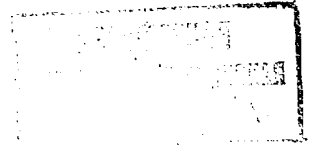




ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ  
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ  
ПРИ ГИИТ СССР

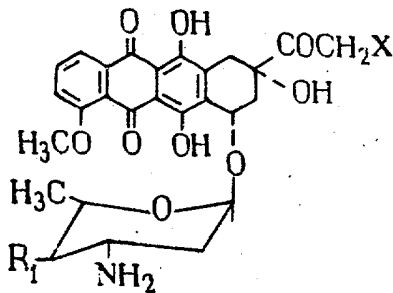
# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ



- (21) 3781800/23-04  
(22) 07.08.84  
(31) 8321676  
(32) 11.08.83  
(33) GB  
(46) 15.07.90. Бюл. № 26  
(71) Фармитаalia Карло Эрба С.Н.А.  
(ИТ)  
(72) Антонино Суарато, Серджио Пенко,  
Фернандо Джулиани и Федерико Арка-  
моне (ИТ)  
(53) 547.689.6.07(088.8)  
(56) Патент США № 3803124,  
кл. 260-210, 1974.  
Патент СССР № 1378784,  
кл. C 07 D 15/252, 1983.  
Патент СССР № 1181550,  
кл. C 07 D 15/24, 1982.  
(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ 4'-ГАЛОИД-АНТ-  
РАЦИКЛИНГЛИКОЗИДОВ  
(57) Изобретение касается гликозидов,  
в частности получения 4'-деокси-4'-

2  
-бромдаунорубицина или 4'-деокси-4'-  
-бромдоксорубицина, или 4'-деокси-4'-  
-хлордаунорубицина, или 4'-деокси-4'-  
-хлордоксорубицина, обладающих про-  
тивоопухолевой активностью, что может  
быть использовано в медицине. Цель -  
создание новых более активных веществ  
указанного класса. Синтез ведут реак-  
цией 4'-эпи-4'-O-трифторметансульфо-  
нил-N-трифторацетилзамещенного дауно-  
рубицина в водном  $CH_2Cl_2$  с тетра(n-бу-  
тил)аммоний бромидом (хлоридом) при  
комнатной температуре с последующим  
снятием защитных групп в полученном  
веществе с помощью мягкого щелочного  
гидролиза водным раствором 0,1N NaOH.  
Целевой продукт выделяют в виде хлор-  
гидрата или при необходимости его  
подвергают реакции с раствором брома  
в  $CHCl_3$ , с последующим гидролизом вод-  
ным раствором формиата натрия. Новые  
вещества эффективны против общей лей-  
коми. 4 табл.

Изобретение относится к способу  
получения новых производных 4'-гало-  
ид-антрациклингликозидов общей форму-  
лы



где X - водород или гидроксильная  
группа;

R<sub>1</sub> - бром или хлор,  
обладающих противоопухолевой актив-  
ностью.

Цель изобретения - получение новых  
4'-галоид-антрациклингликозидов, об-  
ладающих большей активностью по срав-  
нению с родоначальниками данного ря-  
да соединений - доксорубицином и да-  
унорубицином и ближайшим структурным  
аналогом-соответствующим 4'-йодпро-  
изводным.

Поставленная цель достигается путем взаимодействия 4'-эпи-4'-О-трифторметансульфонил-N-замещенного даунорубина в водном метиленхлориде с тетра (н-бутил)аммоний бромидом или тетра (н-бутил)аммоний хлоридом с получением соответствующих 4'-бром- или 4'-хлорпроизводных, которые подвергают мягкому щелочному гидролизу с целью снятия защитных групп, и полученный 4'-галоиддаунорубин в случае необходимости переводят в соответствующее 4'-галоидпроизводное доксорубина.

**Пример 1.** 4'-Деокси-4'-бромдаунорубин (X-H, R<sub>1</sub>-OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>-Br).

2 г бромида тетра (н-бутил)аммония вводят в раствор 4,0 г 4'-эпи-4'-О-трифторметансульфонил-N-трифторацетилдаунорубина (2:R<sub>1</sub>-OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>-COCF<sub>3</sub>) в 80 мл водного метиленхлорида. Через 1 ч при комнатной температуре реакционную смесь промывают водой и органическую фазу выпаривают в вакууме. Остаточный продукт выпаривания очищают на силикагеле, используя смесь метиленхлорид: ацетон в качестве элюента, в результате чего получают 3,5 г 4'-деокси-4'-бром-N-трифторацетилдаунорубина с т.пл. 130°C; FD, MS 685 (M<sup>+</sup>). Тонкослойная хроматография на пластинках Kieselgel (Merck F 254) с использованием системы растворителя метиленхлорид: ацетон (в объемном отношении 10:1), R<sub>f</sub> 0,5.

В раствор 3 г 4'-деокси-4'-бром-N-трифторацетилдаунорубина в 20 мл ацетона вводят 160 мл 0,1 N водного раствора гидрата окиси натрия. Через 4 ч при комнатной температуре величину pH раствора доводят до 8,6 посредством 0,1 N кислоты и экстрагируют раствор метиленхлоридом. Растворитель выпаривают и остаточный продукт выпаривания подвергают обработке метанольным раствором хлористого водорода, в результате чего получают хлоргидрат целевого продукта (2,2 г, т.пл. 180°C с одновременным разложением); тонкослойная хроматография на пластинках Kieselgel (Merck F 254) с использованием системы растворителей метиленхлорид: метанол: вода: уксусная кислота в объемном отношении 80:20:7:3, R<sub>f</sub> = 0,32.

**Пример 2.** 4'-Деокси-4'-бромдоксорубин (X-OH, R<sub>1</sub>-Br).

2 г 4'-деокси-4'-бромдаунорубина, полученного как описано в примере 1, растворяют в смеси метанола с диоксаном. Раствор подвергают обработке обычным образом сначала бромом, в результате чего получается 14-бромпроизводное, а затем - водным раствором формиата натрия, в результате чего получают 4'-деокси-4'-бромдоксорубин. Это соединение превращают в его хлоргидрат путем обработки метанольным раствором хлористого водорода. Т.пл. этого продукта составляет 170°C (с разложением), FD, MS 605 (M<sup>+</sup>), тонкослойная хроматография на пластинках Kieselgel (Merck F 254) с использованием системы растворителя метиленхлорид: метанол: вода: уксусная кислота в объемном отношении 80:20:7:3, R<sub>f</sub> = 0,20.

**Пример 3.** 4'-Деокси-4'-хлордаунорубин (X-H, R<sub>1</sub>-Cl).

В результате обработки 4'-эпи-4'-О-трифторметансульфонил-N-трифторацетилдаунорубина (2, R<sub>1</sub>-OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>-COCF<sub>3</sub>) хлоридом тетра (н-бутил)аммония, как описано в примере 1, получают 4'-деокси-4'-хлордаунорубин, т.пл. 175°C с разложением, FD, MS 545 (M<sup>+</sup>), тонкослойная хроматография на пластинках Kieselgel (Merck F 254) с использованием системы растворителя метиленхлорид: метанол: вода: уксусная кислота в объемном отношении 8:20:7:3, R<sub>f</sub> = 0,32.

**Пример 4.** 4'-Деокси-4'-хлордоксорубин (X-OH, R<sub>1</sub>-Cl).

По методике примера 2 4'-деокси-4'-хлордаунорубин превращают в 4'-деокси-4'-хлордоксорубин и выделяют его в виде хлоргидрата: т.пл. 180°C с разложением; FC масс-спектр 551 (M<sup>+</sup>). Тонкослойная хроматография на пластинках Kieselgel (Merck F 254) с использованием системы растворителя хлористый метилен: метанол: вода: уксусная кислота в объемном отношении 80:20:7:3 R<sub>f</sub> = 0,2.

Испытания на биологическую активность.

Соединения примеров 1,2 и 3 подвергались испытанию в условиях "in vitro" в сопоставлении с даунорубином (DNR) и доксорубином (DX) на действие против клеток HeLa, клеток P388 чувствительных и стойких и DX (P388(DX)).

Результаты цитотоксической активности соединений примеров 4, 3 и 2 представлены в табл. 1.

Все новые производные показали себя более цитотоксичными, чем их родоначальные соединения против клеток HeLa и P388, чувствительных к ДХ. Однако эта повышенная цитотоксичность является более явно выраженной, если рассматривать активность данных соединений против P 388  $10^4$ . В данном случае эти новые производные показывают 100-250-кратное увеличение цитотоксичности по сравнению с родоначальным препаратом. Данные соединения подвергались испытанию в условиях "in vivo" против трех различных видов экспериментальной лейкемии.

Противоопухолевое действие на асцитическую лейкемию P388 приведено в табл. 2.

Как видно из табл. 2, активность действия, проявленная соединениями примера 3 равна активности DNR, в то время как другое производное DNR (соединение примера 1) проявляет активность противоопухолевого действия явно более высокую, чем DNR.

Соединение примера 2 при максимально допустимой дозе (4,15 мг/кг) имеет примерно такую же активность действия, как и ДХ. Все эти новые соединения проявляют активность действия против лейкемии P388/ДХ (см. табл. 3), в то время как DNR и ДХ неэффективны.

Эти три новых соединения подвергались испытанию после их внутривенной инъекции на действие их против рассеянной общей лейкемии (Gross leukemia), результаты испытания приведены в табл. 4.

В данной системе соединение 3 является таким же активным, как и DNR, в то время как соединение примера 1 является более активным, чем родоначальное соединение. Соединение примера 2 показывает примерно такую же эффективность, как и соединение ДХ. Оба эти соединения подвергались испытанию после ввода в организм через рот и показали значительную активность действия, в то время как DNR и ДХ не были активны при вводе таким же образом.

Цитотоксическое действие на клетки HeLa сопоставимо (3 нг/мл) для 4-бромдоксорубицина и структурного ана-

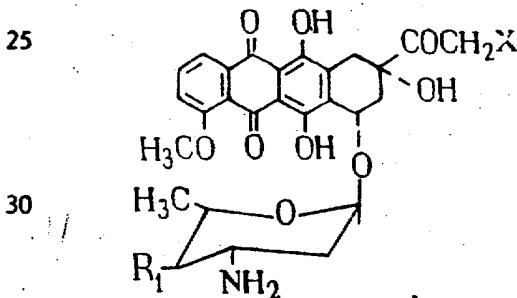
лога - 4'-иодоксорубицина, в то время как действие "in vitro" против P 388 опухолевых клеток, 4'-бромдоксорубицин намного более активно (0,2 нг/мл) по сравнению со структурным аналогом (5±2 нг/мл).

Аналогичным образом (по отношению к действию "in vivo" против Гросс-лейкемии) был найден показатель Т/С = 258% для 4'-бромдоксорубицина при дозе 5,27 мг/кг; 4'-иодоксорубицин имеет показатель Т/С = 150-183% при дозе 6,0 мг/кг.

Кроме того, смертельные случаи от отравления составляют 2/17 для 4'-иодоксорубицина и 0/20 для аналогичного бромпроизводного.

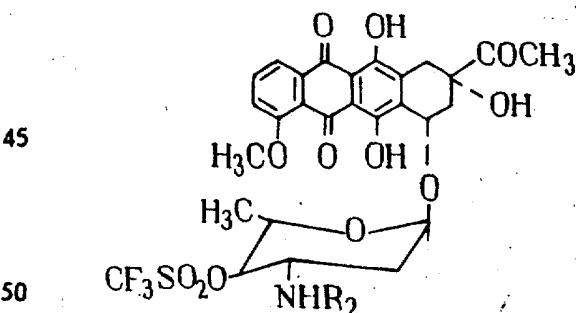
## 20 Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ получения 4'-галогид-антрациклингликозидов общей формулы

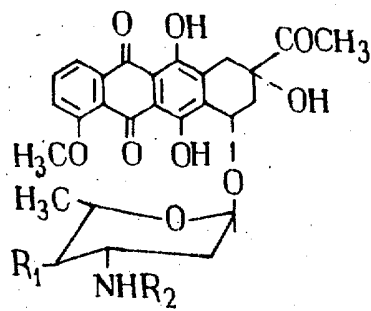


где X - водород NH<sub>2</sub> или гидроксильная группа;

35 R<sub>1</sub> - бром или хлор, отличающийся тем, что 4'-эпи-4'-O-трифторметансульфонил-N-замещенный даунорубицин общей формулы



55 где R<sub>2</sub> - трифторацетил, растворенный в водном метиленхлориде, при комнатной температуре подвергают взаимодействию с тетра (n-бутил)аммоний бромидом или тетра (n-бутил)аммоний хлоридом, получая N-защищенный гликозид общей формулы



где  $R_1$  и  $R_2$  имеют указанные значения, который подвергают снятию защитных групп путем мягкого щелочного гидролиза водным раствором 0,1N гидроксида натрия с последующим выделением целевого продукта, где X - водород, в виде хлоргидрата и в случае необходимости полученное соединение подвергают взаимодействию с раствором брома в хлороформе, полученное соответствующее

14-бромпроизводное гидролизуют водным раствором формиата натрия с последующим выделением целевого продукта, где X-OH, в виде хлоргидрата.

Т а б л и ц а 1

Соединение	LD <sub>50</sub> (нг/мл)		
	HeLa*	P388*	P388/X**
DNR	12,3	2,8	980
Пример 1	6,8	0,5	4
Пример 3	5,8	2,4	8,8
DX	12,5	4,25	1250
Пример 2	3	0,2	7

\* Испытание на ингибирование после действия лекарства в течение 24 ч.

\*\* Цитотоксичность, определяемая после действия лекарства в течение 48 ч. (данные нескольких экспериментов).

Т а б л и ц а 2

Активность действия против асцитической лейкемии P388\*

Соединение	Доза **, мг/г	T/C ***, %	LTS ****	Токсичный смертельный *****
DNR	2,9	165,155	0/20	0/20
	4,4	170,135	0/18	0/18
	6,6	130,115	0/20	12/20
Пример 1	2,9	145	0/10	0/10
	4,4	160	0/10	0/10
	6,6	195	0/10	0/10
	10	280	3/10	0/10
Пример 3	2,9	130	0/10	0/10
	4,4	155	0/10	0/10
	6,6	145	0/10	0/10
	10	85	0/8	6/8
DX	4,4	215	0/10	0/10
	6,6	235	0/10	0/10
	10	335	4/10	0/10
Пример 2	2,4	200	0/10	0/10
	2,88	230	0/10	0/10
	3,46	210	0/10	0/10
	4,15	325	4/10	1/10

\* Эксперименты осуществлялись на мышах CDF<sub>1</sub>, инокулированных клетками (10<sup>6</sup>) лейкемии, путем внутрибрюшинной инъекции.

\*\* Лечение путем внутрибрюшинной инъекции через день после ввода опухолевого инокула.

\*\*\* Среднее время выживания подвергнутых лечению мышей (среднее время выживания контрольных мышей x 100).

\*\*\*\* Выжившие в течение длительного времени организмы (> 60 дн)

\*\*\*\*\* Определено по аутоптическим измерениям.

Т а б л и ц а 3

Активность действия против асцитической лейкемии P388/X\*

Соединение	Доза **, мг/кг	T/C ***, %	Токсичный смертельный ****
DNR	4,4	91	0/10
	6,6	87	0/10
Пример 1	4,4	143	0/10
	10	143	0/10
Пример 3	6,6	148	0/10
	10	122	3/10
DX	6,6	108	1/20
	10	117	1/20
Пример 2	2,88	122	0/20
	3,46	125	0/20
	4,15	137	1/20

\* Эксперименты проводились на мышах BDF<sub>1</sub>, инокулированных клетками (10<sup>6</sup>), введенными путем внутрибрюшинной инъекции.

\*\* Лечение путем внутрибрюшинной инъекции через один день после ввода опухолевого инокулума.

\*\*\* Среднее время выживания подвергнутых лечению мышей (среднее время выживания контрольных мышей x 100).

\*\*\*\* Определено по оптоическим измерениям.

Т а б л и ц а 4

Эффективность действия против общей лейкемии\*

Соединение	Способ ввода	Доза **, мг/кг	T/C ***, %	Токсичный смертельный ****
1	2	3	4	5
DNR	Внутривенно	10	142,138	2/18
		15	183,185	1/18
		22,5	217,92	9/18
Пример 1	Так же	10	217	0/10
		15	150	6/9
		22,5	100	9/9
Пример 3	" "	6,6	185	0/10
		10	115	7/10
		15	77	10/10
	Через рот	6,6	154	0/10
		10	169	0/10
		15	92	7/8
DX	Внутривенно	10	183	0/10
		13	225	0/10
		16,9	242	0/10
Пример 2	Так же	4,05	233	0/10
		5,27	258	0/10

Продолжение табл.4

1	2	3	4	5
		6,85	242	3/10
	Через рот	4,05	114	0/10
		5,27	157	0/10

\* Эксперименты осуществляли на мышах  $C_3H$ , инокулированных клетками лейкемии ( $2 \times 10^6$ ), путем внутривенной инъекции.

\*\* Лечение путем ввода препарата путем внутривенной инъекции или через рот через день после ввода опухолевого инокулула.

\*\*\* Среднее время выживания подвергнутых лечению мышей (среднее время выживания контрольных мышей  $\times 100$ ).

\*\*\*\* Определено по аутоптическим измерениям.

Составитель Г. Коннова

Редактор М. Келемеш

Техред Л. Олейник

Корректор В. Гирняк

Заказ 1925

Тираж 302

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР  
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101