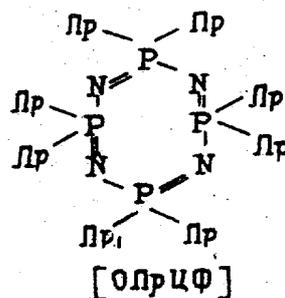
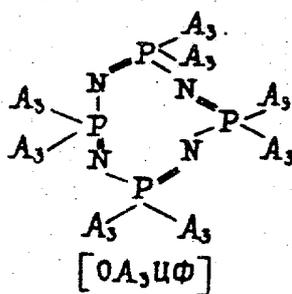
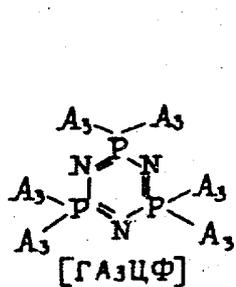


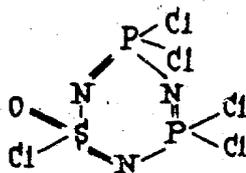
Изобретение относится к способу получения новых производных циклофосфатазенового ряда, которые обладают противоопухолевыми свойствами и могут быть использованы в фармакологических препаратах.

Известно, что азиридин (этиленамин) и его производные проявляют широкий спектр биологического воздействия на живой организм и его эффект весьма напоминает действие проникающей радиации, в связи с чем эти вещества получили название радиометрических соединений.

Биологический эффект азиридиновых производных широко используется в различных областях. Азиридин очень ядовит (смертельная доза 15 мг/кг), он оказывает воздействие на половую функцию, вызывает мутацию и проявляет цитостатическую (противоопухолевую) активность. Учитывая высокую токсичность азиридина исследовательские работы ведут в области синтеза веществ, содержащих азиридиновый заместитель, но имеющих сниженную токсичность.



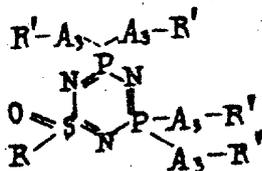
Известны представители [3] циклофосфатазенового ряда, например пентахлорциклофосфатазены следующей структуры:



который проявляет противоопухолевую активность.

Цель изобретения - разработка нового способа получения новых замещенных циклофосфатазенового ряда, проявляющих противоопухолевую активность.

Поставленная цель достигается новым способом получения производных циклофосфатазенового ряда общей формулы I:



Получение азиридиновых производных ведут с учетом характера свойств азиридинового кольца, который не стабилен при нагревании и в присутствии сильных кислот. Ацилирование ведут в среде органического растворителя в присутствии акцептора сильной кислоты, выделяющейся в ходе реакции, при пониженной температуре [1].

Среди азиридиновых замещенных известны соединения [2] циклофосфазенового ряда: гексазиридиноциклофосфазен (ГАзЦФ), октазиридиноциклофосфазен (ОАзЦФ), октапиперидиноциклофосфазен (ОПрЦФ), которые проявляют противоопухолевую активность в отношении лейкемии Р 388, лейкемии 1210 и опухоли меланомы В 16. Их токсичность несколько ниже самого азиридина

ГАзЦФ LD₅₀ = 40 мг/кг
ОАзЦФ LD₅₀ = 75 мг/кг
ОПрЦФ LD₅₀ = 20 мг/кг

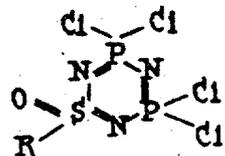
Их структура следующая:

где R - фтор, хлор, фенил, бutoкси-, фенокси-, морфолино-, пиперидиногруппа или азиридинил;

A₃ - азиридинил,

R₁ - водород или метил,

закрывающийся в том, что циклофосфатазеновое производное общей формулы II:



где R - хлор, фтор, фенил, подвергают взаимодействию с азиридином или метилазиридином, взятым в 8 - 20-кратном мольном избытке. На соединение формулы II, в среде диэтилового эфира при (-75) - (+20)°С с последующим выделением или превращением соединения формулы II, в котором R - хлор, в соответствующее бutoкси-, фенокси-, морфолино- или пиперидино-производное взаимодейст-

вием с бутанолом, фенолом, морфолином или пиперидином при $(-20)^{\circ}\text{C}$.

Предлагаемые соединения могут быть использованы для обработки твердых и мягких опухолей, например сарком, карцином, а также других подобных опухолей.

Дозы зависят от типа опухоли и вида введения: для инъекций или мазей, или суппозиторий, предпочтительно составы могут содержать от 1 до 20 вес.% активного вещества.

Растворимость этих соединений находится в пределах 20 г/л.

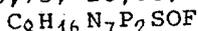
П р и м е р 1. Раствор 48,0 ммоль свежеперегнанного азиридина в 40 мл сухого диэтилового эфира прибавляют по каплям в течение 1 ч к эфирному раствору 3 ммоль соединения формулы II, где R представляет собой фтор, охлажденному до -75°C смесью ацетона и жидкого азота.

Процесс ведут при интенсивном перемешивании, а после окончания добавления реагентов смесь медленно нагревается до комнатной температуры и при этой температуре и перемешивании реакционную смесь выдерживают 17 ч.

Раствор декантируют и остаток, состоящий преимущественно из полимерных продуктов, экстрагируют тремя порциями по 20 мл сухого диэтилового эфира. Затем маточный раствор и экстракты объединяют и отгоняют растворитель в вакууме. Полученный неочищенный продукт снова экстрагируют тремя порциями по 80 мл сухого диэтилового эфира. После перекристаллизации, т.е. частичной отгонки растворителя и охлаждения раствора, получают кристаллический продукт с $T_{\text{пл}}$ 111-112 $^{\circ}\text{C}$ и выходом 62%.

Элементный анализ.

Найдено, %: С 28,20; 28,16; Н 4,7; 4,72; N 28,75; 28,68; S 9,49; 9,68



Вычислено, %: С 28,32; Н 4,75; N 28,90, S 9,45

ИК-спектр (cm^{-1}) в области 400-1400 cm^{-1} (в нуйоле):

1320 сильный, 1273 очень сильный, 1234 очень сильный, 1167 плечо, 1122 средний, 1096 средний (960; 942) очень сильный, 881 средний, 848 средний, 811 средний, 708 сильный, 669 сильный, 690 очень сильный, 525 средний.

Масс-спектр: м/с 339 $[\text{M}^+]$ 13%, 297 $[\text{M}-\text{A}_3]^+$ 100%.

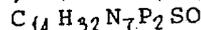
ЯМР - P^{31} (в растворе CDCl_3): P^{31} 35,7 р.р.т. (по отношению к 85%-ной H_3PO_4) J(P-F) 3,7 гц.

При использовании монометилазиридина вместо азиридина получают соединение формулы I, где R - метил.

П р и м е р 2. Процесс ведут аналогично примеру 1, но используют

90 ммоль азиридина в 40 мл сухого эфира и 4,5 ммоль соединения формулы II, где R представляет собой хлор, в 40 мл сухого эфира. После перекристаллизации получают с выходом 57% и $T_{\text{пл}}$ 86-87 $^{\circ}\text{C}$ продукт, имеющий следующий элементный анализ.

Найдено, %: С 33,02; 33,13; Н 5,64; 5,68; N 30,53; 30,49; S 8,71



Вычислено, %: С 33,15; Н 5,56; N 30,93; S 8,85

ИК-спектр/ cm^{-1} (таблетка КВч в области 400-1400 cm^{-1}):

1265 сильный, 1222 очень сильный, 1182 средний, 1151 средний, 1116 средний, 1083 средний, 937 очень сильный, 914 средний, 875 сильный, 842 средний, 811 средний, 770 сильный, 646 сильный, 577 средний.

Масс-спектр: м/с 362 $[\text{M}^+]$ 6%, 320 $[\text{M}-\text{A}_3]^+$ 100%.

ЯМР - P^{31} (в растворе CDCl_3): P^{31} 35,4 р.р.т. (по отношению к 85%-ной H_3PO_4).

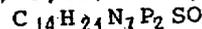
В этом случае происходит образование продукта с температурой плавления 104 $^{\circ}\text{C}$, для которого результаты элементного анализа и масс-спектра, а также ЯМР- P^{31} совпадают с продуктом с $T_{\text{пл}}$ 86-87 $^{\circ}\text{C}$.

Однако данные ИК-спектра (таблетка КВч в области 400-1400 cm^{-1}) несколько отличаются: 1265 сильный, 1226 очень сильный, 1170 плечо, 1153 сильный, 1084 сильный, 942 сильный и широкий, 912 средний, 882 средний, 867 средний, 766 средний, 711 сильный, 646 и 638 очень сильный, 542 средний, т.е. полученный второй продукт представляет собой другую кристаллическую форму и обладает одинаковой активностью по отношению к опухолевым заболеваниям.

П р и м е р 3. Процесс ведут аналогично примеру 1, но используют 144 ммоль свежеперегнанного азиридина в 40 мл сухого диэтилового эфира и 9 ммоль соединения формулы II, где R представляет собой фенил. Экстракцию ведут тремя порциями по 120 мл сухого эфира, а после перекристаллизации получают продукт с выходом 50% и $T_{\text{пл}}$ 108-109 $^{\circ}\text{C}$.

Элементный анализ.

Найдено, %: С 42,74; 42,48; Н 5,34; 5,45; N 24,72; 24,56; S 8,16



Вычислено, %: С 42,32; Н 5,33; N 24,67, S 8,07

ИК-спектр/ cm^{-1} в области 400-1400 cm^{-1} (в нуйоле):

1267 сильный, 1247 очень сильный, 1210 очень сильный, широкий, 1150 очень сильный, 1085 сильный, 939 очень сильный, широкий, 878 средний, 842 средний, 777 средний, 711 и 702

сильный, 648 сильный, 579 сильный, 534 средний.

Масс-спектр: м/с 597 [M⁺] 100%.

ЯМР - P³¹ в растворе CDCl₃: P³¹ 34,1 р.р.т. (по отношению к 85%-ной H₃PO₄).

Пример 4. Процесс ведут как в примере 1, но используют 80 ммоль свежеперегнанного азиридина в растворе сухого эфира 40 мл и раствор соединения 11, в котором R представляет собой хлор, 10,0 ммоль в 40 мл сухого эфира. Реакционную смесь фильтруют при (-20)°С, а оставшийся раствор вводят в реакцию с 20 ммоль пиперидина в эфирном растворе при (-20)°С. Полученный пиперидинозамещенный продукт идентифицируют по его масс-спектру.

Предлагаемым способом синтезируют, исходя из морфолина, бутанола и фенола соответствующие замещенные продукты.

Активность свойств определяют следующим образом.

Для приготовления физиологически приемлемых препаратов используют, мг:

Соединение, описанное в примере 2 50
Солевой физиологический раствор До 10
Полученный раствор помещают в ампулы.

На одну капсулу используют, мг:

Соединение, описанное в примере 2 200
Лактоза 50
Картофельный крахмал 50

Кристаллическая целлюлоза 109
Стеарат магния 1
Состав на 1000 гранул, мг:
Соединение, описанное в примере 3 100
Лактоза 550
Кукурузный крахмал 330
Гидроксипропилцеллюлоза 20
Состав для суппозиторий - вес 1 гр, мг:
Соединение, описанное в примере 2 500
Витепсол, изготовлен фирмой "Динамит Нобель Ко" 500
Состав мази, г:
Соединение, описанное в примере 1 2
Белый вазелин 23
Стеариловый спирт 22
Пропиленгликоль 12
Лаурилсульфат натрия 1,5
Этил-п-гидроксibenзоат 0,025
Очищенная вода До 100
Противоопухолевую активность исследуют на мышцах швейцарской породы ДБА/2 для следующих видов опухолей: лейкомии Р 388 и лейкомии Л 1210, и на мышцах породы Власк С57 для опухоли вида меланома В 16.
Испытания проводят либо при одиночных инъекциях при различных дозах в день (D+1) в зависимости от типа прививки опухоли, или же при многократных инъекциях (D-представляет собой день, в который проводилась прививка опухоли).
Полученные результаты представлены в таблице.

Опухоль	Количество инъекций, соединение	Доза, мг/кг/сут	ИЛС, %
1210	1 инъекция D+1, SOF	20	27
		40	40
	3 инъекции Q 3D	50	48
		25	24
P-388	1 инъекция D+1; SOF	10	20
		25	44
	3 инъекции Q 4D	50	98
		10	51
		25	118
1210	1 инъекция D+1, SO A ₃	100	28
		150	48
	3 инъекции Q 3D	50	22
		100	46
P 388	1 инъекция D+1; SO A ₃	50	35

Продолжение таблицы

Опухоль	Количество инъекций, соединение	Доза, мг/кг/сут	ИЛС, %
		100	73
		150	134
		175	188
		200	4/10
	3 инъекции Q 4D	50	73
		100	196
	2 инъекции Q 4D	150	2/10
B 16	1 инъекция; SO A ₃	50	33
		100	47
		150	64
P 388	1 инъекция D+1; SO Ph	200	113

ИЛС представляет собой результат, вычисленный по формуле:

$$\text{ИЛС, \%} = \frac{T - C}{C}$$

где T (в сутках) представляет собой средний период жизни мышей, прошедших обработку;

C (в сутках) представляет собой средний период жизни мышей в контрольном эксперименте;

QD - (в сутках) представляет собой количество суток n, приходящихся на 1 инъекцию, начиная с D+1, таким образом, что 3 инъекции Q 4D обозначают 1 инъекцию в D+1, 1 инъекцию в D+5 и 1 инъекцию в D+9; и

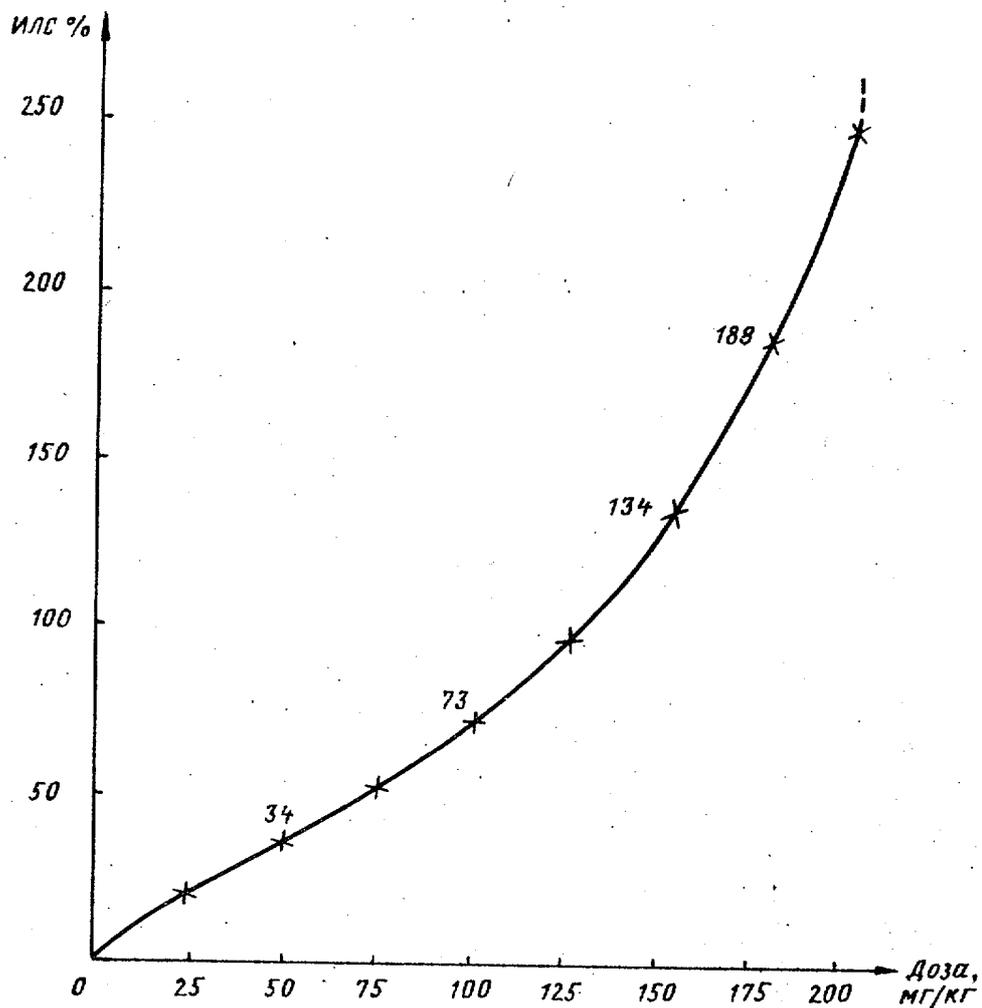
SO F - соединение, описанное в примере 1, LD₀ = 50 мг/кг;

SO A₃ - соединение, полученное в примере 2, LD₀ = 210 мг/кг;

SO Ph - соединение, полученное в примере 3, LD₀ = 250 мг/кг;

Соединение SO A₃ вылечивает лейкемию при однократной инъекции. Значение ИЛС (196%), полученное для случая введения трех инъекций Q4D при 3·100 мг/кг, в три раза превышает значение (73%), полученное при однократной инъекции в 100 мг/кг, произведенной в D+1, позволяет сделать предположение, что это соединение обладает активностью не только по отношению к лейкемии P 388 на ранней стадии, но и к лейкемии P 388 на поздней стадии.

На чертеже показан график воздействия на раковые заболевания. Как видно из характера кривой значение ИЛС (от дозы введения для лейкемии P 388 экспотенциально увеличивается, стремясь к пределу - 200 мг/кг.



Редактор Н. Ковалева Составитель Г. Андион Техред А. Вабинец Корректор А. Ильин

Заказ 6251/61

Тираж 387

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4