



(19) **UA** (11) **70 332** (13) **C2**  
(51)МПК<sup>7</sup> **A 61K 31/335, A 61P 35/00**

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 2001021190, 13.08.1999

(24) Дата начала действия патента: 15.10.2004

(30) Приоритет: 17.08.1998 EP 98115401.6  
08.09.1998 EP 60/099,581

(46) Дата публикации: 15.10.2004

(86) Заявка РСТ:  
РСТ/EP99/06291, 19990813

(72) Изобретатель:

Биссери Мари-Кристина, FR,  
Вринье Патриция, FR,  
Робертс Симон, GB,  
Брилей Клив, GB

(73) Патентовладелец:

АВЕНТИС ФАРМА С.А., FR

(54) СРЕДСТВО ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ТАКСОИДНОГО ПРОИЗВОДНОГО, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ДЛЯ ТОРМОЖЕНИЯ АНОМАЛЬНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА (ВАРИАНТЫ)

(57) Реферат:

Изобретение относится к применению

$4^{\alpha}$ -ацетокси- $2^{\alpha}$ -бензоилокси- $5^{\beta}$ ,  $20$ -эпокси- $1^{\beta}$ -  
-гидрокси- $7^{\beta}$ ,  $10^{\beta}$ -диметокси- $9$ -оксо- $11$ -таксен- $13^{\alpha}$

-ил-( $2R,3S$ )- $3$ -трет-бутоксикарбониламино- $2$ -гидрокси- $3$ -фенилпропионата для получения средства для торможения аномальной пролиферации

клеток головного мозга, предназначенного для парентерального, преимущественно внутривенного применения.

Официальный бюлетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2004, N 10, 15.10.2004. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.

У А 7 0 3 3 2 C 2

У А 7 0 3 3 2 C 2



(19) **UA** <sup>(11)</sup> **70 332** <sup>(13)</sup> **C2**  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup> **A 61K 31/335, A 61P 35/00**

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF  
UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL  
PROPERTY

(12) **DESCRIPTION OF PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION**

(21), (22) Application: 2001021190, 13.08.1999

(24) Effective date for property rights: 15.10.2004

(30) Priority: 17.08.1998 EP 98115401.6  
08.09.1998 EP 60/099,581

(46) Publication date: 15.10.2004

(86) PCT application:  
PCT/EP99/06291, 19990813

(72) Inventor:

Bisseri Marie-Christina, FR,  
Vrinio Patricia, FR,  
Roberts Simon, GB,  
Briley Cleve, GB

(73) Proprietor:

AVENTIS PHARMA S.A., FR

(54) **USE OF TAXOID DERIVATIVES FOR PARENTERAL TREATMENT OF ABNORMAL PROLIFERATION OF CEREBRAL CELLS (VARIANTS)**

(57) Abstract:

The present invention relates to a new use of taxoid derivatives, namely 4<sup>α</sup>-acetoxy-2<sup>α</sup>-benzyloxy-5<sup>β</sup>,20-epoxy-1<sup>β</sup>-hydroxy-7<sup>β</sup>,10<sup>β</sup>-dimethoxy-9-oxo-11-taxen-13<sup>α</sup>-yl-(2R,3S)-3-ter-butoxycarbonilamino-2-hydroxy-3-phenylpropionate. It relates more precisely to a method for treating abnormal cell proliferation

in the brain of mammals including men by administrating a taxoid derivative.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2004, N 10, 15.10.2004. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

U A 7 0 3 3 2 C 2

U A 7 0 3 3 2 C 2



(19) **UA** <sup>(11)</sup> **70 332** <sup>(13)</sup> **C2**  
(51)МПК <sup>7</sup> **A 61K 31/335, A 61P 35/00**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВИНАХОДУ ДО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:  
2001021190, 13.08.1999

(24) Дата набуття чинності: 15.10.2004

(30) Дані стосовно пріоритету відповідно до Паризької конвенції : 17.08.1998 EP 98115401.6  
08.09.1998 EP 60/099,581

(46) Публікація відомостей про видачу патенту (деклараційного патенту): 15.10.2004

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки відповідно до договору РСТ:  
PCT/EP99/06291, 19990813

(72) Винахідник(и):  
Біссері Марі-Крістіна , FR,  
Вріньо Патрісія , FR,  
Робертс Сімон , GB,  
Брілей Клів , GB

(73) Власник(и):  
АВЕНТИС ФАРМА С.А., FR

(54) ЗАСІБ, ЩО МІСТИТЬ ПОХІДНУ ТАКСОЇДУ, ДЛЯ ЛІКУВАННЯ АНОМАЛЬНОЇ ПРОЛІФЕРАЦІЇ КЛІТИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ ШЛЯХОМ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ (ВАРІАНТИ)

(57) Реферат:  
Даний винахід відноситься до застосування  
4<sup>α</sup> -ацетокси-2<sup>α</sup> -бензоїлокси-5<sup>β</sup> ,20-епокси-1<sup>β</sup>  
-гідрокси-7<sup>β</sup> ,10<sup>β</sup> -диметоксі-9-оксо-11-таксен-13<sup>α</sup>

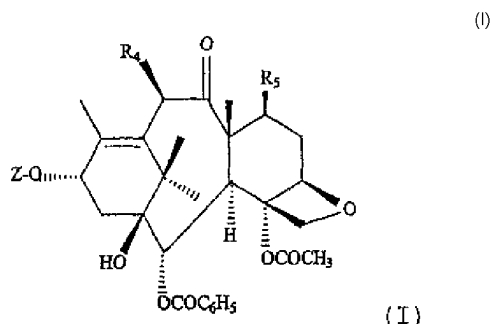
-іл-(2R,3S)-3-трет-бутоксикарбоніламіно-2-гідрокси-3-фенілпропіонату для одержання засобу для лікування аномальної проліферації клітин головного мозку, причому вказаний засіб вводять парентеральним шляхом, переважно – внутрішньовенним.

U A 7 0 3 3 2 C 2

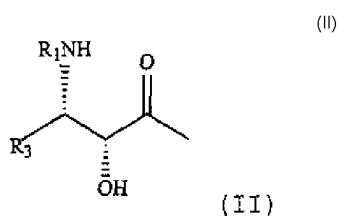
U A 7 0 3 3 2 C 2

## Опис винаходу

Даний винахід відноситься до нового застосування таксоїдних похідних. Точніше, він відноситься до нових способів лікування аномальної (патологічної) проліферації клітин головного мозку ссавців, включаючи людину, шляхом введення сполуки загальної формули (I) чи її фармацевтично прийнятної солі чи сольвату:



де Z являє собою атом водню чи радикал загальної формули:



в якій замісник  $R_1$  являє собою

бензоільний радикал, необов'язково заміщений одним чи більше однаковими чи різними атомами або радикалами, які обирають з атомів галогену та алкільних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, алкоксильних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, чи трифторметильних радикалів;

теноільний або фуроільний радикал; чи

радикал формули  $R_2-O-CO-$ , у якому замісник  $R_2$  являє собою:

- алкільний радикал, що містить від 1 до 8 атомів вуглецю,
- алкенільний радикал, що містить від 2 до 8 атомів вуглецю,
- алкінільний радикал, що містить від 3 до 8 атомів вуглецю,
- циклоалкільний радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю,
- циклоалкенільний радикал, що містить від 4 до 6 атомів вуглецю,
- біциклоалкільний радикал, що містить від 7 до 10 атомів вуглецю,

причому ці радикали необов'язково заміщені одним чи більше замісниками, які обирають з атомів галогену і гідроксильних радикалів, алкоксильних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, діалкіламіно-радикалів, у яких кожна алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, піперидинового чи морфолінового радикалів, 1-піперазинільних радикалів (необов'язково заміщених у 4 положенні алкільним радикалом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю), циклоалкільних радикалів, що містять від 3 до 6 атомів вуглецю, циклоалкенільних радикалів, що містять від 4 до 6 атомів вуглецю, фенільних радикалів (необов'язково заміщених одним чи більше атомами або радикалами, які обирають з атомів галогену та алкільних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, чи алкоксильних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю), циано- або карбоксильних радикалів або алкоксикарбонільних радикалів, у яких алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю;

- фенільний або  $\alpha$ - чи  $\beta$ -нафтильний радикал, необов'язково заміщений одним чи більше атомами або радикалами, які обирають з атомів галогену та алкільних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, чи алкоксильних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю; чи

- 5-членний ароматичний гетероциклічний радикал, якій переважно обирають з фурильних і тієнільних радикалів;

- чи насичений гетероциклічний радикал, що містить від 4 до 6 атомів вуглецю, необов'язково заміщений одним чи більше алкільними радикалами, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю;

замісник  $R_3$  являє собою

- нерозгалужений чи розгалужений алкільний радикал, якій містить від 1 до 8 атомів вуглецю,
- нерозгалужений чи розгалужений алкенільний радикал, що містить від 2 до 8 атомів вуглецю,
- нерозгалужений чи розгалужений алкінільний радикал, якій містить від 2 до 8 атомів вуглецю,
- циклоалкільний радикал, якій містить від 3 до 6 атомів вуглецю,

фенільний чи  $\alpha$ - або  $\beta$ -нафтильний радикал, необов'язково заміщений одним чи більше атомами або радикалами, які обирають з атомів галогену та алкільних, алкенільних, алкінільних, арильних, аралкільних, алкокси-, алкілтіо-, арилокси-, арилтіо-, гідроксильних, гідроксиалкільних, меркапто-, формільних, ацильних, ациламіно-, ароїламіно-, алкоксикарбоніламіно-, аміно-, алкіламіно-, діалкіламіно-, карбоксильних, алкоксикарбонільних, карбамоїльних, алкілкарбамоїльних, діалкілкарбамоїльних, ціано-, нітро- і трифторметильних радикалів,

чи 5-членний ароматичний гетероцикл, що містить один чи більш однакових або різних гетероатомів, які обирають з атомів азоту, кисню і сірки, і необов'язково заміщений одним чи більше однаковими або різними замісниками, які обирають з атомів галогену та алкільних, арильних, аміно-, алкіламіно-, діалкіламіно-, алкоксикарбоніламіно-, ацильних, арилкарбонільних, ціано-, карбоксильних, карбамоїльних, алкілкарбамоїльних, діалкілкарбамоїльних і алкоксикарбонільних радикалів;

при цьому мається на увазі, що в замісниках фенільних,  $\alpha$ - або  $\beta$ -нафтильних і ароматичних гетероциклічних радикалів алкільні радикали та алкільні частини інших радикалів містять від 1 до 4 атомів вуглецю, і що алкенільні та алкінільні радикали містять від 2 до 8 атомів вуглецю, і що арильні радикали являють собою фенільні чи  $\alpha$ - або  $\beta$ -нафтильні радикали;

замісник  $R_4$  являє собою

алкоксильний радикал, що містить від 1 до 6 атомів вуглецю в нерозгалуженому чи розгалуженому ланцюзі,

алкенілокси-радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю в нерозгалуженому чи розгалуженому ланцюзі,

алкінілокси-радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю в нерозгалуженому чи розгалуженому ланцюзі,

циклоалкілокси-радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю або

циклоалкенілокси-радикал, що містить від 4 до 6 атомів вуглецю,

причому ці радикали необов'язково заміщені одним чи більше атомами галогену або алкоксильним радикалом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю, алкілтіо-радикалом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю, чи карбоксильним радикалом, алкілоксикарбонільним радикалом, у якому алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, ціано- чи карбамоїльним радикалом, N-алкілкарбамоїльним або N,N-діалкілкарбамоїльним радикалом, у яких кожна алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, чи з атомом азоту, до якого вона приєднана, утворює насичений 5-чи 6-членний гетероциклічний радикал, що необов'язково містить другий гетероатом, який обирають з атомів кисню, сірки або азоту, необов'язково заміщений алкільним радикалом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю, чи фенільним радикалом або фенілалкільним радикалом, у якому алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю,

$R_5$  являє собою

алкоксильний радикал, що містить від 1 до 6 атомів вуглецю в нерозгалуженому чи розгалуженому ланцюзі,

алкенілокси-радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю,

алкінілокси-радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю,

циклоалкілокси-радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю, чи

циклоалкенілокси-радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю,

причому ці радикали необов'язково заміщені одним чи більше атомами галогену або алкоксильним радикалом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю, алкілтіо-радикалом, що містить від 2 до 4 атомів вуглецю, або карбоксильним радикалом, алкілоксикарбонільним радикалом, у якому алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, ціано- чи карбамоїльним радикалом, або N-алкілкарбамоїльним чи N,N-діалкілкарбамоїльним радикалом, у яких кожна алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, чи з атомом азоту, до якого вона приєднана, утворює насичений 5-чи 6-членний гетероциклічний радикал, що необов'язково містить другий гетероатом, який обирають з атомів кисню, сірки та азоту, необов'язково заміщений алкільним радикалом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю, чи фенільним радикалом або фенілалкільним радикалом, у якому алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

Переважно арильні радикали, що можуть бути представлені замісником  $R_3$ , являють собою фенільні чи  $\alpha$ - або  $\beta$ -нафтильні радикали, необов'язково заміщені одним чи більше атомами або радикалами, які обирають з атомів галогену (фтору, хлору, броду, йоду) і алкільних, алкенільних, алкінільних, арильних, аралкільних, алкоксильних, алкілтіо-, арилокси-, арилтіо-, гідроксильних, гідроксиалкільних, меркапто-, формільних, ацильних, ациламіно-, ароїламіно-, алкоксикарбоніламіно-, аміно-, алкіламіно-, діалкіламіно-, карбоксильних, алкоксикарбонільних, карбамоїльних, діалкілкарбамоїльних, ціано-, нітро- і трифторметильних радикалів, при цьому мається на увазі, що алкільні радикали та алкільні частини інших радикалів містять від 1 до 4 атомів вуглецю, що алкенільні та алкінільні радикали містять від 2 до 8 атомів вуглецю, і що арильні радикали являють собою фенільні чи  $\alpha$ - або  $\beta$ -нафтильні радикали.

Переважно гетероциклічні радикали, що можуть бути представлені замісником  $R_3$  являють собою 5-членні ароматичні гетероциклічні радикали, що містять один чи більш однакових або різних атомів, які обирають з атомів азоту, кисню і сірки, необов'язково заміщені одним чи більше однаковими або різними замісниками, які обирають з атомів галогену (фтору, хлору, броду, йоду) і алкільних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, арильних радикалів, які містять від 6 до 10 атомів вуглецю, алкоксильних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, арилокси-радикалів, що містять від 6 до 10 атомів вуглецю, аміно-радикалів, алкіламіно-радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, діалкіламіно-радикалів, у яких кожна алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, ациламіно-радикалів, у яких ацильна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, алкоксикарбоніламіно-радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, ацильних радикалів, що містять від 1 до 4 атомів вуглецю, арилкарбонільних радикалів, в яких арильна частина містить від 6 до 10 атомів вуглецю, ціано-, карбоксильних чи карбамоїльних радикалів, алкілкарбамоїльних радикалів, в яких

алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, діалкілкарбамоїльних радикалів, в яких алкільна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю, або алкоксикарбонільних радикалів, в яких алкоксильна частина містить від 1 до 4 атомів вуглецю.

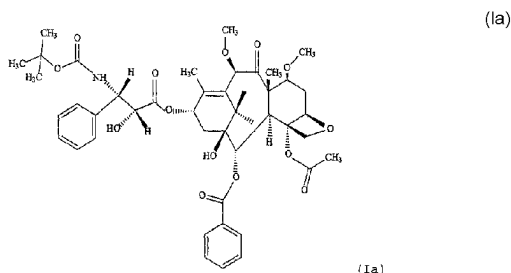
Переважно радикали  $R_4$  і  $R_5$ , які можуть бути однаковими чи різними, являють собою нерозгалужені чи розгалужені алкоксильні радикали, що містять від 1 до 6 атомів вуглецю, необов'язково заміщені метокси-, етокси-, етилтіо-, карбоксильним, метоксикарбонільним, етоксикарбонільним, ціано-, карбамоїльним, N-метилкарбамоїльним, N-етилкарбамоїльним, N,N-диметилкарбамоїльним, N,N-діетилкарбамоїльним, N-піперидинокарбонільним чи N-піперидинокарбонільним радикалами.

Більш конкретно, даний винахід відноситься до продуктів загальної формули (I), у якій Z являє собою атом водню або радикал загальної формули (II), у якому замісник  $R_1$  являє собою бензоїльний радикал або радикал загальної формули  $R_2-O-CO-$ , у якому замісник  $R_2$  являє собою трет.-бутильний радикал, а замісник  $R_3$  являє собою алкільний радикал, що містить від 1 до 6 атомів вуглецю, алкенільний радикал, що містить від 2 до 6 атомів вуглецю, циклоалкільний радикал, що містить від 3 до 6 атомів вуглецю, фенільний радикал, необов'язково заміщений одним чи більше однаковими чи різними атомами або радикалами, які обирають з атомів галогену (фтору, хлору) і алкільного (метильного) алкоксильного (метокси-), діалкіламіно- (диметиламіно-), ациламіно- (ацетиламіно-), алкоксикарбоніламіно- (трет.-бутоксикарбоніламіно-) чи трифторметильного радикалів, або 2- чи 3-фурильні, 2- чи 3-тієнільні або 2-, 4- чи 5-тіазолільні радикали, і кожний із замісників  $R_4$  і  $R_5$ , які можуть бути однаковими чи різними, являє собою нерозгалужений чи розгалужений алкоксильний радикал, що містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

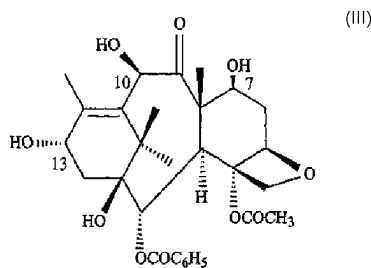
Ще більш конкретно, даний винахід відноситься до продуктів загальної формули (I), у якій Z являє собою атом водню або радикал загальної формули (II), у якому замісник  $R_1$  являє собою бензоїльний радикал або радикал загальної формули  $R_2-O-CO-$ , у якому замісник  $R_2$  являє собою трет.-бутильний радикал, а замісник  $R_3$  являє собою ізобутильний, ізобутенільний, бутенільний, циклогексильний, фенільний, 2-фурильний, 3-фурильний, 2-тієнільний, 3-тієнільний, 2-тіазолільний, 4-тіазолільний чи 5-тіазолільний радикали, і кожний із замісників  $R_4$  і  $R_5$ , що можуть бути однаковими чи різними, являє собою метокси-, етокси- або пропоксид-радикал.

Ще більший інтерес представляють продукти загальної формули (I) в якій замісник  $R_3$  являє собою фенільний радикал і замісник  $R_1$  являє собою трет.-бутоксикарбонільний радикал, замісники  $R_4$  і  $R_5$ , які можуть бути однаковими чи різними, являють собою метокси-, етокси- або пропоксид-радикал.

Ще більш цікавою сполукою даного винаходу є  $4\alpha$ -ацетокси- $2\alpha$ -бензоїлокси- $5\beta$ , $20$ -етокси- $1\beta$ -гідрокси- $7\beta$ , $10\beta$ -диметокси- $9$ -оксо- $11$ -таксен- $13\alpha$ -іл-( $2R,3S$ )- $3$ -трет.-бутоксикарбоніламіно- $2$ -гідрокси- $3$ -фенілпропіонат формули (Ia):



З патенту WO 96/30355 відомо, що похідне за даним винаходом можна одержати двома способами. У відповідності з першим, багата стадійним способом, якщо виходити з  $10$ -деацетилбаккатина III формули:



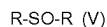
то останній селективно захищають у положеннях 7 і 13, наприклад, у формі простого силілового дієфіру, а потім діють речовиною загальної формули:



де замісник R являє собою визначений вище радикал, а X являє собою реакційно-здатний складноєфірний залишок, такий як залишок ефіру сірчаної або сульфанової кислоти, чи атом галогену, з одержанням продукту, що містить групу  $-OR$  у положенні 10 і силільні групи в положеннях 7 і 13. Потім захисні силільні групи

заміняють на атоми водню, одержують сполуку, що все ще містить групу -OR у положенні 10 і OH-групи в положеннях 7 і 13. Останнє похідне селективно перетворюють у простий ефір у положенні 7 реакцією з похідним формули IV, одержуючи сполуки формули (I), у якому Z являє собою атом водню.

Кінцева стадія полягає в етерифікації в положенні 13 способом, що сам по собі відомий, похідних формули (Ia), де Z являє собою атом водню, у присутності  $\beta$ -лактама, наприклад, за методикою, яка описана в патенті EP 617018, або в присутності оксазолідину, як описано, наприклад, у згаданому вище патенті WO 96/30355. Після зняття захисту видаленням захисних груп у положеннях 7 і 10 одержують складний ефір формули (Ia), у якому 2 являє собою іншу, чим атом водню групу, а R являє собою атом водню. Наступна стадія складається у взаємодії одночасно положень 7 і 10 під дією реагенту, який утворився безпосередньо в реакційній суміші із сульфоксиду формули (V) і оцтового ангідриду (реакція Пуммерера):



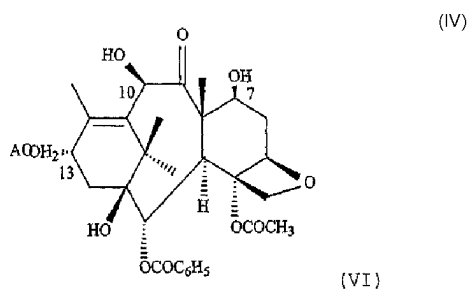
замісник R має зазначені вище значення, з утворенням проміжного сполуки алкілтіоалкілокси-типу в положеннях 7 і 10.

Кінцеву стадію, що дозволяє одержати бажану сполуку формули (Ia), проводять з використанням отриманої вище проміжної сполуки, при взаємодії його з активованим нікелем Ренея.

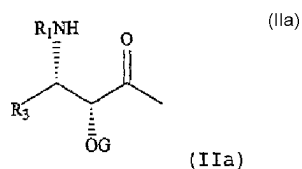
У загальному випадку, обробку реагентом, що утворюється безпосередньо в реакційній суміші із сульфоксиду загальної формули (V), переважно диметилсульфоксиду, і оцтового ангідриду, проводять у присутності оцтової кислоти або похідного оцтової кислоти, такого як галогеноцтова кислота, при температурі в інтервалі від 0 до 50°C.

Звичайно обробку активованим нікелем Ренея в присутності аліфатичного спирту або простого ефіру здійснюють при температурі між -10 і 60°C.

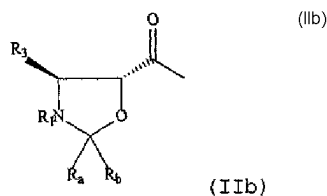
У публікації FR 97-14442 описаний ще один спосіб. Цей винахід дозволяє в одну стадію, прямо, селективно та одночасно алкілювати дві гідроксильні функціональні групи в положеннях 7 і 10 10-деацетилбаккатину чи його етерифікованих у положення 13 похідних формули (VI):



де А являє собою атом водню або бічний ланцюг формули (IIa), представлену нижче:



де G являє собою захисну групу для гідроксильної функціональної групи, а замісники Ri і R3 мають ті ж значення, що й у формулі (II), або оксазолідинову групу формули (IIb):



де замісники R<sub>1</sub> і R<sub>3</sub> мають ті ж значення, що та у формулі (II), замісники R<sub>a</sub> і R<sub>b</sub>, що можуть бути однаковими чи різними, являють собою атом водню або алкіл, арил, галоген, алкокси-, арилалкіл, алкоксиарил, галогеналкіл і галогенарил, причому необов'язково можливе утворення замісниками 4-7-членного кільця.

Як вихідну сполуку переважно використовувати 10-деацетилбаккатин, тобто, продукт формули (III), що дає помітну економію, що стосується способу, і, більш того, дозволяє виключити стадії введення захисту і зняття захисту з проміжної сполуки, які необхідні у старих способах.

Серед груп G для захисту гідроксильної функціональної групи у формулі (IIa) у загальному випадку краще

вибирати всі захисні групи, що описані в книгах, таких як Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis (Захисні групи в органічному синтезі), 1991, John Wiley & Sons, і MacOmie, Protective Groups in Organic Chemistry (Захисні групи в органічній хімії), 1975, Plenum Press, і які видаляють в умовах, при яких залишок молекули руйнується слабо або не руйнується взагалі, такі як, наприклад:

- прості ефіри, переважно такі ефіри, як метоксиметилловий ефір, 1-етоксіетилловий ефір, бензилоксиметилловий ефір, п-метоксибензилоксиметилловий ефір, бензилові ефіри, необов'язково заміщені однією або більше групами, такими, як метокси-, хлор, нітро-, 1-метил-1-метоксіетилловий ефір, 2-(триметилсиліл)етоксиметилловий ефір, тетрагідропіраниловий ефір, і силілові ефіри, такі як триалкілсилілові ефіри,

- карбонати, такі як трихлоретилкарбонат.

Більш конкретно, радикали  $R_a$  і  $R_b$  У загальній формулі (Ib) вибирають з радикалів, що описані в патенті WO 94/07878, і більш підходящими похідними є похідні, у яких радикал  $R_a$  являє собою атом водню, а радикал  $R_b$  являє собою п-метоксифенільний радикал. Алкілюючий агент вибирають з:

- алкілгалогенідів, переважно з алкілйодидів (RI),

- алкілсульфатів, таких як метилсульфат,

- сполук оксонію, таких як борні солі триалкілоксонію, зокрема, триметилкоксонітетрафторборат ( $Me_3OBf_4$ ).

Переважно використовувати метилйодид.

Алкілюючий агент використовують у безводному середовищі в присутності аніонізуючих агентів, таких як одне чи більше сильна основа.

Серед основ, що можуть бути використані в безводному середовищі, можна назвати наступні:

- гідриди лужних металів, такі як гідрид натрію або калію,

- алкоголяти лужних металів, такі як трет.-бутилат калію,

- оксид срібла  $Ag_2O$ ,

- 1,8-біс(диметиламіно)нафталін,

- суміші моно- чи диметалічних основ, такі як основи, які описані, наприклад, у публікаціях, таких як P. Saubere, Chem. Rev. 1993, 93, 2317-2334, чи M. Schlosser, Mod. Synth. Methods (1992), 6, 227-271; зокрема, кращими є комбінації алкіллітій/трет.-бутилат лужного металу або амід лужного металу/трет.-бутилат лужного металу. Одну з двох основ можна одержувати безпосередньо в реакційній суміші "in situ".

Серед усіх можливих комбінацій алкілюючих агентів і аніонізуючих агентів кращим є використання метилйодиду в присутності гідриду калію.

Реакцію переважно проводять в органічному середовищі, що є інертною в умовах реакції. Кращим є використання наступних розчинників:

- прості ефіри, такі як тетрагідрофуран чи диметоксіетан;

- при застосуванні оксиду срібла кращим є використання полярних апротонних розчинників, таких як диметилформамід, чи ароматичних розчинників, таких як толуол;

- при застосуванні 1,8-біс(диметиламіно)нафталіну кращим є використання складних алкілових ефірів, наприклад, етилацетату.

Для кращого здійснення винаходу краще використовувати мольне співвідношення між аніонізуючим агентом і субстратом більше чим 2 і переважно в інтервалі від 2 до 20.

Також переважно використовувати мольне співвідношення між алкілюючим агентом і субстратом більше 2 і переважно в інтервалі від 2 до 40.

Кращою є температура від -30 до 80°C.

Час реакції переважно знаходиться в інтервалі від декількох годин до 48 годин у залежності від обраних реакційних умов.

Після стадії алкілювання, коли останню проводять з 10-деацетилбаккатином, спосіб відомим образом переходить до стадії етерифікації, наприклад, у відповідності зі способами, описаними в згаданих вище патентах EP 617018 чи WO 96/30355.

Таким чином, у першому трьохстадійному способі процес починають з діалкілювання 10-деацетилбаккатина з використанням алкілюючого агента в присутності сильної основи, на другій стадії проводять сполучення 10-деацетилбаккатина, перетвореного в діефір у положеннях 7 і 10, із захищеним придатним образом  $\beta$ -лактамом, у присутності агента, що активує, якій обирають з третинних амінів і металооснов, що забезпечують утворення алкоксильної групи в положенні 13. Потім здійснюють зняття захисту бічного ланцюга шляхом обробки неорганічною чи органічною кислотою.

В другому трьохстадійному способі процес починають з діалкілювання 10-деацетилбаккатина з використанням алкілюючого агента в присутності сильної основи, на другій стадії 10-деацетилбаккатин, перетворений у простий діефір у положеннях 7 і 10, сполучають у 13 положенні з оксазолідином у присутності агента, якій сполучає, такого як дііміди, у присутності агента, що активує, такого як діалкіламінопіридин. Розкриття оксазолідину досягається дією неорганічної чи органічної кислоти.

Третій спосіб починається з етерифікації в положенні 13 баккатина з захищеними придатним чином положеннями 7 і 10,  $\beta$ -лактамом або оксазолідином в присутності агента, що сполучає, і/або агента, що активує, як показано в описаних вище двох способах. Після зняття захисту в 7 і 10 положеннях одержують простий діефір у положеннях 7 і 10 за допомогою алкілювального агента в присутності сильної основи. Потім зняття захисту бічного ланцюга досягається шляхом обробки неорганічною чи органічною кислотою.

Продукти загальної формули (I) мають чудові біологічні властивості.

Оцінку біологічної активності in vitro проводять на тубуліні, екстрагованому зі свинячого головного мозку



методом, який описаний M.L. Shelanski et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70, 765-768 (1973). Дослідження деполімеризації мікротрубочок у тубуліні проводять відповідно до методу G. Chauviere et al., C.R. Acad. Sci., 293, serie II, 501-503 (1981).

5 Продукти загальної формули (I) підтвердили активність *in vivo* при перевірці на мишах, щеплених меланомою B16, у дозах між і 50мг/кг (внутрішньочеревинно), а також на інших м'яких і твердих пухлинах.

10 Сполуки мають протипухлинні властивості, більш конкретно, активні проти пухлин, стійких до Taxol® і Taxotere®. До таких пухлин відносяться, наприклад, пухлини головного мозку, що мають підвищену експресію *mdrl* гена (гена стійкості до численних лікувальних засобів). Визначення "стійкість до численних лікувальних засобів" являє собою звичайний термін, що відноситься до стійкості пухлини до різних сполук, що мають різну структуру і механізм дії. Таксоїди, як загальновідомо, добре вивчені за допомогою експериментальних пухлин, наприклад, P388/DOX, лінія клітин P388 мишачої лейкемії, обрана по стійкості до доксорубіцину (DOX), яка експресує *mdrl*. Сполуки відповідно до даного винаходу менш вивчені за допомогою P388/DOX. Більш конкретно, ці сполуки менш вивчені, чим Taxotere®, за допомогою гена *mdrl*.

15 Сполуки формули (I) переважно використовуються при одержанні лікувального засобу для лікування аномальної проліферації клітин головного мозку.

Сполуки і, головним чином, сполуки формули (I), де кожний із замісників R<sub>4</sub> і R<sub>5</sub> являє собою метокси-групу, має властивість проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Воно є активним в порівнянні з іншими відомими таксоїдами, такими як Taxol® і Taxotere®, при лікуванні раку головного мозку.

20 Продукт формули (I) може бути використаний одночасно з іншим терапевтичним лікуванням. Більш переважно його використовують з іншим терапевтичним лікуванням, що включає використання протипухлинних лік, моноклональних антитіл, імунотерапію, чи радіотерапію модифікатори біологічних реакцій. Серед модифікаторів біологічних реакцій кращим є використання лімфокинів і цитокинів, інтерлейкінів, α-, β- чи δ-інтерферонів і факторів пухлинного некрозу (TNF).

25 Продукт формули (I) переважно застосовується шляхом парентерального введення, наприклад, внутрішньовенного, внутрішньочеревинного, внутрішньом'язового чи підшкірного.

Приклад 1

1. Введення

Продукт формули (Ia) виявив себе сильнодіючим протираковим агентом у доклінічних моделях.

30 Тут представлені аналітичні результати, які отримані при фармакокінетичному дослідженні на мишах одного в/в болюсу.

Групам самок мишей C3H/HeN вводять продукт внутрішньовенним способом у виді болюсу в дозі 40мг/кг, еквівалентної 120мг/м<sup>2</sup>. Зразки крові і головного мозку одержують від усіх дозованих тварин, яких забивають в інтервалі до 72 годин після введення дози ліки. Головний мозок і відповідні зразки плазми аналізують на зміст продукту Ia за допомогою LC-MS/MS-аналізу (Рідинна хроматографія / мас-спектрометрія).

2. Методи

35 Препарат: 2,25мг/мл розчину, що містить 5% Полісорбату 80, 5% етанолу і 90% 5%-вого водного розчину глюкози.

40 Кожній з п'ятдесятьох шести самок мишей C3H/HeN вагою приблизно 20г через хвостову вену вводять препарат продукту II за допомогою в/в болюсу при об'ємі ін'єкції 0,4мл, щоб ввести сумарну дозу 40мг/кг.

Відбір зразків крові і тканин

Відбір зразків: крові - шляхом серцевої пункції; печінки і головного мозку - шляхом розтину після умертвіння за допомогою CO<sub>2</sub>.

Час відбору зразків: через 2, 5, 15, 30, 45 хвилин, 1, 2, 4, 6, 8, 14, 48 і 72 години після введення дози.

45 Цільну кров збирають у гепаринізовані пробірки та одержують відповідні зразки плазми шляхом центрифугування і негайного заморожування при -20°C. Тканини просушують за допомогою промокального папера, зважують і негайно заморожують при -20°C. Усі зразки відправляють на аналіз замороженими. Після одержання зразки зберігають у чеканні аналізу в замороженому виді приблизно при -18°C.

Аналіз зразків головного мозку і плазми за допомогою LC-MS/MS

50 Визначення: LC-MS/MS (Sciex API III plus), спосіб турбоіонного вприскування.

Використовуються наступні умови мас-спектрометрії:

Швидкість допоміжного газу	6л/хв.
Швидкість розпилувального газу	0,6л/хв.
Турбо-температура	450°C
Температура газу, який екранує	300
Швидкість газу, який екранує	0,6л/хв.
Час розгорнення	1 розгорнення/сек.
Відношення розподілу потоку елюенту	1:10

60 Колонка: 75x4,6мм Supelcosil ABZ plus (3мкм).

Рухлива фаза: Ацетонітрил/метанол/ацетат амонію (10Мм; 40/25/35 об./об./об.)

Швидкість потоку: 1мл/хв.

Температура: кімнатна.

65 Екстракція. Плазма: до зразка (50мкл) додають 100мкл ацетонітрилу. Добре перемішують, центрифугують, видаляють надосадову рідину, додають 100мкл рухливої фази і вприскують 150мкл.

Головний мозок: додають 100мкл ацетонітрилу до гомогенізованого зразка (100мг гомогенату головного мозку з водою при співвідношенні 1:1мас./мас.) і добре перемішують. Додають 1мл діетилового ефіру, перемішують, центрифугують, видаляють органічний шар і сушать під N<sub>2</sub>. Відновлюють у 200мкл рухливої фази і впорскують 150мкл.

Калібрувальні стандарти:

Плазма: Дев'ять з концентраціями 5, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400 і 500нг/мл (продукт Ia). Одержують шляхом додавання відповідних аліквот продукту (концентрації =0,1, 1 чи 10мкг/мл) у етанолі до аліквотам мишачої плазми обсягом 0,5мл. Кожен зразок після додавання ліків добре перемішують; потім відбирають аліквоту в 50мкл для аналізу.

Головний мозок: Одинадцять з концентраціями 10, 20, 30, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2500 і 5000нг/г у гомогенізованому головному мозку мишей (1:1мас./мас. головного мозку з водою). Одержують шляхом додавання відповідних аліквот продукту (концентрації = 1, 10 або 100мкг/мл) у етанолі до 0,5, 1, 3 чи 4г гомогенізованого мишачого головного мозку. Кожен зразок після додавання ліків добре перемішують, потім відбирають аліквоту в 100мг для аналізу.

Час утримання: ліки, продукт Ia - ~2,3хв.

Ефективність екстракції:

Плазма - приблизно 58% при 200нг/мл.

Головний мозок - приблизно 41% при 500нг/г і 39% при 1000нг/г.

### 3. РЕЗУЛЬТАТИ

#### 3.1. Концентрації в плазмі

У наступній таблиці представлені концентрації продукту Ia в плазмі, що спостерігаються після внутрішньовенного введення мишам продукту Ia в дозі 40мг/кг.

Попередні концентрації в плазмі продукту Ia після в/в введення мишам у дозі 40мг/кг						
Час після введення дози (години)	Концентрація в плазмі продукту Ia (нг/мл)					Середнє значення ±ср. квад. помилка
	IV1	IV2	IV3	IV4		
2хв.	52987	45942	49607	38994	46882	5994
5хв.	36734	33538	32077	34903	34313	1984
15хв.	20493	20897	21051	19459	20475	717
0,5 години	10765	10344	9170	11232	10378	883
0,75 години	7133	10948	8121	10148	9087	1764
1 година	6017	7423	6693	6079	6553	655
-	4633	4337	4600	3564	4283	498
4 години	1072	1110	835	830	962	150
6 годин	449	316	346	336	362	59
8 годин	204	199	195	154	188	23
14 годин	65	56	50	52	56	7
24 години	18 (нмкв)	15 (нмкв)	15 (нмкв)	16 (нмкв)	16	1
48 годин	4 (нмкв)	н. в.	н. в.	4 (нмкв)	2	2
72 години	н. в.	н. в.	н. в.	н. в.	-	н. п.
н. п. - не придатна						
н. в. - не визначається (≤ нижньої межі виявлення 4нг/мл)						
нмкв - нижче межі точного кількісного визначення (20нг/мл)						

#### 3.2. Концентрації в головному мозку

У приведеній нижче таблиці представлені концентрації продукту Ia в неушкодженому головному мозку, що спостерігаються після внутрішньовенного введення мишам продукту Ia в дозі 40мг/кг.

Попередні концентрації в головному мозку продукту Ia після в/в введення мишам у дозі 40мг/кг						
Час після введення дози (години)	Концентрація в головному мозку продукту Ia (нг/г)				Середнє значення ±ср. квад. помилка	
	IV1	IV2	IV3	IV4		
2хв.	6962	8817	8147	7630	7889	786
5хв.	8344	8473	7762	8091	8167	313
15хв.	5809	7100	7641	6481	6758	791
0,5 години	7262	6788	8317	6894	7315	698
0,75 години	7675	8086	7513	7272	7637	342
1 година	6424	8964	1747	7489	6156	3118
2 години	7956	8418	6966	7017	7589	716
4 години	7909	6939	6712	5459	6755	1008
6 годин	6688	7968	7350	3712	6430	1886
8 годин	9067	6977	8616	8342	8250	900
14 годин	9618	10049	7595	9271	9133	1074

24 години	7905	9842	7885	9052	8671	952
48 годин	6660	8541	7704	7986	7723	789
72 години	5899	5511	5692	3894	5249	917

5 н. в. - не визначається (< нижньої межі виявлення 92нг/г)  
 н. п. - не придатна

### 3.3. Фармакокінетичні параметри

10 У наступній таблиці наведено попередні фармакокінетичні параметри для продукту Ia, які отримані після в/в введення мишам у дозі 40мг/кг і розраховані з використанням середніх значень вмісту в плазмі і головному мозку.

Попередні середні фармакокінетичні дані					
Зразок	ППК <sub>0-∞</sub> (час*мкг/мл чи г)	Клс (л/час*кг)	V <sub>розп.</sub> (л/кг)	Початкове T <sub>1/2</sub> (години)	Кінцеве T <sub>1/2</sub> (години)
Плазма+	30,0	1,3	1,9	0,1	62
Плазма #	29,8	13	2,4	0,2	20
Мозок	787,8*	н. п.	н. о.	-	31,4
+ розраховано з величин ≥ н.м.в. 4нг/мл					
# розраховано з величин ≥ нмкв 20нг/мл					
* відповідна ППК <sub>0-72</sub> години = 549,7час*мкг/г					

25 Біекспоненціальне рівняння задовольняє профілям, що використовують інтерактивний лінійний алгоритм найменших квадратів як частину пакета SIPHAR. Площу під кривою (ППК, AUC) розраховують за правилом трапеції від нульового часу і до часу як останнього значення, що дорівнює чи більше, ніж н.м.в. (нижня межа виявлення)+ (4нг/мл) чи нмкв (нижня межа кількісного визначення)# (20нг/мл) для плазми, так і до 72 годин після введення дози для головного мозку, а потім екстраполюють до нескінченності.

Скорочення:

30 ППК<sub>0-∞</sub>: площа під кривою залежності концентрації в плазмі або мозку від часу від t=0 (початок вливання) до нескінченності.

Початкове T<sub>1/2</sub>: Початковий період напіввиведення (розподіл).

Кінцеве T<sub>1/2</sub>: Кінцевий період напіввиведення (варто розглядати як оцінку, яка залежить тільки від частоти відбору зразків на заключній фазі і від чутливості аналізу).

Клс - сумарний кліренс плазми.

35 V<sub>розп.</sub> - обсяг розподілу при стаціонарному стані.

н. п. - не придатна

### 4. Висновки

40 - Концентрації продукту Ia є високими, як і очікували, після внутрішньовенного введення дози 40мг/кг, але швидко падають від максимального значення через 2 хвилини (середнє значення 46,9мкг/мл) менш чим до 1мкг/мл у межах 4 годин (початковий період напіввиведення ≤0,7 години). Однак концентрації зберігаються на рівні вище межі точного кількісного визначення (20нг/мл) аж до 14 годин після введення і стабільно вище межі виявлення (4нг/мл) протягом 24 годин після введення дози.

45 - Кінцевий період напіввиведення 6,2 години розрахований з концентрацій у плазмі, що можуть бути визначені (≥4нг/мл). Однак слід зазначити, що в цьому випадку кінцевий період напіввиведення залежить значною мірою від чутливості аналізу, і, якщо, замість цих концентрацій для розрахунку фармакокінетичних параметрів використовують концентрації вище межі точного визначення (20нг/мл), тоді кінцевий час напіввиведення падає до 2,0 годин.

50 Середнє значення сумарного кліренсу плазми, як визначено, складає 1,3л/годину\*кг, що являє собою значну частину середнього потоку плазми через печінку (з розрахунку на середній потік крові через печінку, що складає приблизно 5,2л/годину\*кг).

55 - У цих зразках після в/в введення продукт Ia, як виявляється, легко проникає через гематоенцефалічний бар'єр. Високі концентрації виявлені при початковому часі відбору зразків (7,9мкг/г через 2 хвилини), що вказує на швидке проникнення в ці тканини. Хоча максимальні концентрації 9,1мкг/г спостерігаються через 14 годин, високі концентрації зберігаються аж до часу останнього відбору зразка (5,3мкг/г через 72 години). Не дивно, що продукт повільно виводиться з головного мозку з періодом напіввиведення 31,4 години. Виходячи з величин ППК<sub>0-∞</sub> (788час\*мкг/г відносно 30час\*мкг/мл), концентрації продукту Ia в головному мозку складають приблизно 12-ти кратну концентрацію в плазмі.

### Приклад 2

60 Оцінка протипухлинної активності продукту (Ia) відносно інтракраніально щеплених гліобластом людини U251 і SF-295 на мишах NCr-nu.

65 Проведено чотири дослідження для оцінки реакції гліобластом U251 і SF-295 при лікуванні за допомогою продукту (Ia). У двох дослідженнях гліобластоми U251 і SF-295 були стимульовані від інтракраніально щеплених клітин при об'ємі 10<sup>6</sup> клітин на одну мишу. Схема лікування інтракраніально щеплених клітин гліобластом U251 - внутрішньовенно, один раз на день, кожний шостий день при трьох обробках (qbd x 3), починаючи з четвертого дня після щеплення. Схема лікування інтракраніально щеплених клітин гліобластом SF-295 - внутрішньовенно,

5 один раз на день, кожний четвертий день при трьох обробках (q4d x 3) , починаючи з другого дня після обробки. При дослідженні інтракраніального щеплення сполуки оцінюють, виходячи з їхньої здатності збільшувати тривалість життя тварин. В обох моделях цих пухлин як позитивний контроль використовують нітрозосечовину.

Метою даного експерименту є оцінка продукту (Ia) з погляду протипухлинної дії в моделях пухлинних гліобластом людини.

У цих експериментах загальні методики DCTD, NCI і методики для вивчення ефективності і in vivo були модифіковані для конкретного застосування (In vivo Cancer Models, NIH Publication №84-2635, 1984). Ці дослідження проведені на вдосконаленому устаткуванні (AAALAC Registration №000643, AALAS Membership №840723001, USDA Registration №64-R-001, OPPr, PHS, NIH, AWA, Assurance №A3046-01). Це устаткування має сертифікат ISO 9001. Комісією з нагляду був Southern Research Institutional Animal Care and Use Committee; використовувався протокол IACUC №96-8-50.

Розріджувачі:

Продукт (Ia) готують у 5% етанолу, 5% Tween 80, 90% D5W.

Нітрозосечовину готують у 2% етанолу, 98% фізіологічного розчину.

Приготування доз:

Усі дозуючі розчини приготовлені в Southern Research Institute (SRI).

Введення сполуки:

Продукт (Ia) вводять з розрахунку 0,4мл/мишу, виходячи із середньої загальної ваги тіла.

Нітрозосечовину вводять з розрахунку 0,1мл/10г ваги тіла.

Стабільність сполуки:

Продукт (Ia) тримають у льоді і вводять протягом 20 хвилин після одержання препарату.

Нітрозосечовину тримають у льоді і вводять протягом 45 хвилин після одержання препарату.

Умови зберігання:

Усі сполуки зберігають в охолодженому ексікаторі.

Запобіжні заходи при роботі

З сполуками працюють відповідно до методик, що рекомендуються Комісією з безпеки Southern Research Institute. Усі фахівці, що проводять експеримент, при введенні сполук цілком одягнені, працюють у рукавичках і захисних масках і захисних окулярах.

Будь-яка інтракраніально щеплена тварина, яка, як здається, вмирає, безболісно забивається з гуманістичних розумінь. Оскільки дослідження ефективності попадає в категорію базового дослідження, закінчення експерименту базується на результатах, які, як визначено, є оптимальними.

Види: Самок атимічних мишей NCr-ну віком шість-вісім тижнів використовують для дослідів з інтракраніально щепленою U251. Самців атимічних мишей NCr-ну віком шість-вісім тижнів використовують для дослідів з інтракраніально щепленою SF-295.

Обґрунтування: Для поширення людських пухлинних ксенотрансплантантів, що є цільовими тканинами для розроблювальних сполук, необхідні миші з імунодефіцитом.

Джерело: FCRDC (Animal Production Area), Frederick, MD для вивчення інтракраніально щепленої SF-295; Taconic Animal Farms, Germantown, NY для досліджень інтракраніально щепленої U251.

Кількість і стать: У дослідях з інтракраніально щепленою 295 використовують сумарно 160 самців; у дослідях з інтракраніально щепленою U251 використовують сумарно 154 самки.

Вік і вага: Середні маси визначають спочатку кожного досліді. Середня вага мишей, щеплених інтракраніально гліобластомою U251, складає від 21 до 22г. Середня вага мишей, щеплених інтракраніально гліобластомою SF-295, складає від 24 до 26г.

Ідентифікація тварин: Стандартне маркірування на вухах.

Карантин: Перед початком дослідів усіх тварин утримують протягом 7-денного періоду для спостереження.

Утримання та догляд: Тварин утримують у клітках ізолятора, покритих фільтром, по п'ять тварин на клітку. Клітки і підстилку змінюють два рази в тиждень.

Їжа і вода: Мишам дають Teklad Sterilizable 8656 Mouse Diet (Harlan Teklad) на розсуд експериментатора. Також на розсуд дають фільтровану водопровідну воду.

Наволишні умови: Підтримуються у відповідності зі стандартними робочими методиками SRI, схваленими Комісією IACUC.

У це дослідження включено два досліді (RP-36 і RP-38).

Як згадувалося раніше, цей експеримент розроблений для оцінки активності продукту (Ia) у відношенні інтракраніально щеплених гліобластом U251 і SF-295 у атимічних мишей NCr-ну. Дози продукту (Ia) складають 30, 20 і 13,4мг/кг/доза. Для двох дослідів з інтракраніальним щепленням готують клітини при концентрації  $3,33 \times 10^7$  клітин/мл середовища і вводять в об'ємі 0,03мл на мишу. Клітини вводять у головний мозок праворуч від середньої лінії за допомогою голки з нержавіючої сталі 25 розміру, 3/8 дюйма. Для досліді з U251 (RP-36) використовують клітини, які культивували. Схема лікування - q6d x 3 (кожен 6-ий день, три рази), внутрішньовенно, починаючи з четвертого дня після щеплення. У досліді з SF-295 (RP-36 використовують пухлинний brei, приготовлений із твердої пухлини. Схема лікування q4d x 3, внутрішньовенно, починаючи з другого дня після щеплення. Для порівняння в кожному досліді використовують нітрозосечовину через її відому активність у відношенні пухлин центральної нервової системи. Дозування складає 27, 18 і 12мг/кг/доза, а схема лікування аналогічна схемі лікування за допомогою продукту (Ia) у кожному досліді.

У першому досліді (RP-36) кожна сполука була ефективною при лікуванні інтракраніально щепленої гліобластоми U251. Лікування за допомогою продукту Ia приводить до п'яти з десяти, чотирьом з десяти і трьом

з десяти що залишилися в живих на 122 день і до росту тривалості життя (РТЖ) 176%, 202% і 144% відповідно для груп з дозами 30, 20 (МТД, МСД - максимально стерпна доза) і 13,4мг/кг/доза. Лікування за допомогою нітрососечовини приводить до РТЖ 205% і 51% у групах з дозами 18 і 12мг/кг/доза відповідно. Відзначено десять з десяти і сім з десяти що залишилися в живих на 122 день групах з дозами 27 (МСД) і 18мг/кг/доза.

В другому досліді (RP-38) кожна сполука була ефективною при лікуванні інтракраніально щепленої гліобластоми SF-295. Лікування за допомогою продукту (Ia) при дозах 30, 20 і 13,4 (МСД) мг/кг/доза приводить до РТЖ - 9%, 95% і 81% відповідно. Спостерігається деяка токсичність при рівнях доз 30 і 20мг/кг/доза, що виявляється у відповідній середній втраті ваги в 7г і 6г у період лікування. Була одна тварина, що вижила на 68 день з десяти тварин у групі з дозою 13,4мг/кг/доза. Нітрососечовина була токсична при найвищому рівні доз 27мг/кг/доза, що виявляється в середній втраті ваги 7г у період проведення лікування. Лікування нітрососечовиною у дозах 27, 18 і 12мг/кг/доза приводить до РТЖ 50%, 131% і 106% відповідно. Було дві тварини, які залишилися в живих на 68 день з десяти тварин при рівні дози 18мг/кг/доза.

Таким чином, вивчена активність продукту (Ia) проти інтракраніально щеплених гліобластом U251 і SF-295. Ця сполука достатньо активна проти цих двох ліній пухлини на обох щеплених сайтах.

Реакція інтракраніально щепленої гліобластоми U251 на лікування за допомогою продукту (Ia)																		
Група #	Лікування IV, Q6D x 3(4)		Дні смерті										122-день виживш./всього	Серединний день смерті	% РТЖ			
	Агент контролю (лікування)	Доза (мг/кг/доза)	26	31	31	34	34	34	34	34	34	34				34	34	34
1	Агент контролю (лікування)	Доза (мг/кг/доза)	26	31	31	34	34	34	34	34	34	34	34	34	1/20	34,0		
			34	37	37	39	41	43	45	80	115	-						
8	Продукт (Ia)	30,0	21	34	94	98	103	-	-	-	-	-	-	5/10	94,0	+176		
			У															
9			20,0	58	98	100	106	106	122	-	-	-	-	-			4/10	103,0
10	Продукт (Ia)	13,4	69	69	83	83	83	83	122	-	-	-	-	3/10	83,0	+144		
			У	У														
14	Нітрососечовина	27,0	94	104	104	-	-	-	-	-	-	-	-	10/10	~	~		
15			18,0	41	45	49	49	54	66	69	69	80	7/10	104,0			+205	
16			12,0										У	0/10			51,5	+51
Гліобластома U251; джерело пухлини: культура клітин; щеплена - 17.04.98; дата оцінки: 17.08.98; Атимічні миші NCr-nu - самиці - Taconic Animal Farms.																		
Контроль, 2% EtOH/фізіологічний розчин; об'єм ін'єкції = 0,1куб.см/10г ваги тіла																		
Продукт (Ia), серія BFC611, одержана з партії №1 у 5% EtOH/5% Tween 80/90% D5W (розчинний);																		
Об'єм ін'єкції = 0,4куб.см.																		
Нітрососечовина, одержана з партії №2 в 2% EtOH/фізіологічний розчин (розчинна);																		
Об'єм ін'єкції = 0,1куб.см/10г ваги тіла.																		
Примітка: 1). Тих, що вижили на 122 день тварин при розрахунках не використовують. Серединний день смерті розраховують з використанням всіх смертей.																		
2). У - забиті тварини, що вмирили (використовуються при розрахунках).																		

Реакція інтракраніально щепленої гліобластоми SF-295 на лікування за допомогою продукту (Ia)																			
Група #	Лікування IV, Q4D x 3(2)		Дні смерті										68-день виживш./всього	Серединний день смерті	% РТЖ				
	Агент контролю (лікування)	Доза (мг/кг/доза)	10	13	14	14	14	14	15	15	16	16				16	16	16	
1	Агент контролю (лікування)	Доза (мг/кг/доза)	10	13	14	14	14	14	15	15	16	16	16	16	0/20	16,0			
			16	17	17	18	18	18	19	20	20	20							
8	Продукт (Ia)	30,0	11	13	13	14	14	15	30	40	41	47	47	0/10	14,5	-9			
9			20,0	13	13	16	31	31	31	33	33	37	54	0/10			31,0	+94	
10			13,4	25	25	29	29	29	30	32	34	41	-	-			1/10	29,0	+81
14	Нітрососечовина	27,0	15	16	16	19	29	37	56	64	-	-	-	2/10	24,0	+50			
			У																
15			18,0	33	34	34	35	37	37	37	40	41	-	-			1/10	37,0	+131
16	12,0	22	23	26	26	33	33	33	33	33	40	40	0/10	33,0	+106				
Гліобластома SF-295; джерело пухлини: 01/A/05F3T8; щеплена - 26.08.98; Атимічні миші NCr-nu - самці - Frederick Cancer Research Development Center.																			
Контроль, 2% EtOH/фізіологічний розчин; об'єм ін'єкції = 0,1куб.см/10г ваги тіла																			
Продукт (Ia), серія BFC611, одержана з партії SRI №1 у 5% EtOH/5% Tween 80/90% D5W (розчинний);																			
Об'єм ін'єкції = 0,4куб.см.																			
Нітрососечовина, Bristol-Myers партія LAN84, одержана з партії SRI №2-4 в 2% EtOH/фізіологічний розчин (розчинна); об'єм ін'єкції = 0,1куб.см/10г ваги тіла.																			
Примітка: 1). Тих, що вижили на 68 день тварин при розрахунках не використовують. Серединний день розраховують з використанням всіх смертей.																			
2). У - забиті тварини, що вмирили (використовуються при розрахунках).																			

## Формула винаходу

5 1. Застосування  
4<sup>α</sup> -ацетокси-2<sup>α</sup> -бензоїлокси-5<sup>β</sup> ,20-епокси-1<sup>β</sup> -гідрокси-7<sup>β</sup> ,10<sup>β</sup> -диметоксі-9-оксо-11-таксен-13<sup>α</sup> -іл-(2R,3S)-3-трет-бутоксикарбоніламіно-2-гідрокси-3-фенілпропіонату для одержання засобу для лікування аномальної проліферації клітин головного мозку, причому вказаний засіб вводять парентеральним шляхом.

10 2. Застосування  
4<sup>α</sup> -ацетокси-2<sup>α</sup> -бензоїлокси-5<sup>β</sup> ,20-епокси-1<sup>β</sup> -гідрокси-7<sup>β</sup> ,10<sup>β</sup> -диметоксі-9-оксо-11-таксен-13<sup>α</sup> -іл-(2R,3S)-3-трет-бутоксикарбоніламіно-2-гідрокси-3-фенілпропіонату для одержання засобу для лікування аномальної проліферації клітин головного мозку, причому вказаний засіб вводять внутрішньовенно.

15 Офіційний бюлетень "Промислова власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2004, N 10, 15.10.2004. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

U A 7 0 3 3 2 C 2

U A 7 0 3 3 2 C 2