



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

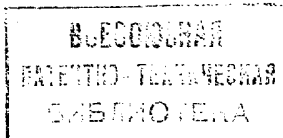
(19) **SU** (11) **1500156** **A3**

(51) 4 C 07 C 127/19, C 07 D 239/34

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР  
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

## К ПАТЕНТУ



- 1
- (21) 4023808/23-04
  - (22) 19.02.86
  - (31) 32365/85; 44737/85
  - (32) 20.02.85; 08.03.85
  - (33) JP
  - (46) 07.08.89. Бюл. № 29
  - (71) Исихара Сангио Кайся, Лтд (JP)
  - (72) Такахиро Хага, Нобутоси Ямада, Хидео Суги, Тору Каянаги, Нобуо Кондо, Цунетака Накадзима, Масахиро Ватанабе и Казумаса Йокояма (JP)
  - (53) 547.856.1.07(088.8)
  - (56) Выложенная заявка Японии № 57-109721, кл. C 07 D 239/34, опублик. 08.07.82, сер. 3 (2), сборник № 48 (206).
  - (54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗОИЛМОЧЕВИНЫ
  - (57) Изобретение касается производных бензоилмочевины, в частности

2

получения N-(2-нитробензоил)-N'-[4-(5-бром- или хлор-2-пиримидинилокси)-3-хлорфенил]-мочевины, которые обладают противоопухолевой активностью и могут быть использованы в медицине. Цель изобретения - создание новых более активных веществ указанного класса. Синтез ведут реакцией 4-(5-бром- или хлор-2-пиримидинилокси)-3-хлоранилина с 2-нитробензоилизоцианатом в среде растворителя - октана, ксилола, пиридина, диметилсульфоксида, этилацетата, диоксана, хлорбензола или 1,2-дихлорэтана при 0 - 120°C. Новые вещества активно ингибируют лейкемию P-388 при дозе 25 мг/кг (в день) на 168 и 210% в сравнении с контролем (внутрибрюшинно), а также меланому B-16 и саркому яичников при токсичности LD<sub>50</sub> = 100 мг/кг. 8 табл.

Изобретение относится к способу получения производных бензоилмочевины - новых биологически активных соединений, которые могут найти применение в медицине.

Цель изобретения - способ получения новых малотоксичных производных бензоилмочевины, обладающих более высокой противоопухолевой активностью.

**Пример 1.** Синтез соединения 1: N-(2-нитробензоил)-N'-[4-(5-бром-2-пиримидинилокси)-3-хлорфенил] мочевины.

1. В колбу помещают 7,00 г 5-бром-2-хлорпиримидина, 5,19 г 4-амино-2-хлорфенола, 9,98 г карбоната калия и 70 мл диметилсульфоксида и проводят реакцию в атмосфере азота при 120°C в течение 1,5 ч при перемешивании. После окончания реакции продукт выливают в воду и экстрагируют этилацетатом. Экстракт промывают водой и насыщенным водным раствором хлористого натрия, сушат над безводным сульфатом натрия, а затем чистят хроматографией на колонке силикагеля, посредством чего получа-

(19) **SU** (11) **1500156** **A3**

ют 6,80 г маслянистого 4-(5-бром-2-пиримидинилокси)-3-хлоранилина.

2. В колбу помещают раствор, полученный путем растворения 6,80 г 4-(5-бром-2-пиримидинилокси)-3-хлоранилина в 30 мл диоксана, и в него добавляют по каплям раствор, полученный путем растворения 5,76 г 2-нитробензоилизоцианата в 30 мл диоксана, а затем проводят реакцию полученной смеси при комнатной температуре в течение 9 ч. После окончания реакции продукт выливают в воду, подвергают его фильтрованию и промывают горячей водой. Полученные таким образом кристаллы помещают в метанол и перемешивают раствор, затем его фильтруют, получают 9,42 г целевого продукта, имеющего точку плавления 234-236°C.

Пример 2. Синтез соединения 2:N-(2-нитробензоил)-N-[3-хлор-4-(5-хлор-2-пиримидинилокси)фенил]мочевины.

1. В колбу помещают 1,50 г 2,5-дихлорпиримидина, 1,45 г 4-амино-2-хлорофенола, 2,76 г карбоната калия и 15 мл диметилсульфоксида и проводят реакцию в атмосфере азота при 100°C в течение 1,5 ч при перемешивании. После окончания реакции продукт выливают в воду и экстрагируют диэтиловым эфиром. Экстракт промывают насыщенным водным раствором хлористого натрия и высушивают над безводным сульфатом натрия, а затем растворитель отгоняют. Полученный таким образом неочищенный продукт чистят и выделяют с помощью хроматографии на колонке силикагеля, получают 2,20 г 3-хлор-4-(5-хлор-2-пиримидинилокси)анилина, имеющего точку плавления 95-96°C.

2. В колбу помещают раствор, полученный путем растворения 1,50 г 2-нитробензоилизоцианата в 6,5 мл диоксана, и в него по каплям добавляют раствор, полученный путем растворения 1,00 г 3-хлор-4-(5-хлор-2-пиримидинилокси)анилина, полученного в указанной стадии, в 6,5 мл диоксана, смесь выдерживают при комнатной температуре в течение 3 ч. После окончания реакции продукт выливают в воду и отфильтровывают кристаллы. Кристаллы промывают водой при температуре примерно 50°C, сушат и суспендируют в этилацетате.

В смесь добавляют небольшое количество n-гексана, и осажденные кристаллы собирают фильтрованием, сушат, получив 1,05 г нужного продукта, имеющего точку плавления 222-225°C.

Пример 3. В колбу с раствором 6,80 г 4-(5-бром-2-пиримидинилокси)-3-хлоранилина, полученного по примеру синтеза 1.1., в 30 мл хлорбензола по каплям добавляют при 0°C раствор 5,76 г 2-нитробензоилизоцианата в 30 мл хлорбензола и затем смесь оставляют для продолжения реакции при 0°C 24 ч. После завершения реакции продукт отфильтровывают. Кристаллы растворяют в диметилсульфоксиде и раствор выливают в воду с последующей фильтрацией. Полученные при этом кристаллы помещают в метиловый спирт и перемешивают, а затем снова подвергают фильтрованию и получают 7,05 г желаемого продукта.

Пример 4. 1,73 г 2-нитробензоилизоцианата растворяют в 3 мл 1,2-дихлорэтана. Затем к нему при 60°C по каплям добавляют раствор 2,47 г 4-(5-бром-2-пиримидинилокси)-3-хлоранилина в 1,2-дихлорэтан.

После окончания добавки смесь оставляют для продолжения реакции на 30 мин при нагревании с обратным холодильником. По завершении реакции реакционную смесь охлаждают и подвергают фильтрации. Затем кристаллы промывают 1,2-дихлорэтаном и получают 3,7 г целевого соединения.

Примеры 5-9. Исходные материалы и растворитель смешивают и подвергают взаимодействию в условиях реакции, представленных в табл. 1. По завершении реакции полученный продукт охлаждают в случае, если это необходимо. Затем к реакционной смеси добавляют 30 мл метилового спирта и проводят фильтрацию для получения желаемого продукта.

Полученные при этом результаты показаны в табл. 1 вместе с результатами, полученными по примерам 1-4.

Проведены биологические испытания производных бензоилмочевины, полученных в условиях предлагаемого способа. В качестве соединения сравнения использована N-(2-нитробензоил)-N-[3-хлор-4-(5-йод-2-пиримидинилокси)фенил]мочевина.

Пример 1 (испытательный). Инокулирование раковых клеток и вве-

дение испытуемых веществ производят внутрибрюшинно (в одну и ту же часть тела). Мышам штамма BDF<sub>1</sub> внутрибрюшинно инокулируют Р-388 лейкоэмийные клетки в количестве  $1 \cdot 10^6$  клеток/мышь. Испытуемое соединение вводят внутрибрюшинно дважды, т.е. через 1 и 4 дня после инокулирования. Мышей обследуют в течение 30 дн на предмет выживания или смерти. Определяют соотношение среднего времени выживания испытательных и контрольных животных, при этом число дней выживания мышей в контрольной группе, которым вводят физиологический солевой раствор, оценивают за 100. Соединения вводят в виде дисперсии, полученной путем добавления небольшого количества поверхностно-активного вещества (например, Твин-80), поставляемого компанией Atlas Powder CO, к испытуемому соединению.

Действие испытуемых соединений на лейкоэмию Р-388 при внутрибрюшинном введении в место, пораженное раковыми клетками, представлено в табл. 2.

**Пример 2 (испытательный).** Р-388 лейкоэмийные клетки инокулируют внутрибрюшинно, в то время как испытуемые соединения вводят орально.

В мышей штамма BDF<sub>1</sub> внутрибрюшинно вводят Р-388 лейкоэмийные клетки в количестве  $1 \cdot 10^6$  клеток/мышь. Испытуемое соединение орально вводят дважды, т.е. через 1 и 4 дня после инокулирования. Мышей наблюдают в течение 30 дн. на предмет выживания или смерти и определяют соотношение среднего времени выживания испытательных и контрольных животных для каждой обработанной группы (10 животных на группу), причем число дней выживания мышей контрольной группы, в которых вводят физиологический солевой раствор, оценивают за 100.

Испытуемые соединения готовят по рецептурному примеру 1.

Действие испытуемых соединений на лейкоэмию Р-388 при оральном введении представлено в табл. 3.

**Пример 3 (испытательный).** Р-388 лейкоэмийные клетки инокулируют внутрибрюшинно, в то время как лекарство вводят орально.

Соотношение среднего времени выживания испытательных и контрольных животных определяют по испытательному примеру 2, за исключением того,

что испытуемые соединения, приготовленные по рецептурному примеру 1, готовят по рецептурному примеру 2.

Действия испытуемых соединений на лейкоэмию Р-388 при оральном введении в большой фон представлены в табл. 4.

**Пример 4 (испытательный).** L-1210 лейкоэмийные клетки инокулируют внутрибрюшинно, в то время как испытуемые соединения вводят внутривенно.

В мышей штамма BDF<sub>1</sub> внутрибрюшинно инокулируют L-1210 лейкоэмийные клетки в количестве  $1 \cdot 10^5$  клеток/мышь. Внутривенно вводят испытуемое соединение, приготовленное по рецептурному примеру 2. Мышей наблюдают в течение 30 дн на предмет выживания или смерти и определяют соотношение среднего времени выживания испытательных и контрольных животных для каждой обработанной группы (10 животных на группу), при этом число дней выживания мышей контрольной группы, которым вводят физиологический солевой раствор, оценивают как 100.

Действие соединения 1 на лейкоэмию Р-388 при внутривенном введении представлено в табл. 5.

**Пример 5 (испытательный).** L-1210 лейкоэмийные клетки инокулируют внутрибрюшинно, в то время как испытуемое соединение вводят орально.

В мышей штамма BDF<sub>1</sub> внутрибрюшинно инокулируют L-1210 лейкоэмийные клетки в количестве  $1 \cdot 10^5$  клеток/мышь. Испытуемое вещество, приготовленное в соответствии с рецептурным примером 1, вводят дважды, т.е. через 1 и 4 дня после инокулирования. Мышей наблюдают в течение 30 дн на предмет выживания или смерти, и определяют соотношение среднего времени выживания испытательных и контрольных животных для каждой обработанной группы (10 животных на группу), при этом число дней выживания мышей контрольной группы, которым вводят физиологический солевой раствор, оценивают как 100.

Действия соединения 1 и соединения сравнения на лейкоэмию L-1210 при оральном введении представлены в табл. 6.

**Пример 6 (испытательный).** Клетки меланомы В-16 инокулируют

внутрибрюшинно, в то время как испытуемые соединения вводят орально.

В мышей штамм BDF<sub>1</sub> внутрибрюшинно инокулируют 0,5 мл жидкости, полученной путем диспергирования 1 г клеток меланомы В-16 в 8 см<sup>3</sup> физиологического солевого раствора в количестве 0,5 мл/мышь. Испытываемое соединение, приготовленное в соответствии с рецептурным примером 1, вводят орально три раза, т.е. через 1, 7 и 14 дней после инокулирования. Мышей наблюдают в течение 60 дн для определения выживания или смерти и определяют соотношение среднего времени выживания испытательных и контрольных животных для каждой обработанной группы (10 животных на группу), при этом число дней выживания мышей контрольной группы, которым вводят физиологический солевой раствор, оценивают как 100.

Действие соединения 1 и соединения-сравнения на лиланолиз В-16 при оральном введении представлено в табл. 7.

**Пример 7 (испытательный).** Клетки М-5074 саркомы яичника инокулируют внутрибрюшинно, в то время как испытуемые соединения вводят орально.

В мышей штамма ВСF<sub>1</sub> внутрибрюшинно инокулируют клетки М-5074 саркомы яичника в количестве 1.10<sup>6</sup> клеток/мышь. Испытываемое соединение, приготовленное в соответствии с рецептурным примером 1, вводят орально три раза, т.е. через 1, 7 и 14 дней после инокулирования. Мышей наблюдают в течение 60 дн на предмет выживания или смерти и определяют отношение среднего времени выживания испытательных и контрольных животных для каждой обработанной группы (10 животных на группу), при этом число дней выживания мышей контрольной группы, которым вводят физиологический солевой раствор, оценивают как 100.

Действие испытуемых соединений на саркому яичника М-5074 при оральном введении представлено в табл. 8.

Данные по острой токсичности, дозировке и способам введения производных бензоилмочевины, полученных в условиях описываемого способа, следующие.

Острая токсичность. В мышей штамма ddy (10 животных) внутривенно ввели соединение 1 или 2, приготов-

ленное в соответствии с рецептурным примером 1, причем количество соединения составило 100 мг/кг, после чего ни одна из мышей не умерла. Таким образом, установлено, что величины острой токсичности (LD<sub>50</sub>) соединений 1 и 2 составляют не менее 100 мг/кг, т.е. их можно отнести к категории малотоксичных.

Дозировки. Указанные соединения вводят непрерывно или с перерывами в некотором диапазоне, в котором полная дозировка не превышает некоторого уровня с учетом результатов опытов на животных и различных условий. Однако дозировку можно изменять в зависимости от пути введения и от состояния больного или животного, которых нужно лечить (например, от возраста, веса тела, пола, чувствительности, пищи и т.п.), от интервалов в введении лекарства, от лекарств, используемых в сочетании с указанными соединениями, и от степени заболевания. Оптимальную дозировку и число введений в некоторых условиях могут определить специалисты.

Пути введения. Противоопухолевые вещества можно вводить оральным, внутривенным, ректальным, внутримышечным и подкожным путями, предпочтительно оральным, внутривенным или ректальным путями, наиболее предпочтительно оральным путем.

Предлагаемые соединения плохо растворимы как в воде, так и в органических растворителях, поэтому их предпочтительно включать в рецептуру в водные суспензии, которые дополнительно могут содержать фосфолипиды.

Кроме того, эти соединения можно включать в рецептуру в таблетки, капсулы, кишечные средства, гранулы, порошки, растворы для инъекции или в суппозитории с помощью известных способов приготовления препаратов.

**Пример 1 (рецептурный).** Соединение 1 предварительно измельчают с помощью центрифужного измельчения. Берут 5 мас.ч. отвержденного полиоксиполиэтиленом (60) касторового масла, 0,2 мас.ч. силикона и 0,3 мас.ч. полиоксиполиэтилен-полиоксипропиленового блок-полимера, добавляют к 79,5 мас.ч. физиологического солевого раствора, чтобы получить водный раствор, к которому добавляют 10 мас.ч. измельченного соединения 1. Смесь измель-

чают в мокрой системе с помощью песчаной мельницы, используя стеклянные шарики (80% частиц имеют размер частиц не более, чем 2 микрона). Затем 5 мас.ч. ксантановой смолы (2%-ный раствор) добавляют туда, чтобы получить водную суспензию.

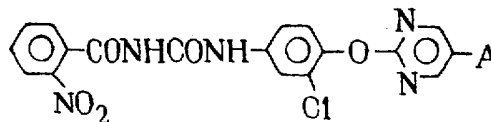
**Пример 2** (рецептурный). Берут 0,24 мас.ч. соединения 1, 2, 4 мас.ч. очищенного фосфолипида желтка и 0,0024 мас.ч.  $\alpha$ -токоферола растворяют в 48,7576 мас.ч. хлороформа, а затем хлороформ отгоняют путем нагревания под пониженным давлением с помощью роторного испарителя, получив тонкий слой фосфолипида, содержащего соединение 1. К этому тонкому слою добавляют 48,6 мас.ч. физиологического водного раствора хлористого натрия и сразу же интенсивно встряхивают при комнатной температуре, а затем проводят ультразвуковую обработку в течение 1 ч при ледяном охлаждении с помощью аппарата Зоникатор. Затем проводят центрифужное разделение при комнатной температуре, после чего собирают остаток самого нижнего слоя и промывают с помощью центрифуги несколько раз указанным физиологическим водным раствором хлористого натрия, а затем отфильтровывают, чтобы удалить бактерии, посредством чего получают водную суспензию, содержащую фосфолипид с размером частиц 0,2 - 2 микрона.

Проведенные испытания показывают, что производные бензоилмочевины, полученные предлагаемым способом, малотоксичны и проявляют более высокую противоопухолевую активность в отношении саркомы яичника M-5074, мелано-

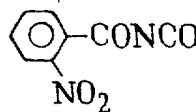
мы В-16, лейкемии L-1210 и лейкемии P-388 при оральном введении в сравнении с известным: N-(2-нитробензоил)-N-[3-хлор-4-(5-йод-2-пиримидинилокси)фенил]мочевиной.

**Формула изобретения**

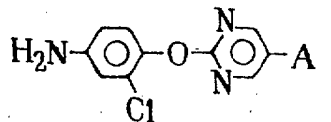
Способ получения производных бензоилмочевины общей формулы



где А - бром или хлор, отличающийся тем, что, нитробензолное соединение формулы



подвергают взаимодействию с производным пиримидина общей формулы



где А имеет указанные значения, в присутствии органического растворителя, такого как октан, ксилол, пиридин, диметилсульфоксид, этилацетат, диоксан, хлорбензол или 1,2-дихлорэтан, при 0-120°C.

**Приоритет по признакам:**

20.02.85 А - бром;  
08.03.85 А - бром, хлор.

Т а б л и ц а 1

Пример	Исходные материалы			Условия реакции				Выход продукта, г
	Количество (с)	А	Количество (d)	Растворитель (вид)	Количество, мл	Т.реакции, °С	Время	
1	5,76	Br	6,80	Диоксан	30+30	Комнатная температура	9 ч	9,42
2	1,50	Cl	1,00	Диоксан	6,5+6,5	То же	3 ч	1,05
3	5,76	Br	6,80	Хлорбензол	30+30	0	24 ч	7,05

Продолжение табл. 1

Пример	Исходные материалы			Условия реакции				Выход продукта, г
	Количество (с)	A	Количество (d)	Растворитель (вид)	Количество, мл	Т.реакции, °C	Время	
4	1,73	Br	2,47	1,2-дихлорэтан	3+4	Кипяч.с борат. холод. (83,5°C)	0,5 ч	3,7
5	1,73	Br	2,47	n-Октан	10	120	10 мин	3,5
6	1,73	Br	2,47	Ксилол	10	Комнатная температура	5 ч	3,6
7	1,73	Br	2,47	Пиридин	10	То же	5 ч	3,2
8	1,73	Br	2,47	DMCO	10	"-	5 ч	2,5
9	1,73	Br	2,47	Этилацетат	10	"-	5 ч	2,8

Т а б л и ц а 2

Соединение	Доза активного ингредиента, мг/кг/день	Отношение среднего времени выживания испытательных/контрольных, %
1	25	168
1	12,5	173
2	25	210
	12,5	150
Сравнительное	25	230
	12,5	171

Т а б л и ц а 3

Соединение	Доза активного ингредиента, мг/кг/день	Соотношение среднего времени и выживания испытательных/контрольных, %
1	100	173
	50	157
2	50	178
	25	139
Сравнительное	1600	186
	800	143
	400	116

Т а б л и ц а 4

Соединение	Доза активного ингредиента, мг/кг/день	Соотношение среднего времени выживания испытательных/контрольных, %
1	400	235
	300	180
	200	143
Сравнительный	3200	183
	1600	141

Т а б л и ц а 5

Соединение	Доза активного ингредиента, мг/кг/день	Соотношение среднего времени выживания испытательных/контрольных, %
1	12,5	195

Т а б л и ц а 6

Соединение	Доза активного ингредиента, мг/кг/день	Соотношение среднего времени выживания испытательных/контрольных, %
1	100	213
	50	165
2	100	212
Сравнительное	200	124

Т а б л и ц а 7

Соединение	Доза активного ингредиента, мг/кг/день	Соотношение среднего времени выживания испытательных/контрольных, %
1	50	165
	100	213
2	200	156
Сравнительное	200	124

Т а б л и ц а 8

Соединение	Доза активного ингредиента, мг/кг/день	Соотношение среднего времени выживания испытательных/контрольных, %
1	25	139
2	50	138
Сравнительное	400	98