

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

235979

(11) (B2)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

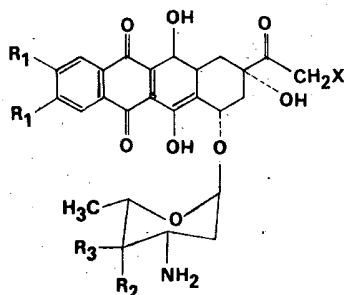
- (22) Přihlášeno 19 01 83
(21) (PV 374-83)
(32) (31)(33) Právo přednosti od 26 01 82
(82 0208Q) Velká Británie
(40) Zveřejněno 31 08 84
(45) Vydáno 15 12 86

(51) Int. Cl.³
G 07 H 15/24
//A 61 K 31/70

- (72) Autor vynálezu PENCO SERGIO, MILÁN, FRANCHI GIULIANO, CORSICO, ARCAMONE FEDERICO,
NERVIANO, CASAZZA ANNA MARIA, MILÁN (ITÁLIE)
(73) Majitel patentu FARMITALIA CARLO ERBA S.p.A., MILÁN (ITÁLIE)

(54) Způsob výroby nových protinádorových analogů daunorubicinu a doxorubicinu

Vynález se týká nových protinádorových analogů daunorubicinu a doxorubicinu obecného
vzorce I



(I),

kde

X je atom vodíku nebo hydroxylová skupina,

R₁ je atom vodíku nebo methylová skupina,

jedno z R₂ a R₃ je methoxylová skupina a

druhé z R₂ a R₃ je atom vodíku, a jejich farmaceuticky přijatelných adičních solí s kyselinami.

Jsou to tyto sloučeniny:

- 4-desmethoxy-4'-0-methyl-daunorubicin (Ia: $R_1 = R_3 = X = H$, $R_2 = OCH_3$),
 4-desmethoxy-4'-epi-4'-0-methyl-daunorubicin (Ib: $R_1 = R_2 = X = H$, $R_3 = OCH_3$),
 4-desmethoxy-2,3-dimethyl-4'-0-methyl-daunorubicin (Ic: $R_1 = CH_3$, $R_2 = OCH_3$, $R_3 = X = H$),
 4-desmethoxy-2,3-dimethyl-4'-epi-4'-0-methyl-daunorubicin (Id: $R_1 = CH_3$, $R_2 = X = H$, $R_3 = OCH_3$),
 4-desmethoxy-4'-0-methyl-doxorubicin (Ie: $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = OCH_3$, $X = OH$),
 4-desmethoxy-4'-epi-4'-0-methyl-doxorubicin (If: $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = OCH_3$, $X \neq OH$),
 4-desmethoxy-2,3-dimethyl-4'-0-methyl-doxorubicin (Ig: $R_1 = CH_3$, $R_2 = OCH_3$, $R_3 = H$, $X = OH$), a
 4-desmethoxy-2,3-dimethyl-4'-epi-4'-0-methyldoxarubicin (Ih: $R_1 = CH_3$, $R_2 = H$, $R_3 = OCH_3$, $X = OH$).

Způsob výroby analogů daunorubicinu a doxorubicinu obecného vzorce I, uvedeného vpředu, spočívá podle vynálezu v tom, že 4-desmethoxy-daunomycinon nebo 2,3-dimethyl-4-desmethoxy-danomycinon rozpouštěný v bezvodém methylenchloridu, se uvádí do reakce při teplotě místnosti se 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido-4-0-methyl-L-lyxo-hexopyranosyl-chloridem nebo 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido-4-0-methyl-L-arabino-hexopyran-oxyl-chloridem za přítomnosti trifluormethansulfonátu stříbrného a molekulárního síta za vzniku příslušných N-trifluoracetylem chráněných alfa-glykosidů, odstraní se N-trifluoracetylová ochranná skupina mírnou alkalickou hydrolýzou se 0,2N vodným hydroxidem sodným za vzniku příslušných daunorubicinových derivátů (I : $X = H$), které se popřípadě převádějí na příslušné doxorubicinové deriváty (I : $X = OH$) bromací a působením na takto vytvořené 14-bromo-intermediární sloučeniny pomocí mravenčanu sodného.

Vynález je ilustrován následujícími příklady provedení a biologickými daty.

P ř í k l a d 1

4-desmethoxy-4'-0-methyldaunorubicin (Ia)

Roztok 3,68 g 4-desmethoxydaunomycinonu ve 400 ml bezvodého methylenchloridu, obsahujícího 1,4 g 1-chlor-4-0-methyl-N-trifluoracetyl-daunosaminu, byl intenzivně míchán v přítomnosti molekulárního síta (30,0 g, 4 Merck) a 1,3 g stříbrné soli kyseliny trifluormethansulfonové. Po 10 minutách při teplotě místnosti byla reakční směs neutralizována 0,55 ml sym-kolidinu. Po 40 minutách byla suspenze filtrována a organická fáze byla promyta 0,01 N vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové, vodou, nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a konečně vodou do neutrální reakce. Odparek, získaný odpařením rozpouštědla ve vakuu, byl rozpouštěn ve 150 ml acetonu, zpracován se 600 ml vodného roztoku hydroxidu sodného a zředěn 450 ml vody. Po uplynutí doby 5 hodin při teplotě 0 °C byla hodnota pH roztoku upravena na 8,5 a roztok extrahován chloroformem, až chloroformové roztoky byly bezbarvé. Organické extrakty byly spojeny a okyseleny na hodnotu pH 5 0,1N methanolickým chlorovodíkem. Zkoncentrováním ve vakuu na malý objem (150 ml), vykrystalovalo 0,6 g čistého 4-desmethoxy-4'-0-methyldaunorubicinu. Matečný loup byl čistěn na sloupci silikagelu pufrovaného na hodnotu pH 7 fosfátovým pufrem M/15 za použití rozpouštědlového systému chloroform : methanol : voda (10 : 2 : 0,2 objemově). Eluát obsahující čistou látku byl zředěn vodou a organická fáze byla oddělena, promyta vodou a odpařena na malý objem a potom byla okyselená na hodnotu pH 5 0,1N methanolickým chlorovo-

díkem. Bylo získáno dalších 0,4 g hydrochloridu 4-desmethoxy-4'-0-methyl-daunorubicinu, teploty tání 189 až 190 °C (za rozkladu). Tenkovrstevná chromatografie na deskách se silikagelem (Merck F 254), rozpouštědlový systém chloroform : methanol : voda (10 : 2 : 0,2 objemově).

Vysokotlaká kapalinová chromatografie: experimentální analýza: sloupec microbondapack C18, mobilní fáze: voda:acetonitril (69:31 objemově) při hodnotě pH 2 s 10% kyselinou ortofosforečnou: refluxní poměr 1,5 ml/min, doba zadrž. 22 min.

FD-MS: m/z 511 (M^+)

P ř í k l a d 2

4-desmethoxy-4'-0-methyl-doxorubicin (Ie)

Roztok 0,5 g 4-desmethoxy-4'-0-methyl-daunorubicinu připraveného, jak je popsáno v příkladu 1, ve směsi 8 ml methanolu a 20 ml dioxanu reagoval s bromem za vzniku 14-bromderivátu. Reakce 14-bromderivátu s vodným roztokem mravenčanu sodného při teplotě místnosti po dobu 18 hodin poskytla 0,310 g 4-desmethoxy-4'-0-methyldoxorubicinu, který byl izolován ve formě hydrochloridu s teplotou tání 164 až 165 °C (rozklad), tenkovrstevná chromatografie na deskách silikagelu (Merck F 254), rozpouštědlový systém chloroform:methanol:voda (10:2:0,2 objemově), R_f 0,18.

Vysokotlaká kapalinová chromatografie: pokusné podmínky: microbondopack C₁₈, mobilní fáze: voda:acetonitril (69:31 objemově) při hodnotě pH 2 s 10% kyselinou ortofosforečnou, refluxní poměr 1,5 ml/min, doba zadrž. 10 min.

P ř í k l a d 3

4-desmethoxy-2,2-dimethyl-4'-0-methyl-daunorubicinu (Ic)

Kopulační reakce mezi 4-desmethoxy-2,3-dimethyl-daunomycinonem a 1-chlor-4-0-methyl-N-trifluoracetyl-daunosaminem za podmínek popsaných v příkladu 1 poskytla titulní látku.

P ř í k l a d 4

4-desmethoxy-2,3-dimethyl-4'-0-methyldoxorubicin (Ig)

Konverze sloučeniny Ic na titulní sloučeninu byla provedena za použití způsobu popsaného v příkladu 2.

P ř í k l a d 5

4-desmethoxy-4'-epi-4'-0-methyl-daunorubicin (Ib) a 4-desmethoxy-2,3-dimethyl-4'-dimethyl-4'-epi-4'-0-methyl-daunorubicin (Id)

Kopulační reakce 4-desmethoxydaunomycinonu a 4-desmethoxy-2,3-dimethyl-daunomycinonu s 2,3,6-tridesoxy-3-trifluoracetamido-4-0-methyl-L-arabinohehexopyranoxylchloridem, popsané v příkladu 1, vedly po hydrolýze N-chránících skupin k titulním sloučeninám.

P ř í k l a d 6

4-desmethoxy-4'-epi-4'-O-methyldoxorubicin (If) a 4-methoxy-2,3-dimethyl-4'-epi-4'-O-methyldoxorubicin (Ih)

Sloučeniny Ib a Id byly převedeny přes své 4-bromderiváty za podmínek popsanych v příkladu 2 na sloučeniny If a Ih.

Biologická účinnost Ia a Ie

Sloučeniny Ia a Ie byly zkoušeny ve srovnání s výchozími látkami, resp. s daunorubicinem (DNR) a doxorubicinem (DX), v různých pokusných systémech za účelem zjištění jejich cytotoxicity, protinádorové účinnosti a srdeční toxicity na pokusných zvířatech.

Údaje uvedené v tabulce 1 ukazují, že Ia je 5x cytotoxičtější než DNR a Ie je asi 9x cytotoxičtější než DX.

Primární screening in vivo byl proveden na ODF-1 myších s P388 ascitickou leukemií (106 buněk/myš). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

Bylo nalezeno, že Ia a Ie jsou toxičtější a účinnější než výchozí sloučeniny. Srovnání maximálních snášených dávek (MxTD) ukazuje, že Ia je účinná jako DNR (vede k podobnému zvýšení přežití myší) a Ie má dobrou protinádorovou účinnost, jejíž velikost je stejného řádu jako DX.

Bylo provedeno několik studií u C3H myší s Grossovou leukemií po i.v. injekci (2×10^6 buněk/myš). Data o Ia jsou uvedena v tabulce 3. Podána i.v. jeden den po inokulaci nádoru, látka Ia byla zřetelně méně toxická a účinnější než DNR. Při MxTD 1,25 až 1,3 mg/kg byla Ia účinnější než DX při MxTD 10 mg/kg. Je dobře známo, že DNR je neúčinný při orálním podání i při velice vysokých dávkách (> 50 mg/kg). Data uvedená v tabulce 3 ukazují, že Ia má dobrou protinádorovou účinnost proti Grossově leukemii i při orálním podání. Po orálním podání pouze po dobu 1 dne je Ia účinná v dávce 1,25 až 1,3 mg/kg, které představuje rovněž optimální dávku v případě i.v. léčby. Výsledky naznačují, že absorpce Ia gastrointestinálním traktem je velice účinná. Po orálním podání 1., 2., a 3. dne je Ia účinnější, než když je podána jenom jeden den; v optimální dávce 0,66 mg/kg/den má velikost protinádorové účinnosti stejného řádu jako 4-desmethoxydaunorubicin, který byl sledován paralelně v optimální dávce 1,9 mg/kg/den. Pozorování, že optimální dávka Ia je nižší než u 4-desmethoxydaunorubicinu, naznačuje účinnější absorpci gastrointestinálním traktem, rovněž ve srovnání s touto sloučeninou.

Údaje o pritonádorové účinnosti Ie ve srovnání s DX proti Grossově leukemii jsou uvedeny v tabulce 4. Sloučeniny byly podány jeden den po inokulaci nádorových buněk; DX byl podán i.v.; Ie byla podána i.v. a orálně. Po i.v. podání při MxTD 1 mg/kg, Ie vykazala dobrou protinádorovou účinnost, podobnou té, která byla pozorována po léčbě pomocí DX. Kromě toho Ie byla účinná rovněž po orálním podání v dávkách od 1,3 mg/kg.

Ie byla zkoušena proti leukemii L 1 210, která byla očkována i.p. myším CDF-1 (ascitická forma) nebo i.v. (10^5 buněk/myš). Léčení bylo prováděno jeden den po inokulaci nádorovými buňkami, i.p. nebo i.v. Data uvedená v tabulce 5 ukazují, že v pokusu i. p. - i.p. Ie při MxTD 0,83 mg/kg odpovídala účinnosti DX při MxTD 4,4 mg/kg. V pokuse i.v.-i.v. Ie ve snášených dávkách 1 a 1,3 mg/kg měla protinádorovou účinnost vyšší než DX.

S cílem hodnocení protinádorové účinnosti proti pevnému nádoru, byla Ie zkoušena ve srovnání s DX proti karcinomu mléčné žlázy myších samic C3H. Byl použit transplantát nádoru třetí generace. Léčení začalo 15 dní po transplantaci nádoru a bylo prováděno i.v.

jednou za týden po dobu 4 týdnů. Měření nádoru bylo prováděno pomocí odpichovátko každý týden. Myši bez nádorů byly léčeny paralelně za účelem hodnocení obecné toxicity a srdeční toxicity, které byly sledovány u 5 myši léčených nejvyššími dávkami obou sloučenin a usmrčeny 5 týdnů po posledních léčení. Výsledky tohoto léčení jsou uvedeny v tabulce 6. DX byla velice účinná a inhibovala růst z 93 až 94 % (ve srovnání s neléčenými kontrolami) v obou zkoušených dávkách (6 a 7,5 mg/kg). U myši bez nádorů léčených pomocí DX v dávce 7,5 mg/kg, byla pozorována toxická úmrť (2/3) a všechny vyšetřované myši vykazovaly histologicky detegovatelná srdeční poškození. Ie v dávce 0,4 mg/kg byla mírně účinná; v dávkách 0,6 a 0,75 mg/kg byla mírně účinná; v dávkách 0,6 a 0,75 mg/kg zřetelně inhibovala růst nádorů. U myši bez nádorů léčených Ie při 0,75 mg/kg nebyla pozorována žádná poškození atrie a jenom 2 z 5 myši měly pozorovatelná ventrikulární poškození, která byla méně vážná než ta, která byla pozorována po léčbě DX.

Údaje zde uváděné ukazují, že Ia a Ie jsou novými anthracyklinovými analogy s velmi zajímavými biologickými vlastnostmi. Ve srovnání s NRD je Ia asi třikrát účinnější po i.p. podání a asi 8x účinnější po i.v. podání. Při MxTD má protinádorovou účinnost proti ascitickému P388 a systémové Grossově leukemii ekvivalentní DNR. Kromě toho je účinná rovněž po orálním podání, zejména, když se léčba provádí po dobu tří po sobě jdoucích dnů v nižších dávkách než 4-desmethoxydaunorubicin.

Ia je asi 10x účinnější in vivo než DX. Srovnání při MxTD ukazuje se zřetelem k DX, že je stejně aktivní proti ascitickému P388 a leukemii L 1210, systémové Grossově leukemii a pevnému karcinomu mléčné žlázy a je účinnější než DX proti systémové (i.v.) leukemii L 1210. Je kromě toho účinný proti Grossově leukemii i po orálním podání a v předběžném kardiotoxickém testu u myši C3H léčených chronicky i.v. vyvolávala jenom minimální srdeční poškození. Sloučenina Ia byla sledována na leukemických buňkách P388 rezistentních na doxorubicin (P 388/DX) in vitro a vivo. Leukemické buňky P 388 rezistentní na doxorubicin (DX) (získané Dr. Schabelem) jsou udržovány seriovým přenosem na myších léčených DX i.p. Pro pokusné účely byly myším BDF-1 podány injekce 104 leukemických buněk i.p. a myši byly léčeny i.p. jeden den po naočkování nádoru. Výsledky uvedené v tabulce 7 ukazují, že daunorubicin (DNR) nebyl účinný proti tomuto nádoru, zatímco sloučenina Ia zvyšovala při protimální dávce 0,8 mg/kg přežití léčených myši.

Leukemické buňky P388 a P388/DX byly získány z ascitické tekutiny myši a adaptovány na růst v suspenzi in vitro. Cytotoxické testy byly prováděny expozicí buněk různým koncentracím po dobu 48 hodin; na konci doby expozice byly buňky počítány na Coulterově počítači buněk a byla vypočtena ID_{50} (dávka, která vede k 50% snížení počtu buněk ve srovnání s neléčenými kontrolami). Výsledky uvedené v tabulce 8 ukazují, že Ia byla asi dvakrát více cytotoxická než DNR na leukemických buňkách P388 a velice účinná i na leukemických buňkách P388/DX, zatímco DNR byla 163 až 152x méně účinná z hlediska rezistence než senzitivity.

Sloučenina Ia byla dále sledována na karcinomu mléčné žlázy myši C3H. Myši s měřitelným nádorem (transplantáty třetí generace) byly léčeny jedenkrát týdně po dobu 4 týdnů i.v. látkou Ie nebo DX. Normální myši byly léčeny paralelně za účelem zjištění toxicity. Výsledky uvedené v tabulce 9 potvrzují, že Ie byla 10x účinnější než DX a měla významnou protinádorovou účinnost v tomto pokusném systému v netoxických dávkách, zatímco DX byla toxická.

V důsledku dobré protinádorové účinnosti proti karcinomu mléčné žlázy byla sloučenina Ia hodnocena proti dvěma pevným nádorům: adenokarcinomům colon 26 a colon 38, transplantovaným s.c. myším MALB/c a myším BDF-1. Léčení začalo jeden den po očkování nádorů (časných), nebo když nádory byly již hmatatelné (pokročilé) a bylo prováděno i.v. jedenkrát týdně nebo každých 6 dní 3 až 4x. Růst nádoru byl zjišťován pomocí odpichovátko. Myši bez nádorů byly léčeny paralelně, pro hodnocení toxicity a byly pozorovány po dobu 90 dní. Výsledky těchto pokusů jsou uvedeny v tabulce 10. Proti časnému colon 26 byla Ie při

maximální snášené dávce 0,9 mg/kg/den mnohem účinnější než DX v maximálně snášené dávce 7,5 mg/kg/den. Proti pokročilému colon 26 byla Ie při maximální zkoušené dávce 0,7 mg/kg/den netoxická a poskytovala vyšší inhibici růstu nádorů než DX při maximálně snášené dávce 6 mg/kg/den. Proti pokročilému colon 38 při maximální zkoušené dávce 0,9 mg/kg/den byla Ie stejně účinná jako DX 9 mg/kg/den při inhibici růstu nádoru, avšak vedla ke zvýšenému přežívání.

Závěrem všechny zde uvedené údaje potvrzují, že sloučeniny Ia a Ie představují mimořádně zajímavé nové anthracykliny, vyznačující se vysokou účinností, účinností při orálním podání, účinností proti nádorům rezistentním na anthracykliny (Ia), účinností proti pevným nádorům, převyšujícím DX a jsou bez kardiotoxicity (Ie).

T a b u l k a 1

Zkouška inhibice kolonií proti Hela buňkám in vitro (léčení po dobu 24 hodin)

sloučenina	Dávka ng/ml	a (%)	ID ₅₀ (mg/ml)
DNR	12,5	42	~ 12
	6,2	66	
	3,1	121	
Ia	25	0	~ 2,5
	6,2	0	
	1,5	73	
DX	12,5	20	~ 9
	6,2	79	
	3,1	177	
Ie	10	0	~ 1
	2,5	9,9	
	0,62	82	
	0,15	84	

^ač. kolonií; % neléčených kontrol.

T a b u l k a 2

Protinádorová účinnost u leukemie P388 i.p. léčba prvního dne

Sloučenina	Dávka (mg/kg)	T/C ^a	LTS ^b	Toxické úmrtí ^c
DNR ^d	2,9	154	0/10	0/10
	4,4	140, 154	0/20	4/20
	6,6	109, 163	0/20	13/20
Ia	0,5	127	0/10	0/10
	0,64	127	0/10	0/10
	0,8	172, 127	0/20	1/20
	1,0	145	0/10	0/10
	1,3	95	0/10	10/10
DX	4,4	180	0/10	0/10
	6,6	200	2/10	0/10
	10,0 ^e	315	4/10	0/10
Ie	0,44	180	0/10	0/10
	0,66	215	0/10	0/10
	1,0	250	0/7	1/7
	1,5	245	2/10	4/10

^aprůměrný čas přežití ošetřených myší/průměrný čas přežití kontrol x 100^bdlouhodobé přežití (360 dní)^chodnocení na bázi autoptických nálezů u mrtvých myší^dúdaje ze dvou pokusů^eznačí maximální snášenou dávku DX v tomto pokusném systému

T a b u l k a 3

Účinnost Ia proti Grossově leukemii.

Podání	Léčba		mg/kg/den	T/C ^b %	Toxické úmrtí
	Seznam ^a	Sloučenina			
i.v.	1	DNR	10	133, 150	0/20
			15	175, 175, 166	3/20
			22,5	208, 191, 216	6/30
i.v.	1	Ia	0,58	116	0/10
			0,76	133	0/10
			1,0	158, 166	0/20
			1,25 až	183, 208	0/20
			1,3		
			1,56	100	9/10
			1,95	116	6/10

Tabulka 3 - pokračování

Podání	Léčba Seznam ^a	Sloučenina	mg/kg/den	T/C ^b %	Toxické úmrtí ^c
orální	1		1,1 1,25 až 1,3 1,56 až 1,6 1,95 až 2,0	133 133, 166 166, 166 175, 183	0/10 1/20 3/20 2/20
orální	1,2,3	4-desmethoxy DNR	1,31 1,58 až 1,46 1,9 2,5 3,3	125 133, 150 133, 190 210 140	0/10 1/20 1/20 2/10 6/10
orální	1,2,3	Ia	0,44 0,66 1,0 1,25	133 183 200, 220 140	0/9 0/10 9/20 8/10

^a dny po inokulaci nádorů, ^{b,c} viz tabulku 2

Tabulka 4

Účinnost Ia proti Grossově leukemii

Podání	Léčba ^a Sloučenina	mg/kg	T/C %	Toxické úmrtí ^c
i.v.	DX	10 13 16,9	200 200, 216 250, 266	2/8 2/18 3/18
	Ia	1,0 1,3 1,7 2,2	183, 233 192, 208 217, 200 142	0/18 4/18 7/18 7/10
orální	Ia	1,0 1,3 1,7 2,5	125 150 166 166	0/8 0/8 0/8 0/8

^a první den po inokulaci nádoru

^{b,c} viz tabulku 2

Tabulka 5

Účinnost proti leukemii L 1210

L 1210

inokulum	Léčba	Sloučenina	mg/kg	T/C ^a %	LTS ^b	Toxické úmrtí ^c
i.p.	i.p.	DX	4,4	150	0/9	0/9
			6,6	150	0/10	1/10
			10,0	162	0/10	1/10
		Ie	0,83	162	2/10	0/10
			1,0	187	1/10	1/10
			1,2	393	4/10	3/10
i.v.	i.v.	DX	10,0	120	0/10	0/10
			13,0	120	0/10	0/10
			16,9	133	0/10	0/10
		Ie	1,0	200	0/10	0/10
			1,3	173	0/10	0/10
			1,7	>580	5/10	0/10

a, b, c - viz tabulku 2

Tabulka 6

Účinnost proti C3H karcinomu mléčné žlázy toxicita a srdeční toxicita Ie ve srovnání s DX

Sloučenina	mg/kg/den	Myši s nádorem		MST ^c	T/C ^d %	Myši bez nádorů ^e			
		Růst nádorů ^a %	Inhibice růstu nádorů ^b %			úmrtí	poškození srdce ^f		
							A	V	
		n.	G.	n.	G.				
-	-	4 845	-	53	-	-	-	-	-
DX	6	318	93	77	145	n.d.			
	7,5	277	94	74	140	2/3	4/4	1,3	5/5 1,5
Ie	0,4	1 740	64	65	123	n.d.			
	0,6	748	85	76	143	n.d.			
	0,75	344	93	81	153	1/4	0/5	0	2/5 0,2

Vysvětlivky k tabulce 6;

^ahmotnost nádoru 43. dne po implantaci (hmotnost nádoru na počátku ošetřování, x 100)^b100 - [růst nádoru ošetřených myší/růst nádoru kontrol, x 100]^cprůměrný čas přežití (ve dnech)^dprůměrný čas přežití ošetřených myší (průměrný čas přežití kontrol, x 100)

^apozorování po dobu 90 dní

^fA = srdeční předsíň (atrium), V = srdeční komora (ventriculus), n = počet srdcí jevících poškození/celkový počet, G = stupeň poškození

T a b u l k a 7

Účinek na doxorubicin-rezistentní leukémii P388 in vivo

Sloučenina	Dávka (mg/kg)	T/C ^a %	LTS ^b	Toxické úmrtí ^c
DNR	2,9	93	0/10	0/10
	4,4	87	0/10	1/10
	6,6	84	0/10	3/10
Ia	0,53	133	0/10	0/10
	0,8	142	1/10	0/10
	1,2	106	0/10	4/10

^aprůměrná doba přežití ošetřených myší/průměrná doba přežití kontrol, x 100

^bdlouhodobé přežití (360 dní)

^chodnocení na bázi autoptických nálezů na mrtvých myších

T a b u l k a 8

Vliv na senzitivní a doxorubicin-rezistentní leukémii P388 in vitro

Sloučenina	ID ₅₀ P388 ^c	P388/DX ^d	R ^e
DNR	5,8,2,3	950,350	163,152
Ie	0,35, 1,3	1,4,5	4,3,8

^aúdaje ze dvou pokusů

^bdávka vedoucí k 50% snížení počtu buněk ve srovnání s neléčenými kontrolami

^cleukemické buňky P388 citlivé na DX

^dleukemické buňky P388 rezistentní na DX

^epoměr mezi ID₅₀ u P388/DX a ID₅₀ u P388

T a b u l k a 9

Účinnost Ie proti karcinomu mléčné žlázy u myši C3H

Sloučenina	mg/kg/den	Myši s nádory				Myši bez nádorů úmrtí ^e
		hmotnost nádoru ^a (mg)	T/C ^b %	MST ^c	T/C ^d %	
-	-	651		115,5		0/10
DX	6,0	238	37	149	129	1/10
	7,5	209	32	100	87	7/10
Ie	0,6	422	65	118	103	0/10
	0,75	263	40	126,5	110	0/10

a) hodnoceno 1 týden po poslední léčbě, měřením pomocí odpichovátko

b) hmotnost nádorů u ošetřených myší/hmotnost nádorů u kontrol x 100

c) průměrná doba přežití (ve dnech)

d) průměrná doba přežití u ošetřených myší/průměrná doba přežití u kontrol (x 100)

e) myši byly pozorovány po dobu 90 dnů

T a b u l k a 10

Vliv Ie a DX na dva transplantované adenokarcinomy tračníku u myši

Nádor	Stadium ^a	Seznam ^b	Sloučenina	Dávka	% ^c	T/C ^d	Toxické úmrtí
				(mg/kg)	inhibice	%	
colon 26 rané	q7dx4	DX		6	56	217	0/10
				7,5	82	224	0/10
				9,3	81	161	9/10
		Ie		0,6	81	258	0/10
				0,75	85	227	0/10
				0,9	93	246	1/10
	pokročilé q6dx3	DX		6	34	237	0/9
				9	62	237	4/9
		Ie		0,6	48	232	0/9
				0,7	52	195	0/9
colon 38 pokročilé q7dx4		DX		6	65	92	0/10
				9	83	144	1/10
		Ie		0,6	55	133	0/10
				0,75	60	129	0/10
				0,9	81	184	0/10

^a doba začátku léčby vzhledem k rozvoji nádoru

^b dny po i.v. podání

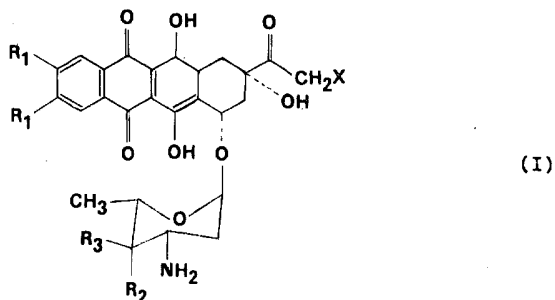
^c % inhibice růstu nádoru ve srovnání s neléčenými kontrolami

^d průměrná doba přežití léčených myší/průměrná doba přežití kontrol, x 100

^e hodnocení myší bez nádorů léčených paralelně a pozorovaných po dobu 90 dnů

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby nových protinádorových analogů daunorubicinu a doxorubicinu, obecného vzorce I



ve kterém

X znamená vodík nebo hydroxyl,

R₁ znamená vodík nebo methyl,

ze symbolů R₂ a R₃ jeden znamená methoxyskupinu a druhý znamená vodík,

vyznačující se tím, že 4-demethoxy-daunomycinon nebo 2,3-dimethyl-4-demethoxy-daunomycinon rozpuštěný v bezvodém methylenchloridu, se uvádí do reakce při teplotě místnosti se 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido-4-O-methyl-L-lyxo-hexopyranosyl-chloridem nebo 2,3,6-trideoxy-3-trifluoracetamido 4-O-methyl L-arabinohexopyranosylchloridem za přítomnosti tri-fluor methansulfonátu stříbrného a molekulárního síta za vzniku příslušných N trifluor-acetylem chráněných alfa-glykosidů, odstranění se N-trifluoracetylové chránicí skupina mírnou alkalickou hydrolýzou se 0,2N vodným hydroxidem sodným za vzniku příslušných daunorubi-cinových derivátů obecného vzorce I, kde X znamená vodík, které se popřípadě převádějí na příslušné doxorubicinové deriváty obecného vzorce I kde X znamená hydroxylovou skupinu bromací a působením na takto vytvořené 14-bromo-intermediární sloučeniny pomocí mravenčanu sodného.