂ = NH₂),
 32) 8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-аминодоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = PH; R₁ = OCH₃; R₂ = H; R₃ = NH₂),
 33) 8-(R)-фтор-3'-деамино-4'-деокси-4'-эпиаминодоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = OH; R₁ = OCH₃; R₂ = H; R₃ = NH₂),
 34) 8-(R)-фтор-4'-эпидоксорубицин и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₃ = OH; R₁ = OCH₃; R₂ = NH),
 35) 8-(R)-фтор-7-(дауносаминилфукозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = R₆ = OH; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₅ = NH₂),
 36) 8-(R)-фтор-7-(дауносаминилрамнозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = R₆ = OH; R₃ = A; R₁ = OCH₃; R₅ = NH₂),
 37) 8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-аминоэзапиранозилфукозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = OH; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₅ = H; R₆ = NH₂),
 38) 8-(R)-фтор-7-(2", 3", 4"-тридеокси-4"-аминоэзапиранозилрамнозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = OH; R₁ = OCH₃; R₃ = A; R₅ = H; R₆ = NH₂),
 39) 8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-фукозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = R₅ = R₆ = OH; R₃ = A; R₁ = OCH₃),
 40) 8-(R)-фтор-7-(фукозил-4'-О-рамнозил)доксорубицинон и его сложные эфиры по C-14 (1:R = R₂ = R₅ = R₆ = OH; R₁ = OCH₃; R₃ = A).
 Соединения формулы (I) и их фармацевтически приемлемые соли получают способом, включающим следующие стадии.

Осуществляют конденсацию между 8-фторантрациклиноном формулы (II):

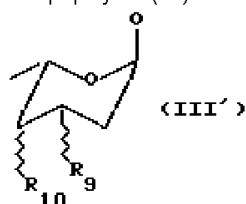


где R_1 - такой, как указан выше, и соединением формулы (III)



где X представляет уходящую группу, способную создавать (в условиях конденсации) устойчивый карбокатион, который может взаимодействовать с гидроксильной группой в положении C-7 соединения (II). Такую уходящую группу целесообразно выбирать из тех групп, которые используют в реакциях гликозидирования (например, галоген, пара-нитробензоилоксигруппа); R_7 представляет H или группу OH или NH_2 , подходящим образом защищенную;

R_8 представляет H или группу OH или NH , подходящим образом защищенную, или остаток формулы (III'):

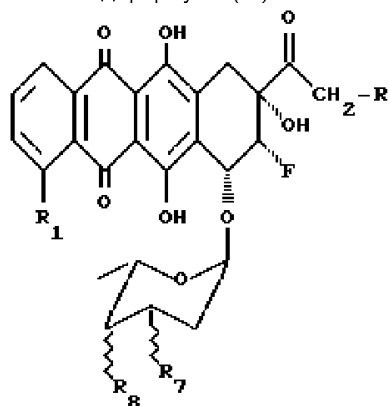


где R_9 и R_{10} , одинаковые или разные, выбраны из H, OH и NH_2 , подходящим образом защищенных.

Группы OH защищают пара-нитробензоатом или аллилоксикарбонилем.

Группы NH_2 защищают аллилкарбоксиамидом или трифторацетамидом.

Символ $\sim$ означает, что заместители R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} могут находиться в осевой и/или экваториальной конфигурации. Конденсация между соединениями (II) и (III) дает гликозид формулы (IV)



Реакцию гликозидирования осуществляют в органическом растворителе в присутствии конденсирующего агента. Конденсирующими агентами являются, например, трифторметансульфат серебра, перхлорат серебра, смеси оксида или бромида ртути, галогенида бора, ионообменной смолы, такой как Амберлит.

Предпочтительно реакцию гликозидирования осуществляют с использованием инертного органического растворителя, такого как бензол, толуол, диэтиловый эфир, тетрагидрофуран, диоксан, хлороформ, метилхлорид или дихлорэтан и их смеси.

Температуру реакции можно изменять в пределах между -40°C и 40°C , предпочтительно между -20°C и 20°C , а необходимое для реакции время может колебаться между 5 минутами и 2 часами.

В реакционной смеси может присутствовать обезвоживающее средство, такое как активированные молекулярные сита.

Во время реакции или в ее конце к реакционной смеси может быть добавлено органическое основание, такое как пиридин, коллидин, триэтиламин.

Удаление защитных групп с групп OH и/или NH_2 в соединениях формулы (IV), чтобы получить целевые соединения формулы (I), можно изменять в соответствии с использованной защитной группой.

Когда R_7 и/или R_8 , и/или R_9 , и/или R_{10} (одинаковые или разные) представляют группу NH_2 , защищенную трифторацетамидом, и/или группу OH, защищенную пара-нитробензоатом, то реакцию удаления защиты осуществляют в полярном растворителе, таком как вода, метанол, этанол, пиридин, диметилформамид или их смеси, в присутствии стехиометрического или избыточного количества неорганического основания, такого как NaOH, KOH, LiOH, $Ba(OH)_2$ и их карбонаты. Температура реакции может колебаться в пределах от 0°C до 50°C , а время реакции - от 3 часов до 3 дней.

Когда R_7 и/или R_8 , и/или R_9 , и/или R_{10} (одинаковые или разные) представляют группу NH_2 , защищенную аллилкарбоксиамидом, и/или группу OH, защищенную аллилоксикарбонилем, то реакцию удаления защиты осуществляют в инертном растворителе и в присутствии металлического комплекса, такого как (тетракистрифенилфосфин) палладий, как описано, например, в Tetrahedron Letters, 30 (1989), 3773, или (тетракарбонил)никель, как описано, например, в J. Org. Chem. 38 (1973) 3233.

При желании соединения формулы (I), где R_1 , R_2 и R_3 - такие, как указаны выше, и R представляет группу OH, могут быть получены из гликозидов формулы (I) или их фармацевтически приемлемых солей, где R_1 , R_2 и R_3 и символ $\sim$ - такие, как указаны выше, и R представляет H путем бромирования атома углерода в положении 14 бромом в хлороформе с последующим гидролизом полученных описанным образом 14-бромпроизводных с формиатом натрия при комнатной температуре в течение 48 часов.

Тот же самый продукт может быть получен также путем бромирования атома углерода в положении 14 (в соответствии с описанной выше процедурой) агликона формулы (II), где R_1 - такой, как указан выше, и R представляет H. Это соединение после гидролиза, которое преобразует R в группе OH, гликозилируют соединением формулы (III), определенным выше, путем осуществления такой, как описана выше, реакции гликозидирования для получения целевого продукта.

Если это является предпочтительным, гликозиды формулы (I) могут быть преобразованы в соответствующие фармацевтически приемлемые соли, например гидрохлориды, путем обработки хлороводородной кислотой в метаноле.

Другими объектами данной заявки являются 8-фторантрациклиноны формулы (II), где группы 8-F и 9-OH находятся взаимно в положении цис и где R и R_1 - такие, как указаны выше, и способ их получения.

Способ проиллюстрирован в схеме, приведенной в конце описания.

Первой стадией является бромфторирование аллилового спирта формулы (V), где R_1 - такой, как указан выше, для получения соединения формулы (VI).

Бромфторирование соединения (V) может быть осуществлено разными способами, описанными в литературе (например, *Cazz. Chim. It.* 121 (1991) 537-545; *J.O.C.* 58 (1993) 2791-2796), для бромфторирования алкенов.

Второй стадией является образование эпоксида из бромидрина (VI) для получения соединения формулы (VII), где R_1 - такой, как указан выше. Реакция может быть осуществлена с использованием сильного основания в соответствии с известными способами, описанными в литературе в связи с этим типом реакции.

Третьей стадией является раскрытие эпоксидного цикла для получения продукта формулы (VII), где R_1 - такой, как указан выше. Способы осуществления реакции в этом случае тоже описаны в литературе, относящейся к раскрытию эпоксидного цикла с получением диола путем кислотного катализа, предпочтительно в смесях воды, минеральных кислот и инертных органических растворителей.

Четвертой стадией является реакция окисления диола (VIII) в гидроксикетон формулы (IX). Реакция окисления может быть осуществлена в соответствии с известными способами. Предпочтительными являются способы, включающие использование диметилсульфоксида, как, например, реакция Моффата и тому подобное, или комплексов пиридин-хром, как, например, хлорхромат пиридиния.

Последней стадией является преобразование фторгидроксикетона формулы (IX) в соединение формулы (II). Это может быть осуществлено известными методами, как, например, бромирование и сольволиз, при необходимости с возможной защитой кетогруппы (*Can. J. Chem.* 49 (1973) 2712; *J.A.C.S.* 98 (1976) 1969; *J.A.C.S.* 98 (1976) 1967).

Настоящее изобретение касается также

фармацевтических композиций, содержащих в качестве активного начала антрациклиногликозид формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

Терапевтически активное количество соединения по настоящему изобретению (2-200 мг/м² поверхности тела, или 0,05-0,5 мг/кг массы тела, если продукт вводят внутривенно, или 10-200 мг/м² поверхности тела или 0,25-5 мг/кг массы тела в случае перорального введения) смешивают с инертным носителем. Могут быть использованы традиционные носители и композицию изготавливают известными методами.

Предпочтительными являются композиции, пригодные для внутривенного или перорального введения.

Соединения по настоящему изобретению полезны в лечении людей и животных. В частности, соединения по настоящему изобретению полезны в качестве противоопухолевых средств для введения терапевтически активных количеств соединения пациенту, проходящему лечение.

В частности, соединения проявили необычайную активность против плотных опухолей (например, опухоль яичника, молочной железы, легкого, матки), а также против тех, которые проявили стойкость к известным, обычно используемым противоопухолевым средствам.

Для лучшей иллюстрации (но без цели ограничения) изобретения даны следующие примеры.

Пример I.

9-(1'-Гидроксиэтил)-7,10-дигидро-6,11-дигидрокси-8-фтор-9-бром-5,1-нафтацендион (VI), $R_1 = H$)

К суспензии

9-(1'-гидроксиэтил)-7,10-дигидро-6,11-дигидрокси-5,12-нафтацендиона ((V), $R_1 = H$) (9,4 г, 28 ммоль) в метиленхлориде (900 мл) добавляли с перемешиванием при -5 °C раствор дигидротрифторида тетрабутиламмония (18,4 г при 55%, 33,6 ммоль) в метиленхлориде, после чего добавляли также при -5 °C (при этом реактор держали в темноте) N-бромсукцинимид (6,0 г, 33,6 ммоль). Реакция длилась 5 часов.

Большее время реакции не дает увеличения выхода. Добавляли 10%-ный раствор $NaHCO_3$ до получения нейтрального pH. Органическую фазу сушили на Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали. Остаток очищали путем флэш-хроматографии с использованием $CHCl_3$ в качестве элюента.

Было получено 3,6 г (выход 29%) соединения (VI) ($R_1 = H$).

YMP ($CDCl_3$, δ): 1,45 (3H, д); 3,0-3,5 (2H, кв); 3,2-3,4 (2H, кв); 3,93 (1H, м); 5,4-5,6 (1H, д); 7,90 (2H, м); 8,30 (2H, м); 13,36 (1H, с); 13,46 (1H, с).

Аналогичным образом был получен 4-метокси-9-(1'-гидроксиэтил)-7,10-дигидро-6,11-дигидрокси-8-фтор-9-бром-5,12-нафтацендион ((VI), $R_1 = OCH_3$).

Пример II

9-(9-1'-Эпоксиэтил)-7,10-дигидро-6,11-дигидрокси-8-фтор-5,12-нафтацендион ((VII), $R_1 = H$)

Раствор

9-(1'-гидроксиэтил)-7,10-дигидро-6,11-дигидро

кси-8- фтор-9-бром-5,12-нафтацендиона (3,6 г, 8,3 ммоль), полученный в соответствии с примером I, в 5%-ной NaOH (16 мл) оставляли перемешиваться на 2 часа при комнатной температуре. Реакционную смесь обрабатывали 1 н. раствором HCl и продукт экстрагировали CHCl_3 ; органическую фазу сушили на Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали. Полученный остаток очищали путем флэш-хроматографии с использованием CHCl_3 в качестве элюента. Получили 1,6 г (выход 57%) указанного в заголовке соединения.

ЯМР (CDCl_3 , δ): 1,4 (3H, д); 2,62-3,48 (2H, кв); 2,9-3,1 (2H, кв); 3,26-3,68 (2H, м); 3,10 (1H, м); 4,80-4,96 (1H, д); 7,80 (2H, м); 8,40 (2H, м); 13,35 (1H, с); 14,42 (1H, с).

Аналогичным образом был получен 4-метокси-9-(9-1'-эпоксипропил)-7,10-дигидро-6,9,11-тригидрокси-8-фтор-5,12-нафтацендион ((VII), $R_1 = \text{OCH}_3$).

Пример III

9-(1'-Гидроксиэтил)-7,10-дигидро-6,9,11-тригидрокси-8-фтор-5,12-нафтацендион ((VIII), $R_1 = \text{H}$)

К раствору 9-(9-1'-эпоксипропил)-7,10-дигидро-8,11-дигидрокси-8- фтор-5,12-нафтацендиона (1,8 г, 4,7 ммоль), полученному в соответствии с примером II, в диоксане (700 мл) добавляли H_2O (700 мл) и затем, держа реактор в бане при 0°C , медленно капали в полученную смесь олеум. Закончив добавление олеума, давали температуре подняться до комнатной и перемешивали раствор в течение 6 часов. Добавляли к смеси NaHCO_3 до получения нейтрального pH и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 . Органическую фазу, высушенную на Na_2SO_3 , выпаривали. В результате получили указанный в заголовке продукт (1,7 г, выход 100%).

ЯМР (CDCl_3 , δ): 1,40 (3H, д); 2,8-3,1 (2H, кв); 3,0-3,3 (2H, кв); 4,05 (2H, кв); 5,0-5,2 (1H, кв); 7,80 (2H, м); 8,30 (2H, м); 13,30 (1H, с); 13,22 (1H, с).

Аналогичным образом был получен 4-метокси-9-(1'-гидроксиэтил)-7,10-дигидро-6,9,11-тригидрокси-8-фтор-5,12-нафтацендион ((VIII), $R_1 = \text{OCH}_3$).

Пример IV

9-Ацетил-8(8H)-фтор-7,10-дигидро-6,9,11-тригидрокси-5,12- нафтацендион ((IX), $R_1 = \text{H}$).

9-(1'-Гидроксиэтил)-7,10-дигидро-6,9,11-тригидрокси-8-фтор-5,12-нафтацендион (1,7 г, 4,7 ммоль), полученный в соответствии с примером III, в безводных условиях растворяли в ДМСО (90 мл), после чего к раствору добавляли смесь пиридина (1,14 мл, 14,1 ммоль) и трифторуксусной кислоты (0,83 мл, 10,8 ммоль) в ДМСО (16 мл). К смеси добавляли уксусный ангидрид (4,44 мл, 47 ммоль) и раствор оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 4 часов. Затем к раствору добавляли H_2O , в результате чего в осадок выпадал целевой продукт.

Путем экстрагирования посредством CHCl_3 извлекали все еще, возможно, присутствующий в растворе дополнительный продукт. Полученный указанным образом

продукт очищали путем флэш-хроматографии с использованием CHCl_3 в качестве элюента. В результате получили указанное в заголовке соединение (1,2 г, выход 70%).

ЯМР (CDCl_3 , δ): 2,48 (3H, с); 3,18 (2H, с); 3,1-3,6 (2H, м); 3,90 (1H, с); 5,2-5,4 (1H, с); 7,82 (2H, м); 8,38 (2H, м); 13,34 (1H, с); 13,36 (1H, с).

Аналогичным образом был получен 4-метокси-9-ацетил-8(8H)-фтор-7,10-дигидро-6,9,11-тригидрокси-5,12-нафтацендион ((IX), $R_1 = \text{OCH}_3$).

Пример V

9-Ацетил-8(8H)-фтор-10-гидро-6,7(7H), 9,11-тетрагидрокси-5,12-нафтацендион ((II), $R_1 = \text{H}$).

К находящейся в колбе, снабженной устройством Дина-Старка, суспензии 9-ацетил-8(8H)-фтор-7,10-дигидро-6,9,11-тригидрокси-5,12-нафтацендиона (1,2 г, 3,3 ммоль), полученного в соответствии с примером IV, в безводном бензоле (200 мл) добавляли этиленгликоль (5 мл) и каталитическое количество паратолуолсульфоновой кислоты (60 мг, 0,3 ммоль). Смесь нагревали с обратным холодильником при 120°C в течение 15 часов. Карбонильную функциональную группу в положении 13 защищали путем кетализации (ацетализации). По окончании реакции повышали температуру до комнатной с выпадением в осадок продукта, который собирали и промывали водой.

Полученный продукт бромировали в положении 7 с RHPP и AIB в CCl_4 путем нагревания с обратным холодильником при 120°C в потоке NH_2 в течение 8 часов. Температуру реакционной смеси доводили до комнатной, отфильтровывали осадок и раствор выпаривали. Остаток гидролизовали с трифторуксусной кислотой (240 мл) и водой (60 мл) путем нагревания с обратным холодильником в течение 1 часа. Температуру доводили до комнатной, а затем снижали до 7°C . Выпавший в осадок продукт промывали водой и высушивали. В результате получили смесь эпимеров в положении 7 ($a = 70\%$, $b = 30\%$). Целевой эпимер выделяли путем ВЭЖХ с получением указанного в заголовке продукта (312 мг, выход 24%).

ЯМР (CDCl_3 , δ): 2,50 (3H, с); 3,1-3,4 (2H, м); 3,85 (1H, д); 4,82 (1H, с); 5,04-5,22 (1H, кв); 5,50 (1H, м); 7,85 (2H, м); 8,40 (2H, м); 13,28 (1H, с); 14,54 (1H, с).

Аналогичным образом был получен 4-метокси-9-ацетил-8(8H)-фтор-10-гидро-6,7(7H),9,11-тетрагидрокси-5,12-нафтацендион ((II), $R_1 = \text{OCH}_3$).

Пример VI

Защищенный

4-деметокси-8(R)-фтордаунорубин (IV, $R = R_1 = \text{H}$, $R_7 = \text{NHCO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$, $R_8 = \text{p-CO-C}_6\text{H}_4\text{-NO}_2$)

К раствору

9-ацетил-8(8H)-фтор-10-гидро-6,7(7H), 9,11-тетрагидрокси-5,12-нафтацендиона (77 мг, 0,2 ммоль), полученного в соответствии с примером V, и защищенного дауносамина ((III), $X = R_8 = \text{OSOC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$; $R_7 = \text{NHCO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) (127 мг, 0,24 ммоль) в безводном метилхлориде (40 мл) и безводном диэтиловом эфире (10 мл)

добавляли молекулярные сита 4 ангстрем (1,2 г). К этому раствору, который держали при -10 °С под струей безводного азота, добавляли триметилсилилтрифлат (107 мг, 0,48 ммоль). Реакцию проводили при -10 °С в течение 30 минут. Раствор обрабатывали раствором NaHCO_3 , органическую фазу экстрагировали, сушили на Na_2SO_4 и выпаривали. Полученный при этом неочищенный продукт очищали путем флэш-хроматографии (CHCl_3 + 1% $i\text{PrOH}$). Получили 61 мг (выход 40%) указанного в заголовке соединения.

ЯМР (CDCl_3 , δ): 1,2 (3H, д); 2,0 (2H, м); 2,5 (3H, д); 3,1-3,5 (2H, кв); 4,2-4,7 (5H, м); 5,0-5,3 (3H, м); 5,4-5,6 (2H, м); 5,8 (1H, с); 5,9 (1H, м); 7,8 (2H, м); 8,3 (6H, м); 13,7 (1H, с); 13,2 (1H, с).

Аналогичным образом был получен защищенный 8-(R)-фтордаунорубин (IV, R = H, R_1 = OCH₃, R_7 = $\text{NHCO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$, R_8 = p-CO-C₆H₄-NO₂).

Пример VII

4-Деметокси-8-(R)-фтордаунорубингидрохлорид ((I), R = R_1 = H; R_2 = NH₂ • HCl, R_3 = OH)

Продукт, описанный в примере VI, необходимо подвергнуть двум реакциям удаления защиты для преобразования в соответствующее соединение 1.

Полученный в примере VI продукт (61 мг, 0,08 ммоль) суспендировали в смеси MeOH/H₂O и обрабатывали 0,5 М раствором K_2CO_3 для снятия защиты с гидроксигруппы в положении 4¹.

Полученный продукт обрабатывали Ph_3P , Тетраисом, 2-метилмасляной кислотой в CH_2Cl_2 в безводных условиях, в темноте и при комнатной температуре и после снятия защиты с аминогруппы в положении 3¹ получили целевое соединение (32 мг, 75%).

Солеобразование путем обработки этого соединения 0,01 н. раствором HCl дало указанное в заголовке соединение.

ЯМР (CDCl_3 , δ): 1,3 (3H, д); 2,0-2,2 (2H, м); 2,5 (3H, с); 3,2-3,4 (2H, м); 3,6-3,8 (2H, м); 4,4-4,5 (1H, м); 5,2-5,4 (1H, м); 5,5 (1H, м); 5,5 (1H, м); 5,7 (1H, м); 8,0 (2H, с); 8,4 (2H, с).

Аналогичным образом был получен 8-(R)-фтордаунорубингидрохлорид (1, R = H; R_1 = OCH₃; R_2 = NH₂ • HCl; R_3 = OH).

Приложение 1

Сравнительные испытания

Противоопухолевую активность *in vitro* (см. табл.1) следующих соединений:

Ia: 4-деметокси-8-(R)-фтордаунорубина гидрохлорид (соединение формулы I, где: R = R_1 = H, R_2 = NH₂, R_3 = OH)

Ib:

4-деметокси-8-(R)-фтор-3'-дезамино-4'-дезокс и-4'-эпиаминодаунорубина гидрохлорид (соединение формулы I, где: R = R_1 = R_2 = H, R_3 = NH₂),

испытывали в отношении нескольких линий клеток в сравнении с соответствующими 8-(S)-фтор-аналогами:

Ic: 4-деметокси-8-(S)-фтордаунорубина гидрохлоридом,

Id:

4-деметокси-8-(S)-фтор-3'-дезамино-4'-дезокс и-4'-эпиаминодаунорубина гидрохлоридом.

Использовали следующие линии опухолевых клеток человека, как DXR-чувствительные, так и DXR-устойчивые:

A431 (плоскоклеточная карцинома шейки матки),

5 H460 (крупноклеточная карцинома легкого), A2780 (карцинома яичников) и A2780/DX,

MCF7 (карцинома молочной железы) и MCF7/DX,

10 LoVo (аденокарцинома толстой кишки) и LoVo/DX

Обратите внимание, что DXR обозначает доксорубин, а клеточные линии DXR-устойчивые обозначены с помощью .../DX.

15 8(R)-фтор-производные Ia и Ib более цитотоксичны в отношении испытываемых клеточных линий, чем 8(S)-соединения, Ic и Id. Кроме того эта повышенная цитотоксичность еще более значительно выражена, если мы рассматриваем активность этих соединений в отношении соответствующих DXR-устойчивых опухолей.

20 Подобные результаты показывают прямую корреляцию между стереохимией фтора в положении C-8 агликона и цитотоксической активностью.

25 Приложение 2

Анализ и определение транс- и цис-8,9-фторгидриновой системы

Относительную ориентацию атома фтора в отношении гидроксильных групп у C(7) и C(9) определяли, используя эксперименты с ядерным эффектом Оверхаузера (Nuclear Overhauser Effect (NOE)).

35 В случае агликона II, имеющего цис-8,9-фторгидриновую систему, облучение H-8 не приводило к усилению сигналов для гидроксильных водородов (OH-7 и OH-9), указывая на то, что в этом соединении протон H-8 был на противоположной стороне кольца А по отношению к двум гидроксильным группам.

40 С другой стороны, для агликона, имеющего транс-8,9-фторгидриновую систему, облучение H-8 давало усиление сигналов для OH-7 и OH-9, показывая, что все три из этих протонов находятся на той же самой стороне кольца А.

45 Все эти аргументы изложены также в статье одного из авторов изобретения (см. Lombardi P. et al., Acta Biochemica Polonica, 42, 433, 1995).

Приложение 3

Фармацевтические композиции

50 Лиофилизированные лекарственные формы соединения Ia,

4-деметокси-8-(R)-фтордаунорубина гидрохлорида [(I) R = R_1 = H; R_2 = NH₂; R_3 = OH; в виде соли с HCl] получали по методике, изложенной ниже.

55 Относительные количества различных компонентов (на флакон), взятые для приготовления формы:

Соединение Ia - 10,00 мг

Лактоза - 50,00 мг

60 Вода для инъекций, достаточное количество - (q.s.) до 2,50 мл.

Соединение Ia и лактозу последовательно растворяли при перемешивании в воде для инъекций и деаэрировали пропусканием азота (примерно 90% от необходимого конечного объема воды). Затем добавляли деаэрированную воду для инъекций до

получения конечного объема. В каждый флакон вставляли стерильные пробки для лиофильной сушки и флаконы загружали в аппарат для лиофильной сушки при комнатной температуре.

Раствор в сосудах замораживали при температуре -40°C в течение 4-5 часов.

Проводили лиофилизацию, высушивая продукт на конечной стадии при температуре $43-45^{\circ}\text{C}$ в течение 6 - 7 часов. В завершение цикла сосуды закупоривали пневматически при пониженном давлении и закрывали алюминиевыми колпачками.

По аналогичной методике получали лиофилизированные лекарственные формы соединения Ia, содержащие 50 мг активного вещества:

Соединение Ia - 50,00 мг

Лактоза - 250,00 мг

Вода для инъекций - q.s. до 5,0 мл.

Лиофильную сушку проводили в аппарате (тип 1, Alugas B.V., Uithoorn, Нидерланды), имеющем номинальную производительность 50/57 мл.

Приложение 4

Биологическая активность

Активность *in vivo* соединения Ia, 4-деметокси-8-(R)-фтордаунорубицина гидрохлорида [(I) R = R₁ = H; R₂ = NH₂; R₃ = OH; в виде соли с HCl].

Противоопухолевая активность *in vivo*

Противоопухолевую активность соединения Ia изучали в отношении человеческих опухолей A-2780 (яичников) и A-431 (шейка матки) пересаженных голым мышам.

Исследования по эффективности:

для оценки реакции опухоли на соединение Ia его активность *in vivo* определяли при дозе 1,5 мг/кг при режиме введения 7дх3, чтобы оптимизировать противоопухолевую активность, принимая во внимание зависимость цитотоксического эффекта в экспериментах *in vitro* в клеточной культуре от времени экспозиции. В качестве лекарственного препарата для сравнения использовали доксорубин (ДКР), применяя его в дозе (7 мг/кг) и при схеме введения (7дх3), который, как было установлено, является оптимальным режимом дозирования.

Материалы и методы

Для исследований *in vivo* линии человеческих опухолевых клеток поддерживали с помощью серийных подкожных (п/к) пассажей фрагментов опухолей с двух сторон у взрослых бестимусных голых мышей. Регулярно производили проверку фрагментов опухоли человеческого происхождения с помощью гистологического исследования после окрашивания гематоксилином и эозином и с помощью картины электрофореза лактатдегидрогеназных изоферментов.

Бестимусным мышам (Charles River, Caico, Italy) п/к вводили фрагменты опухоли с обеих сторон (исследования эффективности) или с одной стороны (сравнительные контрольные исследования). За ростом опухолей следили путем измерений с помощью микрометра длины и ширины в определенные сроки (еженедельно или дважды в неделю). Вес опухоли (ВО) рассчитывали, используя формулу: $\text{мг} = \text{объем в мм}^3 =$

ширина² • длина/2 (принимая плотность = 1), через 7/8 дней после последнего введения лекарства. Время увеличения опухоли вдвое (ВДУ) рассчитывали для каждой линии опухоли по кривой с наилучшей аппроксимацией на полулогарифмической сетке для каждой контрольной опухоли, построенной по отношению к уровню выравнивания (экспоненциальная фаза роста). В исследованиях использовали средние значения ВДУ.

Мышам, имеющим опухоли, вводили внутривенно (в/в) лекарственные средства, начиная в разные сроки при разных опухолях. Дни первой и последней инъекции были одинаковыми для двух лекарственных препаратов во всех экспериментах. Каждая экспериментальная группа состояла из, по меньшей мере, пяти опухолей.

Оценивали следующие эффекты, достигнутые с помощью лечения лекарственными препаратами:

Снижение веса опухоли, % (% СВО): у мышей, получавших лечение, по сравнению с контрольными мышами, определенное через 7-10 дней после последнего введения лекарства.

Log гибели клеток (ЛГК) у получающих лечение мышей по формуле: (Л-К/ВДУ) • 3,32, где Л и К представляют количество дней, потребовавшееся у лечившихся (Л) и контрольных (К) животных для того, чтобы опухоли достигли среднего веса, точно определенного в каждом эксперименте.

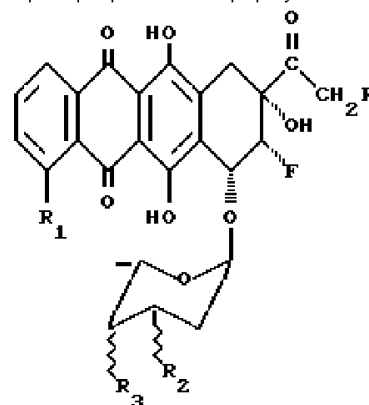
Гибель от интоксикации: число умерших мышей, у которых выявлена не измеряемая масса опухоли, или мыши умерли до первой смерти в контрольной группе.

Результаты

Модели карцином A-2780 (яичников) и A-431 (шейки матки), взятых от не получавшего лечения больного использовали в испытании из-за их устойчивости к доксорубину (ДКР) и идарубину (ИДА). В отношении этих опухолей % СВО и ЛГК, достигнутые с помощью использования соединения Ia, были всегда значительно превосходящими значения, полученные после лечения ДКР и ИДА (табл.2).

Формула изобретения:

1. Гликозидные производные 8-фторантрациклинона формулы I



где R = H, R₁ = H, OCH₃, R₂ = H, NH₂, R₃ = OH, NH₂;

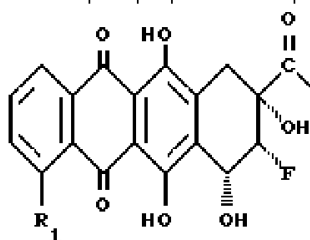
символ $\langle \sim \rangle$ означает, что заместители R₂, R₃ могут находиться в осевой или экваториальной конфигурации;

и группы 8-F и 9-OH находятся в положении цис, или их фармацевтически приемлемые соли.

2. Соединения по п.1, представляющие собой

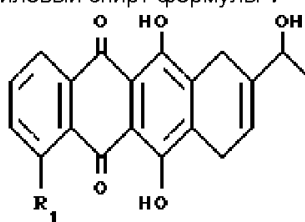
4-деметокси-8-(R)-фтордаунорубин, 4-деметокси-8-(R)-фтор-3'-деамино - 4' - дезокси- 4' - эпиаминодаунорубин, 8- (R) - фтордаунорубин.

3. 8-Фторантрациклиноны формулы II

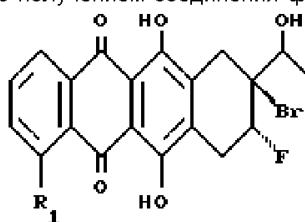


где R₁ = H, OCH₃ и группы 8-F и 9-OH имеют относительную стереохимию цис.

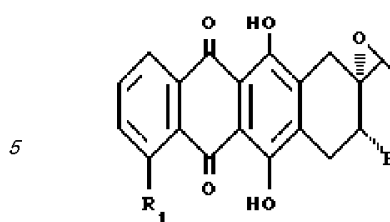
4. Способ получения соединений формулы II по п.3, согласно которому бромфторируют аллиловый спирт формулы V



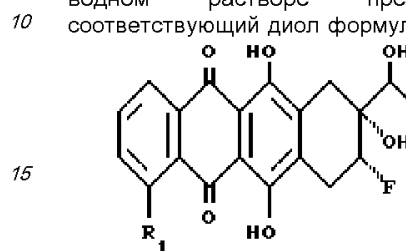
с получением соединения формулы VI



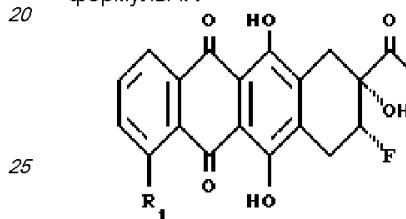
которое путем обработки основанием преобразуют в эпоксид формулы VII



который путем обработки кислотами в водном растворе преобразуют в соответствующий диол формулы VIII



который окисляют во фторгидроксикетон формулы IX



который, наконец, бромруют и подвергают сольволизу в положении 7 традиционными агентами с получением агликона II.

5. Фармацевтическая композиция для ингибирования клеток опухоли, включающая активное начало в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем, отличающаяся тем, что в качестве активного начала она содержит соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль по п.1 в терапевтически активном количестве.

6. Способ ингибирования клеток опухоли, согласно которому больному вводят фармацевтически приемлемые количества соединения формулы I по п.1.

Схема реакции

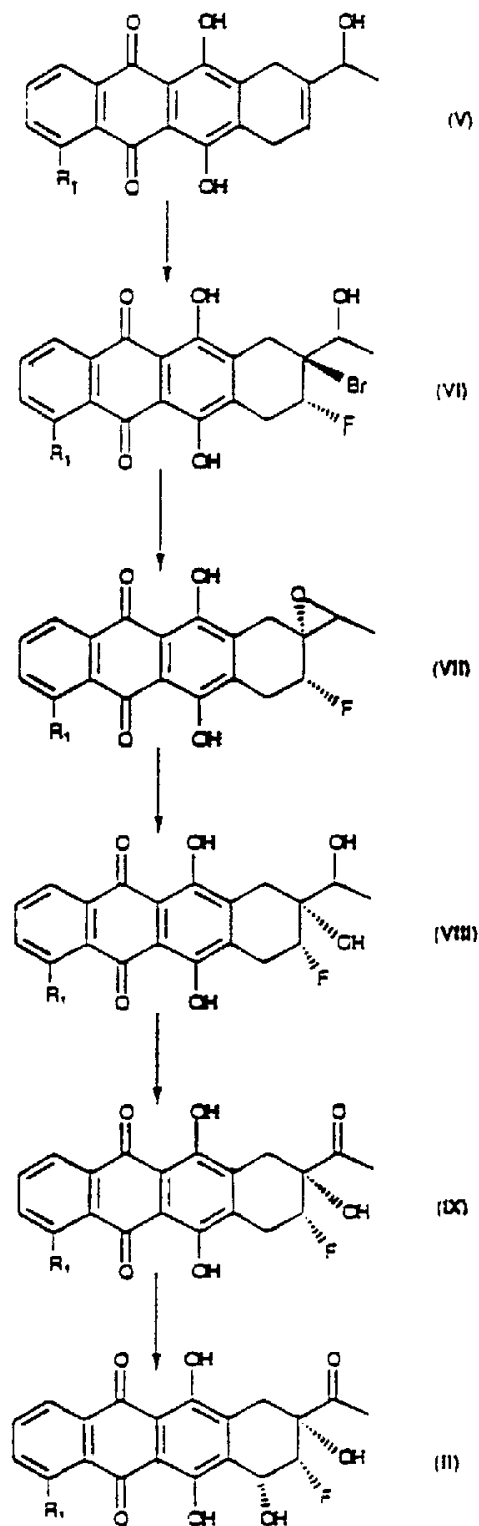


Таблица 1

Активность in vitro (IC ₅₀ ; мкг/мл; время экспозиции: 24 часа)		
	Ia	Ic
A 431	0,003	0,035
H460	0,002	0,022
A2780	0,005	0,020
A2780/DX	0,009	0,068
MCF7	0,003	0,006
MCF7/DX	0,016	0,291
LoVo	0,003	0,012
LoVo/DX	0,011	0,147

Активность in vitro (IC ₅₀ ; мкг/мл; время экспозиции: 24 часа)		
	Ib	Id
A2780	0,003	0,025
A2780/DX	0,005	0,095
MCF7	0,002	0,012
MCF7/DX	0,013	0,038
LoVo	0,001	0,008
LoVo/DX	0,006	0,024

Таблица 2

Линия опухоли	Режим введения в/в	Соединение	Доза (мг/кг)	% СВО	ЛГК	Смерть от инток- сикации/ общее число
А-2780 (яичники)	7д х 3	ДКР	7	83%	1,8	0/5
		ИДА	1,2	36%	0,3	0/5
		Ia	1,5	93%	3,0	0/6
А 431 (шейки матки)	7д х 3	ДКР	7	76%	0,8	0/5
		Ia	1,5	83%	1,9	0/5