



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 49005

(13) C2

(51) 6

C07D491/22,A61K31/33//C07D491/22,311:  
00,221:00,209:00)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД(54) ПОХІДНІ КАМПТОТЕЦИНУ (ВАРІАНТИ), СПОСІБ ЇХ ОДЕРЖАННЯ (ВАРІАНТИ) ТА ФАРМАЦЕВТИЧ-  
НА КОМПОЗИЦІЯ НА ЇХ ОСНОВІ

1

2

(21) 98084449

(22) 19 02 1997

(24) 16 09 2002

(86) PCT/EP97/00786, 19 02 1997

(31) MI96A000338

(32) 23 02 1996

(33) IT

(46) 16 09 2002, Бюл. № 9, 2002 р

(72) Мерліні Лучо, IT, Пенко Серджо, IT, Цуніно  
Франко, IT(73) ІСТИТУТО НАЦІОНАЛЕ ПЕРЛО СТУДІО ЕЛА  
КУРА ДЕЙ ТУМОРИ, IT

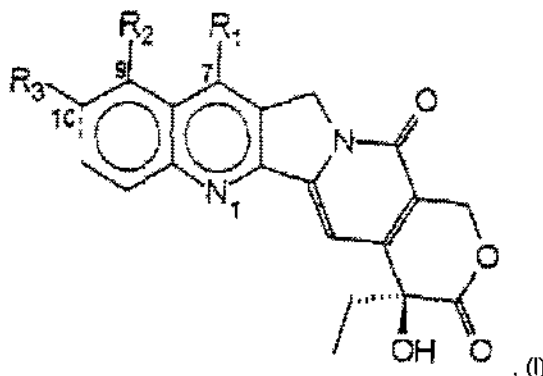
(56) US 4 399 282, 1983

US 5 859 023, 1999

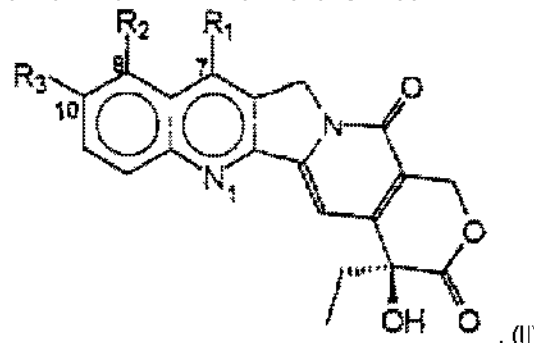
US 5 910 491, 1999

EP 0 088 642, 1983

(57) I Похідні камптотецину формули (I)

або їх фармацевтично сприйнятливі солі, в яких  
R<sub>1</sub> - -CN, -CH(CN)-R<sub>4</sub>, -CH=C(CN)-R<sub>4</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH(CN)-  
R<sub>4</sub>, -C(=NOH)-NH<sub>2</sub>, -C(=NH)-NH<sub>2</sub>, -CH=C(NO<sub>2</sub>)-R<sub>4</sub>, -  
CH(CN)-R<sub>5</sub>, -CH(CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>)-R<sub>5</sub>, 5-тетразоліл, 2-(4,5-  
дигідроксазоліл), 1,2,4-оксадіазолін-3-іл-5-он,  
R<sub>2</sub> - гідроген,  
R<sub>3</sub> - гідроген, OR<sub>6</sub>,R<sub>4</sub> - гідроген, лінійний чи розгалужений C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкіл,  
-CN, COOR<sub>7</sub>,R<sub>5</sub> - гідроген, OR<sub>8</sub>,R<sub>6</sub> - гідроген, лінійний чи розгалужений C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкіл,  
C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>арилC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкоксилC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл,  
C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкілC<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>арил, C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>арилC<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>ацил, C<sub>2</sub>-  
C<sub>4</sub>ацил, аміноC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, аміноC<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>ацил, глікозил,  
R<sub>7</sub> - гідроген, лінійний чи розгалужений C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкіл,  
C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>арилC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкоксилC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл,C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкілC<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>арил,R<sub>8</sub> - те ж саме, що R<sub>6</sub>, незалежно від нього,  
їх N<sub>1</sub>-оксиди, ізомери, діастереоізомери, енантіо-  
мери та їх суміші, а також їх активні метаболіти2 N<sub>1</sub>-оксид похідних камптотецину формули (I)3 Похідні камптотецину за будь-яким з пп 1-2, які  
відрізняються тим, що R<sub>3</sub> - гідроген4 Похідні камптотецину за будь-яким з пп 1-2, які  
відрізняються тим, що R<sub>3</sub> - OR<sub>6</sub>, а R<sub>6</sub> визначено  
вище5 Похідні камптотецину за будь-яким з пп 1-2, які  
відрізняються тим, що R<sub>1</sub> - CN, а R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> - гідро-  
ген6 Похідні камптотецину за будь-яким з пп 1-2, які  
відрізняються тим, що R<sub>1</sub> - -CH=C(CN)-R<sub>4</sub>, R<sub>4</sub> -  
CN, а R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> - гідроген7 Похідні камптотецину за будь-яким з пп 1-6, які  
відрізняються тим, що їх використовують як ак-  
тивний інгредієнт при виготовленні лікувального  
засобу8 Похідні камптотецину за будь-яким з пп 1-6, які  
відрізняються тим, що їх використовують як ак-  
тивний інгредієнт при виготовленні лікувального  
засобу, корисного при лікуванні пухлин9 Спосіб одержання похідних камптотецину за  
будь-яким з пп 1-6, який відрізняється тим, що  
включає

а) перетворення сполуки формули (II)

в який R<sub>1</sub> - CHO, R<sub>2</sub> - гідроген, а R<sub>3</sub> - те ж саме, що у  
формулі (I), у відповідний оксим з наступною об-  
робкою мурашиною кислотою та форміатом на-  
трію для отримання відповідних сполук формули  
(I), в яких R<sub>1</sub> - CN, а, за бажанням,

б) обробку сполуки формули (I), отриманої в опе-

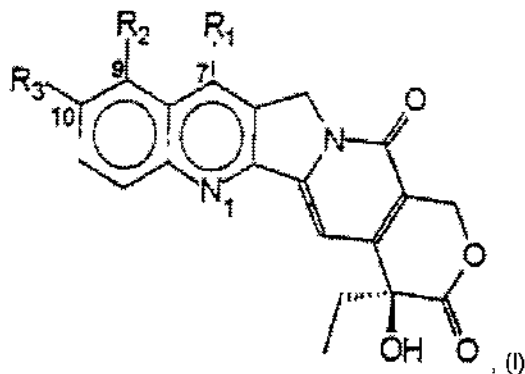
(13) C2

(11) 49005

(19) UA

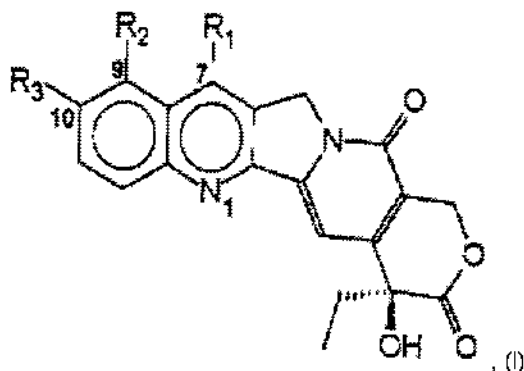
рації а), гідроксиламіном для одержання відповідних сполук формули (I), в яких  $R_1$  -  $-C(=NOH)-NH_2$ , а, за бажанням, в) каталітичне підривання сполуки формули (I), отриманої в операції б), для одержання відповідної сполуки формули (I), в якій  $R_1$  -  $-C(=NH)-NH_2$ , або, за бажанням, перетворення сполуки, отриманої у будь-якій з операцій а), б) чи в) у відповідний  $N_1$ -оксид, або фармацевтично прийнятну сіль

10 Похідні камптотецину формули (I)



в якій  $R_1$  -  $-CN$ , а  $R_2$  та  $R_3$  визначено вище, як інтермедіат в операції б) способу одержання сполуки формули (I) за п 9

11 Похідні камптотецину формули (I)

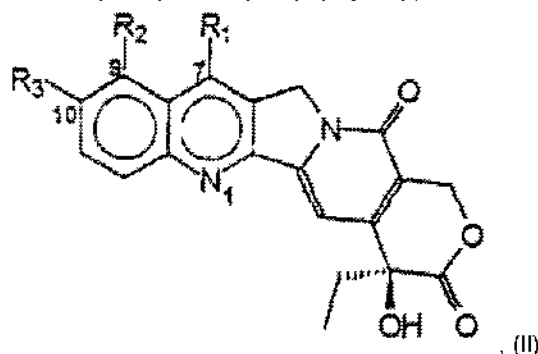


в якій  $R_1$  -  $-CN$ , а  $R_2$  та  $R_3$  визначено вище, як інтермедіат у способі одержання сполук формули (I) за п 9, в яких  $R_1$  вибрано з групи, що включає  $-C(=NOH)-NH_2$ ,  $-C(=NH)-NH_2$ , 5-тетразоліл, 2-(4,5-дигідроксазоліл)

12 Спосіб одержання сполук за будь-яким з пп 1-6, який відрізняється тим, що  $R_1$  вибрано з  $-CN$  або  $-CH(CN)-R_4$ , де  $R_4$  визначено вище, що включає реакцію  $N$ -оксиду камптотецину, відповідно, з ціанідом калію чи триметилсилілу, або сполукою  $R_4-CH_2-CN$ , де  $R_4$  визначено вище, та як варіант -

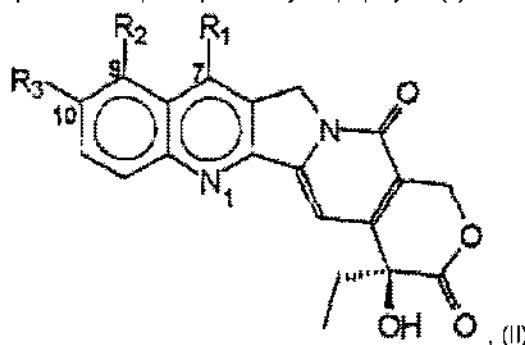
перетворення у фармацевтично прийнятну сіль

13 Спосіб одержання сполуки за будь-яким з п 1-6, який відрізняється тим, що  $R_1$  -  $-CH=C(CN)-R_4$  або  $-CH_2-CH(CN)-R_4$ , де  $R_4$  визначено вище, що включає реакцію сполуки формули (II)



в якій  $R_1$  -  $CHO$ ,  $R_2$  - гідроген, а  $R_3$  - те ж саме, що у формулі (I), зі сполукою  $R_4-CH_2-CN$ , де  $R_4$  визначено вище, для одержання відповідних сполуки формули (I), в якій  $R_1$  -  $-CH=C(CN)-R_4$ , а, за бажанням, підривання до сполуки формули (I), в якій  $R_1$  -  $-CH_2-CH(CN)-R_4$ , або як варіант - перетворення у фармацевтично прийнятну сіль

14 Спосіб одержання сполуки за будь-яким з п 1-6, який відрізняється тим, що  $R_1$  -  $-CH(CN)-R_4$  або  $-CH(CH_2NO_2)-R_5$ , де  $R_4$  визначено вище, а  $R_5$  -  $OH$ , що включає реакцію сполуки формули (II)



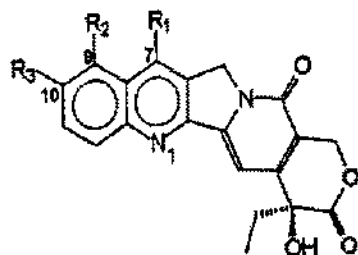
в якій  $R_1$  -  $CHO$ ,  $R_2$  - гідроген, а  $R_3$  - те ж саме, що у формулі (I), відповідно, з ціанідом калію чи триметилсилілу, або нпрометаном у присутності неорганічної чи органічної основи та, як варіант - перетворення у фармацевтично прийнятну сіль

15 Фармацевтична композиція, що містить суміш активного інгредієнту, фармацевтично сприйнятливий середовища та допоміжних речовин, яка відрізняється тим, що містить як активний інгредієнт похідні камптотецину за будь-яким з п 1-6

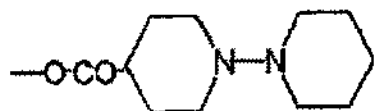
Згідно з винаходом запропоновано похідні камптотецину, способам їх виготовлення, їх використанню як активних інгредієнтів для виготовлення лікувальних засобів, корисних при лікуванні пух-

лин, а також фармацевтичним композиціям, що їх містять

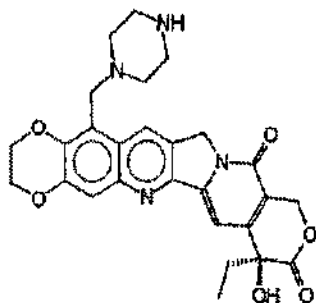
Антипухлинний засіб 20S-камптотецин формули



де  $R^1$ ,  $R^2$  та  $R^3$  - гідроген, розкритий у 1966 р. у M E Wall et al (J Amer Chem Soc 88, 3888-90 (1966)), після попередніх клінічних випробувань вилучили з терапевтичних засобів внаслідок його токсичної дії на людей та низької розчинності, що заважає його застосуванню у придатних фармацевтичних препаратах. Увага академічних та прикладних дослідників тому була звернута на синтези аналогів камптотецину з кращими терапевтичними властивостями. Два з ряду аналогів, що описано вищевказаною формулою, під назвами топотекан, в якому  $R^1$  - гідроген,  $R^2$  - група  $\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_3)_2$ , а  $R^3$  - OH, та CPT-11, в якому  $R^1$  - етил,  $R^2$  - гідроген, а  $R^3$  -



нещодавно почали використовувати у онкології для лікування деяких пухлин (J of Clinical Oncology, 10, 1775-80, (1992), J of the National Cancer Inst 85, 271 (1993) іншими похідними, що представлені у клінічних випробуваннях, є 9-амінокамптотекін та аналоги формули



(Cancer Treatment Reviews 20, 73 - 96 (1994))

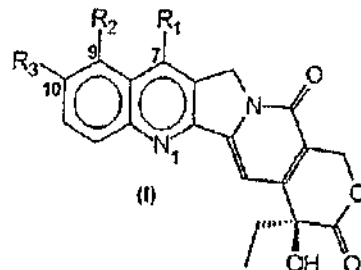
Найбільше спроби синтетиків були спрямовані на введення придатних замісників, щоб зняти проблеми недостатньої розчинності у воді, що характерно для даного класу сполук і може призводити до труднощів при створенні їх рецептур, а також непередбачуваному рівні вмісту ліків у плазмі. Крім того, присутність лактонного кільця у замкненій формі є важливим фактором для антипухлинної ефективності.

Доречність цього класу сполук обумовлена також їх специфічним механізмом дії: вони проявляють антипухлинну дію інгибуванням топоізомерази 1, ферменту, що регулює топологію ДНК і тому грає критичну роль у таких важливих клітинних процесах, як реплікація, транскрипція, рекомбінація та відновлення ДНК (S Carpinico and F Zunino, Current Pharm Design, 1, 1 - 14 (1995)). Необхідність у нових лікарняних засобах, ефективних проти колоректальної недрібноклітинної карциноми, пух-

лин яєчника та карциноми простати, які поки що малочутливі до хіміотерапії, робить необхідним пошук нових похідних камптотецину з поліпшеними фармакологічними властивостями.

Було виявлено, що похідні камптотецину та 10-гідроксикамптотецину, що мають замісники на атомі карбону C-7, виявляють антипухлинну активність та значно сприятливіші фізико-хімічні властивості, що дозволяє їх введення у фармацевтичні композиції.

Згідно з винаходом запропоновано сполуки формули (I)



в яких

$R_1$  -  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CH}(\text{CN})-\text{R}_4$ ,  $-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})-\text{R}_4$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CN})-\text{R}_4$ ,  $-\text{C}(=\text{NOH})-\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}=\text{C}(\text{NO}_2)-\text{R}_4$ ,  $-\text{CH}(\text{CN})-\text{R}_5$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NO}_2)-\text{R}_5$ , 5-тетразоліл, 2-(4,5-дигідроксазоліл), 1,2,4-оксадіазолін-3-іл-5-он,

$R_2$  - гідроген,

$R_3$  - гідроген,  $\text{OR}_6$ ,

$R_4$  - гідроген, лінійний чи розгалужений  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  алкіл,  $-\text{CN}$ ,  $\text{COOR}_7$ ,

$R_5$  - гідроген,  $\text{OR}_8$ ,

$R_6$  - гідроген, лінійний чи розгалужений  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  алкіл,  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{12}$  арил  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіл,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкоксил  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіл,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіл  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{12}$  арил,  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{12}$  арил  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$  ацил,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$  ацил, аміно  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіл, аміно  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$  ацил, глікозил,

$R_7$  - гідроген, лінійний чи розгалужений  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  алкіл,  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{12}$  арил  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіл,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкоксил  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіл,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіл  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{12}$  арил,

$R_8$  - те ж саме, що  $R_6$ , незалежно від нього, їх  $\text{N}_1$ -оксиди, ізомери, діастереоізомери, енантіомери та їх суміші, а також їх метаболіти, зокрема, активні метаболіти.

В рамки винаходу включено також фармацевтичне прийнятні солі.

Сполуки формули (I) включено до винаходу як активні інгредієнти для виготовлення лікувальних засобів, зокрема, придатних для лікування пухлин.

До винаходу включено фармацевтичні композиції, що містять як активні інгредієнти сполуки формули (I).

До винаходу включено спосіб виготовлення сполук формули (I).

Винахід включає використання сполук формули (I), в яких  $R_1$  -  $-\text{CN}$ , як інтер-медіати для виготовлення інших сполук формули (I), в яких  $R_1$  -  $-\text{C}(=\text{NOH})-\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ , 5-тетразоліл, 2-(4,5-дигідроксазоліл).

Прикладами  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  алкіла є метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, 2-метилбутил, ізопентил, гексил, 3-метилпентил, 2-етилбутил.

Прикладами  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{12}$  арил  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкіла є бен-

зил, моно- чи полізаміщений  $C_1$ - $C_6$  алкілбензил,  $\alpha$ - чи  $\beta$ -фенілетил, моно- чи полізаміщений  $C_1$ - $C_4$  алкілом  $\alpha$ - чи  $\beta$ -фенілетил), моно- чи полізаміщений  $C_1$ - $C_4$  алкілом  $\alpha$ -,  $\beta$ - чи  $\gamma$ -фенілпропіл),  $\alpha$ - чи  $\beta$ -нафтілетил, моно- чи полізаміщений  $C_1$ - $C_2$  алкілом  $\alpha$ - чи  $\beta$ -нафтілетил)

Прикладами  $C_1$ - $C_2$  алкокси  $C_1$ - $C_4$  алкіла є метоксиметил, етоксіетил, етоксиметил, пропоксіетил, бутоксіетил

Прикладами  $C_1$ - $C_4$  алкіл  $C_6$ - $C_{12}$  арила є топіл, ксиліл, етилфеніл, ізопропілфеніл, трет-бутилфеніл, метилнафтил

Прикладами  $C_6$ - $C_{12}$  арил  $C_2$ - $C_4$  ацила є фенілацетил, нафтілацетил, 2-фенілпропіоніл, 3-фенілпропіоніл, 2-, 3- чи 4-фенілбутирил, моно-, ди- чи тризаміщений  $C_1$ - $C_4$  алкілом фенілацетил

Прикладами  $C_2$ - $C_4$  ацила є ацетил, пропіоніл, бутирил, або їх ізомери

Прикладами аміно  $C_1$ - $C_4$  алкіла та аміно  $C_2$ - $C_4$  ацила є  $C_1$ - $C_4$  алкіл та  $C_2$ - $C_4$  ацил, в яких аміногрупа приєднана до будь-якого з атомів карбону ланцюга

Прикладами фармацевтичне прийнятних солей є

у випадку основного атома нітрогену солі з такими фармацевтичне прийнятними кислотами, неорганічними та органічними, як гідрогенхлоридна, сульфатна, оцтова, у випадку таких кислотних груп, як  $-COOH$ , солі з такими фармацевтичне прийнятними основами, неорганічними та органічними, як гідроксиди лужних та лужно-земельних металів, амонію та аміни. Сполуки формули (I) можуть бути у формі фармацевтичне прийнятних солей та/або  $N_1$ -оксидів

Перша група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_3$  - гідроген

Друга група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_3$  -  $OR_6$ , а  $R_6$  визначено вище

Третя група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CN$ ,  $R_3$  - гідроген чи  $OR_6$ , а  $R_6$  визначено вище

Четверта група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CH(CN)-R_4$ ,  $R_4$  переважно -  $-CN$  чи  $COOR_7$ , а  $R_7$  визначено вище

П'ята група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-C(=NOH)-NH_2$ , а  $R_3$  -  $OR_6$ , як визначено вище

Шоста група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-C(=NH)-NH_2$ , а  $R_3$  -  $OR_6$ , як визначено вище

Сьома група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CH=C(CN)-R_4$ ,  $R_4$  переважно -  $-CN$  чи  $COOR_7$ , а  $R_7$  визначено вище, зокрема,  $R_4$  -  $-CN$ , а  $R_2$  та  $R_3$  - гідроген

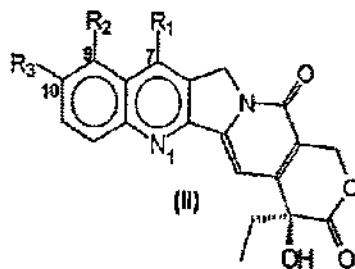
Восьма група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CH(CH_2NO_2)-R_5$ , а  $R_5$  -  $OR_8$ , що визначено вище

Дев'ята група кращих сполук включає сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CH=C(NO_2)-R_4$ ,  $R_4$  -  $H$ ,  $R_3$  -  $OR_6$ , що визначено вище

Особливо бажаними є сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CN$ ,  $-CH=C(CN)_2$ , або  $-CH_2CH(CN)-R_4$ , а  $R_2$  та  $R_3$  - гідроген

Сполуки формули (I) можна виготовити з камптотецин-7-метанолу (II,  $R_1$  -  $CH_2OH$ ,  $R_2$  та  $R_3$  -  $H$ ) або з 10-гідроксикамптотецин-7-метанолу (II,  $R_1$  -

$CH_2OH$ ,  $R_2$  -  $H$ , а  $R_3$  -  $OH$ ), або камптотецин-7-альдегду (II,  $R_1$  -  $CHO$ ,  $R_2$  та  $R_3$  -  $H$ ), або камптотецин-N-оксиду, придатність усіх сполук описано Sawada et al Chem Pharm Bull 39, 2572(1991)



Сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CN$ , виготовляють способом, що включає окиснення сполуки формули (II), в якій  $R_1$  -  $CH_2OH$ , до сполуки формули (II), в якій  $R_1$  -  $CHO$ , таким відомим способом окиснення спирту до альдегду, як окиснення за Моффетом чи Свернем, або іодозобензойною кислототою у диметилсульфоксиді (Frigeiro et al J Org Chem 60, 2572-6 (1995), або обробкою кислототою як описано Sawada et al) (Chem Pharm Bull 39, 2572 (1991)), потім обробку цих альдегідів гідроксиламіном з утворенням відповідних оксимів, далі нагріванням оксиму з мурашиною кислототою та форміатом натрію, або іншим відомим способом перетворення альдегідів у нітрили

Сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CN$ ,  $R_1$  -  $-CH(CN)-R_4$ , можна також отримати реакцією N-оксидів камптотецину, описаною, наприклад, Sawada et al Chem Pharm Bull 39, 2572 (1991), з ціанідом калію або триметилсипіціанідом, або з малоннітрилом чи естерами ціанооцтової кислоти (як описано A Albini and Pietra, Heterocyclic N-oxides CRC, 1991, 165), або перетворення сполуки формули (II), в якій  $R_1$  -  $CONH_2$ , відомими способами дегідратації амідів до нітрилів, або іншими способами, придатними для виготовлення хінолін-4-карбонітрилів

Аміногідроксими отримують реакцією відповідних нітрилів формули (I), в якій  $R_1$  -  $-CN$  з гідроксиламіном (F Eloy and R Lenaers, Chem Rev 61, 157 (1961)) Аміногідроксими можна відновити до відповідних амідів формули (I), в якій  $R_1$  -  $-C(=NH)-NH_2$ , каталітичним підруванням, краще з нікелем Ренея як каталізатором (F Eloy and R Lenaers, Chem Rev 61, 157 (1961)) Такі амідини можна також одержати з нітрилів формули (I), в якій  $R_1$  -  $-CN$ , такими відомими способами перетворення нітрилів у амідини, як реакція з  $HCl$  та спиртом з наступною обробкою аміаком чи сіллю амонію, або з амідів формули (II), в якій  $R_1$  -  $CONH_2$ , з третилоксоніфлюорборатом (A I Meyer et al Tetrahedron 39, 1991 (1983))

Сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-CH=C(CN)-R_4$ , виготовляють, наприклад, реакцією альдегідів формули (II), в якій  $R_1$  -  $-CHO$ , з малоннітрилом або естерами мало-нової чи ціанооцтової кислот у присутності органічної чи неорганічної основи або без неї, або реакцією альдегіда чи кетона формули (II), в якій  $R_1$  -  $-CHO$  чи  $-CO$ -алкіл, з придатними ілами або аніонами фосфонатів, згідно з реакціями Вільяма або Вудсворта-Еммонса За бажанням, сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-C=C(CN)-R_4$ , мо-

жна гідрогенувати у присутності такого каталізатора, як Pd, Pt чи Ni, до відповідник сполук формули (I), в яких  $R_1$  -  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CN})-\text{R}_4$

Сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-\text{CH}(\text{CN})-\text{R}_4$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NO}_2)-\text{R}_5$ , де  $R_5$  -  $-\text{OH}$ , можна виготовити з альдегідт формули (II), в якій  $R_1$  -  $-\text{CHO}$ , реакцією з ціанідом натрію чи калію або триметилсилілціанідом та, відповідно, нітрометаном у присутності органічної чи неорганічної основи

Сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-\text{CH}=\text{CH}(\text{NO}_2)-\text{R}_5$  одержують обробкою кислотою сполук де  $R_1$  -  $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{NO}_2)-\text{R}_5$

За бажанням, сполуки формули (I), в яких  $R_1$  -  $-\text{CN}$ , можна відомими способами перетворити у сполуки формули (I), в яких  $R_1$  - гетероцикл, переважно, 2(4,5-дигідроксазол) (J F Bower et al, J Chem Soc Perkin Trans 1, 333 (1996)) або 5-тетразол (Duncia et al, J Org Chem, 56, 2395 (1991))

Сполуки формули (I), в яких  $R_1$  - 1,2,4-оксадіазолін-3-іл-5-он, одержують з відповідних амідів

N-оксиди сполук формули (I) виготовляють згідно з відомими способами окислення гетероароматичного нітрогену, переважно, окисненням пероксидом гідрогену у присутності оцтової чи трифлуороцтової кислот, або реакцією з органічними пероксикислотами (A Albini and Pietra, Heterocyclic N-Oxides CRC, 1991)

Фармацевтичне прийнятні солі сполук формули (I) можна отримати відомими з літератури спо-

собами

Сполуки, що описано у винаході, виявляють потужну антипроліферативну активність та мають фізико-хімічні властивості, що роблять їх придатними для введення у фармацевтичне придатні композиції

Цитотоксичну активність сполук згідно з винаходом досліджували на клітинних системах клітин з пухлин людини, використовуючи антипроліферативні тести, як спосіб оцінювання цитотоксичної потенції. Спосіб включає визначення числа 72-годинних клітин, що вижили через 1 годину витримки з цитотоксичним засобом. Цитотоксичну активність сполук згідно з винаходом порівнювали з активністю i) топотекану як засобу, що представляє інгібітори ДНК-топоізомерази I, ii) доксорубіцину - стандартного протипухлинного засобу, одного з найефективніших з тих, що застосовують у клінічній терапії пухлин. Результати представлені у таблиці 1, з якої видно, що сполука формули (I), що описана нижче у прикладі 1, в якій  $R_1$  -  $-\text{CN}$ ,  $R_2$  та  $R_3$  - H, та сполука формули (I), описана нижче у прикладі 4, в якій  $R_1$  -  $-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})-\text{R}_4$ ,  $R_4$  -  $-\text{CN}$ ,  $R_2$  та  $R_3$  - H, виявляє цитотоксичну активність, більшу за активність сполук порівняння по відношенню до системи недрібноклітинної карциноми легенів (НДККЛ) H-460, що спадкове стійкі до цитотоксичної терапії і тільки помірно чутливі до інгібіторів топоізомерази I, всупереч надмірній експресії цільового ферменту

Таблиця 1

Цитотоксична активність аналогів камптотецину відносно клітин пухлини людини (1 година витримки, антипроліферативну активність визначали через 72 години після витримки з лікарняним засобом

Лінія клітин	Приклад 1	Приклад 4	Топотекан	Доксорубіцин
H 460 (карцинома легенів НДККЛ)	$0,08 \pm 0,02$	0,19	$0,34 \pm 0,04$	0,09
H 460/ТПТ	$12 \pm 2$		80	
Гліобластома (ГБМ)	2,7		1,2	

Більш того, сполука з прикладу 1 виявляє помітну ефективність при обробці лінії клітин H 460/ТПТ, відібраних після тривалої витримки з топотеканом, які характеризуються високою стійкістю до нього. Лінія H460 експресує високу кількість топоізомерази I, поліпшена цитотоксичність сполуки з прикладу 1 при обробці пухлинних клітин цієї лінії виявляється як поліпшення специфічності сполуки по відношенню до клітин. Цей висновок підтримується зменшеною ефективністю цих сполук відносно лінії ГБМ-клітин, що стійкіші до таких інгібіторів, що обумовлено низькою експресією топоізомерази I.

Доклінічним вивченням активності було оцінено протипухлинну активність сполук згідно з винаходом у порівнянні з топотеканом (перша покоління камптотецину у клінічних випробуваннях). Лінію клітин пухлини людини NO-H460, недрібноклітинної карциноми легенів, вибрали завдяки високій експресії топоізомерази I, відомої цілі для камптотецинових лікувальних засобів. Ця модель пухлини відносно стійка до лікування in vivo звичайними цитотоксичними засобами (наприклад, доксорубі-

цином, цисплатином). Клітини пухлини вводили інтраперитонально у голих мишей ( $2,5 \times 10^6$  клітин/мишу, приблизно через 10 тижнів та 3 доби у перитональну порожнину ввели лікуючий засіб (10мг/кг) для забезпечення безпосереднього контакту лікуючого засобу з клітинами пухлини. Топотекан та сполука формули (I) з прикладу 1 було доставлено q4d x 4 рази. Цей графік відомий як оптимальний для камптотецинових лікувальних засобів в інших доклінічних дослідках. Мишей спостерігали кожного дня до смерті. Протипухлинну активність лікувальних засобів представляли як T/C%, тобто відношення середнього часу виживання оброблених лікувальним засобом мишей (T) до часу виживання необроблених (C) x 100. Оброблених мишей, що померли раніше першої контрольної миші або відразу після обробки зі зменшеною масою тіла, вважали заггиблими внаслідок токсичності. Мишей, ще живих через 100 дб після пересадки клітин пухлини, вважали довгожителами (ДЖ). (У другому так проведеному досліді ДЖ вважали виживших через 70 дб). Результати двох незалежних дослідів показані у таблиці 2.

Таблиця 2

Ефективність СРТ83 при обробці прищепленої інтраперитонеально (q4d x 4 рази) пухлини легенів людини, NCI-H460, що розростається. Початок обробки через 3 доби після пересадки клітин пухлини

Обробка	мг/кг	%Т/С	Мтокс/Нзагальн	ДЖ(ЮОдіб)
Дослід 1				
Приклад 1	6,6	157	0/8	2/8
	10	258	0/8	3/8
Топотекан	10	215	0/8	2/8
Дослід 2				
Приклад 1	10	233	0/7	1/7
	12	200	0/7	1/7
	14,4	277	1/7	2/7
Топотекан	10	261		1/7
	12	77	4/7	0/7
	14,4	77	5/7	0/7

Сполука згідно з винаходом з прикладу 1, задована як СРТ83, високоефективна при збільшенні часу життя мишей з пересадженою пухлиною, маючи величину %Т/С, вищу за 200 при усіх використаних дозах. З огляду на токсичність засобу видно, що тільки одна миша вмерла при дозі 14,4мг/кг x 4 (загальна кумулятивна доза 49,6мг/кг). Лікувальна ефективність СРТ83 перевищує ефективність топотекану в умовах досліду 1, коли клітини пухлини призводили до сповільненої смерті (повільно зростаюча пухлина). У випадку швидко зростаючої пухлини (дослід 2) ефективність

СРТ83 порівнювали з ефективністю топотекану як Т/С%. Однак, в обох експериментах вищий рівень довготривалого виживання (ДТВ, тобто виживаних тварин) виявили у груп, яку лікували СРТ83. Це відкриття віддзеркалює можливе поліпшення терапевтичної прийнятності. Потенціальні терапевтичні переваги СРТ83 також підкреслено його гарною активністю при лікуванні повільно зростаючої пухлини, яка частіше зустрічається у клінічній практиці. На завершення, по відношенню до пухлини, прищепленої NO-H460, СРТ83 має активність, близьку до активності топотекану, але більш толерантний за нього.

Сполуки згідно з винаходом виявляють особливі переваги, які можна підсумувати:

1. Поліпшену специфічність відносно цільових клітин, а тому клітин пухлин, що експресують високий рівень топоізомерази I. Цю можливість підтримано збільшеною чутливістю клітин пухлини H460, про які відомо, що їх рівень топоізомерази високий. Справді, ця селективність втрачена для лінії клітин (ГБМ), для яких характерний низький рівень цільової експресії.

2. Очевидно, що активність менш залежна від швидкості розмноження пухлини, ніж активність топотекану, що підтримано дослідом in vivo та відчутною активністю проти лінії клітин H460/ТПТ, для якої характерне дане повільне розмноження. Ця характеристика активності може мати клінічне застосування, оскільки повільний ріст типовий для щільної пухлини людини.

3. Цитотоксична здатність in vitro не пов'язана з підвищеною токсичністю in vivo, отже, можливо використання широким меж ефективних доз. Це збігається з підвищеним терапевтичним показником.

ком

4. Сполуки згідно з винаходом, особливо СРТ83, виявляють активність при оральному застосуванні. Несподівано, СРТ83 орально виявився більш активним, ніж топотекан внутрішньовенне (при оптимальній програмі лікування). Згідно з аспектом винаходу, що стосується виробництва, запропоновано фармацевтичні композиції, що містять ефективну кількість щонайменше сполуки формули (I), як активного інгредієнта, у суміші з середовищем та допоміжними речовинами.

Фармацевтичні композиції виготовляють звичайними способами, що добре відомі і описані у Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook, Mack Pub., N.Y., USA.

Приклади фармацевтичних композицій включають такі композиції для ін'єкцій, як розчини, суспензії, емульсії у водній чи неводній фазах, такі ентеральні, як капсули, таблетки, пілюлі, сиропи, придатні для пиття рідкі рецептури. До рамок винаходу включено такі інші фармацевтичні композиції, сполучені зі сполукою формули (I), як рецептури з регульованим вивільненням.

Дози активного інгредієнта у фармацевтичній композиції повинен визначати спеціаліст в залежності від активності та фармакокінетичних властивостей активного інгредієнта. Дозування повинно бути визначено лікарем за розмірами лікуємої пухлини і станом пацієнта.

Сполуки згідно з винаходом можна також застосовувати разом з іншими проти пухлинними засобами.

Подальші приклади ілюструють винахід.

Приклад 1. 208-камптотецин-7-карбонітрил

1) 400мг оксиму камптотецин-7-альдегіду (Savada et al. Chem Pharm Bull. 39, 2572 (1991)), 102мг формату натрію та 15мл 99% мурашиної кислоти кип'ятили під зворотним холодильником 6 годин, розбавляли розчин 150мл соди та 50мл метиленхлориду, фази розділяли і водну чотири рази екстрагували знов. Органічний екстракт випарювали, залишок хроматографували на силікагелі Merck<sup>®</sup> з елюентом метиленхлорид/метанол (96/4). Отримали 300мг жовтого твердого нитрилу. Тпл 263°C, маспектр (m/e %): 374 (16), 373 (96), 344 (36), 329 (48), 314 (55), 301 (53), 300 (53), 273(100).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCOd<sub>6</sub>) 0,92 (CH<sub>3</sub>), 1,92 (CH<sub>2</sub>), 5,48,

5,51 (CH<sub>2</sub>-5), 5,56 (CH<sub>2</sub>-17), 6,62 (OH), 7,13 (CH-14), 8,02 (CH-11), 8,10 (CH-10), 8,30 (CH-9), 8,39 (CH-12)

2) 320мг камптотецин-7-альдегіду, 154мг гідрохлориду гідроксиламіну, 578мг формиату натрію та 20мл мурашиної кислоти кип'ятили під зворотним холодильником 3 години, додавали 60мг гідрохлориду гідроксиламіну, кип'ятили під зворотним холодильником 2 години, розбавляли розчин 90мл води і екстрагували суміш метиленхлоридом. Сполучку виділяли та очищали як вищеописане

3) 500мг N-оксиду камптотецин-7-альдегіду кип'ятили під зворотним холодильником 12 годин разом з 0,86мл триметилсилілціаніду та 0,32мл пероксиду бензоїлу у 45мл 1,1,2,2-тетрахлоретану, суміш охолоджували та випарювали і залишок хроматографували на силікагелі Merck<sup>R</sup> з елюентом гексан/етилацетат (4 : 6) з утворенням камптотецин-7-карбонітрилу

Починаючи з придатних заміщених у позиції 10 камптотецинів аналогічно виготовили такі сполуки

20S-10-гідроксикамптотецин-7-карбонітрил  
20S-10-ацетоксикамптотецин-7-карбонітрил  
20S-10-метоксикамптотецин-7-карбонітрил  
20S-10-етоксикамптотецин-7-карбонітрил  
20S-10-бензоїлоксикамптотецин-7-карбонітрил  
20S-10-β-0-глікозилоксикамптотецин-7-карбонітрил

20S-камптотецин-7-іл-малонітрил  
Етил(20S-камптотецин-7-іл-ціаноацетат)

Приклад 2 208-камптотецин-7-карбамідоксим

Суспензію 60мг камптотецин-7-карбонітрилу, 40мг гідрохлориду гідроксиламіну та 0,2мл тріетиламіну у 5мл абсолютного етанолу кип'ятили під зворотним холодильником 8 годин, додаючи через 4 години ще 40 мг гідрохлориду гідроксиламіну та 0,2мл тріетиламіну, суміш випарювали, розбавляли водою, фільтрували і осад хроматографували на силікагелі Merck<sup>R</sup> з елюентом метиленхлорид/метанол (9 : 1). Отримали камптотецин-7-карбамідоксим

Аналогічно виготовили такі сполуки

20S-10-гідроксикамптотецин-7-карбамідоксим  
20S-10-ацетоксикамптотецин-7-карбамідоксим  
20S-10-метоксикамптотецин-7-карбамідоксим

Приклад 3 20S-7-амідинокамптотецин

100мг 20S-камптотецин-7-карбамідоксиму у

10мл метанолу підрували 5 годин у присутності 1 г нікелю Ренея при 70°C і тиску 50атм. Катализатор відфільтровували і випарюванням отримували 20S-камптотецин-7-карбамідоксим

Аналогічно виготовили такі сполуки

20S-10-гідрокси-7-амідинокамптотецин

20S-10-ацетокси-7-амідинокамптотецин

20S-10-метокси-7-амідинокамптотецин

Приклад 4 203-7-(2,2-диціаноетеніл)камптотецин

60мг камптотецин-7-альдегіду кип'ятили під зворотним холодильником 4 години разом з 3мл малонітрилу 8мл 1,1,2,2-тетрахлоретану у присутності 8мг броміду літію, суміш охолоджували, відфільтровували і хроматографували на силікагелі Merck<sup>R</sup> з етилацетатом як елюентом з утворенням склоподібного 20S-7-(2,2-диціаноетеніл)камптотецину

Масспектр (m/e) 424, 380

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) 0,85 (CH<sub>3</sub>), 1,88 (CH<sub>2</sub>), 5,38 (CH<sub>2</sub>-5), 5,45 (CH<sub>2</sub>-17), 6,56 (OH), 7,36 (CH-14), 7,82 (CH-11), 7,96 (CH-10), 8,18 (CH-9), 8,26 (CH-12), 9,30 (CH=)

Приклад 5 208-7-(2-нітро-1-гідроксиетил)камптотецин

150мг камптотецину, 0,05мл нитрометану, 0,01мл тріетиламіну у 3мл ізопропанолу кип'ятили під зворотним холодильником 10 годин і хроматографували на силікагелі Merck<sup>R</sup> з елюентом метиленхлорид/метанол (96 : 4). Отримали 20S-7-(2-нітро-1-гідроксиетил)камптотецин

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) 0,80 (CH<sub>3</sub>), 1,84 (CH<sub>2</sub>), 4,90-5,05 (CH<sub>2</sub>-7), 5,46 (CH<sub>2</sub>-5), 5,54 (CH<sub>2</sub>-17), 6,33 (CHOH), 6,56 (OH-16), 6,91 (CHOH), 7,33 (CH-14), 7,70 (CH-11), 7,82 (CH-10), 8,17 (CH-9), 8,20 (CH-12)

Приклад 6 208-7-(2-нітроетеніл)камптотецин

50мг 208-7-(2-нітро-1-гідроксиетил)камптотецину у 5мл тетрагідрофурану кип'ятили під зворотним холодильником 1 - 2 години разом з 20мг п-толуолсульфоїкислоти або з 0,03мл трифлуороцтової кислоти. Отримали жовтий склоподібний 20S-7-(2-нітроетеніл)камптотецин

Аналогічно виготовили такі сполуки

20S-7-(2-нітроетеніл)-10-метоксикамптотецин

20S-7-(2-нітроетеніл)-10-етоксикамптотецин