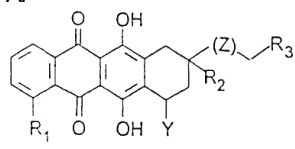


Данное изобретение относится к применению производных фтор антрациклинона и фтор антрациклина в качестве ЯМР-зондов при мониторинге связанных с амилоидозом заболеваний. Термин амилоидоз относится к различным заболеваниям, общей характеристикой которых является тенденция к агрегации и преципитации специфических белков в виде нерастворимых фибрилл во внеклеточном пространстве, вызывающая структурное и функциональное повреждение органов и тканей. Классификация амилоида и амилоидоза была недавно пересмотрена в Bulletin of the World Health Organisation 71(1): 105 (1993). Все различные типы амилоида имеют одну и ту же ультраструктурную организацию в виде антипараллельных β -складчатых листов, вопреки тому факту, что они содержат множество сильно отличающихся белковых субъединиц [см: Glenner G.G., New England Journal of Medicine 1980, vol. 302, p. 1283; Ghiso J. et al., Molecular Neurobiology 1994, vol. 8, P. 49].

Клиническое развитие заболевания зависит от избирательности вовлечения в патологический процесс органов; прогноз может быть крайне неблагоприятным в случае инфильтрации сердца (среднее выживание <12 месяцев) или более благоприятным в случае вовлечения в патологический процесс почек (среднее выживание ~5лет). Соединения формулы А способны взаимодействовать с амилоидными отложениями и бляшками и с амилоидными фибриллами. Таким образом, данное изобретение относится к применению соединения, которое представляет собой производное антрациклина или антрациклинона, общей формулы А:



где:

- R₁ обозначает водород, гидроксил, галоген, C₁-C₈ алкоксил, amino, который может быть замещен бензилом, ацилом или трифторацетиллом, или OSO₂(R₄), где R₄ обозначает алкил или арил, каждый из которых является незамещенным или замещен одним или несколькими атомами фтора;

- R₂ обозначает

водород или

гидрокси;

- R₃ обозначает

водород,

гидроксил,

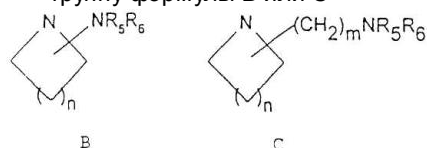
амино, который может быть моно- или -дизамещен C₁-C₁₆ алкилом, арилом, аралкилом, C₂-C₈ алкенилом, C₃-C₈ циклоалкилом, C₅-C₈ циклоалкенилом, которые являются незамещенными или замещенными или замещены одним или несколькими атомами фтора или трифторметильными группами,

морфолино, который может быть замещен C₁-C₁₆ алкилом, арилом, аралкилом, C₂-C₈ алкенилом, C₃-C₈ циклоалкилом, C₅-C₈ циклоалкенилом, которые являются незамещенными или замещены одним или несколькими атомами фтора или трифторметильными группами,

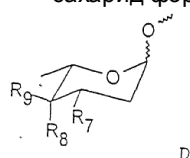
пиперазино, который может быть замещен трифторацетиллом или трифторметансульфонилом или арил(трифторметиллом),

тетрагидропиридин,

группу формулы В или С



в которых R₅ обозначает водород или C₁-C₆ алкил, R₆ обозначает COCF₃ или SO₂CF₃, n и m, которые являются одинаковыми или различными, каждый, равны целому числу от 1 до 4, или сахарид формулы D, определенной ниже



- R₇ обозначает

водород,

гидроксил,

амино, который является незамещенным или замещен ацилом, трифторацетиллом, трифторметансульфонилом, остаток природной аминокислоты или синтетической аминокислоты или остаток ди- или трипептида;

- R₈ и R₉ оба обозначают водород или один из R₈ или R₉ обозначает гидроксил, C₁-C₄ алкоксил, тетрагидропиранил, галоген или OSO₂(R₄), как указано выше, а другой из R₈ или R₉ обозначает водород или amino, который является незамещенной или замещена ацилом, трифторацетиллом или трифторметансульфонилом;

- Y обозначает

водород,
гидрокси,
C₁-C₁₆ алкоксил,
амино, который может быть незамещенным или замещен ацилом, трифторацетиллом, C₁-C₁₆алкилом, арилом или аралкилом, которые являются незамещенными или замещены одним или несколькими атомами фтора, морфолино, пиперазино, которые могут быть замещены трифторацетиллом или трифторметансульфониллом, тетрагидропиридин, группу формулы В или С, как указано выше, или сахарид формулы D, как указано выше;

Z обозначает

C=O,

CHON или

CH₂;

где по меньшей мере один атом фтора присоединен к скелету антрациклинона или антрациклина или находится в группах, присоединенные в различных положениях молекулы;

или его фармацевтически приемлемой соли для диагностики амилоидоза или для получения композиции для такой диагностики.

Когда R₇ является остатком природной аминокислоты или остатком ди- или трипептида, он предпочтительно находится в форме N-трифторацетила или трифторметансульфонила.

Предпочтительными являются соединения формулы А, где:

- R₁ обозначает

водород,

гидрокси,

фтор,

метокси,

амино,

аминотрифторметансульфонил (NHSO₂CF₃),

аминотрифторацетил или

О-мезил [OSO₂CH₃];

- R₂ обозначает гидроксил;

- R₃ обозначает

C₁-C₆ моно- или бис-алкиламино, который является незамещенным или замещен одним или несколькими атомами фтора,

бензилтрифторэтиламино,

морфолинил,

трифторметансульфонилпиперазинил,

трифторацетилпиперазинил,

тетрагидропиридинил,

группу формулы В или С, в которых

- R₅ обозначает водород или метил или этил,

- R₆ обозначает COCF₃ или SO₂CF₃,

- n равно 2 или 3,

- m равно 2 или 3,

или сахарид формулы D, где

- R₇ обозначает

амино,

аминотрифторацетил,

аминотрифторметансульфонил или

α- или ε-N-трифторацетиллизин;

- R₈ обозначает

гидрокси,

йод, или

О-мезил

- R₉ обозначает водород;

- Y обозначает

водород,

гидрокси,

метокси,

амино,

C₁-C₆ моно- или бис-алкиламино, который является незамещенным или замещен одним или несколькими атомами фтора,

бензилтрифторэтиламино,

морфолинил,

трифторацетилпиперазинил,

трифторметансульфонилпиперазинил,

тетрагидропиридинил,

группу формулы В или С, в которых

- R₅ обозначает водород или метил или этил,

- R₆ обозначает COCF₃ или SO₂CF₃,

- n равно 2 или 3,

- m равно 2 или 3 или

сахарид формулы D, где:

- R₇ обозначает

амино,

аминотрифторацетил,
аминотрифторметансульфонил,
 α - или ε -(N-трифторацетил) лизин, или
 α - или ε -(N-трифторметансульфонил)лизин;
- R₈ обозначает
гидроксил,
йод, или
О-мезил [OSO₂CH₃];
- R₉ обозначает водород;
- Z обозначает C=O, или
CHON.

Более предпочтительны соединения формулы А, где:

- R₁ обозначает
водород или
метокси;
- R₂ обозначает гидроксид;
- R₃ обозначает
водород,
гидроксил,
гексафтордиэтиламино,
бензилтрифторэтиламино,
морфолино,
трифторметансульфонилпиперазин,
трифторацетилпиперазино,
тетрагидропиридин,
группу формулы В или С, в которых
- R₅ обозначает водород или метил,
- R₆ обозначает COCF₃,
- n равно 2 или 3,
- m равно 2 или 3 или
сахарид формулы D,
- где R₇ обозначает амина,
аминотрифторметансульфонил,
аминотрифторацетил или
 α - или ε -N-трифторацетиллизин;
- R₈ обозначает йод;
- R₉ обозначает водород;
- Y обозначает
водород,
гидроксид,
гексафтордиэтиламин,
бензилтрифторэтиламино,
морфолино,
трифторметансульфонилпиперазин,
трифторацетилпиперазино, или
сахарид формулы В, где
- R₅ обозначает
амина,
аминотрифторацетил, или
 α - или ε -N-трифторацетиллизин;
- R₆ обозначает йод;
- R₇ обозначает водород;
- Z обозначает C=O.

Дополнительными предпочтительными соединениями формулы А являются соединения, где:

- R₁ обозначает метокси;
- R₂ обозначает гидроксид;
- R₃ обозначает
водород,
гидроксил,
гексафтордиэтиламин,
бензилтрифторэтиламино,
морфолино,
трифторацетилпиперазино, или
тетрагидропиридин;
- Y обозначает
водород,
гидроксид,
трифторметансульфонилпиперазин,
трифторацетилпиперазино,
группу формулы В или С, в которых
- R₅ обозначает водород,
- R₆ обозначает COCF₃,

- n равно 3,
- m равно 2,
- или сахарид формулы D, где
- R₇ обозначает
- амино,
- аминотрифторацетил, или
- α- или ε-N-трифторацетиллизин;
- R₈ обозначает йод;
- R₉ обозначает водород;
- Z обозначает C=O.

Термин "алкил", как здесь используется, включает в себя как радикалы с линейной цепью, так и радикалы с разветвленной цепью до 16 атомов углерода, например, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, трет-бутил, изобутил, пентил, гексил, изогексил, гептил, октил, нонил, децил, ундецил, додецил, их различные изомеры с разветвленной цепью, а также такие группы, содержащие в качестве заместителей один или несколько атомов галогена, таких как фтор, хлор, бром, йод, CF₃, заместитель алкокси, заместитель арил, заместитель алкиларил, заместитель галогенарил, заместитель циклоалкил или заместитель алкилциклоалкил.

Термин "алкенил", как здесь используется включает в себя как радикалы с линейной цепью, так и радикалы с разветвленной цепью, содержащие до 8 атомов углерода, например, аллил, бутенил, гексенил, октенил.

Термин "циклоалкил", как здесь используется, обозначает циклоалкильную группу, имеющую 3-8 атомов углерода, например, циклопропил, цикlopентил, цикlopентилметил, циклогептил и циклооктил.

Термин "арил", как здесь используется, включает в себя как моноциклические, так и бициклические группы, содержащие от 6 до 10 атомов углерода, в кольцевой части, такие как фенил, нафтил, замещенный фенил или замещенный нафтил, где заместитель на фениле или нафтиле может быть, например, C₁-C₆ алкилом, галогеном, C₁-C₆ алкокси.

Термин «галоген», как здесь указано, обозначает фтор, хлор, бром и йод.

Термин "аралкил", как здесь указано, относится к алкильным группам, рассмотренным выше, имеющим арильный заместитель, например, бензил, фенетил, дифенилметил и трифенилметил.

Термин "алкокси", как здесь указано, вышеуказанные алкильные группы, связанные с атомом кислорода.

Данное изобретение включает в себя также все возможные изомеры и их смеси, в том числе диастереоизомерные смеси и рацемические смеси, происходящие из возможной комбинации стереохимических центров R и S в C-7 и C-9, а также α- или β-гликозидной связи сахара.

Данное изобретение обеспечивает соли соединений формулы A, которые имеют образующие соль группы, в частности, соли соединений, имеющих карбоксильную группу, основную группу (например, аминогруппу).

Эти соли представляют собой, в частности, физиологически переносимые соли, например, соль щелочного металла и соль щелочно-земельного металла (например, соли натрия, калия, лития, кальция и магния), соли аммония и соли подходящего органического амина или аминокислоты (например, соли аргинина, прокаина) и кислотнo-аддитивные соли, образованные подходящими органическими или неорганическими кислотами, например, хлороводородной кислотой, серной кислотой, карбоновой кислотой и органическими сульфоновыми кислотами (например, уксусной, трифторуксусной, метансульфоновой, п-толуолсульфоновой кислотой).

Данное изобретение включает в себя все возможные стереоизомеры, а также их рацемические или оптически активные смеси. Соединения формулы A характеризуются присутствием атомов фтора или групп, несущих атомы фтора, присоединенных в различных положениях скелета антрациклина. Например, атом фтора может быть присоединен в C-4 агликоновой части или в C-4' сахарного остатка. Группы, несущие атомы фтора, например, аминотрифторацетильная группа, NHCOCF₃, или аминотрифторметансульфонил, NHSO₂CF₃, могут быть присоединены в различных положениях молекулы, таких как: C-4, C-6 и C-11 агликоновой части антрациклина или C-3' или C-4' сахарного остатка. Трифторацильная или трифторметансульфонильная группы могут также находиться на заместителе, присоединенном к C-14 агликона, таком как, 14-[1-(4-трифторацил)пиперазин], или к C-3' сахарного остатка, таком как, α- или 3'-N-[ε-N-трифторацетил)лизин]. Предпочтительно, антрациклины формулы A, в которых аминокислота находится в форме N-ацилпроизводного, такого как N-трифторацетил- или N-трифторметансульфонилпроизводное, превращают в водорастворимые производные при помощи аминокислотных заместителей, присоединенных в положении C-14.

Известные несколько 3-N-трифторацетилпроизводных антрациклинов, например, 4-алкоксипроизводные (см: U.S. Pat. 4 166 848, 4.9.1979), или 6-алкоксипроизводные (см: U.S. Pat. 4 191 756, 4.3.1980), или 11-алкоксипроизводные (см: U.S. Pat. 4 191 755, 4.3.1980), или 4'-йодпроизводные (см: U.S. 4 345 070, 17.8.1982), другие были сообщены F. Arcamone in Doxorubicin, Medicinal Chemistry, Vol. 17, Academic Press, 1981. Терапевтическое использование для лечения амилоидоза некоторых соединений формулы A уже было заявлено авторами в патентных заявках PCT W096/04895 и W096/07665.

Данное изобретение относится также к новым соединениям формулы A, указанной выше, и к их терапевтическому применению при лечении амилоидоза, где

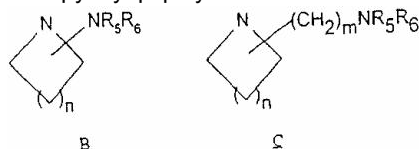
- R₃ обозначает

амино, который является моно- или дизамещенным C₁-C₁₆ алкилом, арилом, аралкилом, C₂-C₈ алкенилом, C₃-C₈ циклоалкилом, C₅-C₈ циклоалкенилом, замещенным одним или несколькими атомами фтора или трифторметильными группами,

морфолино, замещенным C₁-C₁₆ алкилом, арилом, аралкилом, C₂-C₈ алкенилом, C₃-C₈ циклоалкилом, C₅-C₈ циклоалкенилом, замещенным одним или несколькими атомами фтора или трифторметильными группами,

пиперазино, замещенным трифторацетил или трифторметансульфонилом, или тетрагидропиридин или

группу формулы В или С



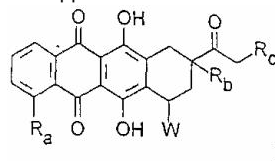
в которых R_5 обозначает водород или C_1-C_6 алкил, R_6 обозначает $COCF_3$ или SO_2CF_3 , n и m , которые являются одинаковыми или различными, каждый, равны целому числу от 1 до 4.

Следующие конкретные соединения являются новыми *per se*:

N-трифторацетил-4'-йоддоксорубин (A1),
14-(4-трифторацетилпиперазин-1-ил)дауномицин (A2),
14-(4-трифторметансульфонилпиперазин-1-ил)дауномицин (A3),
14-[4-(3-трифторметилфенил)пиперазин-1-ил]дауномицин (A4),
14-[N-этил-N-(3,5-бис-трифторметилфенил)метил]дауномицин (A5),
14-[N-бензил-N-(2,2,2-трифторэтил)]аминодауномицин (A6) и 14-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-1-ил)-4'-деокси-4'-йод-3'-трифторацетилдаунорубин (A7).

Фторпроизводные общей формулы А могут быть получены согласно стандартным методам, описанным в литературе, посвященной антрациклинонам или антрациклинам, исходя из соединений формулы Е

где:

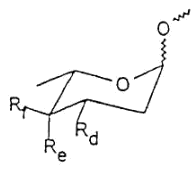


- R_a обозначает водород, гидроксил, метокси, amino, $OSO_2(R_4)$, где R_4 имеет указанные выше значения;

- R_b обозначает водород или гидроксил;

- R_c обозначает водород, бром или гидроксил,

- W обозначает водород, гидроксил или остаток сахара формулы W



в которой R_d обозначает водород, гидроксил или amino, R_e и R_f оба обозначают водород или один из R_e или R_f обозначают гидроксил, алкоксил, галоген или $OSO_2(R_4)$,

где R_4 имеет указанные выше значения, и другой из R_e и R_f обозначает водород или amino.

В частности, соединения формулы А, где R_3 является аминоксодержащей группой, которая содержит атомы фтора, могут быть получены взаимодействием 14-бромпроизводных формулы Е ($R_c=Br$), полученных, как описано в J. Org. Chem., 42, 3653 (1977), из соответствующего соединения формулы Е, в котором R_c является водородом, с моно- или дизамещенным аминоксодержащим соединением в апротонном органическом растворителе, таком как метиленхлорид или ацетон, или диметилформамид, или тетрагидрофуран, при температуре от $4^\circ C$ до $40^\circ C$ в течение от 4 до 48 часов. Предпочтительные условия включают использование избытка амина в 2-5 раз относительно 14-бромпроизводного, использование метиленхлорида в качестве растворителя и проведение процесса при комнатной температуре в течение 24 часов. Полученное 14-аминопроизводное может быть, если требуется, подвергнуто взаимодействию с подходящим реагентом, таким как ангидрид трифторметансульфоновой или трифторуксусной кислоты, для введения желательной содержащей фтор группы.

В другом примере: соединения формулы А, содержащие трифторацетильную группу, такие как соединения, в которых R_7 является группой $NHCOCF_3$, могут быть получены взаимодействием соответствующих антрациклинов формулы Е, в которой R_d является аминоксодержащей группой, с трифторуксусным ангидридом в апротонных органических растворителях, таких как сухой метиленхлорид, при $0^\circ C$ от 15 минут до 3 часов.

Пример исходных антрациклинонов или антрациклинов для получения фторпроизводных формулы А включает: дауномицин (E1: $R_a=OCH_3$, $W=OH$, $R_b=OH$, $R_c=H$), 4-деметоксидауномицин (E2: $R_a=H$, $W=OH$, $R_b=OH$, $R_c=H$) и их соответствующие 14-бромпроизводные (E3 и E4, соответственно, в которых $R_c=Br$), 7-деоксипроизводные (E5 и E4, соответственно, в которых $W=H$), 7-деокси- и 14-бромпроизводные (E7 и E8, соответственно, в которых $W=H$ и $R_c=Br$) или 7-бромпроизводные (E9 и E10, соответственно, в которых $W=Br$); гликозиды 4'-йоддаунорубина (E11: $R_a=OCH_3$, $R_b=OH$, $R_c=H$, $W=W'$ где $R_d=NH_2$, $R_e=I$, $R_f=H$), 4'-йоддоксорубин (E12: $R_a=OCH_3$, $R_b=R_c=OH$, $W=W'$, $R_e=NH_2$, $R_f=I$, $R_g=H$).

Все эти соединения хорошо известны в литературе.

Связывание антрациклинонов и антрациклинов с $\alpha\beta$ -фибриллами

Фибриллы из пептида $\alpha\beta 25-35$ суспендируют в растворе 10% диметилсульфоксида в дистиллированной воде, содержащем исследуемое соединение в различных концентрациях, и инкубируют при комнатной температуре в течение 60 минут. После инкубирования пробы центрифугируют при 15000g в течение 10 минут при комнатной температуре и супернатант удаляют. Осадки фибрилл промывают три раза 0,3мл 10% ДМСО в дистиллированной воде, растворяют в этаноле и связанное соединение определяют количественно флуоресцентным детектированием. Затем рассчитывают EC_{50} при помощи

уравнения равнобочной гиперболы (изотермы связывания) и определяют средство исследуемого соединения в отношении Аβ-фибрилл.

Соединения данного изобретения имеют EC₅₀, сравнимую с EC₅₀ йоддоксорибуцина (IDOX), который использовали в качестве соединения сравнения (см. W095/04538). В качестве примера представлены следующие данные:

| | |
|---------------|----------------------------------|
| IDOX | EC ₅₀ =52,04±10,66мкМ |
| Соединение A2 | EC ₅₀ =8,16±1,32мкМ |

Мономер пептида Аβ1-40 растворяют в 100мМ Трис-НСI-буфере с рН 7,4 и инкубируют в течение 5 дней при 37°C. Осажденные фибриллы центрифугируют, промывают дистиллированной водой, центрифугируют снова и ресуспендируют в дистиллированной воде при концентрации, эквивалентной 230 мономерам. Суспензию фибрилл обрабатывают ультразвуком в течение 1 минуты и замораживают при -20°C в виде аликвот и хранят до использования. Исследование связывания инициируют добавлением 33мкл 230мкМ суспензии Аβ1-40-фибрилл к раствору исследуемого соединения в воде, содержащей 3% (об/об) диметилсульфоксида, при различных концентрациях таким образом, чтобы получить конечный объем 100мкл. Полученную суспензию инкубируют при комнатной температуре в течение 15 минут. После инкубирования суспензию наносят на миллипоровый фильтр (Millipore ultrafree MC, 0,22мкм удерживание пор) и центрифугируют в течение 5 минут при 4°C. Фильтр промывают два раза по 100мкл дистиллированной воды и связанное соединение извлекают из фильтра промыванием фильтра 100мкл смеси 0,6М хлороводородная кислота/этанол 50:50 (об/об). Количество связанного соединения определяют при помощи ВЖХ. Неспецифическое связывание соединений с фильтром оценивают обработкой проб этих соединений, аналогичной описанной ранее обработке, в отсутствие фибрилл. Это количество соединения, связанного с фильтром, вычитают из общей величины связывания, полученной в присутствии фибрилл. Параметры связывания определяют компьютеризованным нелинейным регрессионным анализом согласно уравнению Хилла. Данные выражают в наномолях связавшегося соединения на мг пептидного мономера (Вмакс).

В качестве примера приведены следующие данные.

| | |
|---------------|----------------------------|
| IDOX | Вмакс=122,2нмоль/мг Аβ1-40 |
| Соединение A5 | Вмакс=223,1нмоль/мг Аβ1-40 |

Соединения данного изобретения обладают также антифибриллогенной активностью. При инкубировании Аβ-пептидов с этими соединениями наблюдают уменьшение образования амилоидных фибрилл. Количество амилоида, которое происходит из агрегации пептида, можно оценить при помощи тиофлавин Т (ThT)-теста, описанного в литературе Naiki et al. Analytical Biochemistry 1898, vol. 177, p. 244 и H. LeVine III, Protein Science 1993, vol. 2, p. 404. Соединения инкубируют при концентрации 30мкМ в 50мкМ фосфатном буфере рН 5 при 25°C на протяжении 24 часов с 100мкМ пептидом. Затем инкубированные пробы разбавляют содержащим цитрат натрия буфером рН 5, содержащим 47мкМ ThT. Флуоресценцию измеряют с возбуждением при 420нм и эмиссией при 490нм в флуоресцентном спектрофотометре Kontron и получают средние величины после вычитания флуоресценции фона ThT. Чем меньше флуоресценция, тем меньше количество амилоида, образовавшегося во время периода инкубирования.

В качестве примеров приведены следующие данные с пептидом Аβ25-35.

| СОЕДИНЕНИЕ | Флуоресценция ThT (% от контроля) |
|-----------------|--------------------------------------|
| йоддоксорибуцин | 40,95 |
| A1 | 20,58 |
| A2 | 22,24 |
| A3 | 23,00 |
| A4 | 22,27 |
| A5 | 23,05 |
| A6 | 34,99 |
| A7 | 33,24 |

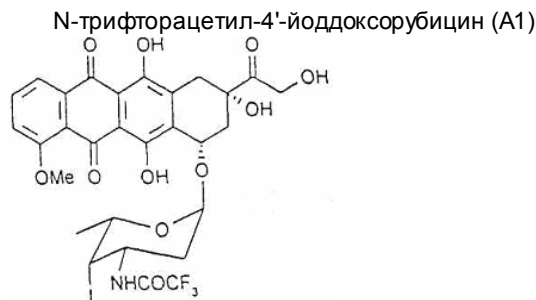
Как указывалось выше, соединения данного изобретения способны связываться с фибриллами и амилоидными отложениями и бляшками из амилоидогенных пептидов. В случае болезни Альцгеймера амилоидными отложениями являются Аβ1-40 или Аβ1-42(3), см. Graving S.A. et al., Journal of Biological Chemistry, 1995, vol. 270, p. 7013. Атомы ¹⁹F, содержащиеся в этих соединениях, могут определяться спектроскопией ядерного магнитного резонанса (ЯМР): следовательно, эти соединения могут найти применение при определении in vivo амилоидных отложений и бляшек, что позволит диагностировать и наблюдать развитие заболеваний, связанных с образованием и отложением в различных органах и тканях амилоидных белков, как это имеет место в случае первичного и вторичного периферического, системного и центрального амилоидоза, такого как, например, болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, губчатая энцефалопатия. Соединения данного изобретения могут также найти применение в мониторинге эффектов терапии при всех амилоидогенных заболеваниях.

Данное изобретение относится также к способам применения описанных соединений для ¹⁹F магнитного резонансного изображения (MRI). Такие способы включают в себя введение живому субъекту эффективного количества ¹⁹F-меченого соединения с последующим определением вызываемого им сигнала ¹⁹F-ЯМР.

Данное изобретение включает в себя также, в его объеме, фармацевтические композиции, содержащие одно или несколько новых или известных соединений формулы А в качестве активных ингредиентов в сочетании с фармацевтически приемлемыми носителями, наполнителями или другими добавками, если необходимо, для применения в диагностическом способе или при лечении амилоидоза. В диагностике или лечении амилоидоза соединения формулы А или его фармацевтически приемлемую соль обычно вводят пациенту в количестве от 0,1 до 50мг/кг массы тела.

Следующие далее Примеры иллюстрируют данное изобретение без его ограничения.

Пример 1:



Гидрохлорид 4'-йоддоксорубина (E12: 0,7г, 1ммоль) суспендируют в безводном метиленхлориде (50мл), охлаждают при 0°C и добавляют по каплям в течении 5 минут при перемешивании раствор трифторуксусного ангидрида (0,26мг, 0,2ммоль) в сухом метиленхлориде (5мл). Смесь хранят при перемешивании в течении 30 минут, затем добавляют водный раствор гидрокарбоната натрия (20мл 5% раствора). После 15 минут органическую фазу отделяют, промывают водой (50мл), сушат над безводным сульфатом натрия и концентрируют до небольшого объема при пониженном давлении. Указанное в заголовке соединение A1 (0,7г) извлекают добавлением смеси этиловый эфир/гексан (1:1об/об).

ТСХ на Кизельгеле F₂₅₄ (Мерк), элюирующая система метиленхлорид:ацетон (95:5 по объему) Rf=0,53

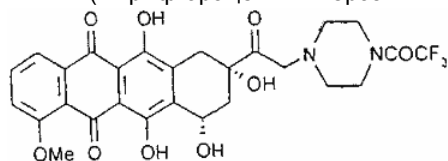
FD-MS: m/e 748 [M]⁺

¹H-NMR (200Mz, CDCl₃) δ:

1,30 (d, J=6,1Hz, 3H, CH₃-5'); 1,84 (dd, J=4,6, 13,4Hz, 1H, H-2'eq); 2,05 (m, 1H, H-2'ax); 2,24 (dd, J=4,2, 14,9Hz, H-8ax); 2,36 (ddd, J=1,5, 2,2, 14,9Hz, 1H, H-8eq); 2,99 (s, J=5,1Hz, 1H, CH₂OH); 3,05 (d, J=1,5, 18,9Hz, 1H, H-10eq); 3,42 (dq, J=1,5, 6,1Hz, 1H, H-5'); 3,60 (m, 1H, H-3'); 4,09 (s, 1H, 4-OCH₃); 4,28 (s, 1H, OH-9); 4,61 (m, 1H, OH-9); 4,77 (d, J=5,0Hz, 2H, CH₂-14); 5,30 (dd, J=2,2, 4,2Hz, 1H, H-7); 5,52 (d, J=8,3Hz, 1H, NH-CO); 7,40 (dd, J=1,1, 8,6Hz, H-3); 7,79 (dd, J=7,7, 8,6Hz, H-2); 8,04 (dd, J=1,1, 7,7Hz, 1H, H-1); 13,24 (s, 1H, OH-11); 14,00 (s, 1H, OH-6).

Пример 2:

14-(4-трифторацетилпиперазин-1-ил)дауномицин (A2)



14-Бромдауномицин (E3, 3,2г, 6,9ммоль), полученный, как описано в J. Org. Chem., 42, 3653 (1977), растворяют в сухом метиленхлориде (200мл), обрабатывают безводным пиперазином (1,19г, 13,8ммоль) и выдерживают при комнатной температуре в течение 18 часов.

Затем растворитель удаляют при пониженном давлении и сырой продукт подвергают флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью метиленхлорид-метанол-уксусная кислота (90:10:0,3 по объему) с получением 14-(N-пиперазинил)дауномицина (0,9г, выход 27%).

FAB-MS: m/z 483 [M+H]⁺; m/z 447 [M+H-2H₂O]⁺

¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ:

2,14 (dd, J=5,0, 14,8Hz, 1H, H-8ax); 2,36 (ddd, J=2,0, 2,2, 14,8Hz, 1H, H-8eq); 2,59, 2,98 (two multiplets, 8H, N(CH₂CH₂)₂NH); 2,97 (d, J = 18,7Hz, 1H, H-10ax); 3,16 (dd, J=2,0, 18,7Hz, 1H, H-10eq); 3,58, 3,69 (two doublets, J=16,5Hz, 2H, CH₂-14); 4,08 (s, 3H, OCH₃); 5,26 (dd, J=2,2, 5,0Hz, 1H, H-7); 7,38 (dd, J=0,9, 8,6Hz, 1H, H-3); 7,77 (dd, J=7,7, 8,6Hz, 1H, H-2); 8,01 (dd, J=1,1, 7,7Hz, 1H, H-1).

Раствор 14-(N-пиперазинил)дауномицина (0,35г, 0,7ммоль) и триэтиламина (0,2г, 1,4ммоль) в 30мл метиленхлорида обрабатывают трифторуксусным ангидридом (0,1г, 0,7ммоль) и перемешивают при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляют метиленхлоридом, промывают водой и сушат над безводным сульфатом натрия. Затем растворитель удаляют при пониженном давлении и остаток подвергают флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью метиленхлорида и метанола (8:2 по объему), с получением указанного в заголовке соединения A2, которое превращают в соответствующий гидрохлорид (0,23г, выход 50%) путем добавления стехиометрического количества метанольного хлористого водорода с последующим осаждением этиловым эфиром.

ТСХ на Кизельгеле F₂₅₄ (Мерк), элюирующая система метиленхлорид/метанол/уксусная кислота/вода (60:8:2:1 по объему), Rf=0,57.

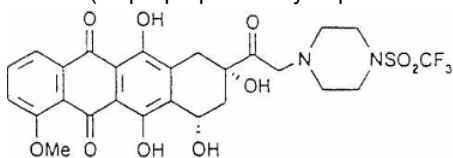
FAB-MS: m/z 579 [M+H]⁺; m/z 562 [M+H-H₂O]

¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ:

2,03 (dd, J=4,0, 14,3Hz, 1H, H-8ax); 2,30 (m, 1H, H-8eq); 2,90, 3,14 (two doublets, J=18,0Hz, 2H, CH₂-10); 3,0-4,0 (m, 8H, N(CH₂CH₂)₂N); 3,98 (s, 3H, OCH₃); 4,77 (m, 2H, CH₂-14); 5,12 (m, 1H, H-7); 6,30 (broad signal, 1H, OH-9); 7,64 (m, 1H, H-3); 7,90 (m, 2H, H-1 + H-2); 10,60 (broad signal, 1H, NH⁺); 13,26 (s, 1H, OH-11); 13,97 (s, 1H, OH-6).

Пример 3:

14-(4-трифторметансульфонилпиперазин-1-ил)дауномицин (A3)



Раствор 14-(N-пиперазинил)дауномицина (0,35г, 0,7ммоль), полученного, как описано в Примере 2, и триэтиламина (0,2г, 1,4ммоль) в метиленхлориде (10мл) обрабатывают ангидридом

трифторметансульфоновой кислоты (0,1г, 0,7ммоль) и перемешивают при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляют метиленхлоридом, промывают водой и сушат над безводным сульфатом натрия. Затем растворитель удаляют при пониженном давлении и остаток подвергают флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью метиленхлорида и метанола (8:2 по объему), с получением указанного в заголовке соединения АЗ, которое преобразуют в соответствующий гидрохлорид (0,11г, выход 23%) путем добавления стехиометрического количества метанольного хлористого водорода с последующим осаждением этиловым эфиром.

ТСХ на Кизельгеле F₂₅₄ (Мерк), элюирующая система метиленхлорид/метанол/уксусная кислота/вода (60:8:2:1 по объему), R_f=0,62.

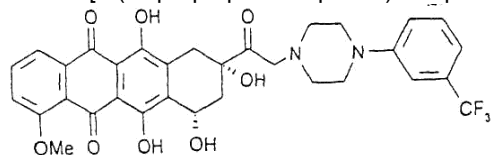
FAB-MS: m/z 615 [M+H]⁺; m/z 597 [M+H-H₂O]⁺

¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ:

2,02 (dd, J=4,0, 14,3Hz, 1H, H-8ax); 2,27 (m, 1H, H-8eq); 2,93, 3,11 (two doublets, J=18,5Hz, 2H, CH₂-10); 3,2-4,0 (m, 8H, N(CH₂CH₂)₂N); 3,99 (s, 3H, OCH₃); 4,60 (m, 2H, CH₂-14); 5,13 (m, 1H, H-7); 7,66 (m, 1H, H-3); 7,93 (m, 2H, H-1 + H-2); 13,28 (s, 1H, OH-11); 13,98 (s, 1H, OH-6).

Пример 4:

14-[4-(3-трифторметилфенил)пиперазин-1-ил]дауномицин (A4)



14-бромдауномицин (ЕЗ, 1г, 2,1ммоль), полученный, как описано в J. Org. Chem., 42, 3653 (1977), растворяют в сухом метиленхлориде (125мл), обрабатывают 1-(3-трифторметилфенил)пиперазином (1г, 4,4ммоль) и выдерживают при комнатной температуре в течение 42 часов. Затем растворитель удаляют при пониженном давлении и сырой продукт подвергают флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью хлороформ-метанол (98:2 по объему) с получением указанного в заголовке соединения А4 (1,02г, выход 78%), которое преобразуют в соответствующий гидрохлорид путем добавления стехиометрического количества метанольного хлористого водорода с последующим осаждением этиловым эфиром.

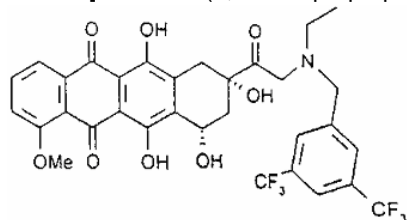
FAB-MS: m/z 627 [M+H]⁺; m/z 619 [M+H-H₂O]⁺

¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ:

2,06 (dd, J=4,0, 14,3Hz, 1H, H-8ax); 2,28 (m, 1H, H-8eq); 2,96, 3,14 (two doublets, J=18,7Hz, 2H, CH₂-10); 3,2-4,0 (m, 8H, N(CH₂CH₂)₂N); 3,99 (s, 3H, OCH₃); 4,90 (m, 2H, CH₂-14); 5,17 (m, 1H, H-7); 5,70 (broad signal, 1H, OH-7); 6,28 (s, 1H, OH-9); 7,1-7,5 (m, 4H, m. CF₃-C₆H₄); 7,67 (m, 1H, H-3); 7,92 (m, 2H, H-1 + H-2); 10,2 (broad signal, 1H, NH⁺); 13,29 (s, 1H, OH-11); 14,00 (s, 1H, OH-6).

Пример 5:

14-[N-этил-N-(3,5-бис-трифторметилфенил)метил]дауномицин (A5)



14-Бромдауномицин (ЕЗ, 0,5г, 1,05ммоль) добавляют порциями в течение более 75 минут к раствору N-этил-N-(3,5-дифтрифторметилфенил)метиламина (0,34г, 1,25ммоль) и диизопропилэтиламина (0,215мл, 1,26ммоль) в сухом N,N-диметилацетамиде (3мл) при 60°C. Реакционную смесь выдерживают при 60°C еще в течение 30 минут.

Затем растворитель удаляют при пониженном давлении и остаток обрабатывают солевым раствором и экстрагируют этилацетатом. Экстракты промывают водой, сушат над безводным сульфатом натрия и растворитель выпаривают. Сырой материал очищают колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ/метанол 98:2) с получением указанного в заголовке соединения А5 в виде красного порошка (0,21г, выход 30%), который преобразуют в соответствующий гидрохлорид добавлением стехиометрического количества метанольного хлористого водорода с последующим осаждением этиловым эфиром.

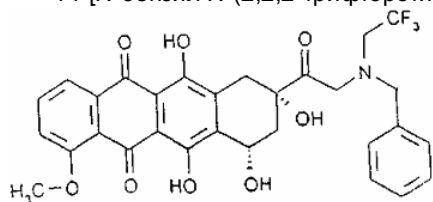
FAB-MS: m/z 668 [M+H]⁺; m/z 650 [M+H-H₂O]⁺, m/z 632 [M-2H₂O+H]⁺

¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ:

1,07 (t, J=7,3Hz, 3H, CH₂CH₃); 1,6-3,6 (m, 6H, CH₂CH₃ + CH₂-8 + CH₂-10); 3,99 (s, 3H, OCH₃); 4,60 (m, 2H, NCH₂Ph), 4,83 (m, 2H, CH₂-14); 5,07 (m, 1H, H-7); 5,5, 6,3 (broad signal, 2H, OH-7 + OH-9); 7,65 (m, 1H, H-3); 7,92 (m, 2H, H-1 + H-2); 8,24, 8,36 (two singlets, 3H, aromatic hydrogens); 10,14 (broad signal, 1H, NH⁺); 13,24 (s, 1H, OH-11); 13,96 (s, 1H, OH-6).

Пример 6

14-[N-бензил-N-(2,2,2-трифторэтил)]аминодауномицин (A6)



14-Бромдауномицин (0,70г, 1,47ммоль) добавляют порциями в течение более 75 минут к раствору бензил-(2,2,2-трифторэтил)амин (0,554мл, 2,93ммоль) и диизопропилэтиламина (0,25мл, 1,46ммоль) в

сухом N,N-диметилацетамиде (3мл) при 60°C. Реакционную смесь выдерживают при 60°C еще в течение 30 минут. Растворитель удаляют при пониженном давлении и остаток обрабатывают солевым раствором и экстрагируют этилацетатом. Экстракты промывают водой, сушат над безводным сульфатом натрия и растворитель выпаривают с получением 0,46г сырого материала, который очищают колоночной хроматографией на силикагеле (хлороформ/метанол 99:1) с получением указанного в заголовке соединения в виде красного порошка (60мг), которое преобразуют в соответствующий гидрохлорид путем добавлением стехиометрического количества метанольного хлористого водорода с последующим осаждением этиловым эфиром.

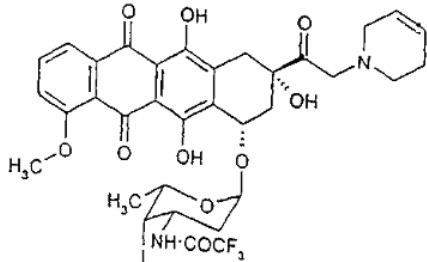
FAB-MS: m/z 586 [M+H]⁺; m/z 568 [M+H-H₂O]⁺; m/z 550 [M-2H₂O]⁺; m/z 516 [M-CF₃]⁺

¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ:

1,8-2,2 (m, 2H, CH₂-8); 2,83-2,99 (two doublets, J=18,7Hz, 2H, CH₂-10); 3,52 (q, J=10,1Hz, 2H, NCH₂CF₃); 3,98 (s, 3H, OCH₃); 3,8-4,2 (m, 4H, NCH₂Ph + CH₂-13); 5,04 (m, 1H, H-7); 5,39 (d, J=6,8Hz, 1H, OH-7); 7,1-7,4 (m, 5H, Ph); 7,6-7,8 (m, 3H, H-1 + H-2 + H-3); 13,2-13,9 (two bs, 2H, OH-6 + OH-11).

Пример 7

14-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-1-ил)-4'-деокси-4'-йод-3'-N-трифторацетилдаунорубин (A7)



4'-Деокси-4'-йоддаунорубин (E11: 500мг, 0,742ммоль) преобразуют в соответствующее 14-бромпроизводное согласно стандартным процедурам (описанным в US Patent 3 803 124, 9 апреля, 1974). Соединение растворяют в ацетоне (10мл), добавляют 1,2,3,6-тетрагидропиридин (0,5мл, 5ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 35°C в течение одного часа. Реакционную смесь обрабатывают метиленхлоридом и водой, органическую фазу отделяют, сушат над безводным сульфатом натрия и добавляют гексан для осаждения сырого продукта. Очистка флэш-хроматографией на силикагеле осажденного продукта с применением смеси метиленхлорид/метанол/уксусная кислота (30:4:1) в качестве элюента дает чистое соединение, которое преобразуют в его гидрохлоридную соль обработкой метанольным хлористым водородом (160мг, выход 28%). ТСХ (Пластины Кизельгеля F₂₅₄): элюирующая система метиленхлорид/метанол/уксусная кислота/вода 60:8:2:1 (об/об), R_f=0,25.

14-(1,2,3,6-Тетрагидропиридин-1-ил)-4'-деокси-4'-йоддаунорубин (70мг, 0,1ммоль) преобразуют в соответствующее 3'-N-трифторацетилпроизводное путем обработки ангидридом трифторуксусной кислоты (0,2мл, 1,4ммоль) при 0°C в течение одного часа согласно стандартным методам (см. F.Arcamone et al., Chim. Ind. (Milan), 1969, vol. 51, p. 834). Реакционную смесь подвергают флэш-хроматографии на силикагеле с использованием смеси метиленхлорид/ацетон (9:1 по объему). Очищенный продукт преобразуют в гидрохлоридную соль путем обработки метанольным хлористым водородом с получением 46мг (выход 58%) желаемого соединения. ТСХ (Пластины Кизельгеля F₂₅₄): элюирующая система метиленхлорид/ацетон 80:20 (об/об), R_f=0,50.

FAB-MS: m/z 815 [M]⁺; m/z 462 [MH-сахар-H₂O]⁺, 444 [MH-сахар-2H₂O]⁺.

¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ:

1,15 (d, J=6,0Hz, 3H, CH₃-5'); 1,56 (dd, J=3,8, 14,1Hz, 1H, H-2'eq); 2,06 (m, 1H, H-2' ax); 2,23 (m, 2H, CH₂-8); 2,40 (m, 2H, N-CH₂CH₂-CH=CH); 2,95, 3,14 (two d, J=18,0Hz, 2H, CH₂-10); 3,30 (m, 2H, N-CH₂CH₂-CH=CH); 3,50 (m, 1H, H-3'); 3,60 (m, 1H, H-5'); 3,70 (m, 2H, N-CH₂-CH=CH); 3,99 (s, 3H, OCH₃); 4,59, 4,72 (two d, J=18,8Hz, 2H, CH₂-14); 4,79 (s, 1H, H-4'); 5,04 (m, 1H, H-7); 5,29 (d, J=3,4Hz, 1H, H-1'); 5,69, 5,90 (two d, J=10,7Hz, 1H, CH=CH); 5,98 (s, 1H, OH-9); 7,64, 7,91 (two m, 3H, H-1, H-2, H-3); 9,51 (d, J=5,6Hz, 1H, NHCOCF₃); 9,96 (broad signal, 1H, NH⁺); 13,28 (s, 1H, OH-11); 14,05 (s, 1H, OH-6).