



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42695 (13) C2

(51) 7 A61K47/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ПОЛІМЕРЗВ'ЯЗАНИЙ АНТРАЦИКЛІН, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ТА ПРОМІЖНА СПОЛУКА

(21) 94129260

(22) 08.04.1994

(24) 15.11.2001

(31) 9309663.4

(32) 11.05.1993

(33) GB

(86) PCT/EP94/01100, 08.04.1994

(46) 15.11.2001, Бюл. № 10, 2001 р.

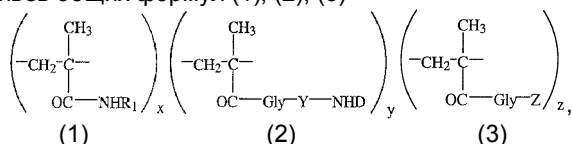
(72) Ангелуччі Франческо, ІТ, Гранді Марія, ІТ, Сьюарато Антоніно, ІТ

(73) ФАРМАЦІЯ ЕНД АПДЖОН С. П. А., ІТ

(56) Journal of Controlled Release, v. 18, no. 2, 1992.
Journal of Controlled Release, v. 26, no. 3, 1993.

Makromolekulare Chemie, Makromolekular Symposia, v. 70/71, 1993, Basel CH

(57) 1. Полимерсвязанный антрациклин, обладающий противоопухолевой активностью, представляющий собой сополимер, состоящий из трех звеньев общих формул (1), (2), (3)



где

 R_1 - C_1 - C_6 -гидроксиалкил,

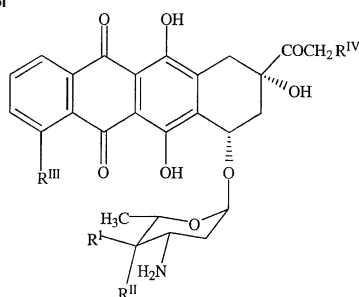
Y - остаток пептида -Phe-Leu-Gly-,

NHD - остаток антрациклинаминогликозида H_2ND ,Z - гидроксигруппа или остаток общей формулы -NHR₁, где R_1 определен выше,

x, y, z - молярные доли соответственно звеньев (1), (2), (3) в общем сополимере, и

x - от 70 до 98 мол.%,

y - от 1 до 29 мол.%,

z - от 1 до 29 мол.%.
2. Полимерсвязанный антрациклин по п. 1, в котором NHD представляет собой остаток общей формулыгде один из R^I и R^{II} - водород, а другой - гидроксигруппа, R^{III} - водород или метоксигруппа, R^{IV} - водород или гидроксигруппа.3. Полимерсвязанный антрациклин по любому из пп. 1 или 2, в котором x - от 90 до 98 мол.%, y - от 1 до 10 мол.%, z - от 1 до 10 мол.%.
4. Полимерсвязанный антрациклин по любому из пп. 1-3, в котором R_1 - гидроксипропил, 2-гидроксипропил или 3-гидроксипропил.

5. Полимерсвязанный антрациклин по любому из пп. 1-4, в котором NHD представляет собой остаток доксорубицина, 4'-эпидоксорубицина, 4-деметоксидаунорубицина, идарубицина.

6. Производное антрациклина общей формулы

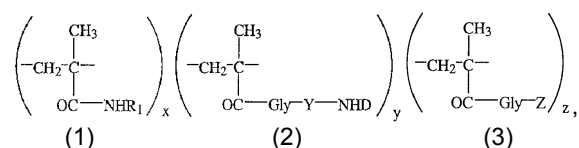
HY-NHD,

где

Y - остаток пептида -Phe-Leu-Gly-,

NHD - остаток антрациклинаминогликозида H_2ND ,

в качестве промежуточного продукта для синтеза полимерсвязанного антрациклина, представляющего собой сополимер, состоящий из трех звеньев общих формул (1), (2), (3)



где

 R_1 - C_1 - C_6 -гидроксиалкил,

Y - остаток пептида -Phe-Leu-Gly-,

NHD - остаток антрациклинаминогликозида H_2ND ,Z - гидроксигруппа или остаток общей формулы -NHR₁, где R_1 определен выше,

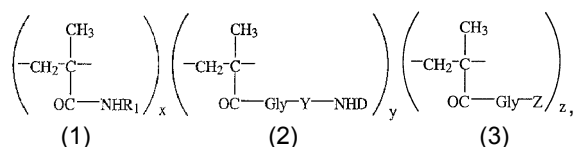
x, y, z - молярные доли соответственно звеньев (1), (2), (3) в общем сополимере, и

x - от 70 до 98 мол.%,

y - от 1 до 29 мол.%,

z - от 1 до 29 мол.%.
7. Фармацевтическая композиция, обладающая противоопухолевой активностью, содержащая активный компонент и фармацевтически приемлемый носитель, отличающаяся тем, что в качестве активного компонента она содержит полимерсвязанный антрациклин, представляющий собой со-

полимер, состоящий из трех звеньев общих формул (1), (2), (3)



в которых

R₁ - C₁-C₆-гидроксиалкил,
Y - остаток пептида -Phe-Leu-Gly-,
NHD - остаток антрациклинаминогликозида
H₂ND,

Z - гидроксигруппа или остаток общей формулы -NHR₁, где R₁ определен выше,
x, y, z - молярные доли соответственно звеньев (1), (2), (3) в общем сополимере, и
x - от 70 до 98 мол.%,
y - от 1 до 29 мол.%,
z - от 1 до 29 мол.%, или
производное антрациклина общей формулы

HY-NHD,

где

Y представляет остаток пептида -Phe-Leu-Gly-,
NHD представляет остаток антрациклинаминогликозида H₂ND, в эффективном количестве.

Настоящее изобретение относится к растворимым синтетическим полимерсвязанным антрациклинам, их получению и к содержащим их фармацевтическим композициям.

Доксорубин, 4-эпидоксорубин и 4-деметоксидаунорубин являются примерами антрациклинов, которые известны в науке и которые в настоящее время используются для клинического лечения злокачественных опухолей (см., например, А. Аркамон. Доксорубин / Medicinal Chemistry monograph, т. 17, Academic Press, 1981).

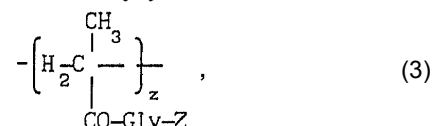
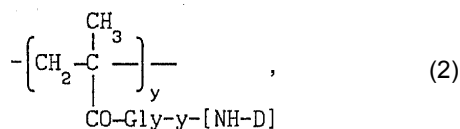
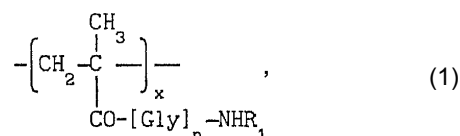
Получены многие полимерные производные доксорубина, наделенные противоопухолевой активностью. Среди них наиболее перспективным для клинического применения является растворимый полимерсвязанный доксорубин, который состоит из гидрофильных остатков и пептидных цепей, с которыми связаны доксорубин и 2-гидроксипропиламин. Это производное полимерсвязанного доксорубина получается конденсацией гидрохлорида доксорубина с метакриловым полимерным предшественником, содержащим пептидные цепи, активированного как п-нитрофениловый эфир, в диметилсульфоксиде в присутствии триэтиламина, с последующим аминолизом оставшихся эфирных групп 1-амино-2-гидроксипропаном. Инкубация этого материала с лизосомными ферментами (тритосомами) крыс разрывает амидную связь между концевой аминокислотой и доксорубином (Дж. Копечек и др. Biomaterials 10, 335 (1989), Р. Дункан и др. Biochem. Pharmacol 39, 1125 (1990), Р. Дункан и др. J. Controlled Release 10, 51 (1989) 18, 123 (1993) и 19, 331 (1992)).

Проблема для традиционных способов, например, как описано выше, заключается в том, что трудно удалить доксорубин из доксорубинового полимерного конъюгата. Это обусловлено образованием π-комплексов между связующим и свободным доксорубином, установлено, что материал ведет себя как одно целое при диализе, молекулярной фильтрации и гель-хроматографии (Дж. Фейджен и др. J. Controlled Release 1,301 (1985)).

Полимерсвязанные антрациклиновые системы настоящего изобретения основаны на метакриловых полимерах, несущих гидрофильные остатки, пептидные концевые цепи, соединенные только с аминогруппой антрациклина, и остатки глицина, либо в виде свободной кислоты, либо в виде амидного производного. Эти системы имеют пре-

имущество над существующим аналогом в том, что антрациклин может быть легко высвобожден от полимера, с которым он связан. К тому же полимерсвязанные антрациклины изобретения имеют более широкую противоопухолевую активность и более низкую токсичность, чем соответствующие свободные антрациклины.

Таким образом, настоящее изобретение относится к полимерсвязанному антрациклину формулы А, который состоит, по сути, из трех единиц, представленных общими формулами 1, 2 и 3:



где

Gly - глицин, n - 0 или 1,
x - 70-98 мол.%,
y - 1-29 мол.%,
z - 1-29 мол.%,
R₁ - C₁₋₆ - алкилгруппа, замещенная одной или более гидроксигруппами,
Y - остаток аминокислоты или пептидный,
[NH-D] - остаток аминокликозидантрациклина [NH₂-D], и
Z - гидроксигруппа или остаток формулы -NHR₁, как определено выше.

Аминокликозидантрациклин, остатком которого является [NH-D], представлен здесь как [NH₂-D], где D обозначает структуру антрациклинаминогликозида минус аминогруппа сахарного остатка.

Полимерсвязанный антрациклин, предпочтительно, содержит от 90 до 98 мол.% единиц общей формулы 1, от 0 до 10 мол.% единиц общей формулы 2 и от 1 до 10 мол.% единиц общей формулы 3.

Ферментативный in vivo гидролиз пептидных цепей приводит к высвобождению только активно-

го лекарства D-NH₂, тогда как единица общей формулы 3 остается нетроннутой.

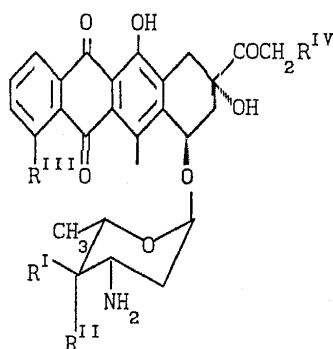
Соответствующими алкилгруппами, которые могут представлять R₁, являются C₁₋₄ алкилгруппы, замещенные одной или более гидроксигруппами, примеры включают в себя гидроксиэтил-2-гидроксипропил и 3-гидроксипропилгруппы.

Пептидный спейсер Y должен быть восприимчив к внутриклеточному гидролизу. Спейсер может быть устойчивым к внеклеточному гидролизу. Пептидный спейсер может быть длиной от 1 до 10, например, 2-4 аминокислотных остатков. Обычно пептидный спейсер является трипептидом или тетрапептидом.

Каждый из составных аминокислотных остатков пептидного спейсера, у которой является хиральным, может присутствовать в виде оптического D- или L-изомера или в виде D/L-смеси. Здесь используется традиционная трехбуквенная система обозначения аминокислот, где символы означают L-конфигурацию хиральной аминокислоты, если не указано особо. Пептидный спейсер у может присутствовать в виде рацемической смеси или в виде оптически чистого изомера.

Предпочтительно, Y выбирается из Gly-Phe-Gly (глицин-фенилаланин-глицин) Gly-Leu-Gly (глицин-лейцин-глицин), Gly-Pht-Leu-Gly или Leu-Leu-Gly с глицин-остатком, связанным в каждом случае с аминогликозидантрациклином.

Аминогликозидантрациклиновый остаток [NH-D] является подходящим остатком антрациклиноми-ногликозида [NH₂-D] следующей формулы Q:



Q

в которой один из R^I и R^{II} - водород, а другой - гидроксигруппа или иод,

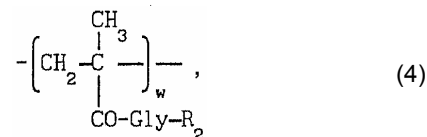
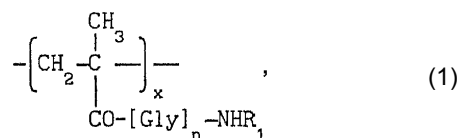
R^{III} - водород или OCH₃, а R^{IV} - водород или гидроксигруппа.

Предпочтительными примерами антрациклин-аминогликозида [NH₂-D] является доксорубин, 4'-эпидоксорубин, 4-деметоксидаунорубин, идарубин и 4'-иодо, 4'-дезоксидоксорубин.

Изобретение также представляет способ получения полимерсвязанного антрациклина A, который состоит, по сути, из единиц общих формул 1, 2 и 3, как определено выше.

Способ содержит:

i) взаимодействие полимерного промежуточного соединения B, где B состоит, в основном, из единиц следующих общих формул 1 и 4:



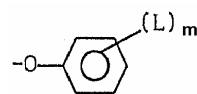
где x, n и R₁ в формуле 1 являются такими, как определено выше, w - от 30 до 2 мол.%, а R₂ - гидроксигруппа или уходящая группа, с антрациклиновым производным общей формулы (5)



в которой [NH-D] и Y являются такими, как определено выше,

ii) взаимодействие продукта со стадии (i), где R₂ - уходящая группа, с соединением общей формулы NH₂R₁, в которой R₁ - такой, как определено выше, в случае, когда требуется получить полимерсвязанный антрациклин, где Z, единица общей формулы 3, представляет NHR₁.

Уходящей группой, которую может представлять R₂, является пригодная фенилоксигруппа, которая замещается на фенильном кольце одной или более электронотнимающих групп. Примеры пригодных электронотнимающих групп включают в себя нитрогруппу (-NO₂) и галоген R₂, предпочтительно, является уходящей группой

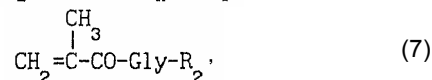
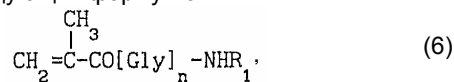


в которой L - электронотнимающая группа, например, -NO₂ или галоген, такой как фтор или хлор, а m - целое число от 1 до 5, обычно - от 1 до 3, предпочтительно, 1 или 2. Предпочтительно, R₂ - п-нитрофеноксигруппа или 2,4-дихлорфеноксигруппа.

Соединения общей формулы (5) легко отделяются от полимерного конъюгата формулы A благодаря своей высокой олефилности.

Так, как описано выше, настоящий подход к получению полимерсвязанных антрациклинов позволяет преодолеть главный недостаток традиционной конденсации антрациклинов с полимерами, а именно: трудность в отделении свободного антрациклина от полимерного конъюгата.

Полимерные промежуточные соединения B, состоящие, в основном, из единиц общих формул 1 и 4, как определено ранее, получают радикальной сополимеризацией метакрильных соединений следующих формул 6 и 7:



где n, R₁ и R₂ - такие, как определено выше.

Некоторые полимеры, состоящие, в основном, из единиц общих формул 1 и 4, известны из литературы, например, полимер В1, состоящий из единиц общей формулы 1, в которой R_1 представляет $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $n=0$, и единиц общей формулы 4, в которой R_2 представляет п-нитрофенольный остаток, получается радикальной сополимеризацией осаждением N-(2-гидроксипропил)-метакриламида 6a: $R_1=\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $n=0$ с N-метакрилоилглицил-п-нитрофенилэфиром 7a: $R_2=O-\text{C}_6\text{H}_4\text{pNO}_2$, как описано в работе Дж. Копечек, Makromol. Chem., 178; 2159 (1977). Полимерные промежуточные соединения, состоящие из единиц общих формул 1 и 4, в которых R_2 представляет гидроксильную группу, могут быть получены радикальной гомогенной полимеризацией.

Некоторые мономеры общих формул 6 и 7 являются известными. Соединения общей формулы 6, в котором $n=0$ и R_1 - алкил, несущий гидроксильную группу, получают взаимодействием метакрилоилхлорида с алифатическим алкилом, несущим вторичные гидроксигруппы. С другой стороны, соединения общей формулы 6, в которой $n=0$ и R_1 - остаток алкила, несущего первичную гидроксильную группу, могут быть получены из метакриловой кислоты и аминосоединений в присутствии катализатора конденсации, такого как 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин.

Пептидилантрациклиновые производные общей формулы 5 являются дополнительным аспектом настоящего изобретения. Способы их получения являются известными. Например, так как это важно для взаимодействия соответствующего N-защитного пептида с антрациклином, N-защитная пептидная группа должна выбираться из таких групп, которые удаляются в условиях, способных придать стабильность антрациклину. Примером является трифенилметильная группа.

Пептидилантрациклиновые соединения общей формулы 5 могут быть получены способом, который содержит:

(i) взаимодействие N-защитного пептида общей формулы 8 или 9:



где R_3 - кислоточувствительная защитная аминокислотная группа, R - уходящая группа, а Y - аминокислотный остаток или пептидный спейсер, как указано выше, с антрациклиноаминогликозидом NH_2 , как указано выше, с получением промежуточного соединения общей формулы 10:



где $[\text{NH-D}]$, $Y-R_3$ - такие, как определено выше, и

(ii) удаления защитной группы R_3 с получением пептидилантрациклина общей формулы 5 в форме свободного основания. P может быть уходящей группой, как определено и подтверждено примерами выше для R_2 . Кроме того, P может быть пентафторфенилокси- или N-гидроксисукцинимидогруппой. Примеры кислоточувствительной защитной группы R_3 включают в себя тритил- и дифениламиногруппы.

Пептидил-производные общих формул 8 и 9 получают следующими стандартными методами синтеза, которые известны из литературы о пептидах. Защита аминокислотной функции кислоточувствительной группой, такой как трифенилметил, обычно осуществляется в соответствии с работой Теодоропулоса и др. J. Org. Chem. 47, 1324 (1982).

Реакционные условия, выдерживаемые для получения соединений общих формул 8, 9 и 10, предназначаются для того, чтобы избежать рацемизации, полученные пептидил-производные сохраняют поэтому конфигурацию исходных аминокислот.

Для получения антрациклиновых производных общей формулы 5, соединение общей формулы 9 может взаимодействовать с гидрохлоридной солью антрациклина в безводном полярном растворителе, таком как диметилформамид, в присутствии эквивалентных количеств органического основания, такого как триэтиламин, например, при комнатной температуре в течение 15 часов с получением промежуточного соединения общей формулы 10, которое очищается хроматографией, а затем деблокируется от производного соединения общей формулы 5, например, в водной 75%-ной уксусной кислоте при комнатной температуре.

Необходимо отметить, что реакция антрациклинов, несущих гидроксильную группу в положении C-14, таких как доксорубин и 4'-эпидоксорубин, в виде гидрохлоридной соли, с активированными пептидил-производными общей формулы 9 в присутствии органического основания, необходимого для деблокирования 3-аминогруппы антрациклинов в полярном растворителе, дает смесь производного общей формулы 10 антрациклинов, замещенных как по аминокислотной сахарного остатка, так и в C-14 положении. Бис-(3'-N,14-O-пептидил)-производные удаляются из смеси хроматографией.

Соединения общей формулы 10 могут быть также получены конденсацией N-защитного пептида общей формулы 8 с антрациклином в форме гидрохлоридной соли в безводном полярном растворителе, таком как диметилсульфоксид в присутствии эквивалентного количества катализатора конденсации, такого как 1-этоксикарбонил-2-этокси-L-дигидрохинолин. Этот метод не дает биспептидил-производных антрациклинов, несущих C-14 гидроксигруппы.

Конденсация промежуточного продукта В с пептидилантрациклиновыми производными общей формулы 5, необязательно следующая за замещением остающихся уходящих групп, дает полимерсвязанные антрациклины, состоящие, в основном, из единиц общих формул 1, 2 и 3. Должно быть подчеркнуто, что этот метод позволяет избежать образования эфирных связей между первичными гидроксильными группами и концевыми глицил-активированными эфирами.

Полимерсвязанные лекарства общей формулы А, в которой остаток Z единицы общей формулы 3 представляет группу NHR_1 , как описано ранее, получают, предпочтительно, взаимодействием промежуточного соединения В, в котором R_2 - уходящая группа, как определено выше, с антрациклиновым производным общей формулы 5 в безводном полярном органическом растворителе,

таким как диметилформамид или диметилсульфоксид. Реакция может обычно идти в течение от 8 до 24 часов. Реакция обычно проводится при температуре от 15 до 30°C, предпочтительно, при комнатной температуре в течение 15 часов, затем оставшиеся уходящие группы замещаются взаимодействием конъюгата с соединением общей формулы NH_2R_1 , как указано выше, в течение периода времени от 0,5 до 3 часов при комнатной температуре.

Полимерсвязанные лекарства общей формулы А, в которой остаток Z единицы общей формулы 2 представляет гидроксильную группу, получают, предпочтительно, взаимодействием промежуточного соединения общей формулы В, в которой R_2 - гидроксильная группа, с антрациклиновым производным общей формулы 5 в безводном полярном органическом растворителе, таком как диметилформамид или диметилсульфоксид. Реакция обычно длится в течение 8-24 часов. Реакция обычно проводится при температуре от 15 до 30°C, предпочтительно, при комнатной температуре в течение 15 часов.

Например, для получения полимерсвязанного антрациклина, в котором Z - остаток NHR_1 , как указано выше, промежуточное соединение общей формулы В, в которой R_2 - уходящая группа, такая как п-нитрофенокси, обрабатывается пептидилантрациклином общей формулы 5, при комнатной температуре в течение 15 часов. Соединение В, соответственно, используется в количестве 14% масса/объем, а соединение 5 в количестве 2,2% масса/объем (м/о). Затем добавляется соединение общей формулы NH_2R_1 как указано выше, обычно, при 0,1% м/о, и реакционная смесь выдерживается при комнатной температуре в течение 3 часов. Конъюгат высаживается ацетоном, растворяется абсолютным этиловым спиртом, обычно, при концентрации 8% (м/м), и высаживается снова ацетоном с получением требуемого полимерсвязанного антрациклина.

В описанном выше способе удается избежать образования эфирных связей между С-14 гидроксильрованным антрациклином и концевым глицил-активированным эфиром благодаря отсутствию какого-либо органического основания в процессе конденсации.

В другом примере, для получения полимерсвязанного антрациклина общей формулы А, в которой Z - гидроксильная группа, промежуточное соединение общей формулы В, как указано выше, в котором R - гидроксильная группа, обрабатывается в безводном диметилсульфоксиде пептидилантрациклином общей формулы 5 при комнатной температуре в течение 15 часов. Соединение В, соответственно, используется при 14% м/о, а соединение 5 - при 2,3% м/о. Конъюгат затем высаживается ацетоном, растворяется в абсолютном этиловом спирте, обычно, при концентрации 8% (м/м) и высаживается снова ацетоном с получением полимерсвязанного антрациклина общей формулы А, как определено выше.

Содержание антрациклина в конъюгатах общей формулы А определяется анализом агликона, высвобождаемого из связанного антрациклина посредством кислотного гидролиза, так, адриамидин является агликоновым остатком диксорубицина,

а 4'-эпирубицин и 4-деметоксидауномицин является агликоновым остатком деметоксидаунорубина.

Полимерсвязанные антрациклины настоящего изобретения показывают хорошую водорастворимость, биосовместимость, стабильность при физиологическом pH и высвобождаются из свободного активного лекарства, D-NH_2 , после инкубации с лимосомными ферментами (ферментами).

Соединения формулы А проявляют повышенную противоопухолевую активность в экспериментальных образцах и пониженную общую токсичность по сравнению со свободным антрациклином.

Полимерсвязанные антрациклины общей формулы А имеют противоопухолевую активность. Человек или животное могут поэтому подвергаться лечению способом, заключающимся в применении ими терапевтически эффективного количества полимерсвязанного антрациклина общей формулы А. Состояние пациента (человека или животного) может быть, таким образом, улучшено.

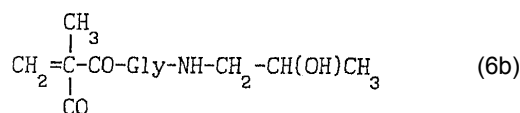
Приемлемый интервал дозировки зависит от способа применения лекарства и возраста, массы и состояния лечащегося пациента. Полимерсвязанные антрациклины общей формулы А обычно применяются парентеральным способом, например, внутримышечно, внутривенно или при введении шариков. Пригодный интервал дозировки составляет от 5 до 800 мг/м² антрациклинового эквивалента, например, от 20 до 500 мг/м². Пригодный режим определяет применение раствора 25 мг антрациклинового эквивалента /м² внутривенно при объеме 10 мл/кг массы тела в течение 2-недельного периода через 5, 9 и 15 дней.

Полимерсвязанные антрациклины общей формулы А могут быть включены в рецептуру фармацевтической композиции вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем. Обычно, полимерсвязанные антрациклины включаются в рецептуры для парентерального применения, например, при растворении в стерильной воде или в воде для инъекций.

Нижеследующие примеры дополнительно иллюстрируют изобретение. Примеры 1-6 относятся к способам синтеза для получения мономеров общих формул 6 и 7 и полимерных промежуточных соединений общей формулы В.

Пример 1

[N-(метакрилоилглицил)]-2-гидроксипропил-амид (6b)

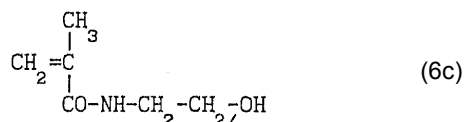


Метакрилоилглицил-п-нитрофениловый эфир (7a: 5,28 г, 20 ммоль), полученный, как описано в работе Makromol. Chem. 178, 2159 (1977), растворяется в безводном тетрагидрофуране (20 мл) и обрабатывается 1-амино-2-гидроксипропаном (3,2 мл, 40 ммоль). Через 20 минут при комнатной температуре растворитель удаляется при пониженном давлении, и указанное в заголовке соединение общей формулы 6b (3,3 г, выход 82,5%)

получается после кристаллизации смесью ацетон/этиловый эфир. ТСХ (тонкослойная хроматография) на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система: метиленхлорид/ацетон (90:10 по объему), R_f=0,47.

Пример 2

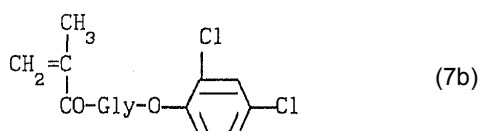
[N-(метакрилоилглицил)]-гидроксиэтиламид (6с)



К перемешиваемой смеси 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина (37 г, 0,15 ммоль) в безводном толуоле (150 мл) по каплям в течение 15 минут добавляется растворенная в безводном толуоле (300 мл) метакриловая кислота (14 мл, 0,165 ммоль). Реакционная смесь перемешивается при комнатной температуре в течение 24 часов. Указанное в заголовке соединение общей формулы 6с получается после высаживания п-гексаном. ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система: метиленхлорид/ацетон (90:10 по объему) R_f= 0,35.

Пример 3

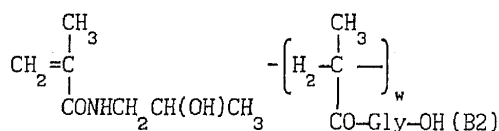
[N-(метакрилоилглицил)]2,3-дихлорфениловый эфир (7b)



Указанное в заголовке соединение общей формулы 7b получается из метакрилоилглицина (2,66 г, 20 ммоль), полученного, как описано в работе Makromol. Chem. 178, 2159, (1977), и 2,4-дихлорфенола (3,26 г, 20 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (50 мл) в присутствии ДСС (4,2 г, 21 ммоль). Соединение общей формулы 7b (4,7 г, выход 82%) кристаллизуется из этилацетата и п-гексана, ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система - этиловый эфир R_f=0,47.

Пример 4

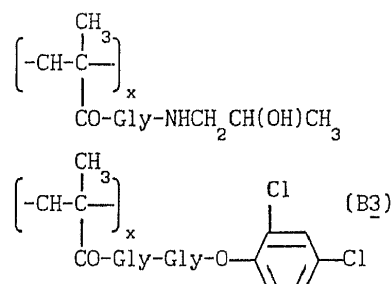
Сополимер N-метакрилоиламина-2-гидроксипропана и N-метакрилоилглицина (B2)



N-метакрилоиламид-2-гидроксипропан (25,2 г, 0,18 ммоль) метакрилоилглицин (2,86 г, 20 ммоль) и α,α'-азоизобутиронитрил (5,9 г) растворяются в безводном метиловом спирте (164 мл). Смесь выдерживается при 60°C в атмосфере азота в течение 20 часов, затем реакционная смесь добавляется к ацетону (2000 мл) при перемешивании. Осадок собирается, промывается ацетоном и сушится до постоянного веса с получением указанного в заголовке полимера B2 (2,6 г). Содержание карбоксильных групп (N): 10 мол. %

Пример 5

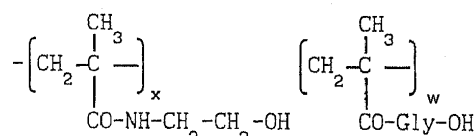
Сополимер [N-(метакрилоилглицил)-2-гидроксипропаноламида и N-(метакрилоилглицил)-2,4-дихлорфенилового эфира (B3)



Соединение общей формулы 6В (14,4 г, 72 ммоль) и соединение общей формулы 7В (5,19 г, 18 ммоль) полимеризуются в безводном ацетоне (300 мл) в присутствии α,α'-азоизобутиронитрила (1 г, 6 ммоль), как описано в работе Makromol. Chem. 178, 2159 (1977), до указанного в заголовке соединения общей формулы B3. Полимерный материал извлекается фильтрацией из реакционной смеси, растворяется в абсолютном этиловом спирте и переосаждается ацетоном. Содержание хлора: расчетное - 6,89 мол. %, экспериментальное - 2,84 мол. %

Пример 6

Сополимер [N-(метакрилоилглицил)]-гидроксиэтиламида и N-метакрилоилглицина (B4)

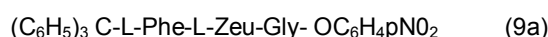


Указанное в заголовке полимерное промежуточное соединение общей формулы B4 получается из N-метакрилоиламида-2-гидроксиэтана (6с: 23,2 г, 0,18 ммоль), метакрилоилглицина (2,86 г, 20 ммоль) и α,α'-азоизобутиронитрила (5,9 г) в безводном метиловом спирте (164 мл), как описано в примере 2. Содержание карбоксильных групп (w)-10%.

Примеры 7-12 относятся к способам получения пептидилантрациклинов общей формулы 5.

Пример 7

N-триметил-L-фенилаланил-L-лейцилглицил-4-нитрофенилэфир



N-триметил-L-фениланин (20,3 г, 50 ммоль), полученный, как описано в работе J. Org. Chem. 47, 1324 (1982), растворяется в безводном тетрагидрофуране (150 мл) и к нему добавляется безводный N-гидроксibenзотриазол (8 г). Смесь охлаждается при 0°C и обрабатывается 1,3-дициклогексилкарбодиимидом (11,7 г, 50 ммоль), через 10 минут к ней добавляется по каплям раствор 1-лейцилглицинэтилэфир-п-толуолсульфонатной соли (20 г, 50 ммоль) в смеси безводного тетрагидрофурана (100 мл) и N-метилморфолина (7 мл). Реакционная смесь выдерживается при

0°C в течение 1 часа и при комнатной температуре - до утра, затем фильтруется, и растворитель удаляется при пониженном давлении. Сырой материал, растворенный этилацетатом, промывается один за другим охлажденным 5%-ным водным раствором лимонной кислоты (3×100 мл), охлажденным 5% водным раствором бикарбоната натрия и водой, затем концентрируется и хроматографируется на силикагеле с вымыванием смесью метиленхлорида и метанола (99:1 по объему) с получением N-тримил-L-фенилаланил-L-лейцилглицилэтилового эфира (18 г, 30 ммоль), который превращается в соответствующую кислоту общей формулы 8а (17 г) обработкой в 95%-ном этиловом спирте (400 мл) 1N гидроокисью натрия (30 мл) в течение 2 часов при комнатной температуре. ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система: метиленхлорид/метанол (80:20 по объему), Rf=0,53.

¹H-ЯМР (200 МГц, CDCl₃).

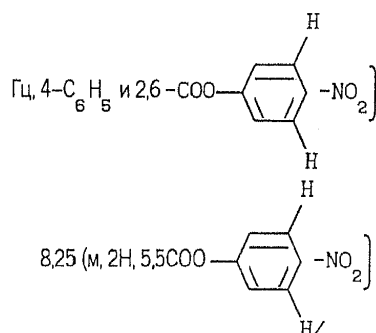
0,88 (д, J=5,9 Гц, 6H δ+δ, Leu), 1,2-1,2 (м, 3H, β±Leu), 2,00 (дд, J=5,7 Гц, J=13,4 Гц, 1H, (β Phe), 2,83 (дд, J=5,2 Гц, J=13,4 Гц, 1H, β' Phe), 3,51 (т, J=5,4, 1H, α Phe), 3,99 (д, J=4,4 Гц, 2H, α,α' Gly), 4,55 (м, 1H, α, Leu), 6,8-7,4 (м, 22H, NHgly, NHLeu, 4-C₆H₅) (B4).

Соединение общей формулы 8а растворяется в безводном тетрагидрофуране (450 мл) и к нему добавляется п-нитрофенол (5,5 г, 40 ммоль). Смесь охлаждается при 0°C, к ней добавляется по каплям раствор 1,3-дициклогексилкарбодиимида (8,24 г, 40 ммоль), и смесь выдерживается до утра при 4°C. После этого реакционная смесь фильтруется, и растворитель удаляется при пониженном давлении. Остаток растворяется этилацетатом и охлаждается при 0°C. Через час смесь фильтруется, и растворитель удаляется с получением, после кристаллизации из этилового эфира, указанного в заголовке соединения общей формулы 9а (20 г, выход 97%) ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система - этиловый эфир,

Rf=0,80. АД-МС: m/z 699 [M+H]⁺

¹H-ЯМР (200 МГц, CDCl₃)

0,86 (д, J=6,2 Гц, 3H, δ Leu), 0,88 (д, J=6,4 Гц, 3H δ Leu), 1,2-1,8 (м, 3H, β±Leu) 1,9 (дд, J=5,9 Гц, J=13,5 Гц, 1H, β Phe), 2,89 (дд, J=4,6 Гц, J=13,5, 1H, β' Phe), 3,52 (дд, J=4,6 Гц, J=5,9 Гц, 1H, α Phe), 4,0-4,4 (м, 3H, α Leu, α+α' Gly), 6,78 (т, J=5,7 Гц, 1H, NH GLY), 7,04 (д, J=7,7 Гц, 1H, NH Leu), 6,8-7,4 (м, 22)



Пример 8

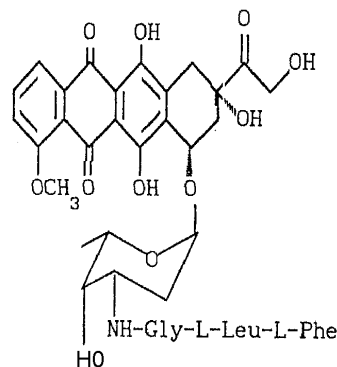
N-тримил-глицил-L-фенилаланил-L-лейцилглицил-п-нитрофениловый эфир

(C₆H₅)₃ C-Gly-L-Phe-L-Leu-Gly-OC₆H₄pNO₂ (9b)

Промежуточный N-тримил-L-фенилаланил-L-лейцилглицилэтиловый эфир (6 г, 10 ммоль), полученный, как описано в примере 7, обрабатывается 75%-ным водным раствором уксусной кислоты при комнатной температуре в течение часа с получением L-фенилаланил-L-лейцилглицилэтилового эфира, который конденсируется N-тримил-глицином (3 г, 10 мм), в присутствии N-гидоксибензотриазола и 1,3-дициклогексилкарбодиимида с получением, после гидролиза этилового эфира и активации п-нитрофенолом, как описано в примере 7, указанного в заголовке соединения общей формулы 9b (3,8 г, выход 50%) ТСХ Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система - этиловый эфир, Rf=0,63. АД-МС m/z 755 [M+H]⁺.

Пример 9

3'-N-(глицил-L-лейцил-L-фенилаланил)доксорубин (5а)



Проводится реакция доксорубингидрохлорида (2,9 г, 5 ммоль), растворенного в безводном диметилформамиде (50 мл) и триэтиламин (0,5 мл) с N-тримил-фенилаланиллейцилглицил-п-нитрофенилэфиром (9а: 3,5 г, 5 ммоль), полученным, как описано в примере 7. Реакционная смесь выдерживается до утра при комнатной температуре, затем высаживается смесью 1:1 этилового эфира и п-гексана. Твердое вещество очищается на силикагельной колонке с вымыванием смесью метиленхлорида и метанола (98:2 по объему) с получением N-защищенного пептидидоксорубина общей формулы 10а (4,6 г). ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система: метил-хлорид/метилловый спирт (95:5 по объему), Rf=0,35.

АД-МС:m/c1103 [M+H]⁺

Соединение общей формулы 10а растворяется в 75%-ном водном растворе уксусной кислоты (250 мл) в течение часа, затем раствор разбавляется смесью 1:1 воды и метиленхлорида (2500 мл) и доводится до pH 7 твердым бикарбонатом натрия. Органическая фаза отделяется, и растворитель удаляется при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения общей формулы 5а (3,45 г, выход 80%) ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система - ме-

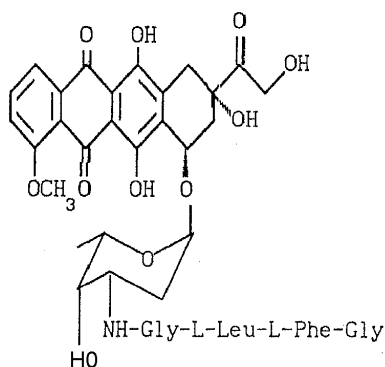
тиленхлорид/метиловый спирт/уксусная кислота/вода (80:20:7:3) по объему, $R_f=0,5$.

АД-МС: m/z $[M+H]^+$

H^1 -ЯМР (400 МГц, DMSO) 0,8 (д, $J=6,4$ Гц, 3H δ Leu), 0,83 (д, $J=6,4$ Гц, 3H, δ' Leu), 1,10 (д, $J=6,8$ Гц, 3H, δ' CH₃), 1,3-1,6 (м, 4H, (β -Leu и 2' экв. H)), 1,83 (ддд, $J=2,8$ Гц, $J=13,2$ Гц, $J=13,2$ Гц, 1H, 2' акс.), 2,09 (дд, $J=6,0$ Гц, $J=14,5$ Гц, 1H, 8 акс.), 2,18 (д, $J=14,5$ Гц, 1H, 8-экв.), 2,8-3,2 (м, 4H, 10 CH₂ и β Phe), 3,36 (м, 1H, 4'), 3,64 (м, 2H, α Gly), 3,95 (с, 3H, OCH₃), 3,9-4,1 (м, 2H, 3' и α Phe) 4,15 (кв, $J=6,4$ Гц, 1H, 5'H) 4,29 (кв, $J=7,7$ Гц, 1H, α Leu), 4,55 (с, 2H, 14 CH₂), 4,7-5,0 (м, 3H, 7H и 4'ОН и 14 ОН), 5,20 (д, $J=3,4$ Гц, 1H, ГН), 5,46 (с, 1H, 9ОН) 7,1-7,3 (м, 5H, Ar, Phe), 7,54 (д, $J=8,5$ Гц, 1H, 3'NH), 7,63 (м, 1H, 3H), 7,88 (м, 2H, 1H и 2H), 8,17 (м, 4H, NH₃+NHGly), 8,70 (д, $J=8,1$ Гц, 1H, NH Leu) 13,23 (с, 1H, 11ОН), 14,00 (с, 1H, 6ОН).

Пример 10

3-N-(глицил-L-лейцил-L-фенилаланилглицил)-доксорубин (5b)

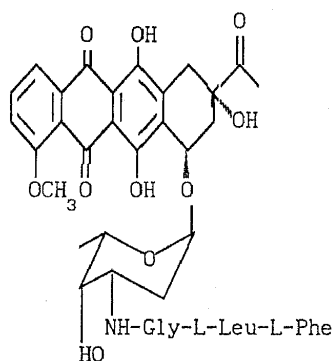


Проводится реакция доксорубингидрохлорида (2,9 г, 5 ммоль) с N-тримитил-глицил-L-фенилаланил-L-лейцилглицил-п-нитрофениловым эфиром (9b: 3,8 г, 5 ммоль), полученным, как описано в примере 8, и затем реакционная смесь обрабатывается 75%-ным водным раствором уксусной кислоты, как описано в примере 9, с получением указанного в заголовке соединения общей формулы 5b (4 г, выход 90%) ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система - метиленхлорид/метиловый спирт/уксусная кислота/вода (80:20:7:3 по объему, $R_f=0,44$

АД/МС: m/z 938 $[M+H]^+$

Пример 11

4-деметокси-3'-N-(глицил-L-лейцил-L-фенилаланил)даунорубин (5c)



Указанное в заголовке соединение общей формулы 5c (3 г, выход 75%) получается из 4-деметоксидаунорубингидрохлорида (2,9 г, 5 ммоль) и N-тримитил-фенилаланиллейцилглицил-п-нитрофенилэфира (9a: 3,5 г, 5 ммоль) аналогично методике, описанной в примере 9. ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система - метиленхлорид/метиловый спирт/уксусная кислота/вода (80:20:7:3 по объему) $R_f=0,51$

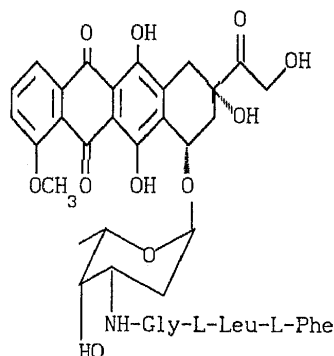
АД-МС: m/z 815 $[M+H]^+$

H^1 -ЯМР (200 МГц, CDCl₃)

0,84 (д, $J=6,0$ Гц, 3H, δ Leu), 0,88 (д, $J=6,0$ Гц, 3H δ' Leu), 1,27 (д, $J=6,4$ Гц, 3H, 6'CH₃) 1,4-1,7 (м, 3H β -Leu), 1,7-2,0 (м, 2H, 2' CH₂), 2,06 (дд, $J=4,2$ Гц, $J=14,9$ Гц, 1H, 8 акс.), 2,32 (д, $J=14,9$ Гц, 1H, 8 экв. H), 2,40 (с, 3H, COCH₃), 2,70 (дд, $J=8,6$ Гц, $J=13$ Гц, 1H, β Phe), 3,13 (дд, $J=4,2$ Гц, $J=13,7$ Гц, 1H, β' Phe), 2,94, 3,23 (дд, $J=19,2$ Гц, и 2H, +10CH₂), 3,5-3,8 (м, 3H, 4'H α Phe и α GLY) 3,9-4,3 (м, 4H, α' Gly, α Leu, 5'H 3'H), 5,19 (м, 1H, 7H), 5,45 (д, $J=2,7$ Гц, 1H, ГН), 6,9-8,4 (м, 12H, 1H, 2H, 3H, 4H, Ar Phe 3' NH, NH GLY NH Leu).

Пример 12

4'-эпи-3'-N-(глицил-L-лейцил-D-фенилаланил)-доксорубин (5d)



Указанное в заголовке соединение общей формулы 5d (3,25 г, выход 68%) получается из 4'-эпидоксорубингидрохлорида (2,9 г, 5 ммоль) и N-тримитил-фенилаланиллейцилглицил-п-нитрофенилэфира (9a: 3,5 г, 5 ммоль) в соответствии с методикой, описанной в примере 9. ТСХ на Kieselgel-пластине F₂₅₄ (Merck), вымывающая система - метиленхлорид/метиловый спирт/уксусная кислота/вода (80: 20: 7: 3 по объему), $R_f=0,46$.

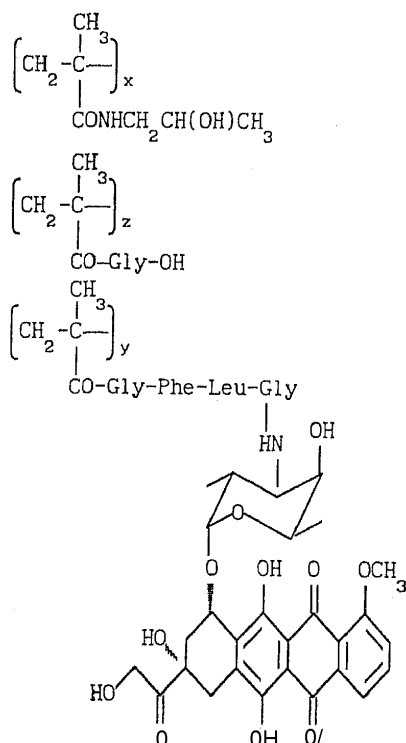
АД-МС: m/z $[M+H]^+$

H^1 -ЯМР (400 МГц, DMSO)

0,79 (д, $J=6,3$ Гц, 3H, δ Leu), 0,81 (д, $J=6,3$ Гц, 3H, δ' Leu), 1,19 (д, $J=5,9$ Гц, 3H, 6'CH₃), 1,3-1,6 (м, 4H, 2'Нах β, β' Leu, Leu), 1,82 (дд, $J=4,7$ Гц, $J=12,5$ Гц, 1H, 2'Heq), 2,1-2,3 (м, 2H, 8-CH₂), 2,59 (дд, $J=8,2$ Гц, $J=13,7$ Гц, 1H, β Phe), 2,9-3,1 (м, 4H, β' Phe 10-CH₂, h'H), 3,41 (дд, 4,7 Гц, $J=8,2$ Гц, α Phe), 3,54 (дд, $J=5,5$ Гц, $J=16,4$ Гц, α Gly), 3,67 (дд, $J=6,2$ Гц, $J=16,4$ Гц, 1H, α' Gly), 3,8 (м, 1H, 3'H), 3,90 (м, 1H, 5'H), 3,95 (с, 3H, OCH₃), 4,18 (м, 1H, α Leu), 4,55 (м, 2H, 14-CH₂), 4,3-5,0 (м, 3H, 14-ОН, 7H, 4'-ОН), 5,17 (д, $J=3,1$ Гц, 1H, 1'H), 5,46 (с, 1H, 9-ОН), 7,1-7,3 (м, 5H, Ar-Phe), 7,53 (д, $J=8,2$ Гц, 1H, NH-Gly), 7,60 (м, 1H, 3H), 7,86 (м, 2H, 1H, 2H), 8,05 (д, $J=6,4$ Гц, 1H, NH-Leu), 8,11 (т, $J=5,9$ Гц, 1H, NH-Gly).

Пример 13

Сополимер 3-метакрилоиламино-2-гидроксипропана, 3'-N(метакрилоилглицил-L-фенилаланил-L-лейцилглицил)доксорубицина и N-метакрилоилглицина (A1)

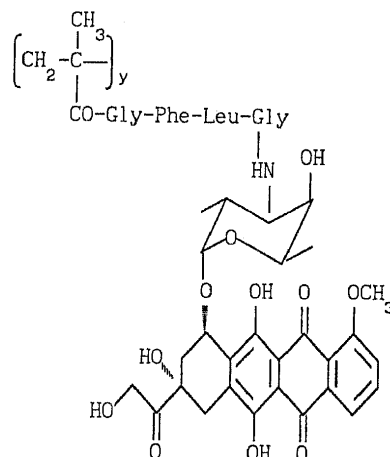
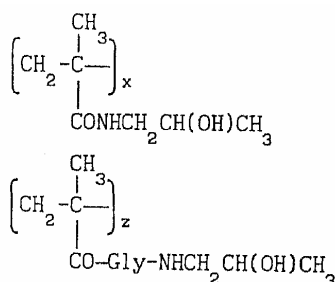


Полимерный предшественник общей формулы B2 (7,15 г, 5 ммоль-СООН), полученный, как описано в примере 4, 3'-N-(глицил-лейцил-L-фенилаланил)доксорубин (5а: 2,36 г, 2,5 ммоль) растворяются в безводном диметилформамиде (100 мл), затем к раствору добавляется N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин (0,7 г, 2,5 ммоль). Смесь перемешивается при комнатной температуре в течение 24 часов, затем выливается в этиловый эфир (800 мл). Осадок растворяется в этиловом спирте (100 мл), высаживается ацетоном (800 мл) и сушится до постоянного веса с получением указанного в заголовке соединения общей формулы A1 (7 г).

Содержанием доксорубин·HCl: 9% (м/м)

Пример 14

Сополимер 3-метакрилоиламино-2-гидроксипропана, 3'-N(метакрилоилглицил-L-фенилаланил-лейцилглицил)доксорубицина и (N-метакрилоилглицил)-2-гидроксипропаноламида (A2)



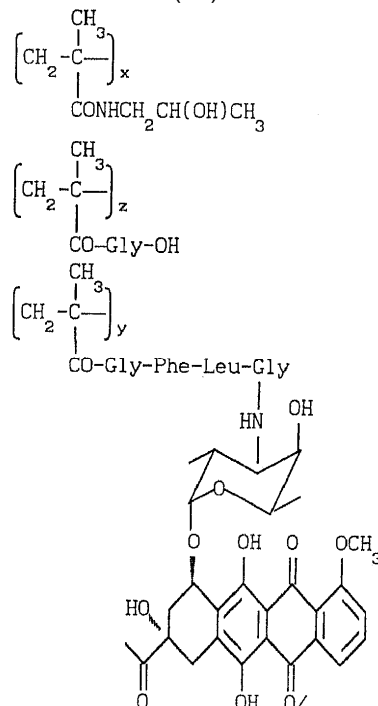
Полимерный предшественник общей формулы B1 (10 г, 2,7⁻¹⁰ экв. п-нитрофенилэфира), полученный, как описано в работе Makromol. Chem. 178, 2159 (1977), растворяется в сухом диметилформамиде (60 мл), после чего к раствору добавляется 3'-N(глицил-лейцил-L-фенилаланил)доксорубин (5а: 1,53 г, 1,72 ммоль). Смесь перемешивается при комнатной температуре в течение 24 часов, после чего к ней добавляется L-аминопропанол (0,13 мл). Через час реакционная смесь добавляется к перемешиваемой смеси ацетон/этиловый эфир (1,2 л 3:1 по объему) и фильтруется. Осадок растворяется этиловым спиртом (150 мл) и высаживается смесью ацетон:этиловый эфир (1,2 л, 4:1 по объему) с получением полимерного соединения общей формулы A2 (10 г).

Содержание доксорубин·HCl: 9% (м/м)

Примеры 13-18 иллюстрируют способы получения полимерсвязанных антрациклинов общей формулы A.

Пример 15

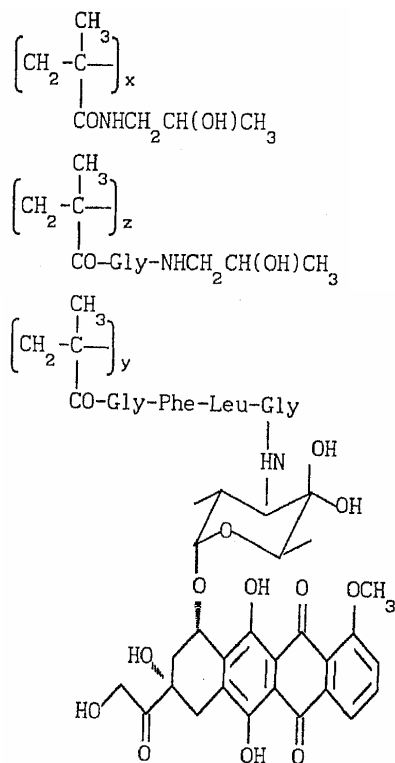
Сополимер 3-метакрилоиламино-2-гидроксипропана, 4-деметокси-3'-N(метакрилоилглицин-L-фенилаланил-L-лейцилглицил)даунорубицина и N-метакрилоилглицина (A3)



Указанное в заголовке соединение общей формулы А3 получается взаимодействием 4-деметокси-3'-N-(глицил-L-лейцил-L-фенилаланил)даунорубина (5d: 1,48 г, 1,72 ммоль) с полимерным предшественником общей формулы В2 (10 г) в присутствии N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина (0,48 г) в безводном диметилформамиде, как описано в примере 13.

Пример 16

Сополимер 3-метакрилоиламино-2-гидроксипропана, 4-эпи-3'-N-(метакрилоилглицил-L-фенилаланил-L-лейцилглицил)доксорубина и 1-N-(метакрилоилглицил)-2-гидроксипропана (А4)

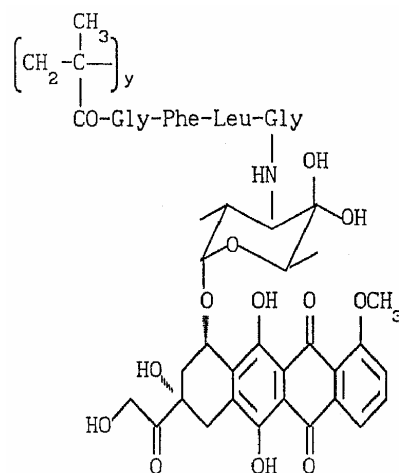
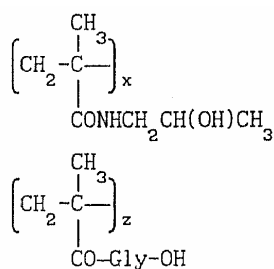


4'-эпи-доксорубиновый полимерный конъюгат общей формулы А4 (10 г) получается взаимодействием 4'-эпи-3'-N-(глицил-L-лейцил-L-фенилаланил)доксорубина (5e: 1,48 г, 1,72 ммоль) с полимерным предшественником общей формулы В1, а затем с 1-аминопропанолом (0,13 мл), как описано в примере 14.

Содержание 4-эпидоксорубин·HCl: 9% (м/м)

Пример 17

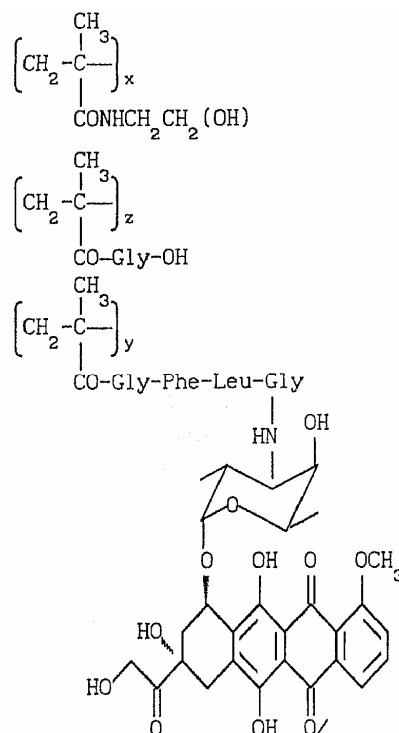
Сополимер 3-метакрилоиламино-2-гидроксипропана, 4'-эпи-3'-N-(метакрилоилглицил-L-лейцилглицил)доксорубина и N-метакрилоилглицина (А5)



Указанное в заголовке соединение общей формулы А5 получается, как описано в примере 13, из полимерного промежуточного соединения общей формулы В2, 4'-эпи-3'-N-(глициллейцил-L-фенилаланил)доксорубина (5e) и N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина в безводном диметилформамиде.

Пример 18.

Сополимер N-(метакрилоилглицил)-гидроксиэтиламида, 3'-N-метакрилоилглицил-L-фенилаланил-L-лейцилглицил)доксорубина и N-метакрилоилглицина (А6)



Указанное в заголовке доксорубиновое полимерное пролекарство общей формулы А6 получается конденсацией полимерного промежуточного соединения общей формулы В4 и 3'-N-(глициллейцил-L-фенилаланил)доксорубина (5e) и N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина в безводном диметилформамиде, как описано в примере 13.

Пример 19

Противоопухолевая активность соединения общей формулы А1 на М 5076

Противоопухолевая активность соединения общей формулы А1, описанного в примере 13, определяется следующим образом.

Материалы и методы.

1. Применение лекарства.

Все лекарственные растворы получают непосредственно перед использованием. Лечение заключается в применении в объеме 10 мл/кг массы тела на 5, 9 и 15 дни.

Антрациклины растворяются в стерильной воде, и концентрации определяются спектрофотометрически.

Лиофилизированные полимеры растворяются в воде с получением исходного раствора 25 мг антрациклинового эквивалента на 1 мл в соответствии с приведенной концентрацией, дальнейшее разбавление проводится в воде.

2. Твердая опухоль.

М 5076 мышьяная ретикулосаркома получается серийным внутримышечным проходом и трансплантируется ($5 \cdot 10^5$ клетки/мышь) подкожно в С 75 В1/6 мыши для оценки активности на первичной опухоли.

3. Оценка противоопухолевой активности и токсичности.

Рост опухоли определяется измерением с помощью циркуля, и масса опухоли определяется согласно Герану и др. (смотри Cancer Chemother. Rep. 3,1 (1972)).

Противоопухолевая активность определяется временем (дни) достижения 1 г массы опухоли и

выражается как замедление роста опухоли ($ЗРО = TGD$).

Среднее увеличение времени выживания ($T/C\%$) рассчитывается с использованием следующей формулы:

$T/C = (\text{среднее время выживания } (T/C\%) / \text{среднее время выживания контрольной группы}) \cdot 100$

Токсичность оценивается на основании снижения массы тела и грубого вычисления, главным образом, по уменьшению селезенки и печени.

Нейротоксичность определяется как число мышей с дефектом двигательной функции.

Результаты приводятся в табл. 1.

Пример 20

Противоопухолевая активность соединения общей формулы А3 от М 5076.

Противоопухолевая активность соединения общей формулы А3, описанного в примере 15, определяется с использованием метода и материалов из примера 19. Результаты приводятся в табл. 2.

Противоопухолевая активность соединения общей формулы А4 (сополимер 3-метакрилоил-амино-2-гидроксипропана, 4'-эпи-3'-N-(метакрилоилглицил-L-лейцилглицил)доксорубин и 1-N-(метакрилоилглицил)-2-гидроксипропана) в сравнении с 4'-эпидоксорубин·HCl.

Противоопухолевая активность определяется по одинаковой программе (графику) для 4'-эпидоксорубин·HCl и соединения формулы А4.

Против мышьяной ретикулосаркомы соединения общей формулы А4 является более активным, чем свободное лекарство при всех испытанных дозах (см. табл. 3).

Таблица 1

Соединение	Доза ¹⁾ мг/кг	ТДО (ЗРО) ²⁾ (1г)	А.И.С.: % ингиб	T/C ³⁾ %	Токсичность ⁴⁾	LTS ⁵⁾	Без опухо- ли ⁶⁾
Контрольн.	-	15	-	-	-	0/10	0/10
Доксорубин	7,5 10,0	35 39	90 100	146 153	0/26 3/26	0/26 0/26	0/26 0/26
А1	30,0 40,0 50,0	80 н. о. н. о.	100 100 100	378 >869 >369	0/10 0/10 2/10*	4/10 6/10 7/10	3/10 5/10 7/10

Примечания: Подкожная инъекция 5×10^5 - клетки/мышь

н. о. - не определено

* - нейротоксичность

1) - лечение на 5, 9 и 15 дни,

2) - ТДО (ЗРО) - замедление роста опухоли.

3) - $\frac{\text{среднее время выживания лечаемой группы}}{\text{среднее время выживания контрольной группы}} \cdot 100$

4) - число смертей от отравления/общее число мышей

5) - число выживших/общее число мышей

6) - число мышей без опухоли в конце опытов к общему числу мышей

Таблица 2

Соединение	Доза ¹⁾ мг/кг	ТДО (ЗРО) ²⁾ (1г)	А.И.С.: % ингиб	Т/С ³⁾ %	Токсичность ⁴⁾	LTS ⁵⁾	Без опу- холи ⁶⁾
Контрольн.	-	15	-	-	-	0/10	0/10
4-деметокси- даунорубицин	1,0	19	47	142	0/9	0/9	0/9
	1,5	28	80	160	0/9	0/9	0/9
A3	4,0	49	100	198	0/10	0/10	0/10
	5,0	50	100	205	0/10	0/10	0/10
	6,0	55	100	212	0/9	0/9	0/9

Примечания: Подкожная инъекция 5×10^5 -клетки/мышь

н. о.- не определено

* - нейротоксичность

¹⁾ - лечение на 5,9 и 15 дни,

²⁾ ТДО (ЗРО)-замедление роста опухоли.

³⁾ $\frac{\text{среднее время выживания лечаемой группы}}{\text{среднее время выживания контрольной группы}} \times 100$

⁴⁾ число смертей от отравления/общее число мышей

⁵⁾ число выживших/общее число мышей

⁶⁾ число мышей без опухоли в конце опытов к общему числу мышей

Таблица 3

Соединение	Доза ¹⁾ мг/кг	ТДГ ²⁾ (1г)	А.И.С.: % ингиб	Т/С ³⁾ %	Токсичность ⁴⁾
4'-эпидоксорубицин	5	22	51	105	0/9
	7,5	34	90	124	0/9
HCl	10	40	99	125	0/9
A4	10	62	100	190	0/9
	20	62	100	219	0/9
A4	30	71	100	229	0/9

Примечания: Подкожная инъекция 5×10^5 -клетки/мышь

н. о.- не определено

* - нейротоксичность

¹⁾ - лечение на 5,9 и 15 дни,

²⁾ ТДО (ЗРО) - замедление роста опухоли.

³⁾ $\frac{\text{среднее время выживания лечаемой группы}}{\text{среднее время выживания контрольной группы}} \times 100$

⁴⁾ число смертей от отравления/общее число мышей

Токсичность соединения общей формулы А4 (сополимер 3-метакрилоиламино-2-гидроксипропана, 4'-эпи-3-N-(метакрилоилглицил-L-фенилаланил-L-лейцилглицил) доксорубина и 1-N-(метакрилоилглицил-2-гидроксипропана) в сравнении с 4'-эпидоксорубицин-HCl.

Токсичность оценивается на здоровой С 57В1F-мыши, при обработке внутривенно, единичными зонами 4'-эпидоксорубицин-HCl (13,2-16,15-19-20,6-25,2 и 33,2 мг/кг) и соединения А4 (50-63-79-100-120-140 мг/кг).

Для определения LD₁₀ и LD₅₀ в здоровой С 57В1F-мыши используется анализ с определением вероятности эффекта после 3-недельного восстановления.

Терапевтический индекс рассчитывается с использованием следующей формулы:

$$\text{Терапевтический индекс} = \frac{DE_{50} (\text{Доза эффективная } 50)}{ID_{50} (\text{смертельная доза } 50)}$$

Эффективная доза 50 является дозой, вызывающей 50% снижение роста опухоли. Безопасность животных наблюдается в течение 90 дней.

Значения LD₁₀ и LD₅₀ в С 57В1F-мыши являются следующими.

Соединение	ID ₁₀ (мг/кг)	I ₅₀ (мг/кг)
4'-эпидоксо- рубицин-HCl	16,6	21,4
A4	128,0	389
		(экстраполи- рованное значение)

Малая токсичность соединения А4 позволяет применять более высокие дозы продукта и получать равные или лучшие результаты, чем с 4'-эпидоксорубицин-HCl, и получать лучший терапевтический индекс. Терапевтический индекс для 4'-эпидоксорубицин-HCl и соединения А4 равняется, соответственно, 3 и 40.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
