



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 90109514.1

[51]Int.Cl⁵

C07H 15/244

[45]授权公告日 1995年6月21日

[24]颁证日 95.4.14

[21]申请号 90109514.1

[22]申请日 90.10.25

[30]优先权

[32]89.10.25[33]KR[31]89-15375

[32]90.10.13[33]KR[31]90-16213

[73]专利权人 东亚制药株式会社

地址 韩国汉城

共同专利权人 微生物化学研究会

[72]发明人 玉光大 朴正培 金文成

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商

标事务所

代理人 吴大建

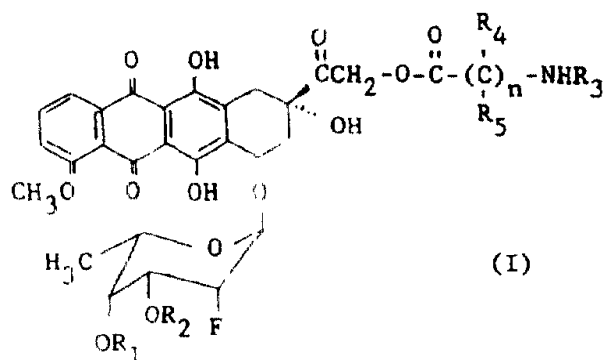
说明书页数:

附图页数:

[54]发明名称 新萜环型药物衍生物或其药学上允许的酸加成盐的制法

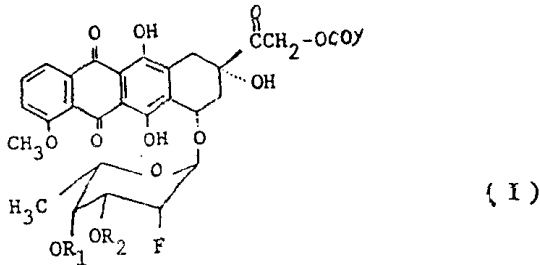
[57]摘要

本发明提出结构式(I)所示新的萜环类衍生物及其药用酸加成盐以及其制备方法,式(I)中R₁, R₂和Y的定义为:R₁和R₂分别为氢或一起成1-10碳直链或支链亚烷基;R₃为氢,1-10碳烷基或1-10碳烷氧羰基,R₄和R₅分别为氢或1-5碳烷基,n为0或1-10的整数,m为1-5的整数。

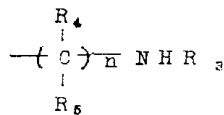


权利要求书

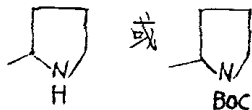
1. 制备下述结构式 (I) 的化合物或其药学上可以允许的酸加成盐的方法,



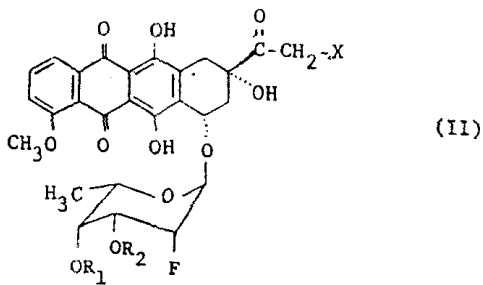
式中, R₁ 和 R₂ 分别为氢或一起形成 C₁-C₅ 的直链或支链亚烷基, Y 为



(式中, R₃ 为氢, 低级烷基或 C₁-C₅ 的烷氧基烷基, R₄ 和 R₅ 为氢, C₁-C₅ 的直链或支链烷基, n 为零或 1-6 的整数), 或者,



其特征在于, 使下述结构式 (II) 的化合物与下述结构式 (III) 的化合物进行反应,

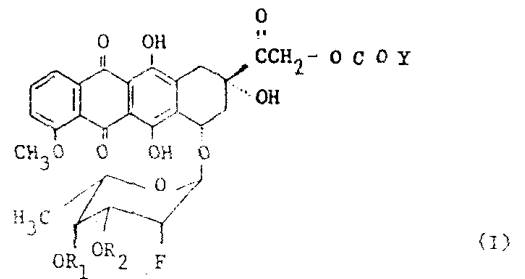


式中 R₁ 和 R₂ 的定义如式 (I) 中所定义, X 为溴、氯或碘原子,

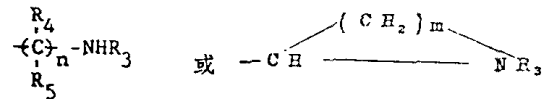
A-OCOY (III)

式中, Y 如式 (I) 中所定义的, A 为氢或碱金属, 然后, 使由上述得到的式 (I) 的化合物在乙醇、二氯甲烷、乙醚、氯仿、THF 或二氧六环等常规有机溶剂中转化为酸加成盐。

本发明是关于下列结构式 (I) 的新的萘环型药衍生物、其药学上可以允许的酸加成盐、以及它们的制备方法。

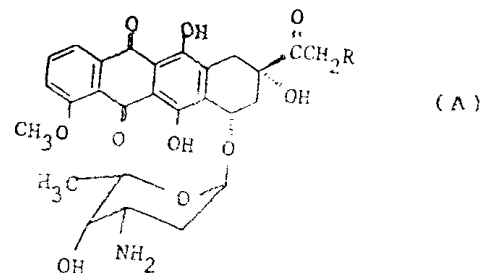


式中, R₁ 和 R₂ 分别表示氢或一起表示碳原子数为 1-10 的直链或支链的亚烷基, Y 表示



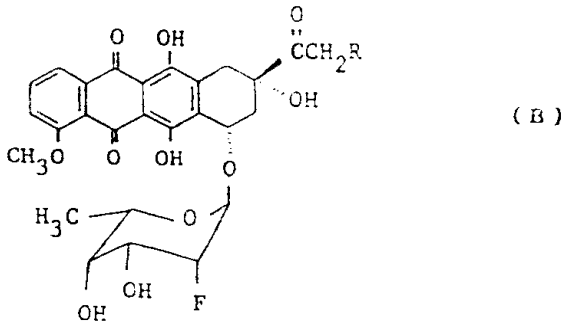
其中, R₃ 表示氢原子、1-10 个碳原子的烷基或 1-10 个碳原子的烷氧基烷基, R₄ 和 R₅ 分别表示氢原子或 1-5 个碳原子的烷基, n 表示 0 或 1-10 的一个整数, m 表示 1-5 的一个整数。

萘环型药系抗生素以往知道的有, 由放线菌的培养液得到的柔红霉素 (见 US3, 997, 662) 和阿霉素 (见 US3590028), 这些化合物具有广谱抗癌作用, 在临床上广泛地用作治疗恶性肿瘤的化疗药剂。它们的结构式 (A) 如下



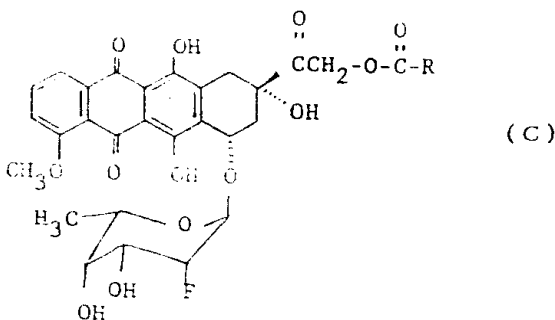
式中 R 是氢原子或羟基。

此外，在日本专利特开昭 62-145, 097 中报导了 2'-氟取代的蒽环型药系衍生物 (B)



式中 R 表示氢原子或羟基。

另外，作为上述结构式 (B) 化合物的可溶于水的衍生物，在日本专利特开昭 63-141992 中报导了下列结构式 (C) 的化合物



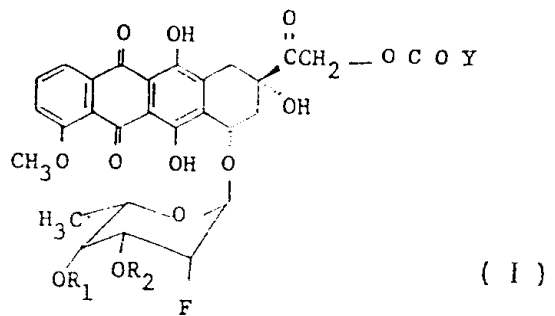
式中，R 是 $-(CH_2)_mH$ (m 是 0 或 1-6 的整数) 或 $-(CH_2)_nCOOH$ (n 为 0 或 1-10 的整数)。

但是，柔红霉素、阿霉素等以往的蒽环型药类具有人们所不希望的副作用，因而其使用受到限制。其副作用之一是对心脏的副作用，这一副作用大大地限制了给药量和给药次数，从而降低了对恶性肿瘤的化学疗法的有效性。

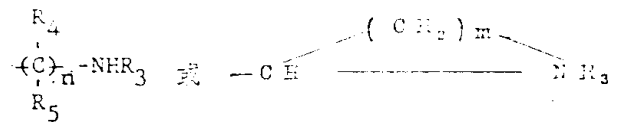
另外，结构式 (B)、(C) 的蒽环型药类还有一个缺点是对水的溶解度低。

溶解度的问题也成为治疗癌症的障碍。

本发明人为了解决上述问题进行了集中的研究，结果发现了出人意料的事实，即结构式 (I) 的化合物或其盐具有良好的抗癌效果和低毒性并且对于水具有高的溶解度，从而完成了本发明。



式中， R_1 和 R_2 分别表示氢或一起表示碳原子数 1-10 的支链或直链的亚烷基基团，Y 表示



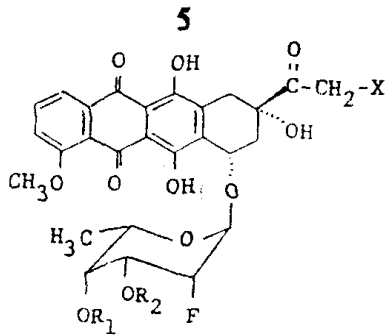
其中 R_3 表示氢原子、1-10 个碳原子的烷基或 1-10 个碳原子的烷氧基羰基， R_4 和 R_5 分别表示氢原子或 1-5 个碳原子的烷基，n 表示 0 或 1-10 的整数，m 表示 1-5 的整数。

本发明的目的是，提供由上述结构式 (I) 表示的新的蒽环型药衍生物、其药学上可以允许的酸加成盐、以及这些化合物的制备方法。

本发明中所谓药学上可以允许的酸加成盐，指的是与氢卤酸、磷酸、硝酸、硫酸、含氮酸等普通无机酸的酸加成盐以及与苯磺酸、对甲苯磺酸、乙酸、甲磺酸等有机酸的酸加成盐。

与上文中所述的衍生物相比，结构式 (I) 所表示的本发明的目的化合物具有低毒性和显著的抗癌效果。

结构式 (I) 的化合物是通过使下述结构式 (II) 的化合物与下述结构式 (III) 的化合物反应而制成：



(II)

式中, R_1 和 R_2 如前面所述, X 是溴、氯或碘原子。

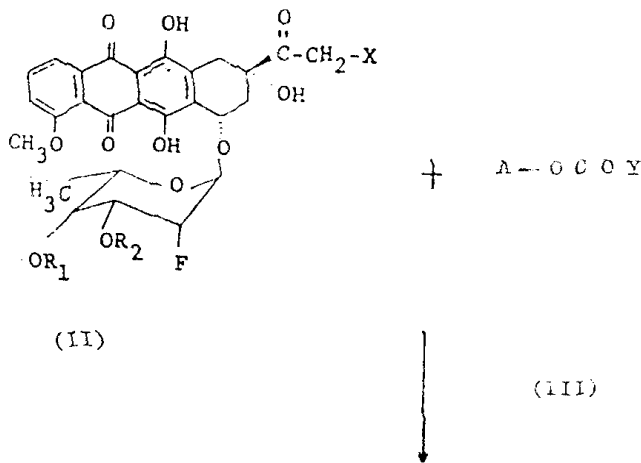
A-OCOY (III)

式中, Y 如前所述, A 是氢或碱金属。

或者, 制备 3', 4'-位置的羟基被保护的化合物之后, 如果必要, 除去氨基保护基 (R_3) 和 3', 4'-位置的羟基保护基, 制成结构式 (I) 的化合物, 必要时使其转变成药学上可以允许的酸加成盐。

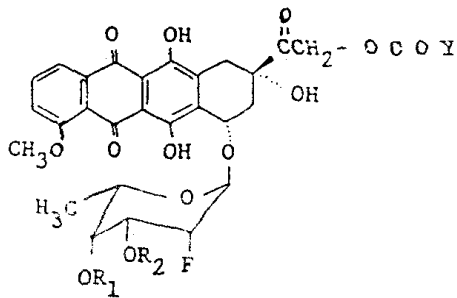
通常, 采用除去保护基的步骤可以容易地制备结构式 (I) 的化合物的盐。

本发明的制备方法的反应式表示如下:



(II)

(III)



(I)

6

式中, R_1 、 R_2 、Y 和 A 如前面所述。

结构式 (I) 的化合物及其酸加成盐可以通过在通常的溶剂中反应而得到, 所述溶剂例如是: 水、醇类如乙醇、腈类如乙腈、酮类如丙酮、甲基乙基酮等、芳香族胺类如吡啶、吡咯烷、吡咯啉等、芳烃类如苯、甲苯等、醚类如二噁烷、四氢呋喃、卤代烃类如氯仿、二氯甲烷等、酰胺类如甲酰胺、N, N-二甲基甲酰胺等、以及它们的混合溶剂。

本发明可以在 0℃ 至所用溶剂的沸点的温度下反应, 反应时间为 30 分钟至 48 小时。

制备本发明的结构式 (I) 的化合物, 也可以用通常的保护方法保护不参与反应的羟基, 然后进行反应, 再除去保护基, 可以使用直链或支链的亚烷基基团作为保护基。

作为本发明的起始物质的结构式 (II) 的化合物, 可以由日本专利特开昭 62-145097 的说明书中所述的化合物制备。

按本发明的方法得到的结构式 (I) 的化合物具有羟基保护基的场合, 需要进行该保护基的脱保护, 这样的羟基保护基的脱保护反应是由酸而产生的分解反应, 可以使用甲酸、乙酸、盐酸、硫酸、磷酸等, 此外, 氨基保护基也可以容易地被除去。

用于脱保护反应的溶剂采用水和乙醇, 或者采用非质子溶剂如 N, N-二甲基甲酰胺、二甲亚砜、二噁烷、氯仿、乙醚、四氢呋喃、二氯甲烷等与水或乙醇的混合溶剂, 反应在 0℃ 至所用溶剂的沸点温度进行, 为使上述反应所得到的化合物的氨基成为药学上可以允许的盐, 反应溶剂可采用乙醇、二氯甲烷、乙醚、二噁烷、四氢呋喃、氯仿等一般有机溶剂。

下面通过实施例来详细地说明本发明。

实施例 1

7-0-(2, 6-二脱氧-2-氟-3, 4-0-异亚丙基- α -L-塔罗吡喃糖基) 阿霉素酮-14-0-叔丁氧基羰基 (Boc) 甘氨酸酯的制备

将 14-溴-7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-3,4-0-异亚丙基- α -L-塔罗吡喃糖基) 柔红霉素酮(180mg) 溶解于丙酮(26ml)和水(7ml)的混合液中, 然后加入 N-(叔丁氧基羰基)甘氨酸钠(1.5g), 在室温下搅拌 20 小时, 减压蒸馏掉丙酮后, 用氯仿萃取残余物, 用

水和饱和食盐水洗涤,然后减压干燥.

用硅胶柱色谱法(氯仿:甲醇=20:1的混合溶剂)提纯残留物,得到121mg(59%)红色固体状标题化合物:

熔点:142—143.5℃

NMR (CDCl₃, ppm, 特征峰值)

13.7, 13.1 (OH × 2)

5.53(d,d,1H,H-1',J_{H-1',H-2'} = 5.6Hz)

3J_{H-1',2'}, F = 14Hz),

4.01(s,3H,OCH₃),

1.55(s,3H,CH₃),

1.32(s,3H,CH₃)

1.30(d,3H,CH₃,J_{CH₃-5'} = 6.4Hz)

1.44(s,9H,叔丁基).

实施例 2

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-α-L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮 14-0-甘氨酸酯及其盐酸化物的制备

将实施例 1 中得到的化合物(100mg)溶解于 80% 乙酸水溶液(10ml)中,在 80℃ 下搅拌 3 小时.

减压蒸馏溶剂后,用硅胶柱色谱法(溶剂:氯仿:甲醇=5:1)提纯残留物,得到 7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-α-L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮-14-0-甘氨酸酯,然后将该化合物少量溶解于二氯甲烷,接着一点一点地滴加饱和盐酸乙醚溶液,生成的固体经离心分离后再用乙醚洗涤该红色固体,然后离心分离、干燥,得到标题化合物的盐酸化物(48mg, 56%).

熔点:179—185℃

NMR (CDCl₃, ppm, 特征峰值)

14.0, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),

8.3(br.s3H,-NH₃Cl),

7.9(m,2H,芳环质子),

7.6(m,1H,芳环质子),

4.0(m,5H,OCH₃,CO-CH₂-N),

1.2(d,3H,CH₃,J_{CH₃-5'} = 6.4Hz).

实施例 3

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-α-L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮-0-甘氨酸盐酸化物的制备

在室温下将实施例 1 中得到的化合物(120mg)溶解于 1.5ml 氯仿中,然后加 15ml 甲醇,向该溶液中加入 12ml 饱和盐酸乙醚溶液,搅拌 4 小时.反应后将反应溶液浓缩,向所得残留物中加入乙醚,过滤

出所生成的固体并使其干燥,得到目的化合物(84mg,80%).

实施例 4

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-3,4-异亚丙基-α-L-塔罗吡喃糖基)-阿霉素酮 14-0-[N-叔丁氧基羰基(Boc)]-β-丙氨酸酯的制备

以实施例(1)中使用的化合物(200mg)和 N-(丁氧基羰基)-β-丙氨酸钠(634mg)作为起始物质,经过与实施例(1)相同的操作,得到红色固体状的化合物(144mg, 62%). 硅胶柱色谱法的展开溶液使用苯:丙酮=4:1的混合溶剂.

熔点:138—140.5℃

NMR (CDCl₃, ppm, 特征峰值)

13.8, 13.2 (2s,2H,OH × 2),

5.5(d,d,1H,H-1',J_{H-1',H-2'} = 5.6Hz,

J_{H-1',2'}, F = 13.8Hz),

4.1(s,3H,OCH₃),

1.5,1.4(s,各自 3H,CH₃ × 2),

1.3(d,3H,CH₃,J_{CH₃-5'} = 6.4Hz),

1.4(s,9H,叔丁基).

实施例 5

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-α-L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮 14-0-β-丙氨酸酯盐酸化物的制备

实施例(4)中得到的化合物(140mg)经过与实施例(3)相同的操作,得到红色固体化合物(92mg,76%).

熔点:195—200℃

NMR (DMSO-d₆, ppm, 特征峰值)

14.0, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),

7.9(m,5H,-NH₃Cl,2H(芳环质子))

7.6(m,1H,1H(芳环质子))

3.9(s,3H,OCH₃),

1.1(d,3H,CH₃,J_{CH₃-5'} = 6.5Hz).

实施例 6

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-3,4-0-异亚丙基-α-L-塔罗吡喃糖基)-阿霉素酮 14-0-[6-丁氧基羰基(Boc)氨基]己酸酯的制备

以实施例(1)中使用的化合物(200mg)和 N-6-(叔丁氧基羰基氨基)己酸钠(900mg)作为起始物质,经过与实施例(1)相同的操作得到红色固体状的化合物(158mg,64%). 硅胶柱色谱法的展开溶剂采用苯:丙酮=4:1的混合溶剂.

熔点:130—132℃

NMR (CDCl₃, ppm, 特征峰值)

13.8, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),
5.5(d, d,1H,H-1',J_{H-1',H-2'} = 5.6Hz,
J_{H-1',F} = 13.8Hz),
4.0(s,3H,OCH₃),
1.5(s,9H,叔丁基),
1.6,1.5(s,各自 3H,CH₃ × 2),
1.3(d,3H,CH₃,J_{CH₃-H-5'} = 6.4Hz),

实施例 7

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-α-L-塔罗吡喃糖基)

阿霉素酮 14-0-(6-氨基己酸酯)盐酸化物的制备

实施例 6 中得到的化合物(150mg)经过与实施例 3 相同的操作得到红色固体状化合物(95mg, 72%).

熔点:188—192℃

NMR (DMSO-d₆, ppm, 特征峰值)

14.0, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),
7.8(m,3H,芳环和氨基),
7.6(m,3H,芳环和氨基),
3.9(s,3H,OCH₃),
1.3(s,6H,-CH₂-CH₂-CH₂-),
1.2(d,3H,CH₃,J_{CH₃-H-5'} = 6.4Hz).

实施例 8

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-3,4-0-异亚丙基-α-L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮 14-0-[N-(叔丁氧基羰基(Boc)-L-丙氨酸酯)盐酸化物的制备

以实施例(1)中使用的化合物(200mg)和 N-(叔丁氧基羰基(Boc)-L-丙氨酸钠 (650mg)作为起始物质,经过与实施例(1)相同的操作,得到红色固体状目的化合物 (137mg,59%).

熔点:148.5—151.0℃

NMR (CDCl₃, ppm, 特征峰值)

13.8, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2)
5.5(d · d,1H,H-1',J_{H-1',H-2'} = 5.6Hz,
J_{H-1',F} = 13.8Hz)
4.1(s,3H,OCH₃),
1.5,1.4(s,各自 3H,CH₃ × 2),
1.3(d,3H,CH₃,J_{CH₃-H-5'} = 6.5Hz),
1.5(d,3H,CH₃,J_{CH₃-CH} = 7.1Hz),
1.4(s,9H,叔丁基).

实施例 9

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-α-L-塔罗吡喃糖基)

阿霉素酮 14-0-L-丙氨酸酯的制备

实施例 8 中得到的化合物(130mg)经过与实施例 3 相同的操作得到红色固体化合物 (90mg,80%).

熔点:177—184℃

NMR (DMSO-d₆, ppm, 特征峰值)

14.0, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),
8.5(br,s,3H,-NH₃Cl),
7.9(m,2H,芳环)7.6(m,1H,芳环),
3.9(s,3H,OCH₃),
1.5(d,3H,CH₃,J_{CH₃-CH} = 7.1Hz),
1.3(d,3H,CH₃,J_{CH-H-5'} = 6.5Hz).

实施例 10

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-3,4-0-异亚丙基-α-L-塔罗吡喃糖基)-阿霉素酮 14-0-[N-(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸酯]的制备

以实施例 1 中用的化合物(200mg)和 N-(叔丁氧基羰基)-L-缬氨酸钠(700mg)为起始物质,经过与实施例(1)相同的操作,得到红色固体状目的化合物(145mg,60%). 硅胶柱色谱法的展开溶剂采用苯:丙酮 = 4:1 的混合溶剂.

熔点:137--139℃

NMR (CDCl₃, ppm, 特征峰值)

13.9, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),
5.5(d · d,1H,H-1',J_{H-1',H-2'} = 5.5Hz,
J_{H-1',F} = 13.8Hz),
4.0(s,3H,OCH₃),1.4(s,9H,叔丁基),
1.3(d,3H,CH₃,J_{CH₃-H-5'} = 6.4Hz),
1.0(d · d,6H,-CH(CH₃)₂).

实施例 11

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-α-L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮 14-0-L-缬氨酸酯盐酸化物的制备

实施例 10 中得到的化合物(140mg)经过与实施例 3 相同的操作得到红色固体化合物 (90mg,74%).

熔点:164—168℃

NMR (DMSO-d₆, ppm, 特征峰值)

14.0, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),
8.4(br.s.,3H,NH₃Cl),
7.9(m,2H,芳环)7.6(m,1H,芳环),
4.0(s,3H,OCH₃),

1.2(d,3H,CH₃,J_{CH₃H-5} = 6.5Hz),

1.0(d · d,6H,-CH-(CH₃)₂).

实施例 12

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟-3,4-0-异亚丙基- α -L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮 14-0-[N-(叔丁氧基羰基(Boc)-L-脯氨酸酯)的制备

以实施例 1 中用的化合物(200mg)和 N-(叔丁氧基羰基)-L-脯氨酸钠(900mg)为起始物质,经过与实施例(1)相同的操作,得到红色固体状目的化合物(150mg,62%)。硅胶柱色谱法的展开溶剂采用苯:丙酮=4:1 的混合溶剂。

熔点:145.5—148.5℃

NMR (CDCl₃, ppm, 特征峰值)

13.8, 13.2 (s,各自 1H,OH × 2),

5.5(d · d,1H,H-1',J_{H-1',H-2'} = 5.5Hz.

J_{H-1',F} = 13.8Hz),4.0(s,3H,OCH₃),

1.4(s,9H,叔丁基)。

实施例 13

7-0-(2,6-二脱氧-2-氟- α -L-塔罗吡喃糖基)阿霉素酮 14-0-L-脯氨酸盐酸化物的制备

实施例 12 中得到的化合物 (140mg) 经过与实施例 3 相同的操作得到红色固体化合物 (94mg, 77%)。

熔点: 180—185℃

NMR (DMSO-d₆, ppm, 特征峰值)

14.0,13.1(S,各自 1H,OH × 2),

10.2,9.1(br.s.,各自 1H,-NH₂Cl)

7.9(m,2H,芳环),7.6(m,1H,芳环),

3.9(S,3H,OCH₃),

1.2(d,3H,CH₃,J_{CH₃H-5} = 6.3Hz)。

[试验 1]

对小鼠 L-1210 白血病施用本发明的化合物,检验其抗癌效果。

对健康的雌性 CDF1 小鼠,腹腔内注射 1×10^5 个 L-1210 白血病细胞。接种癌细胞,过 1 天后,在第 1、5 和 9 天分三次腹腔内注射多种用量的药物。使用阿霉素盐酸化物作为对照药物。所有试验药物和阿霉素盐酸化物都溶解于通过了 0.22 μ m 滤纸的经过灭菌的蒸馏水中使用。

对用于对照的动物,腹腔内注射的不是药物而是经过菌的生理盐水。观察各动物的存活天数直至 60 天,存活 60 天以上的动物其存活时间视为 60

天。用对照组动物的平均存活时间去掉各用药量的动物的平均存活时间、再乘以 100,所得结果以 T/C (%) (延命率) 表示并列于表 1 中。

若 T/C 增加,则意味着抗癌效果增加。本发明的化合物的毒性低于用作对照药物的阿霉素盐酸化物,例如,就阿霉素盐酸化物而言,与 8mg/kg 用药量的组相比,16mg/kg 用药量的组因毒性死亡而引起 T/C (%) 减低,而本发明的化合物则未显现出这样的毒性。由表 1 的结果可以看出,与用作对照药物的阿霉素盐酸化物相比,本发明的大部分化合物显示出极好的抗肿瘤活性。特别是实施例 3 的化合物,以 32mg/kg、16mg/kg、8mg/kg 的用药量,所有接种了癌细胞的动物的癌都完全治愈了。

<表 1>

化合物	剂量(mg/kg)	T/C(%)
阿霉素盐酸化物	16.000	109
	8.000	303
	4.000	469
	2.000	242
	1.000	242
	0.500	218
	0.250	170
实施例 3	0.125	141
	32.000	727
	16.000	727
	8.000	727
	4.000	279
	2.000	255
	1.000	230
实施例 5	0.500	328
	0.250	238
	0.125	186
	32.000	542
	16.000	636
	8.000	500
	4.000	333
2.000	361	
1.000	248	
0.500	189	
0.250	162	
0.125	140	

实施例 7	32.000	663
	16.000	441
	8.000	367
	4.000	348
	2.000	329
	1.000	242
	0.500	168
	0.250	122
	0.125	111
实施例 9	32.000	727
	16.000	660
	8.000	488
	4.000	468
	2.000	356
	1.000	287
	0.500	244
	0.250	190
	0.125	171
实施例 11	32.000	252
	16.000	727
	8.000	586
	4.000	559
	2.000	492
	1.000	298
	0.500	226
	0.250	168
	0.125	150
实施例 13	32.000	525
	16.000	635
	8.000	427
	4.000	283
	2.000	367
	1.000	313
	0.500	213
	0.250	159
	0.125	140
生理盐水	-	100

L-1210 小鼠白血病细胞的细胞毒性试验。将 1×10^5 个处在指数期内的小鼠白血病细胞接种到小井微量滴定板 (well microtiter plate) 上。该细胞培养所使用的培养基是添加了 10% 热活化的牛胎儿血清 (Fetal Bovine Serum) 和 2mM L-谷酰胺、苜星青霉素钠盐 (100 单位/毫升)、链霉素硫酸盐 (1mg/ml) 的 RPHI1640 培养基。按各小井 (well) 中最终浓度为 1ng/ml 至 300ng/ml, 将试验药物和作为对照药物的阿霉素盐酸化物添加到培养液中。

在对照小井 (well) 中添加的不是药物而是培养基。将经过药物处理的细胞在 10% 二氧化碳分压及 37°C 的条件下培养 72 小时。培养后, 将 50 μ l 的 MTT (3-(4, 5-二甲基噻唑-2-基)-2, 5-二苯基四唑鎓溴化合物) 溶液 (2mg/ml 磷酸缓冲生理盐水) 分别添加到小井中, 反应 4 小时。MTT 被存活的细胞的线粒体的琥珀酸脱氢酶还原成为 MTT 甲砒 (1-(4, 5-二甲基噻唑-2-基)-3, 5-二苯基-甲砒)。

反应 4 小时后, 小心地除去 200 μ l 上清液, 添加 200 μ l 的二甲亚砜 (DMSO), 混合、溶解 MTT 甲砒, 以 540nm 测定各小井的吸光度。通过扣除未装入细胞的空白小井 (Blankwell) 的吸光度对上述吸光度加以修正。

吸光度与存活的细胞数成正比。与未经药物处理的对照物相比使吸光度减少 50% 的深度定为 IC₅₀, 求得 IC₅₀ 并列于表 2 中。由表 2 可以看出, 除实施例 7 的化合物外, 本发明的所有化合物对于 L-1210 小鼠白血病细胞的细胞毒性均比阿霉素盐酸化物强。

表 2

化合物	IC ₅₀ (ng/ml)
阿霉素盐酸化物	37.3
实施例 3	13.4
实施例 5	10.1
实施例 7	74.5
实施例 9	14.3
实施例 11	15.5
实施例 13	16.3

[试验 2]

将发表于 Cancer Research Vol.47, pp.936-942, February, 1987 的论文中的 Tetrazolium based colorimetric assay (又名 MTT assay) 方法做少许修改, 用以进行本发明化合物对