



УДК 577.182.54'17 : 615.277.3

© 1990 г.

*Л. С. Шоваров, Е. В. Бакина\**, *Э. И. Лажко,*  
*Г. И. Орлова, О. С. Жукова\*\**, *Н. А. Обидняк\*\**,  
*Н. Я. Юрченко\*\**, *Т. Ю. Глазкова\*\**, *М. Н. Преображенская*

## ПРОИЗВОДНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АНТИБИОТИКОВ РЯДА ДАУНОРУБИЦИНА, СОДЕРЖАЩИЕ ОСТАТОК МЕТИЛМОЧЕВИНЫ ИЛИ НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНЫ

*Всесоюзный научно-исследовательский институт по изысканию новых  
антибиотиков АМН СССР, Москва;*

*\*Институт микробиологии и вирусологии АН КазССР, Алма-Ата;*

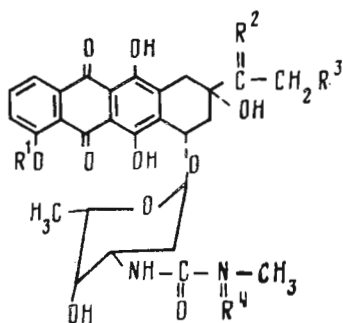
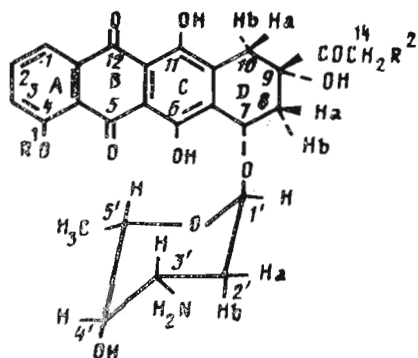
*\*\*Всесоюзный онкологический научный центр АМН СССР, Москва*

Производные противоопухолевых антрациклиновых антибиотиков, содержащие в углеводном кольце остаток N-метилмочевины, были получены взаимодействием метилизоцианата с даунорубицином, доксорубицином, карминомицином или производными даунорубицина по положению С-13 и С-14. N-Нитрозирование этих соединений привело к производным антрациклиновых антибиотиков, содержащим остаток N-метил-N-нитрозомочевины. При щелочном распаде производных даунорубицина и карминомицина, содержащих остаток нитрозометилмочевины, промежуточные карбамильные производные циклизуются с участием соседней 4'-ОН-группы и образованием соответствующих 3'-N,4'-O-карбонилпроизводных. В то время как в исходных антибиотиках, их уредо- и нитрозометилпроизводных углеводный остаток имеет конформацию  ${}^1C_4$ , 3'-N,4'-O-карбонилпроизводные имеют предпочтительную конформацию  ${}^4C_1$  или  ${}^{2,3}B$  или  $B_0, 3$ . В опытах *in vivo* и *in vitro* показано, что введение дополнительной цитотоксической группировки не вызывает усиления цитотоксической и противоопухолевой активности в этом ряду соединений.

Получение полусинтетических аналогов противоопухолевых антрациклиновых антибиотиков с целью поиска среди них соединений, воздействующих на резистентные к применяемым препаратам опухоли, различающихся спектром противоопухолевого действия, обладающих меньшей токсичностью и большей избирательностью действия, представляет большой интерес. Одним из возможных направлений модификации антрациклиновых антибиотиков является получение производных по 3'-аминогруппе углеводного фрагмента. В то время как ацилирование 3'-аминогруппы приводит к значительному снижению биологической активности, среди N-алкильных производных были получены соединения, показавшие выраженные противоопухолевые свойства [1]. В последнее время привлекли внимание морфолино- и цианоморфолинопроизводные даунорубицина и доксорубицина, имеющие в 10—100 раз большую цитотоксичность, чем исходные антибиотики [2]. Особый интерес представляют цианоморфолины, для которых предполагается способность к ковалентному присоединению к нуклеофильным центрам макромолекул [3].

С целью введения в антрациклиновые антибиотики дополнительной цитотоксической группы, обладающей помимо алкилирующей активности способностью ковалентно привязываться к ферменту-мишени или к ДНК, нами были получены производные даунорубицина (I), доксорубицина (II), карминомицина (III) и 13- или 14-производных даунорубицина, содержащие в углеводном кольце остаток N-метил- (VI—XII) или N-метил-N-нитрозомочевины (XIII—XVI). Высокая противоопухолевая активность препаратов класса нитрозоалкилмочевин обусловлена их способностью алкилировать участки ДНК и некоторых ферментов. В организме нитрозоалкилмочевины разлагаются с образованием активных алкилирующих ча-

стиц и алкилизоцианатов ( $R-N=C=O$ ), карбамоилирующих нуклеофильные группы белков и нуклеиновых кислот [4]. Можно было полагать, что при введении остатка нитрозометилмочевины в антрациклиновые антибиотики за счет алкилирующих свойств может повыситься противоопухолевая активность модифицированных антибиотиков, а за счет карбамоилирования будет происходить их присоединение к макромолекулам.



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
(I)	CH <sub>3</sub>	H
(II)	CH <sub>3</sub>	OH
(III)	H	H
(IV)	CH <sub>3</sub>	OCO(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH
(V)	CH <sub>3</sub>	OCO(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOH

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
(VI)	CH <sub>3</sub>	O	H	H
(VII)	CH <sub>3</sub>	O	OCO(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	H
(VIII)	CH <sub>3</sub>	O	OCO(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOH	H
(IX)	CH <sub>3</sub>	N—N—N—CH <sub>3</sub>	H	H
(X)	H	O	H	H
(XI)	H	N—N—N—CH <sub>3</sub>	H	H
(XII)	CH <sub>3</sub>	O	OH	H
(XIII)	CH <sub>3</sub>	O	H	NO
(XIV)	CH <sub>3</sub>	O	OCO(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOH	NO
(XV)	H	O	H	NO
(XVI)	CH <sub>3</sub>	O	OH	NO

3'-(N-Метилкарбамоил)производные (VI, VII, X, XII) были получены конденсацией метилизоцианата с даунорубицином (I), доксорубицином (II), карминомицином (III), а также 14-адипиноилоксидаунорубицином (IV) [5] в пиридине при комнатной температуре. Выходы составили 94—97%. Ранее метилуреидопроизводное (VI) было получено взаимодействием метилизоцианата с даунорубицином (I) в водно-метанольной смеси с выходом 49% [6].

Для получения водорастворимых соединений производные (VI) и (X) взаимодействием с N-амино-N'-метилпиперазином превращали в гидрохлориды соответствующих замещенных гидразонов (IX) и (XI) по методике [7]. Препараты (IX) и (XI) вводились в биологические эксперименты без дополнительной очистки.

В спектрах ПМР (табл. 1) 3'-(N-метилкарбамоил)производных (VI, VII, X, XII) в сравнении с исходными антибиотиками отмечено появление дополнительного сигнала в области 2,63 м.д., соответствующего сигналу N—CH<sub>3</sub>-группы. Сравнение химических сдвигов и КССВ (табл. 2) протонов насыщенного D и углеводного кольца полученных производных с исходными антибиотиками [8] указывает на сохранение их конформации.

Для ИК-спектров этих соединений наиболее характерно резкое уширение полосы при 1660—1620 см<sup>-1</sup>, что происходит за счет наложения валентных колебаний C=O-связи хинона и мочевины (табл. 3).

3'-(N-Метилкарбамоил)производные (VI), (X) и (XII) нитрозировали

Химические сдвиги протонов (м.д.) полученных соединений в  $\text{CDCl}_3$  относительно  $\text{SiCl}_3$  (7,25 м.д.)

Соединения	1-Н	2-Н	3-Н	4-ОСН <sub>3</sub>	7-На	8-Нб	8-На	10-Нб	10-На	(4), 6, 11-ОН	1'-Н	2'-Нб	2'-На	3'-Н	4'-Н	5'-Н	5'-СН <sub>3</sub>	<sup>13</sup> -СН <sub>3</sub> (13-СН <sub>2</sub> )	N-СН <sub>3</sub>
(VI)	8,02	7,76	7,36	4,05	5,22	2,07	2,29	2,93	3,22	13,96 13,27 13,23	5,46	1,76	1,83	3,96	3,67	4,20	1,27	2,40	2,69
(VII) а,г	7,98	7,74	7,35	4,02	5,21	2,04	2,41	2,99	3,23	13,90 (12,17) 12,91	5,41	б	б	3,84	3,54	4,15	1,24	(5,27 5,08) 2,51	2,61
(X) а	7,85	7,68	7,27	—	5,18	2,06	2,30	2,97	3,21	13,44 13,24	5,40	в	в	3,86	3,57	4,18	1,24	2,51	2,63
(XII) а,е	7,97	7,73	7,35	4,01	5,20	2,08	2,29	2,99	3,20	13,90 13,30 14,00	5,40	1,72	1,67	3,82	3,51	4,09	1,20	(4,69)	2,59
(XIII) е	8,04	7,78	7,38	4,07	5,31	2,15	2,34	2,97	3,27	13,97 (12,12) 12,94	5,54	1,91	2,02	4,29	3,76	4,29	1,31	2,43	3,42
(XIV) д,е	8,02	7,77	7,38	4,06	5,30	2,13	2,50	3,03	3,31	13,45 13,26 14,00	5,44	1,91	2,00	4,27	3,77	4,27	1,34	(5,35 5,09) 2,43	3,12
(XV) е	7,88	7,70	7,31	—	5,28	2,14	2,37	3,01	3,28	13,96 (12,14) 12,98	5,50	1,93	2,06	4,30	3,77	4,30	1,32	2,43	3,43
(XVI) е	8,04	7,79	7,39	4,07	5,33	2,20	2,37	3,05	3,31	13,96 (12,14) 12,98	5,55	1,91	2,00	4,26	3,77	4,21	1,32	(5,55)	3,12
(XVII)	8,03	7,78	7,39	4,08	5,32	2,10	2,51	2,98	3,22	13,96 (12,14) 12,98	5,58	2,16	1,66	4,24	4,45	4,09	1,38	2,40	—
(XVIII)	7,86	7,70	7,30	—	5,30	2,09	2,51	2,99	3,23	13,43	5,57	2,23	1,68	4,27	4,56	4,11	1,39	2,41	—

а Регистрация спектров этих соединений проводилась с добавлением небольшого количества  $\text{CD}_3\text{OD}$ . б Сигналы протонов 2' перекрываются сигналами заместителя R<sup>3</sup> в области 1,69 м.д. в Протоны 2' проявляются в виде уширенного дублета в области 1,77 м.д. г Сигналы R<sup>2</sup>: 1,69 (мг, 4Н), 2,29 (г, 2Н), 2,44 (г, 2Н). д Сигналы R<sup>3</sup>: 1,46 (мг, 4Н), 1,70 (мг, 4Н), 2,37 (г, 2Н), 2,48 (г, 2Н). е 9-ОН: 4,62 (XII), 4,45 (XIII), 4,36 (XIV), 4,32 (XV), 4,66 (XVI).

КССВ (Гц) протонов полученных соединений в  $CDCl_3$ 

Соединение	1,2	1,3	2,3	7,8a	7,8b	8a, 8b	8a, 10a	10a, 10b	1', 2'b	1', 2'a	2'a, 2'b	2'b, 3'	2'a, 3'	3', 4'	4', 5'	5', $CH_3$	4'-ОН
(VI)	7,6	<1	8,3	2,0	4,2	14,8	1,6	19,0	4,1	4,0	13,0	13,4	5,3	6	6	6,5	
(VII) a,r	7,8	4,3	8,5	2,0	4,2	14,7	1,9	18,9	2,4	2,4	в			2,8	<1	6,6	
(X) a	7,6	4,1	8,3	2,0	4,3	14,8	1,9	19,0	2,4	2,4		8,1	2,7	2,5	1,1	6,6	—
(XII) a	7,7	4,1	8,6	2,0	4,3	14,8	1,9	18,7	3,9	1,7	13,4	12,1	5,7	2,6	0,9	6,6	
(XIII)	7,7	<1	8,6	1,9	4,2	14,9	1,9	19,0	4,3	<1	13,5	13,5	5,0	~2	<1	6,6	8,2
(XIV) r	7,8	4,0	8,6	2,0	4,1	14,9	1,8	19,1	4,1	<1	13,6	12,7	5,1	<1	<1	6,6	
(XV)	7,6	4,1	8,4	2,0	4,2	14,8	2,0	19,1	4,2	<1	13,4	12,3	5,1	<1	<1	6,7	7,8
(XVI)	7,7	4,0	8,7	2,0	4,2	14,8	2,0	18,8	4,1	<1	13,3	12,9	5,3	2,6	<1	6,5	8,0
(XVII)	7,7	4,0	8,4	1,8	3,9	14,8	2,0	18,8	5,9	8,0	15,7	3,2	3,5	9,3	1,5	6,4	—
(XVIII)	7,6	4,1	8,5	2,0	4,0	14,6	2,1	19,1	5,8	8,0	15,7	2,9	3,6	9,6	1,7	6,4	—

a Регистрация спектров этих соединений проводилась с добавлением небольших количеств  $CD_3OD$ . б Сигнал протона C-4' уширен,  $\Delta\nu_{1/2} \approx 3,5$  Гц, в Сигналы протонов C-2' перекрываются с сигналами заместителя R, г J<sub>14a, 14b</sub>: 18,1 (VII), 18,2 (XIV).

## Свойства полученных соединений

Соединение	t. пл., °C	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> с 0,1 (CHCl <sub>3</sub> ), град	Найдено, %			Брутто-формула	Вычислено, %			R <sub>f</sub> (система)	Выход, %	ИК-спектр (KBr) в области 1800—1500 см <sup>-1</sup>
			C	H	N		C	H	N			
(VI) *	214	+235	59,32	5,48		C <sub>29</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>11</sub>	59,59	5,48		0,71 (A)	97,1	1720, 1660—1615, 1590—1580
(VII)	155	+265	51,86	5,91		C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>11</sub> ·4,5H <sub>2</sub> O	51,69	5,99		0,70 (A)	94,6	1750—1725, 1660—1600, 1600—1560
(X)	127	+201	55,64	5,08	6,46	C <sub>29</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>12</sub> ·0,5H <sub>2</sub> O	55,94	4,98	6,75	0,72 (A)	98,0	1720 (m), 1660—1590, 1590—1568
(XII)	157	+195	55,99	5,30	5,61	C <sub>26</sub> H <sub>41</sub> N <sub>3</sub> O <sub>16</sub>	56,03	5,32	5,45	0,67 (A)	97,5	1720 (m), 1645—1610, 1590—1580
(XIII)	177	+244	56,29	4,97		C <sub>28</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>12</sub>	56,09	4,84		0,53 (B)	51,1	1720 (m), 1640—1610, 1590—1580, 1580 (m)
(XIV)	150	+130	58,84	5,18	2,39	C <sub>28</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>11</sub> ·H <sub>2</sub> O	58,84	5,08	2,45	0,77 (A)	28,9 <sup>2*</sup>	1750—1710, 1640—1610, 1585 (m), 1545—1530
(XV)	190	+160	59,87	4,60	2,57	C <sub>27</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>11</sub>	59,89	4,62	2,59	0,83 (A)	50,3	1740—1710, 1620—1600, 1585, 1533 (m)
(XVI)	98	+125								0,76 (A)	53,4	1740—1710, 1650—1610, 1592—1575, 1545—1530
(XVII) **	184	-26								0,24 (B)	77,8	1770—1720, 1625, 1585
(XVIII)	186	-40 <sup>4*</sup>								0,46 (B)	70,0	1770—1725, 1630—1580

\* [8] : [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> +224° (с 0,1; 95% EtOH).

\*\* Выход в расчете на 14-бромдаунорубин.

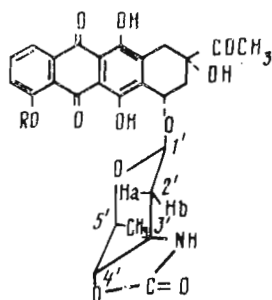
\*\*\* Литр. [6] : т. пл. 185—190° C, [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> -46° (с 0,1; CHCl<sub>3</sub>).\*\*\*\* [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> измерено при с 0,05.

нитритом натрия в уксусной кислоте и выделяли полученные нитрозометилпроизводные (XIII, XV, XVI) с выходами 50—53%. Получить нитрозопроизводные соединений (IX) и (XI) не удалось ввиду легкости гидролитического распада C=N-связи. Последовательным превращением 14-бромдаунорубина [5] в 14-пимелиноилоксидаунорубин (V), затем в его 3'-N-метилкарбамоилное производное (VIII) и N-нитрозированием последнего было получено соединение (XIV) с выходом 28,9% (в расчете на 14-бромдаунорубин).

В ИК-спектрах производных (XIII—XVI) (табл. 3) отмечено появление дополнительной полосы при  $1535\text{ см}^{-1}$ , соответствующей колебаниям N—NO-группы.

В ПМР-спектрах соединений (XIII—XVI) (табл. 1) наблюдается смещение сигнала N—CH<sub>3</sub>-группы в слабое поле (3.12 м.д.), что характерно для нитрозоалкилмочевин [4]. Судя по величинам химических сдвигов (табл. 1) и значениям КССВ протонов углеводного кольца (табл. 2), у нитрозометилпроизводных сохраняется конформация углеводного фрагмента.

Для изучения карбамоилирующей способности нитрозометилпроизводных 3'-(N-метил-N-нитрозокарбамоил)даунорубин (XIII) и 3'-(N-метил-N-нитрозокарбамоил)карминоцин (XV) при обработке щелочью превращены в бициклические производные (XVII, XVIII) с выходами 70—77%.



(XVII) R=CH<sub>3</sub>  
(XVIII) R=H

Образование таких оксазолидин-2-онов, конденсированных с углеводным циклом, ранее наблюдалось при щелочной деградации противоопухолевого препарата хлорозотцина (N-метил-N-нитрозокарбамоил-D-глюкозамина) [9] и 3-(β-D-глюкопиранозил)-1-нитрозо-1-метилмочевин [10]. Соединение (XVII) было получено взаимодействием даунорубина (I) с фосгеном с низким выходом [6]. Конформация углеводного кольца, а также биологическая активность этого производного не были изучены.

В ПМР-спектрах производных (XVII) и (XVIII) в отличие от исходных соединений (XIII) и (XV) (табл. 1) отсутствует сигнал N—CH<sub>3</sub>-группы и изменен химический сдвиг протона при C-4':  $\Delta\delta_{\text{XIII-XVII}} = 0,78$ ,  $\Delta\delta_{\text{XV-XVIII}} = 0,79$  м.д., что свидетельствует о замещении 4'-ОН-группы в результате циклизации. Данные ПМР показывают также, что при циклизации произошло изменение конформации углеводного кольца ( ${}^1\text{C}_4 \rightarrow {}^4\text{C}_1$ ). Это следует из изменения значения КССВ протонов полученных соединений по сравнению с исходными (табл. 2). Так, увеличение значения  ${}^3J_{1',2'a}$  до 8 Гц указывает на аксиальное положение протонов при C-1' и C-2'a. Значения  ${}^3J_{2'b,3'}$  (3,2 Гц у (XVII), 2,9 Гц у (XVIII)) и  ${}^3J_{2'a,3'}$  (3,5 Гц у (XVII), 3,6 Гц у (XVIII)) говорят об отсутствии транс-диаксиальных взаимодействий протонов 2'a—3' и 2'b—3', т. е. об экваториальном положении 3'-H. Возрастание константы аксиально-экваториального взаимодействия vicинальных протонов  ${}^3J_{3',4'}$  до 9,3 (XVII) и 9,6 Гц (XVIII) можно объяснить, по-видимому, уменьшением двугранного угла H-C3'—C4'-H вследствие циклизации. Это позволяет также предположить, что произошло некоторое искажение (уплощение) конформации углеводного кольца в результате образования бициклического производного. Изменение химических сдвигов протонов при C-7, C-8a, C-2', C-3' и C-4' у соединений (XVII)

**Антимикробная, цитостатическая и противоопухолевая активность производных антрациклиновых антибиотиков**

Соединения	Включение [ <sup>3</sup> H] тимидина в клетки СаОv, % от контроля *	Данные in vivo на лейкозе Р-388		Антимикробная активность на <i>B. mycoides</i> , % от исходн.
		Дозы и режимы введения, мг/кг **	СПЖ, % от контроля	
(I)	29,1±3,0	7×2	85	100
(II)	48,2±3,5	7×1	134	100
(III)	38,9±2,9	3×1	89	100
(VI)	82,6±3,8	7×2	8	4,8
(VII)	95,9±4,4	»	8	0
(IX)	91,0±4,9	»	12	0
(X)	60,9±2,8			30,0
(XI)	52,1±3,6	7×2	32	9,0
(XIII)	79,7±3,6	»	10	5,0
(XIV)	88,6±4,2	»	13	1,0
(XV)	62,3±3,9	»	10	9,0
(XVI)	60,3±4,0	»	12	2,0
(XVII)	97,6±4,1	7×1	5	8,5
(XVIII)	86,5±3,0	7×1	6	12,0

\* Препараты изучены в концентрации 10<sup>-6</sup> М.

\*\* 1- или 2-кратное введение препарата через 96 ч после перевивки лейкоза при дозах 3 или 7 мг/кг.

и (XVIII) в сравнении с производными (VI) и (X), имеющими <sup>1</sup>C<sub>4</sub>-конформацию сахарного остатка, также свидетельствует об изменении у бициклических производных конформации углеводного кольца. Однако помимо предпочтительной конформации <sup>4</sup>C<sub>1</sub> нельзя исключить и возможность конформаций <sup>2,5</sup>B или B<sub>0,3</sub>. Для более строгого установления конформации (XVII) и (XVIII) необходимы дополнительные исследования. Ранее изменение конформации от <sup>1</sup>C<sub>4</sub> к <sup>4</sup>C<sub>1</sub> в результате образования бициклических 1-N,3-O-карбонильных производных было описано для α-D-арабинопиранозил- и β-D-ксилопиранозил-1-метил-1-нитрозомочевин [10]. Интересно, что удельное вращение соединений (XVII) и (XVIII) существенно отличается от удельного вращения остальных соединений этого ряда (табл. 3).

Данные об изучении биологической активности полученных соединений представлены в табл. 4. Антимикробная активность производных в отношении *Bacillus mycoides* выражена в сравнении с соответствующими исходными антибиотиками (для VI, VII, IX, XIII и XIV — с I; для XII, XVI — с II; для X, XI, XV — с III), активность исходных антибиотиков принята за 100%. Антимикробная активность всех новых соединений составляет доли активности исходных антибиотиков, наибольшим антимикробным действием обладало соединение (X).

Цитостатическое действие полученных соединений оценивали в культуре клеток карциномы яичника человека СаОv по подавлению включения [<sup>3</sup>H]тимидина в нуклеиновые кислоты этих клеток. Цитостатическое действие всех изученных соединений слабее, чем у исходных антибиотиков.

Полученные соединения исследовали на противоопухолевую активность на мышцах с лейкозом Р-388. Статистически достоверное увеличение средней продолжительности жизни леченых животных проявило только водорастворимое производное карминоидина (XI). Остальные соединения в изученных дозах не проявили статистически достоверного противоопухолевого эффекта. Следует отметить, что данные биологических испытаний (антимикробная, цитостатическая и противоопухолевая активности) хорошо коррелируют друг с другом.

Таким образом, производные, содержащие остаток метилмочевины, оказались менее активными, чем исходные антибиотики, что согласуется с более низкой биологической активностью N-ацильных производных ряда даунорубидина. Интересно, что введение нитрозогруппы в остаток метилмочевины исследованных антибиотиков не приводит к повышению актив-

ности. Это, по-видимому, объясняется либо неспособностью соединений данного типа к ковалентному присоединению к нуклеофильным центрам, поскольку распад нитрозометилмочевин сопровождается внутримолекулярным карбамоилированием, либо низкой растворимостью изученных соединений в воде.

### Экспериментальная часть

Спектры ПМР записывали на приборе VXR-400 (Varian, США). Для отнесения сигналов использовали метод двойного резонанса. ИК-спектры (KBr) снимали на спектрофотометре SP-1100 (Pye Unicam, Англия). Температуры плавления определяли на приборе Büchi SMP-20 (Швейцария) и не корректировали. Углы вращения определяли на поляриметре Perkin — Elmer 241 в кювете длиной 1 дм. ТСХ проводили на пластинках Silufol (Kavalier, СССР) в системах хлороформ — метанол — вода, 13 : 6 : 1 (А) или бензол — ацетон, 3 : 2 (Б). Колоночную хроматографию осуществляли на колонках с силикагелем Kieselgel-60 (Merck, ФРГ) с размером частиц 0,063—0,200 мм.

Свойства синтезированных соединений приведены в табл. 3.

*3'-(N-Метилкарбамоил)производные (VI, VII, X, XII).* К 1,0 г антибиотика (I)—(III) или (IV) [5], растворенному в 60 мл абс. пиридина, прибавляли 0,8 мл метилизоцианата. Через 2 ч перемешивания при 20° С реакционную смесь упаривали до половины объема под вакуумом и осаждали 200 мл эфира. Полученные продукты (VI, XII, X) или (VII) соответственно очищали перекристаллизацией из смеси хлороформ — этилацетат (VI, X, XII) или колоночной хроматографией на силикагеле (VII) при элюировании смесью метанол — хлороформ в соотношениях от 1 : 20 до 1 : 4, а затем чистым метанолом.

*3'-(N-Нитрозометилкарбамоил)производные (XIII, XV, XVI).* К раствору 1,0 г 3'-(N-метилкарбамоил)производного (IV, X) или (XII) в 40 мл ледяной уксусной кислоты, охлажденному до 5° С, добавляли раствор 0,27 г нитрита натрия в 1 мл воды. Через 3 ч реакции при 20° С в реакционную смесь приливали 50 мл дистиллированной воды и экстрагировали хлороформом. Объединенные экстракты промывали водой до pH ~6, фильтровали через бумажный фильтр и концентрировали до минимального объема. Продукты выделяли осаждением эфиром, очищали переосаждением.

*14-Пимелиноилокси-3'-(N-нитрозометилкарбамоил)даунорубицин (XIV).* К раствору 0,6 г гидрохлорида 14-бромдаунорубицина [5] в 150 мл метанола приливали метанольный раствор 1,82 г натриевой соли пимелиновой кислоты. Через 48 ч реакции при ~20° С выпавший осадок отфильтровывали, промывали 30 мл метанола. Получили 0,42 г неочищенного 14-пимелиноилоксидаунорубицина (V), который растворяли в 40 мл абс. пиридина, к раствору прибавляли 0,15 мл метилизоцианата. Через 3 ч реакции по описанной выше методике для соединения (VI) осаждали 0,40 г 3'-(N-метилкарбамоил)производного (VIII).

К полученному неочищенному производному (VIII), растворенному в 10 мл ледяной уксусной кислоты и охлажденному до 5° С, прибавляли раствор 0,08 г нитрита натрия в 0,30 мл воды. Через 3,5 ч реакции продукт выделяли и очищали, как было описано выше для соединения (XIII). Выход производного (XIV) составил 0,22 г (28,9% в расчете на 14-бромдаунорубицин).

*Бициклические производные (XVII и XVIII).* К 0,1 г соединения (XIII) или (XV), растворенному в смеси 4 мл метанола и 1,5 мл хлороформа, добавляли 0,2 мл 10% раствора NaOH. Через 15 мин перемешивания в реакционную смесь приливали 10 мл дистиллированной воды, нейтрализовали 1 н. HCl и экстрагировали хлороформом. Экстракт фильтровали, упаривали до небольшого объема, осаждали гексаном и получали индивидуальные соединения (XVII) и (XVIII) соответственно.

*Антимикробную активность* полученных соединений относительно исходных антибиотиков (I)—(III) определяли на *Bacillus mycoides* 537



методом диффузии в агар ([10], с. 943). Основной раствор стандартов и испытуемых препаратов готовили в дистиллированной воде или DMSO в концентрации 1 мг/мл. Рабочие разведения готовили при использовании фосфатного буфера № 4 ([10], с. 949) в концентрациях 50, 25 и 12,5 мкг/мл. Активность препаратов рассчитывали по стандартной кривой относительно диаметра зоны подавления тест-микроба.

*Цитостатический эффект* полученных соединений определяли на культивируемых клетках карциномы яичника человека (линия CaOv) [11]. Результаты представлены в виде средних величин включения [<sup>3</sup>H]тимидина в кислотонерастворимую фракцию клеток, выраженных в процентах от контроля с учетом среднеквадратичного отклонения. В качестве положительного контроля были использованы исходные антибиотики (I)—(III).

*Противоопухолевую активность* соединений определяли на тест-модели перевиваемого лейкоза Р-388 по методике, принятой в ВОИЦ АМН СССР [12]. В химиотерапевтических опытах использованы мыши BDF<sub>1</sub> (самцы) весом 20—24 г разводки питомника Столбовая. Критерием терапевтического эффекта было увеличение средней продолжительности жизни (СПЖ) леченых животных по сравнению с контрольными на 25%. Все препараты вводились внутривенно при разных дозах и режимах введения (однократно через 24 ч, 2-кратно через 96 ч и 5-кратно через 24 ч после перевивки лейкоза при дозах 3,5—28 мг/кг). В табл. 4 приведены дозы и режимы введения, для которых отмечено максимальное увеличение СПЖ. Различия опытных и контрольных СПЖ считали достоверными при  $P \leq 0,05$ . Ни в одном из опытов при введении препаратов гибели животных от острой токсичности не отмечено.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поваров Л. С. // Успехи биол. химии. 1982. Т. 22. С. 233.
2. Гаузе Г. Ф., Дудник Ю. В. Противоопухолевые антибиотики. М.: Медицина, 1987, С. 121—122.
3. Scudder S. A., Brown J. M., Sikic R. I. // J. Nat. Cancer Inst. 1988. V. 80. № 16. P. 1294—1298.
4. Эмануэль Н. М., Корман Д. Б., Островская Л. А., Горбачева Л. Б., Дементьева Н. П. Нитрозоалкилмочевины — новый класс противоопухолевых препаратов. М.: Наука, 1978.
5. Олсуфьева Е. Н., Поваров Л. С., Салимова Е. И., Потапова Н. П. // Антибиотики. 1982. № 10. С. 12—17.
6. Yamamoto K., Acton E. W., Henry D. W. // J. Med. Chem. 1972. V. 15. № 8. P. 872—875.
7. Поваров Л. С., Олсуфьева Е. Н., Бажанов В. С., Филиппосьянц С. Т., Шепелева Н. Г., Гольдберг Л. Е., Авербух Л. А. // Антибиотики. 1982. № 2. С. 137—140.
8. Altman T., Lenkinski R. E. // Can. J. Chem. 1987. V. 65. P. 2405—2410.
9. Wille P. F., Herr R. R., Jahnke H. K., Chidester C. G., Mizson S., Spaulding L. B., Argoudelis A. // J. Org. Chem. 1979. V. 44. № 1. P. 9—15.
10. Муханов В. И., Кустова И. Л., Гаглов В. Н., Ярцева И. В., Шевченко В. Е., Веверис А. Я., Спинце Б. А., Преображенская М. Н. // Биооргани. химия. 1984. Т. 10. № 10. С. 1385—1394.
11. Государственная фармакопея СССР. М., 1968. Изд. 10.
12. Добрынин Я. В., Степьева Т. И., Кондратьева Н. А. // Проблемы химиотерапии злокачественных опухолей. М.— Киев, 1974. С. 175—177.
13. Юрченко Н. Я. // Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей. Черногоровка, 1987. С. 59—60.

Поступила в редакцию  
17.VII.1989