

Камчибекова Ч.К.

Биолого-почвенный институт НАН КР, Бишкек, Кыргызская Республика

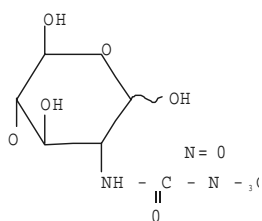
## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СИНТЕЗА ЭФФЕКТИВНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Оценены перспективы развития в области создания эффективных противоопухолевых препаратов. Новый региоселективный способ гликозилирования алкилмочевин открывает принципиально новые возможности модификации соединений с помощью гликозиламидной связи, позволяющие получить препараты, обладающие малой токсичностью и избирательностью действия.

С целью расширения ассортимента лекарственных средств синтез и изучение биологически активных веществ для использования их в онкологической практике продолжает оставаться одним из актуальных направлений современной медицины. Известно в то же время, что лишь очень немногие из синтезированных препаратов медицинского назначения находят практическое применение. Большинство из полученных соединений не находят клинического применения из-за высокой токсичности, слабой водной растворимости, неизбирательности действия и ряда других побочных явлений. Поэтому очень важным представляется поиск путей «облагораживания» физиологически активных соединений путем сочетания их с объектами природного происхождения, в частности с углеводами, без существенного изменения функции детерминантных групп.

В онкологической практике успешно используются многочисленные противоопухолевые препараты, представляющие разные классы химических соединений, обладающие различными механизмами действия и противоопухолевой активностью, а также побочными действиями.

Открытие антибиотика «стрептозотоцина» и установление спектра его биологической активности стимулировали резкое увеличение работ по синтезу аналогов «стрептозотоцина», т.к. выделенный микробиологическим путем препарат, обладающий противоопухолевой активностью, является гликозидом нитрозометилмочевины (НММ).



Стрептозотоцин

Антимитотическое действие производных мочевины связано с тем, что они тормозят синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), угнетают активность фермента рибонуклеотида в дезоксирибонуклеотид, тем самым эта группа противоопухолевых препаратов поражает клетки только в S фазе клеточного цикла.

В настоящей работе нами обоснован поиск и разработаны новые методы синтеза более активных противоопухолевых соединений среди производных нитрозомочевины.

Исследования кинетики и катализа реакций углеводов с участием гликозидных связей важны не только для теории строения и реакционной способности углеводов. Они представляют значительный интерес и для решения ряда актуальных задач биоорганической химии, поскольку гликозидная связь является одним из важнейших структурных элементов многих биологически важных веществ. Были изучены реакции образования и гидролиза N-гликозидных связей, обменного взаимодействия N-гликозидов с аминами различной природы, окислительного дегидрирования моносахаридов. Целью изучения всех указанных реакций гликозидного центра было установление механизмов кислотно-основного, нуклеофильного катализа – мало изученной области химии моносахаридов и их производных. Эти исследования позволили установить некоторые характерные особенности этого вида катализа на примере объектов, которые отличаются высокой лабильностью и склонностью к разнообразным превращениям в условиях катализа кислотами и основаниями. Накопленные в литературе сведения о свойствах N-гликозидов свидетельствуют о возможности использования их в качестве исходных веществ для синтеза многих практически важных производных углеводов и полисахаридов, для разработки эффективных мето-

дов синтеза физиологически активных структур. Необходимо отметить, что синтетические возможности этого класса производных сахаров пока еще в должной мере не раскрыты.

В связи с этим мы сосредоточили внимание на синтетических аспектах гомогенного катализа и разработке методов направленного синтеза углеводсодержащих физиологически активных веществ (ФАВ). Они имеют важное значение в создании препаратов медицинского назначения, в частности противоопухолевых препаратов, обладающих высокой растворимостью в воде, малой токсичностью и избирательностью действия.

Учитывая трудности в препаративном синтезе производных со специфическими олиго- и полисахаридными фрагментами, представляется целесообразным на первом этапе исследований уделить внимание изучению химии и фармакологии с более простыми, моносахаридными остатками. Эти исследования представляют интерес для решения практически важных задач облагораживания ФАВ и лекарственных препаратов с известными терапевтическими действиями. И данное направление предусматривает разработку рекомендаций по снижению токсичности, изменению водной и липидной растворимости препаратов, а также получение производных с избирательной проницаемостью через клеточные мембраны [1].

Фармакологическими исследованиями было установлено, что гликозилирование приводит к резкому снижению токсичности лекарственных препаратов ( $LD_{50}$  снижается, как правило, на два порядка). Одновременно увеличивается водная растворимость.

В клинической онкологии важное значение имеет не только высокая противоопухолевая активность препаратов из группы нитрозомочевины, но их способность проникать через гематоэнцефалический барьер, что открывает реальные возможности для химиотерапии метастазов и первичных опухолей головного мозга. Большинство известных препаратов не проходят через гематоэнцефалический барьер и поэтому не предупреждают распространение метастазов в головной мозг, и они практически неэффективны при поражении центральной нервной системы.

Что касается избирательности действия, известно, что проницаемость некоторых клеточных мембран животных по отношению к моносахаридам различна, а степень проницаемости коррелируется с нуклеофильной реакционной способностью моносахаридов (табл. 1) [2].

Из этого вытекает принципиальная возможность регулирования процессов прохождения углеводов препаратов через клеточные барьеры путем изменения природы углеводного носителя, а также их биологической активности. Обращает на себя внимание и тот факт, что ряд терапевтических свойств существенно зависит от места присоединения физиологически активного фрагмента к углеводному кольцу. Особенно ярко это проявилось при изучении препаратов противоопухолевого действия.

Определенный интерес представляет сравнение биологических свойств соединений с циклическими и ациклическими углеводными остатками. Что же касается способов присоединения к моносахаридному комплексу физиологически активного соединения или отдельных структурных фрагментов, пригодных для последующего формирования потенциально активного блока, то здесь открываются весьма большие возможности. Перспективным для практического применения, на наш взгляд, является использование в качестве «стыковочных звеньев» более кислотоустойчивых амидных связей.

В чем состоит ценность нормирования амидной связи и каковы перспективы их использования в прикладных аспектах химии углеводов? Достаточно указать на широкую распространенность мочевинового фрагмента среди природных веществ – производных пиримидинового ряда, нуклеозиды, рибофлавин, теоб-

Таблица 1. Относительная всасываемость ( $v_1$ ) и относительная реакционная способность ( $v_2$ ) моносахаридов по  $C_1$

| Моносахарид | $v_1$ | $v_2$ |
|-------------|-------|-------|
| Глюкоза     | 1,0   | 0     |
| Галактоза   | 1,1   | 0,64  |
| Фруктоза    | 0,4   | –     |
| Манноза     | 0,2   | 0,73  |
| Ксилоза     | 0,15  | 0,81  |
| Арабиноза   | 0,09  | 1,03  |
| Рибоза      | –     | 1,19  |
| Ликсоза     | –     | 1,25  |

ромин, кофеин и т.д., и развитие в направлении синтеза азотистых гетероциклов, включая аналогов нуклеозидов на базе углеводных производных мочевины.

После были развернуты интенсивные исследования по синтезу и изучению биологической активности производных нитрозомочевин в США, Японии и ФРГ. Однако основное внимание в этих исследованиях было направлено на изучение более сложных соединений – производных, содержащих в структуре хлорэтильные группы, являющиеся активными фрагментами широко изученных и распространенных противоопухолевых препаратов (схема 1).

Из синтезированных и изученных в США несколько сотен хлорэтильных нитрозомочевин по схеме клиническое изучение прошли три препарата – I, 3-бис (2-хлорэтил)-I-нитрозомочевина (BCNU), кармустин, I-(2-хлорэтил)-3-(4-метил)-циклогексил-I-нитрозомочевина (MeCCNU), лемустин, а также вышеупомянутый антибиотик «стрептозотоцин» (гликозид НММ). А в России клиническую апробацию прошли и применяются в практике НММ и углеводное производное НММ-I-метил-3- $\alpha$ -L-арабинозил-I-нитрозомочевина [3, 6-9].

Все вышеуказанные, применяемые в практике антибластические препараты синтезированы многостадийным способом с применением дефицитных соединений и относятся к труднодоступным, дорогостоящим препаратам.

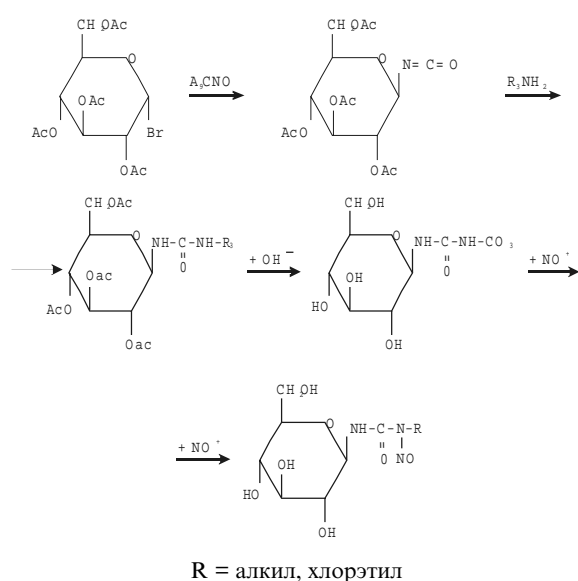


Схема 1

В синтезе N-гликозилированных производных мочевины использовались два основных метода: прямая конденсация мочевины с незащищенными сахарами в присутствии минеральных кислот (схема 2), взаимодействие ацилзамещенных N-гликозилизо- (тио)цианатов с аминами (схема 3) или взаимодействие ацилзамещенных гликозиламинов с арилизоцианатами (схема 4).

Метод прямой конденсации, разработанный Шоорлем и модифицированный Дудкиным [10, 11], требует выдерживания смеси глюкозы и мочевины в водном растворе в присутствии кислоты при 50° в течение 7 суток, выпавший аддукт после упаривания в вакууме разлагают кипячением в этаноле в течение трех суток. Неоднократные попытки ускорения реакции с помощью различных кислых катализаторов не привели к значительным успехам.

Второй метод аминирования гликозилизоцианатов и гликозилизотиоцианатов [12] нашел широкое применение, несмотря на многостадийность процесса. Метод является универсальным, так как можно ввести мочевиновый фрагмент в любое положение углеводного кольца при наличии аминогруппы в этом положении.

Многие производные гликозилнитрозомочевины были синтезированы по реакции взаимодействия моносахарида и алкиламина с последующей обработкой полученных гликозиламинов алкилизоцианатом. В результате под действием муравьиной кислоты изомеризуют в термодинамически стабильную форму гликозилмочевины. Полученную гликозилмочевину нитрозируют и получают производные гликозилнитрозомочевины (схема 5).

Изо(тио)цианатный метод используют также для формирования мочевинового (тиомочевинового) фрагмента и при других углеродных атомах углеводного кольца, отличных от C<sub>1</sub>. В этом случае успех синтеза определяется доступностью аминокислот с заданным положением аминогруппы.

Схема синтеза иллюстрируется примером образования N-замещенных производных 2-мочевино-2-дезоксид-Д-глюкопиранозилацетата [10], в которой применяются следующие основные операции: анизидиновая защита амино-

группы при C2, исчерпывающее О-ацетилирование уксусным ангидридом в пиридине, снятие анизидиновой защиты и конденсация с алкил- и арилизо-цианатами. Дезацетилирование проводят обработкой продукта аммиачным раствором метанола (схема 6).

Последующим нитрозированием можно синтезировать противоопухолевый препарат «стрептозотцин», если  $R = CH_3$ .

Развитие работ по указанным направлениям существенно зависит от разработки технически приемлемых и экономически выгодных способов введения карбамидного фрагмента в моно- и олигосахариды. Нами разработан удобный и эффективный метод N-гликозилирования на основании изучения кинетики и механизма реакции прямого N-гликозилирования в условиях нуклеофильного катализа [4].

Разработав простые способы получения гликозилкарбамидов, мы обратились к синтезу углеводных производных нитрозоалкилмочевин с целью выявления более активного противоопухолевого препарата. В результате поиска условий получения N-нитрозопроизводных моносахаридов с незащищенными гидроксильными группами, обеспечивающих простоту, эффективность процесса и возможность освоения этого процесса в опытно-промышленных условиях, нами отработана общая методика получения N-алкил-N<sup>1</sup>-(β-D-гликопиранозил) нитрозомочевин, в которой были совмещены реакции: а) взаимодействия моносахаридов с алкилмочевинами в условиях нуклеофильного катализа с добавлением ариламинов и б) нитрозирования N-алкил-гликозилмочевин.

В качестве моносахаридов ис-

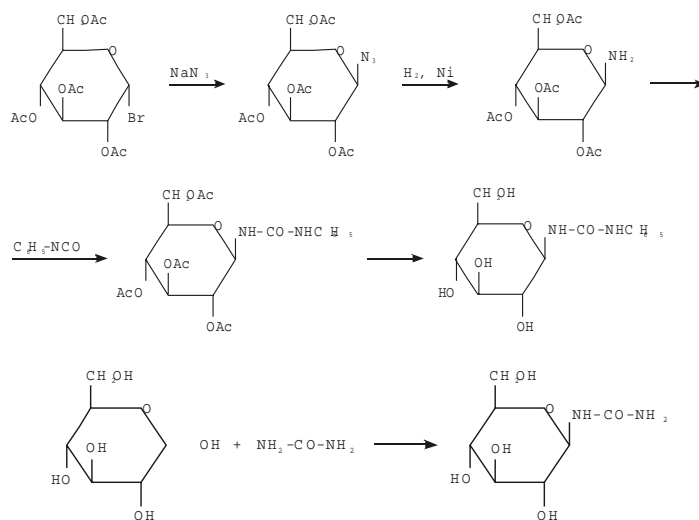


Схема 2

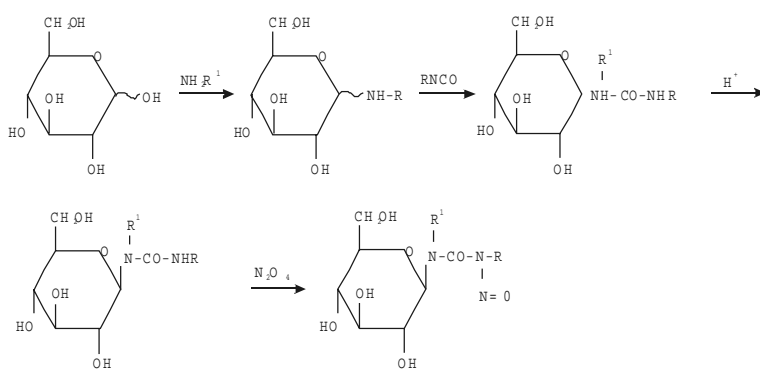


Схема 3

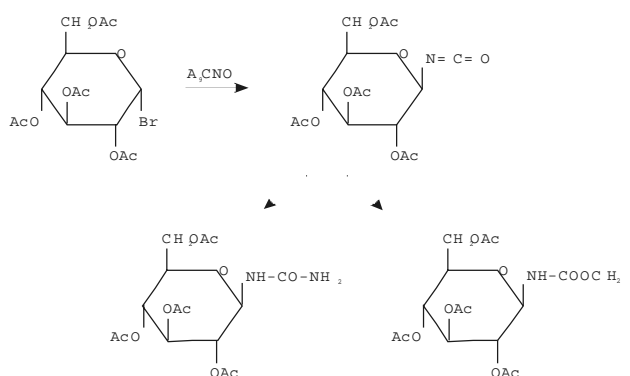
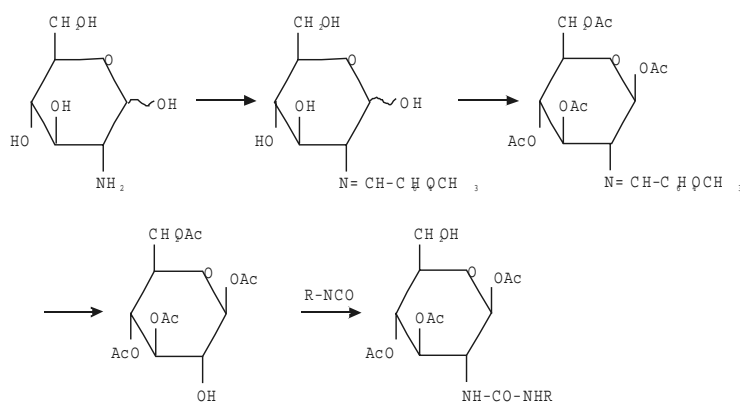


Схема 4

пользованы D-глюкоза, D-галактоза, D-кси-лоза, L-арабиноза, L-рамноза, а в качестве алкилмочевин – метил-, этил-, пропил-, бутилмочевина [5].

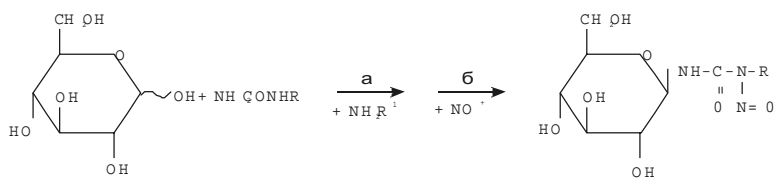
Таким образом, разработан достаточно простой и мобильный метод синтеза большой группы класса нитрозоалкилмочевин, способный обеспечить гибкое управление структурой синтезируемых соединений.

На этой основе нам представляется перспективным исследование на противоопухолевую активность модифицированных при помощи гликозиламидной связи известных лекарственных средств, в частности нитрозокарба-мидов, чтобы создать препараты более высокой антиканцерогенной активности.



$R^1$  = алкил; R = хлорэтил, алкил.

Схема 5



R = алкил;  $R_1$  =  $-C_6H_4NO_2$ ,  $-C_6H_4COOH$ .

Схема 6

**Список использованной литературы:**

1. Афанасьев В.А. и др. Строение и реакционная способность N-гликозидов. «Илим», Фрунзе, 1976.– 221 с.
2. Брейвис П.В., Вайткявичюс И.А. Результаты клинического испытания аранозы при лечении больных распространенными формами гемосарком, сар-ком матки и ангиолейомиосарком //ХТО в СССР. -М., 1989.– В.54. – С.211-214.
3. Горбачева Л.Б., Кукушкина Г.В. Противоопухолевая активность и ме-ханизм действия N-алкил-N-нитрозомочевин. Хим.-фарм. журн. (обзор), 1979.-№4.– С.25-33.
4. Джаманбаев Ж.А., Афанасьев В.А. Способ получения N-алкил-(N-арил)-N-(b -D-гликозил) мочевины. Авт. св. №772101 СССР.
5. Крутова Т.В., Конрадов А.А., Островская Л.А. Действие нитрозоал-килмочевин и продолжительность жизни животных – опухоленосителей. Изв. АН СССР, Сер. биол., 1983.– №6.– С.843.
6. Левит Г.Л., Радина Л.Б., Краснов В.П. N-алкилнитрозокарбамоилпро-изводные аминокислот. Синтез, свойства и противо-опухолевая активность (об-зор). Хим.-фарм. журн., 1995.– №8. – С.10-19.
7. Никольский Н.Н., Трошин А.С. Транспорт сахаров через клеточные мембраны. Изд-во «Наука», Л., 1973.
8. Шкантова Н.Г., Дудкин М.С., Гриншпун С.И. Синтез и гидролиз гли-козилмочевин. Журн. прикл. хим. 1967.– Т.40.– №1.– С.164-166.
9. Эмануэль Н.М., Корман Л.Б., Островская Л.А. и др. Нитрозоалкилмо-чевины – новый класс противоопухолевых препара-тов. М., Наука,-1978.-295 с.
10. Goodman By. J. Glycosyl ureides // J. Adv. Carbohydrate chem. –1958. –v.13 –p.215-236.
11. Fischer E. Synthese never glucoside. Ber.1914.–В.47.–N7.–p.1377-1394.
12. Tsujihava K., Ozeki M., et. al. A new class of Nitrosoureas. Synthesis of 33-Disubstitutad 1-(2-chloroethyl)-1-nitrosoureas. J. Med. Chem. 1982. –v.25. N4. –p.441-446.