

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
Кафедра медичної та фармацевтичної хімії

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА  
за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація

на тему:

**ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ УМОВ РЕАКЦІЇ  
НА ЕФЕКТИВНІСТЬ СИНТЕЗУ ХЛОРАМБУЦИЛУ**

**Виконала:** здобувач вищої освіти  
VI курсу, 3 групи  
медико-фармацевтичного факультету,  
спеціальність 226 Фармація,  
промислова фармація  
заочна форма здобуття вищої освіти  
Аліна ВОЛОЩУК

**Керівник:** доцент закладу вищої освіти  
кафедри медичної та фармацевтичної  
хімії, к.біол.н., доцент  
Алла ВЕЛИКА

**Рецензенти:**  
професор закладу вищої освіти кафедри  
медичної та фармацевтичної хімії,  
д.хім.н. Михайло БРАТЕНКО  
доцент закладу вищої освіти кафедри  
медичної та фармацевтичної хімії,  
к.хім.н. Аліна ГРОЗАВ

*До захисту допущено*

*протокол № 9 від 19.01.2026 р.*

*засідання кафедри медичної та фармацевтичної хімії*

*Завідувач кафедри \_\_\_\_\_ проф. Віталій ЧОРНОУС*

**Анотація.** У магістерській роботі досліджено вплив умов реакції на ефективність синтезу хлорамбуцилу — протипухлинного препарату алкілувальної дії. На основі аналізу літературних і патентних джерел показано, що більшість відомих методів одержання хлорамбуцилу характеризуються багатостадійністю, відносно низькими сумарними виходами та складністю виділення кінцевого продукту, зумовленою хімічною лабільністю хлороетильного фрагмента. У роботі розроблено альтернативний п'ятистадійний синтетичний маршрут, який передбачає раціональне використання захисних груп та оптимізацію ключових перетворень. Особливу увагу приділено завершальному етапу синтезу, на якому реалізовано одностадійне хлорування гідроксиетильних фрагментів та кислий гідроліз трет-бутильного естеру з утворенням цільового продукту. Запропонований підхід дозволяє скоротити кількість стадій, мінімізувати втрати на етапах очищення та знизити ризик побічних перетворень, що робить метод перспективним для подальшої оптимізації та масштабування.

**Abstract.** This master's thesis investigates the influence of reaction conditions on the efficiency of chlorambucil synthesis, an alkylating antineoplastic drug. An analysis of the relevant scientific literature and patent sources demonstrates that most reported synthetic routes to chlorambucil are characterized by high multistep complexity, relatively low overall yields, and challenging isolation of the final product due to the chemical lability of the chloroethyl moiety. In this work, an alternative five-step synthetic pathway is developed, featuring a rational use of protecting groups and optimization of key transformations. Particular attention is paid to the final stage of the synthesis, where simultaneous chlorination of the hydroxyethyl fragments and acidic cleavage of the tert-butyl ester are achieved in a single step to afford the target compound. The proposed approach reduces the number of synthetic stages, minimizes purification losses, and decreases the risk of undesired side reactions, making it promising for further optimization and potential scale-up.

## ЗМІСТ

Вступ	4
Розділ 1. Огляд літератури	8
Розділ 2. Матеріали і методи дослідження	30
Розділ 3. Результати дослідження та їх обговорення	34
Висновки	41
Список використаних джерел	42

## Вступ

**Актуальність теми.** Онкологічні захворювання залишаються однією з провідних причин смертності у світі, що зумовлює постійну потребу в ефективних і доступних протипухлинних лікарських засобах. Хлорамбуцил належить до класу алкілувальних цитостатиків і широко застосовується у клінічній практиці для лікування хронічних лімфопроліферативних захворювань, зокрема хронічного лімфолейкозу та деяких форм лімфом. Незважаючи на тривалий період використання препарату, інтерес до удосконалення методів його одержання не зменшується, що пов'язано з високими вимогами до якості, чистоти та стабільності фармацевтичних субстанцій.

Аналіз літературних джерел показує, що існуючі методи синтезу хлорамбуцилу, попри відносну простоту його молекулярної структури, є технологічно складними та багатостадійними. Більшість із них характеризуються низькими сумарними виходами, необхідністю використання агресивних реагентів і складними операціями виділення та очищення кінцевого продукту. Особливою проблемою є хімічна лабільність хлороетильного фрагмента, який легко піддається гідролізу та побічним перетворенням, що ускладнює як проведення синтезу, так і масштабування процесу.

У зв'язку з цим актуальним є пошук і розробка альтернативних синтетичних підходів до одержання хлорамбуцилу, спрямованих на скорочення кількості стадій, підвищення ефективності ключових реакцій та мінімізацію втрат на етапах очищення. Оптимізація умов реакції та раціональне поєднання окремих перетворень у межах однієї стадії відповідають сучасним вимогам фармацевтичної хімії та хімічної технології лікарських засобів.

Таким чином, дослідження впливу умов реакції на ефективність синтезу хлорамбуцилу є актуальним науково-практичним завданням, що має значення як для розвитку методів органічного синтезу, так і для вдосконалення технологій отримання протипухлинних препаратів.

## **Мета і завдання дослідження**

Метою даної магістерської роботи є розробка та оптимізація ефективного методу синтезу хлорамбуцилу шляхом дослідження впливу умов проведення реакцій на перебіг ключових стадій синтетичного маршруту, а також підвищення загальної технологічної ефективності процесу одержання цільового продукту.

Для досягнення поставленої мети в роботі передбачено виконання таких завдань:

1. Провести аналіз наукових публікацій і патентних джерел, присвячених методам синтезу хлорамбуцилу, з метою виявлення основних недоліків існуючих підходів та визначення напрямів їх удосконалення.
2. Розробити альтернативний синтетичний маршрут одержання хлорамбуцилу з меншою кількістю стадій та раціональним використанням захисних груп.
3. Дослідити вплив умов проведення окремих стадій синтезу (тип реагентів, температура, тривалість реакції, послідовність перетворень) на вихід, селективність і стабільність проміжних продуктів.
4. Оптимізувати завершальний етап синтезу, спрямований на формування хлороетильних фрагментів та деблокування карбоксильної групи, з урахуванням хімічної лабільності кінцевого продукту.
5. Оцінити технологічні переваги запропонованої методики порівняно з літературними аналогами та визначити перспективи її подальшої оптимізації і масштабування.

**Об'єктом даного дослідження** є процес хімічного синтезу хлорамбуцилу як фармацевтичної субстанції, а також перебіг і закономірності хімічних перетворень, що відбуваються на окремих стадіях його одержання.

**Предметом даного дослідження** є вплив умов проведення хімічних реакцій на ефективність окремих стадій синтезу хлорамбуцилу, зокрема на

вихід, селективність і стабільність проміжних та кінцевого продуктів, а також на технологічні параметри процесу одержання цільової сполуки.

### **Методи дослідження.**

У процесі виконання магістерської роботи використано комплекс загальнонаукових і спеціальних методів дослідження. Для обґрунтування вибору синтетичного маршруту та визначення напрямів його оптимізації застосовано методи аналізу, систематизації та узагальнення літературних і патентних джерел, що стосуються методів синтезу хлорамбуцилу та споріднених сполук.

Експериментальну частину роботи виконували з використанням методів органічного синтезу, зокрема реакцій електрофільного ароматичного заміщення, відновлення карбонільних сполук, естерифікації, деацетилювання, алкілювання аміногруп та заміщення гідроксильних груп на атоми хлору. Для оптимізації перебігу реакцій застосовували варіювання умов синтезу (температура, тривалість, співвідношення реагентів, послідовність стадій).

Контроль перебігу реакцій, ідентифікацію проміжних і кінцевого продуктів, а також оцінку їх чистоти здійснювали за допомогою фізико-хімічних методів аналізу, зокрема ядерного магнітного резонансу ( $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР), рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням (LC–MS) та визначення температур плавлення. Для очищення сполук використовували стандартні методи органічного синтезу, включаючи екстракцію, сушіння органічних фаз і рекристалізацію.

Отримані експериментальні дані аналізували з використанням порівняльного підходу, що дозволило оцінити вплив умов реакції на ефективність синтезу та зіставити запропоновану методику з відомими літературними аналогами.

### **Наукова новизна роботи.**

У магістерській роботі запропоновано та обґрунтовано альтернативний підхід до синтезу хлорамбуцилу, який відрізняється зменшеною кількістю

стадій та раціональною організацією ключових перетворень порівняно з відомими літературними методами.

Вперше показано доцільність використання трет-бутильного естеру як захисної групи карбоксильної функції у синтезі хлорамбуцилу з метою підвищення стабільності проміжних продуктів і спрощення перебігу стадій алкілування аміногрупи.

Встановлено можливість інтеграції хлорування гідроксиетильних фрагментів та кислого гідролізу трет-бутильного естеру в одну стадію, що дозволяє скоротити тривалість синтезу, мінімізувати втрати на етапах очищення та знизити ризик деградації хлороетильних груп.

Досліджено вплив умов проведення ключових реакцій на ефективність синтезу хлорамбуцилу, що дозволило визначити оптимальні параметри для отримання цільового продукту з підвищеною відтворюваністю та технологічною надійністю.

#### **Практичне значення.**

Практичне значення отриманих результатів полягає у можливості використання запропонованого синтетичного маршруту для одержання хлорамбуцилу з підвищеною технологічною ефективністю та зменшеною кількістю стадій порівняно з відомими літературними методами. Розроблена методика може бути застосована у лабораторній практиці при синтезі фармацевтичних субстанцій, що містять хлороетильні фрагменти.

Оптимізовані умови проведення ключових стадій синтезу дозволяють знизити втрати цільового продукту на етапах очищення та мінімізувати побічні перетворення, пов'язані з хімічною лабільністю хлороетильних груп. Це створює передумови для підвищення відтворюваності процесу та покращення якості кінцевого продукту.

Отримані результати можуть бути використані при подальшій оптимізації та масштабуванні процесу, а також у навчальному процесі при підготовці фахівців з органічної та фармацевтичної хімії як приклад раціонального підходу до синтезу біологічно активних сполук.

## **Розділ 1. Огляд літератури**

Хлорамбуцил є одним із класичних представників алкілюючих протипухлинних препаратів, який відіграв важливу роль у становленні сучасної хіміотерапії злоякісних новоутворень. Завдяки здатності утворювати ковалентні зв'язки з ДНК пухлинних клітин він ефективно пригнічує їх проліферацію, що зумовило його широке застосування, зокрема, при хронічному лімфолейкозі та деяких лімфомах. Незважаючи на появу нових таргетних і біологічних препаратів, хлорамбуцил і сьогодні залишається важливим еталонним засобом, а також цінною структурною основою для розробки нових протипухлинних сполук і проліків. Саме тому аналіз методів його синтезу, модифікації та шляхів удосконалення є актуальним завданням сучасної фармацевтичної хімії.

### **Історична довідка**

Однією з перших робіт, де наведено результати перших клінічних випробувань сполуки р-(di-2-хлоретиламіно)-фенілмасляної кислоти (СВ 1348), пізніше відомої як хлорамбуцил, у пацієнтів із злоякісними лімфомами представлено у публікації [1]. Дослідження було спрямоване на оцінку протипухлинної ефективності, переносимості та профілю токсичності нового алкілюючого цитостатичного засобу з групи азотистих іпритів. Препарат застосовували перорально у хворих з різними формами лімфопроліферативних захворювань, зокрема лімфосаркомами та хронічними лейкеміями. Показано, що СВ 1348 демонструє виражену клінічну активність, що проявлялася зменшенням лімфатичних вузлів і покращенням загального стану пацієнтів. При цьому відзначено відносно помірну гематологічну токсичність порівняно з іншими алкілюючими агентами того часу. Автори підкреслюють зручність перорального застосування препарату та можливість тривалого лікування. Отримані результати стали підґрунтям для подальшого впровадження хлорамбуцилу в клінічну практику як одного з базових препаратів для лікування злоякісних лімфом і хронічного лімфолейкозу.

У наступній публікації представлено клінічні результати застосування хлорамбуцилу у пацієнтів із хронічним лімфолейкозом та окремими формами

злоякісних лімфом. Метою дослідження [2] була оцінка терапевтичної ефективності та переносимості нового алкілюючого цитостатичного препарату при пероральному введенні. Автори продемонстрували, що хлорамбуцил забезпечує значний гематологічний і клінічний ефект, зокрема зниження лейкоцитозу, зменшення лімфаденопатії та покращення загального стану хворих. Показано, що препарат може застосовуватися тривалий час з контрольованою мієлосупресією, що відрізняє його від більш токсичних алкілюючих агентів, доступних на той момент. У роботі також обговорюються оптимальні режими дозування та необхідність регулярного гематологічного моніторингу. Отримані результати підтвердили клінічну цінність хлорамбуцилу та сприяли його закріпленню як стандартного засобу лікування хронічного лімфолейкозу в подальшій онкогематологічній практиці.

У статті [3] наведено критичний аналіз клінічного застосування хлорамбуцилу на основі накопиченого досвіду лікування пацієнтів із лімфопроліферативними захворюваннями. Автор узагальнює результати використання препарату при хронічному лімфолейкозі та злоякісних лімфомах, акцентуючи увагу на співвідношенні ефективності та токсичності. Показано, що хлорамбуцил характеризується стабільною протипухлинною активністю при пероральному застосуванні та відносно передбачуваним профілем побічних реакцій, насамперед з боку кровотворної системи. У роботі детально обговорюються ризики кумулятивної мієлосупресії, необхідність індивідуального підбору дози та регулярного лабораторного контролю. Автор також порівнює хлорамбуцил з іншими алкілюючими агентами, підкреслюючи його кращу переносимість і придатність для тривалого лікування. Стаття стала важливим етапом у формуванні раціональних підходів до клінічного використання хлорамбуцилу та визначенні його місця в терапії хронічних онкогематологічних захворювань.

Узагальненню розвитку протипухлинної хіміотерапії за перші двадцять п'ять років її становлення присвячено історичний огляд [4]. Автор аналізує ключові етапи впровадження цитостатичних препаратів, зокрема алкілюючих

агентів, до яких належить хлорамбуцил, у клінічну онкологічну практику. Окрема увага приділяється еволюції підходів до лікування лімфопрліферативних захворювань та хронічних лейкемій, де препарати групи азотистих іпритів відіграли провідну роль. Показано, що поява хлорамбуцилу стала важливим кроком у зниженні токсичності та підвищенні зручності лікування завдяки можливості перорального застосування. Автор також обговорює обмеження ранніх хіміотерапевтичних схем, включно з кумулятивною токсичністю та резистентністю, що зумовило необхідність подальших досліджень і оптимізації терапевтичних стратегій. Робота формує історичний контекст для розуміння значення хлорамбуцилу як одного з базових препаратів класичної хіміотерапії.

У статті [5] подано систематизований історичний огляд розвитку протипухлинної хіміотерапії від перших клінічних спроб до формування сучасних комбінованих схем лікування. Автори детально аналізують внесок алкілюючих агентів, зокрема похідних азотистих іпритів, до яких належить хлорамбуцил, у лікування лімфопрліферативних захворювань і лейкемій. Показано, що впровадження хлорамбуцилу стало важливим етапом у переході від високотоксичних цитостатиків до більш селективних і придатних для тривалого перорального застосування препаратів. У роботі висвітлюється роль хлорамбуцилу в стандартизації терапії хронічного лімфолейкозу та індолентних лімфом, а також його значення у формуванні концепції підтримувальної хіміотерапії. Автори підкреслюють, що накопичений клінічний досвід застосування таких препаратів заклав основу для подальшого розвитку комбінованих режимів і таргетних підходів. Стаття має фундаментальне значення для розуміння еволюції хіміотерапії та історичного місця хлорамбуцилу в онкогематології.

Наступна оглядова стаття присвячена комплексному аналізу фармакологічних властивостей, механізмів дії та клінічного застосування препаратів групи азотистих іпритів, до яких належить хлорамбуцил. Автори [6] простежують еволюцію цього класу алкілюючих агентів від перших

високотоксичних сполук до більш селективних і клінічно керованих препаратів, придатних для тривалого застосування. Значну увагу приділено механізмам алкілювання ДНК, формуванню міжланцюгових зшивок та наслідкам цих процесів для проліферації пухлинних клітин. У статті детально розглядаються фармакокінетичні особливості окремих представників класу, зокрема хлорамбуцилу, а також його відносно сприятливий профіль переносимості порівняно з іншими азотистими іпритами. Автори підкреслюють клінічну значущість хлорамбуцилу в терапії індолентних лімфопроліферативних захворювань і хронічного лімфолейкозу навіть в епоху таргетних препаратів. Огляд узагальнює сучасні уявлення про роль азотистих іпритів та визначає перспективи їх подальшого застосування і модифікації.

### **Фармакокінетика та механізм дії хлорамбуцилу**

Вивчення фармакокінетики хлорамбуцилу є необхідною умовою для його безпечного та ефективного клінічного застосування. Як алкілюючий протипухлинний препарат із вузьким терапевтичним індексом, хлорамбуцил характеризується значною міжіндивідуальною варіабельністю всмоктування, метаболізму та елімінації, що безпосередньо впливає на його терапевтичну ефективність і ризик розвитку токсичних ефектів. Розуміння особливостей біодоступності, перетворення в активні метаболіти та шляхів виведення препарату дозволяє оптимізувати режими дозування, враховувати функціональний стан печінки й нирок, а також мінімізувати небажані лікарські взаємодії. Таким чином, фармакокінетичні дослідження є ключовими для раціонального використання хлорамбуцилу в онкологічній практиці та підвищення ефективності індивідуалізованої терапії.

У дослідженні представлено результати вивчення фармакокінетики та метаболізму хлорамбуцилу у людини після перорального застосування [7]. Автори проаналізували концентраційно-часові профілі препарату та його основного активного метаболіту — фенілоксиоцтової кислоти іприту — у плазмі крові пацієнтів. Показано, що хлорамбуцил швидко абсорбується з шлунково-кишкового тракту, проте зазнає інтенсивного першопрохідного

метаболізму в печінці, що зумовлює відносно короткий період напіввиведення вихідної сполуки. Встановлено, що основний вклад у протипухлинну активність робить активний метаболіт, який характеризується більш тривалим перебуванням у системному кровотоці. Дослідження також продемонструвало значну міжіндивідуальну варіабельність фармакокінетичних параметрів, що має клінічне значення для індивідуалізації дозування. Отримані результати стали підґрунтям для подальшого уточнення режимів застосування хлорамбуцилу та кращого розуміння співвідношення між його фармакокінетикою, ефективністю та токсичністю.

Наступна робота [8] присвячена дослідженню хімічної стабільності хлорамбуцилу у водних розчинах та вивченню ролі зв'язування препарату з сироватковим альбуміном людини у процесах його деградації. Автори показали, що хлорамбуцил є хімічно нестабільною сполукою у водному середовищі та зазнає швидкого гідролітичного розкладу, що може істотно впливати на його біодоступність і фармакологічну активність. Встановлено, що зв'язування хлорамбуцилу з альбуміном суттєво уповільнює процес деградації, стабілізуючи молекулу та подовжуючи час її існування в біологічних рідинах. Отримані результати свідчать про важливу роль білкового зв'язування у фармакокінетиці препарату та пояснюють частину міжіндивідуальної варіабельності його ефектів. Автори також обговорюють практичне значення цих даних для умов приготування, зберігання та введення хлорамбуцилу. Робота зробила суттєвий внесок у розуміння взаємозв'язку між хімічною стабільністю, білковим зв'язуванням і клінічною ефективністю хлорамбуцилу.

Логічним продовженням попередньої роботи стало вивчення впливу прийому їжі на фармакокінетичні параметри хлорамбуцилу та його основного активного метаболіту — фенілоксиоцтової кислоти іприту — у людини. Автори порівняли концентраційно-часові профілі препарату після перорального введення натще та після прийому їжі. Показано, що вживання їжі істотно знижує максимальні концентрації хлорамбуцилу в плазмі крові та уповільнює його абсорбцію, тоді як вплив на експозицію активного метаболіту є менш

вираженим. Отримані результати свідчать про наявність пресистемних факторів, що впливають на біодоступність вихідної сполуки, зокрема через зміни швидкості розчинення та абсорбції в шлунково-кишковому тракті. Автори підкреслюють клінічну значущість цих спостережень для оптимізації режимів прийому хлорамбуцилу та мінімізації міжіндивідуальної варіабельності терапевтичного ефекту. Робота стала підґрунтям для рекомендацій щодо застосування препарату натще з метою досягнення більш передбачуваного фармакокінетичного профілю [9].

У ще одній статті, де вивчаються фармакокінетичні аспекти цього препарату досліджено вплив прийому їжі на біодоступність хлорамбуцилу при пероральному застосуванні у пацієнтів з онкогематологічними захворюваннями. Автори [10] оцінили фармакокінетичні показники препарату після введення натще та в постпрандіальному стані, зосереджуючи увагу на зміні максимальних концентрацій і площі під фармакокінетичною кривою. Результати підтвердили, що прийом їжі може істотно знижувати біодоступність хлорамбуцилу, що узгоджується з його хімічною нестабільністю та особливостями абсорбції у шлунково-кишковому тракті. При цьому відзначено значну міжіндивідуальну варіабельність фармакокінетичних параметрів, що має клінічне значення для ефективності лікування. Автори підкреслюють необхідність стандартизації умов прийому препарату з метою забезпечення відтворюваного терапевтичного ефекту. Отримані дані стали додатковим обґрунтуванням рекомендацій щодо застосування хлорамбуцилу натще в клінічній практиці.

У роботі [11] проведено доклінічне дослідження фармакокінетичних характеристик хлорамбуцилу та його метаболітів з метою пояснення відмінностей у протипухлинній активності та токсичності на тваринній моделі. Автори проаналізували концентрації вихідної сполуки та активних продуктів метаболізму у плазмі та тканинах мишей після введення препарату. Показано, що швидкий кліренс хлорамбуцилу супроводжується утворенням метаболітів із тривалішою системною експозицією, які роблять суттєвий внесок у загальний

цитотоксичний ефект. Встановлено кореляцію між фармакокінетичними параметрами, протипухлинною ефективністю та вираженістю токсичних проявів, зокрема мієлосупресії. Отримані результати підтверджують, що саме фармакокінетичний профіль, а не лише хімічна структура препарату, визначає його терапевтичне вікно. Дослідження має важливе значення для інтерпретації клінічних даних та оптимізації режимів дозування хлорамбуцилу.

Дослідження хімічної стабільності розчинів хлорамбуцилу під час їх приготування та зберігання з метою оцінки впливу цих факторів на клінічну ефективність препарату є важливим напрямком вивчення фармакокінетики хлорамбуцилу. Автор [12] проаналізував швидкість деградації хлорамбуцилу в різних умовах, зокрема залежно від температури, тривалості зберігання та типу розчинника. Показано, що препарат є нестабільним у водних середовищах і зазнає поступового розкладу, що може призводити до зниження фактичної введеної дози. Отримані дані підтверджують необхідність дотримання чітких регламентів щодо часу між приготуванням і введенням розчину. Автор підкреслює, що ігнорування факторів стабільності може бути джерелом варіабельності терапевтичного ефекту та токсичності. Робота має важливе практичне значення для клінічної фармації та пояснює частину фармакокінетичної непередбачуваності хлорамбуцилу в реальних умовах застосування.

У дослідженні проведено поглиблений аналіз фармакокінетики хлорамбуцилу та його основного активного метаболіту — фенілоксіоцтової кислоти іприту — у клінічних умовах [13]. Автори визначили ключові фармакокінетичні параметри після перорального введення препарату, зокрема швидкість абсорбції, період напіввиведення та системну експозицію як вихідної сполуки, так і метаболіту. Показано, що хлорамбуцил характеризується швидким кліренсом, тоді як активний метаболіт зберігається у плазмі крові значно довше та може визначати тривалість цитостатичного ефекту. Встановлено значну міжіндивідуальну варіабельність фармакокінетичних показників, що частково пояснює відмінності у клінічній відповіді та

токсичності препарату. Автори підкреслюють необхідність урахування фармакокінетичних особливостей при виборі режимів дозування та тривалості терапії. Робота є важливим етапом у формуванні сучасних уявлень про роль активного метаболіту у фармакодинаміці хлорамбуцилу.

У наступній роботі досліджено характер взаємодії хлорамбуцилу з ДНК на молекулярному рівні шляхом ідентифікації та аналізу утворених аддуктів [14]. Автори показали, що хлорамбуцил, як типовий алкілюючий агент групи азотистих іпритів, ковалентно зв'язується з нуклеофільними центрами азотистих основ ДНК, утворюючи моно- та біфункціональні аддукти. Встановлено, що такі ушкодження призводять до формування міжланцюгових і внутрішньоланцюгових зшивок, які порушують реплікацію та транскрипцію генетичного матеріалу. Отримані результати підтверджують ключову роль ДНК-аддуктів у реалізації цитотоксичної дії хлорамбуцилу. Автори також обговорюють можливий зв'язок між кількістю утворених аддуктів та вираженістю протипухлинного ефекту і токсичності. Робота зробила вагомий внесок у розуміння фармакодинамічного механізму дії хлорамбуцилу та слугувала основою для подальших досліджень на клітинному й структурному рівнях.

Огляд клінічного застосування хлорамбуцилу при хронічному лімфолейкозі та накопиченого клінічного досвіду розширив спектр фармакологічних властивостей препарату. Автор [15] аналізує ефективність хлорамбуцилу як монотерапії та в комбінації з кортикостероїдами, зокрема у пацієнтів з індолентним перебігом захворювання та літнього віку. Показано, що препарат забезпечує контроль захворювання з прийнятним профілем токсичності за умови раціонального дозування і регулярного гематологічного моніторингу. Значну увагу приділено проблемам розвитку резистентності, кумулятивної мієлосупресії та вторинних неоплазій при тривалому застосуванні. Автор підкреслює, що фармакокінетичні особливості та механізм алкілювання ДНК визначають як терапевтичний ефект, так і обмеження використання препарату. Робота узагальнює роль хлорамбуцилу як базового

засобу лікування хронічного лімфолейкозу до ери сучасних таргетних терапій і слугує містком між фундаментальними дослідженнями та клінічною практикою.

У роботі [16] запропоновано інноваційний підхід до модифікації механізму дії хлорамбуцилу шляхом ковалентного поєднання алкілюючого фрагмента з лігандом, селективним до G-квадруплексних структур ДНК. Автори продемонстрували, що така кон'югація змінює просторову спрямованість алкілювання, забезпечуючи переважну взаємодію з нетрадиційними вторинними структурами ДНК, характерними для онкогенів. Показано, що «перепрограмований» хлорамбуцил формує аддукти з підвищеною селективністю та відмінним біологічним ефектом порівняно з вихідною молекулою. У роботі поєднано біофізичні, хімічні та клітинні методи для підтвердження нового механізму дії. Автори підкреслюють потенціал такого підходу для зменшення неспецифічної токсичності та подолання резистентності до класичних алкілюючих агентів. Дослідження демонструє можливість раціональної хімічної модифікації хлорамбуцилу з метою створення більш селективних протипухлинних препаратів.

У статті [17] представлено детальне дослідження взаємодії хлорамбуцилу з ДНК із використанням сучасних методів рідинної хроматографії у поєднанні з мас-спектрометрією. Автори ідентифікували основні типи ДНК-аддуктів, що утворюються внаслідок алкілювання азотистих основ хлорамбуцилом, та охарактеризували їхню структуру й відносну стабільність. Показано, що препарат утворює як монофункціональні, так і біфункціональні аддукти, здатні спричиняти міжланцюгові зшивки ДНК, які є критичними для цитотоксичної дії. Отримані дані підтверджують ключову роль ковалентних ушкоджень ДНК у реалізації протипухлинного ефекту хлорамбуцилу. Автори також обговорюють токсикологічні наслідки утворення таких аддуктів та їх можливий зв'язок із мутагенністю й побічними ефектами препарату. Робота суттєво розширює молекулярне розуміння механізму дії хлорамбуцилу та створює експериментальну основу для розробки його модифікованих похідних.

Таким чином, хлорамбуцил є перорально активним алкілюючим агентом з групи ароматичних азотистих іпритів, фармакологічна дія якого зумовлена ковалентною взаємодією з ДНК та утворенням моно- і біфункціональних аддуктів, що призводять до порушення реплікації, транскрипції та індукції апоптозу пухлинних клітин. Фармакокінетичні дослідження [18] показали швидку абсорбцію препарату з подальшим інтенсивним метаболізмом у печінці та формуванням активного метаболіту — фенілоксиоцтової кислоти іприту, який робить суттєвий внесок у загальний цитостатичний ефект. Хімічна нестабільність хлорамбуцилу у водному середовищі, його зв'язування з сироватковими білками та вплив прийому їжі обумовлюють значну міжіндивідуальну варіабельність фармакокінетичних параметрів. Сукупність цих чинників визначає як терапевтичну ефективність, так і профіль токсичності препарату та потребує індивідуалізованого підходу до його клінічного застосування.

#### **Дозування, застосування та побічна дія хлорамбуцилу.**

Розуміння фармакокінетичних особливостей та молекулярного механізму дії хлорамбуцилу має безпосереднє практичне значення для формування раціональних схем його клінічного застосування. Хімічна нестабільність препарату, варіабельність абсорбції при пероральному прийомі, активний метаболізм та кумулятивна мієлосупресія зумовлюють необхідність чіткого регламентування режимів дозування та ретельного моніторингу безпеки терапії. Саме ці фактори визначають особливості застосування хлорамбуцилу в клінічній практиці, впливають на спектр побічних реакцій і обмежують можливість тривалого лікування. У зв'язку з цим наступний розділ присвячено аналізу дозування, особливостей застосування та профілю побічної дії хлорамбуцилу на основі клінічних і регуляторних джерел.

Офіційна інструкція FDA [19] до препарату Leukeran® містить регламентовану інформацію щодо показань, режимів дозування, особливостей застосування та профілю безпеки хлорамбуцилу. У документі зазначено, що препарат застосовується переважно для лікування хронічного лімфолейкозу та

індолентних неходжкінських лімфом і призначається перорально з індивідуальним підбором дози залежно від клінічного стану пацієнта та гематологічних показників. Особливу увагу приділено ризику кумулятивної мієлосупресії, що потребує регулярного контролю формули крові та корекції дози або тимчасового припинення терапії. У документі також описано основні побічні реакції, зокрема пригнічення кровотворення, шлунково-кишкові розлади, вторинні неоплазії та потенційні репродуктивні ризики. Окремо наведено застереження щодо тератогенності та мутагенності хлорамбуцилу, що обмежує його застосування у певних категорій пацієнтів. Інструкція FDA слугує базовим нормативним джерелом для стандартизації клінічного використання хлорамбуцилу та формування безпечних терапевтичних схем.

Довідковий запис DailyMed узагальнює затверджену FDA інформацію щодо складу, показань, дозування та безпеки таблетованих форм хлорамбуцилу, приділяючи особливу увагу практичним аспектам клінічного застосування [20]. У джерелі підкреслено, що дозування препарату має індивідуалізуватися з урахуванням клінічної відповіді та гематологічних показників, а тривале лікування потребує регулярного моніторингу через ризик кумулятивної мієлосупресії. Описано типові побічні реакції, серед яких домінують порушення кровотворення, шлунково-кишкові симптоми та підвищений ризик інфекційних ускладнень. Також наведено попередження щодо мутагенного, канцерогенного та тератогенного потенціалу хлорамбуцилу, що зумовлює обмеження його застосування у вагітних і пацієнтів репродуктивного віку. Джерело акцентує на необхідності дотримання чітких рекомендацій щодо прийому препарату та лабораторного контролю як ключової умови безпечної терапії. DailyMed виступає важливим практичним доповненням до офіційної інструкції FDA та широко використовується у клінічній практиці.

У документі Summary of Product Characteristics (SmPC) наведено стандартизовану для Європейського Союзу інформацію щодо клінічного застосування хлорамбуцилу, включно з показаннями, режимами дозування,

протипоказаннями та побічними реакціями [21]. Зазначено, що препарат застосовується переважно для лікування хронічного лімфолейкозу та індолентних форм неходжкінських лімфом, а дозування має підбиратися індивідуально залежно від маси тіла, клінічної відповіді та показників крові. Особливу увагу приділено ризику пригнічення кісткового мозку, що може проявлятися із затримкою у часі та вимагати корекції дози або припинення терапії. У документі також детально описано побічні реакції з боку кровотворної, шлунково-кишкової та репродуктивної систем, а також потенційний ризик вторинних злоякісних новоутворень. SmPC підкреслює необхідність регулярного лабораторного моніторингу та дотримання запобіжних заходів при тривалому застосуванні препарату. Це джерело є ключовим нормативним орієнтиром для клінічного використання хлорамбуцилу в країнах Європи.

У монографії Health Canada [22] наведено детальний опис фармакологічних властивостей, показань, режимів дозування та профілю безпеки хлорамбуцилу, узгоджений із сучасними регуляторними вимогами. Зазначено, що препарат застосовується переважно при хронічному лімфолейкозі та індолентних лімфомах і призначається перорально з поступовою індивідуалізацією дози залежно від клінічної відповіді та лабораторних показників. Особливу увагу приділено відстроченій та кумулятивній мієлосупресії, яка може зберігатися навіть після припинення лікування та потребує тривалого гематологічного моніторингу. У документі також розглянуто питання застосування препарату у пацієнтів похилого віку та осіб із супутніми захворюваннями. Наведено розширений перелік побічних реакцій, включно з ризиком вторинних злоякісних новоутворень і репродуктивної токсичності. Монографія Health Canada доповнює дані FDA та EMA, підкреслюючи важливість обережного довготривалого застосування хлорамбуцилу.

Монографія BC Cancer Agency [23] містить практично орієнтовані рекомендації щодо застосування хлорамбуцилу в клінічній онкогематології з

урахуванням сучасних стандартів лікування. У документі детально описано режими дозування для різних клінічних показань, підкреслено необхідність індивідуального підбору дози залежно від відповіді на терапію та показників периферичної крові. Значну увагу приділено моніторингу токсичності, зокрема ризику відстроченої та кумулятивної мієлосупресії, що може вимагати корекції дози або тимчасового припинення лікування. Окремо розглянуто особливості застосування препарату у пацієнтів похилого віку та осіб із супутніми захворюваннями. У монографії також наведено рекомендації щодо профілактики та ведення побічних реакцій, а також можливих лікарських взаємодій. Джерело має високу практичну цінність та широко використовується як клінічний орієнтир у спеціалізованих онкологічних центрах.

Монографія Cancer Care Ontario містить структуровані рекомендації щодо клінічного застосування хлорамбуцилу з акцентом на дозування, безпеку та алгоритми моніторингу пацієнтів [24]. У документі наведено рекомендовані схеми дозування для різних клінічних показань із чітким зазначенням критеріїв корекції дози залежно від гематологічних показників та клінічної відповіді. Особливу увагу приділено ризику кумулятивної та відстроченої мієлосупресії, що може зберігатися після припинення терапії та потребує тривалого лабораторного контролю. Також розглянуто особливості застосування хлорамбуцилу у пацієнтів похилого віку, осіб із порушеннями функції печінки та при супутній терапії іншими цитостатичними препаратами. У монографії наведено перелік типових і серйозних побічних реакцій, а також практичні рекомендації щодо їх профілактики та ведення. Джерело є важливим клінічним орієнтиром для стандартизації безпечного застосування хлорамбуцилу в онкологічній практиці.

Клінічний протокол Oxford Haematology NSSG [25] регламентує застосування хлорамбуцилу як у монотерапії, так і в комбінації з ритуксимабом при лікуванні індолентних лімфопроліферативних захворювань. У документі наведено стандартизовані схеми дозування з урахуванням маси тіла, тривалості циклів лікування та критеріїв оцінки терапевтичної відповіді. Особливу увагу

приділено правилам гематологічного моніторингу та корекції дози у разі розвитку мієлосупресії або інших токсичних проявів. Описано практичні аспекти комбінованої терапії, включно з часовою послідовністю введення препаратів та профілактикою інфекційних ускладнень. Протокол також визначає показання для тимчасового припинення або відміни лікування та критерії безпечного відновлення терапії. Джерело має високу клінічну значущість і відображає сучасний підхід до використання хлорамбуцилу в складі комбінованих схем лікування.

Клінічні рекомендації SWAG Cancer Alliance [26] присвячені стандартизації застосування хлорамбуцилу в онкогематологічній практиці з акцентом на безпечне дозування та ведення пацієнтів. У документі наведено чітко структуровані схеми лікування з визначенням стартових доз, тривалості терапії та інтервалів між циклами. Особливу увагу приділено критеріям корекції дози залежно від гематологічних показників, зокрема рівнів нейтрофілів і тромбоцитів, а також клінічних проявів токсичності. Розглянуто основні побічні реакції, серед яких домінує мієлосупресія, та наведено рекомендації щодо моніторингу й тимчасового припинення лікування у разі розвитку серйозних ускладнень. Документ також підкреслює необхідність індивідуального підходу до лікування пацієнтів похилого віку та осіб із супутніми захворюваннями. Рекомендації SWAG доповнюють інші національні протоколи та відображають практичний досвід застосування хлорамбуцилу в умовах реальної клінічної практики.

Довідковий запис PubChem [27] містить узагальнену інформацію щодо хімічної структури, фізико-хімічних властивостей, фармакологічної дії та токсикологічних характеристик хлорамбуцилу. У джерелі підтверджено належність препарату до класу ароматичних азотистих іпритів та наведено базовий опис механізму його дії, що полягає в алкілюванні ДНК і утворенні поперечних зшивок. Окрему увагу приділено небезпечним властивостям сполуки, зокрема мутагенному, канцерогенному та репродуктивно токсичному потенціалу, що корелює з клінічними обмеженнями його застосування. У записі

також зазначено основні застереження щодо поводження з речовиною та можливі ризики для персоналу при роботі з препаратом. PubChem слугує універсальним довідковим джерелом, яке поєднує хімічні та біомедичні аспекти хлорамбуцилу і доповнює клінічно орієнтовані регуляторні документи.

У багатоцентровому рандомізованому дослідженні [28] оцінено клінічну ефективність та безпеку застосування хлорамбуцилу у пацієнтів з індолентним перебігом хронічного лімфолейкозу. Автори порівняли результати раннього початку хіміотерапії хлорамбуцилом із стратегією відстроченого лікування (“watch and wait”) у пацієнтів без виражених симптомів захворювання. Показано, що раннє призначення хлорамбуцилу не забезпечує достовірної переваги щодо загальної виживаності, попри досягнення гематологічної відповіді. При цьому терапія супроводжувалася ризиком мієлосупресії та інших побічних реакцій, характерних для алкілюючих агентів. Автори дійшли висновку, що застосування хлорамбуцилу доцільне насамперед у симптомних пацієнтів або при прогресуванні захворювання. Робота має фундаментальне значення для формування сучасних підходів до лікування хронічного лімфолейкозу та чітко окреслює баланс між ефективністю та безпекою хлорамбуцилу в клінічній практиці.

### **Методи синтезу хлорамбуцилу**

Хлорамбуцил є одним із ключових алкілюючих протипухлинних препаратів, що широко застосовується у терапії онкогематологічних захворювань, зокрема хронічного лімфолейкозу та злоякісних лімфом. Клінічна значущість цього лікарського засобу зумовлює надзвичайно високі вимоги до якості субстанції, оскільки навіть незначні кількості домішок можуть суттєво впливати на безпеку та ефективність лікування. Особливу увагу приділяють контролю залишкових реагентів, побічних продуктів алкілювання та інших потенційно токсичних сполук, здатних посилювати побічну дію препарату.

У зв'язку з цим методи синтезу хлорамбуцилу повинні забезпечувати не лише високий вихід цільового продукту, але й відтворювану чистоту, селективність процесу та можливість ефективного видалення домішок. Сучасні

підходи до синтезу спрямовані на скорочення кількості стадій, мінімізацію використання агресивних реагентів і спрощення процедур очищення, що є критично важливим для одержання фармацевтичної субстанції, яка відповідає суворим регуляторним вимогам і стандартам якості.

У фундаментальному довіднику *The Chemistry of Drugs* [29] узагальнено ранні хіміко-технологічні підходи до синтезу протипухлинних препаратів, зокрема похідних азотистих іпритів, до яких належить хлорамбуцил. Автори розглядають хлорамбуцил у контексті розвитку ароматичних алкілюючих агентів, акцентуючи увагу на поетапному формуванні біс(2-хлоретильного)амінного фрагмента та його введенні в ароматичну систему з подальшим приєднанням карбоксильного бічного ланцюга. Представлений підхід фактично заклав основу загальноприйнятої методики синтезу хлорамбуцилу, яка пізніше була деталізована та формалізована в патентних описах.

До основних переваг раннього синтетичного маршруту належать концептуальна простота, чітка логіка побудови молекули та використання доступних на той час реагентів і реакцій алкілювання. Такий підхід забезпечував відтворюваність результатів і дозволяв отримувати цільову сполуку з прийнятними виходами в лабораторних умовах. Водночас автори опосередковано вказують на суттєві обмеження методу, пов'язані з високою токсичністю хлоретильних реагентів, низькою селективністю алкілювання та утворенням побічних продуктів, що ускладнювало очищення кінцевого продукту.

Таким чином, робота Evers і Caldwell відображає початковий етап формування хімії хлорамбуцилу та може розглядатися як вихідна точка розвитку його синтетичних підходів. Запропонована методологія стала базою для подальших удосконалень, спрямованих на підвищення безпеки, селективності та придатності процесу до промислового масштабування, що згодом було реалізовано в патентних і технологічних розробках.



У патенті [31] вперше системно описано технологічно оформлений метод одержання хлорамбуцилу, який став базовим для подальшого промислового виробництва препарату. Запропонований підхід ґрунтується на поетапному синтезі ароматичного попередника з подальшим введенням біс(2-хлоретильного)амінного фрагмента та формуванням карбоксильного бічного ланцюга фенілмасляної кислоти. Метод логічно розвиває загальноприйнятну лабораторну схему, описану в ранніх хімічних довідниках, переводячи її у патентно-захищений технологічний процес.

До основних переваг патентного методу належать чітка регламентація стадій синтезу, відносно стабільні виходи цільового продукту та можливість масштабування за умов дотримання технологічної дисципліни. Автори пропонують послідовність реакцій, що мінімізує неконтрольоване алкілювання ароматичного ядра, а також дозволяє отримувати хлорамбуцил з прийнятною хімічною чистотою для фармацевтичного застосування. Важливою перевагою є також використання стандартних для того часу реагентів і апаратурних рішень, що сприяло швидкому впровадженню методу у виробництво.

Водночас метод має низку суттєвих недоліків. Ключовим обмеженням є застосування високотоксичних і хімічно агресивних хлоретильних алкілюючих агентів, що підвищує ризики для персоналу та ускладнює екологічний контроль. Багатостадійність процесу та необхідність очищення проміжних і кінцевого продукту обумовлюють значні втрати матеріалу та підвищену собівартість. Крім того, метод не враховує сучасних вимог до «зеленої» хімії та контролю домішок, що стало предметом подальших модифікацій і патентних удосконалень.

Ця робота є класичним еталонним маршрутом одержання хлорамбуцилу, який забезпечив його промислову доступність, але водночас заклав основу для подальших досліджень, спрямованих на підвищення безпеки, екологічності та технологічної ефективності процесу.

У патенті [32] описано процес одержання похідних хлорамбуцилу, який суттєво відрізняється від класичних методів синтезу вихідної молекули.

Основною ідеєю запропонованого підходу є хімічна модифікація вже сформованого хлорамбуцилового каркасу з метою отримання структурно споріднених сполук із потенційно зміненими фармакологічними властивостями. Таким чином, синтез орієнтований не на побудову молекули «з нуля», а на цілеспрямовану дериватизацію функціональних груп хлорамбуцилу.

Ключовою особливістю цього варіанту синтезу є використання контрольованих перетворень карбоксильної функції та/або азотисто-іпритного фрагмента для одержання ефірів, амідів або інших похідних. Такий підхід дозволяє зберегти основний алкілюючий фармакофор, водночас змінюючи фізико-хімічні властивості сполук, зокрема розчинність, стабільність або фармакокінетичний профіль. Патент демонструє, що хлорамбуцил може слугувати універсальною «хімічною платформою» для створення нових протипухлинних агентів.

До переваг запропонованого методу належать зменшення кількості стадій порівняно з повним повторним синтезом хлорамбуцилового ядра, підвищення гнучкості синтетичного маршруту та можливість швидкого отримання серій структурно споріднених сполук. Водночас недоліками підходу є збереження проблем, притаманних роботі з азотистими іпритами, зокрема токсичність реагентів і необхідність суворого контролю умов реакції. Крім того, синтез похідних не вирішує принципових екологічних і безпекових обмежень класичного маршруту, а лише частково модифікує властивості кінцевих продуктів. У цій роботі відображено перехід від класичного синтезу хлорамбуцилу до концепції його структурної дериватизації. Особливість цього варіанту полягає у розширенні хімічного потенціалу хлорамбуцилу як вихідної сполуки для створення нових протипухлинних агентів, що стало важливим кроком у розвитку хіміотерапевтичних алкілюючих засобів.

У патенті [33] запропоновано удосконалений метод синтезу хлорамбуцилу, спрямований на підвищення технологічної керованості процесу та зниження утворення побічних домішок. Запропонований маршрут загалом базується на класичній схемі побудови хлорамбуцилового каркасу, однак

містить низку принципових модифікацій, що стосуються вибору реагентів, умов проведення ключових стадій та методів очищення проміжних і кінцевого продуктів.

Особливістю цього варіанту синтезу є використання м'якших умов введення біс(2-хлоретильного)амінного фрагмента та поетапний контроль реакцій алкілювання, що дозволяє зменшити частку побічних продуктів і поліпшити селективність процесу. Автори акцентують увагу на оптимізації температурних режимів і часу реакції, а також на спрощенні стадій виділення й очищення хлорамбуцилу. Завдяки цьому досягається підвищення загального виходу та стабільності якості кінцевого продукту.

До переваг запропонованого методу належать зменшення кількості технологічних ускладнень порівняно з класичними патентами 1960–1980-х років, покращення відтворюваності результатів та потенційна придатність процесу до промислового масштабування. Водночас метод зберігає притаманні хлорамбуцилу синтетичні обмеження, зокрема необхідність роботи з токсичними алкілюючими агентами та підвищені вимоги до техніки безпеки. Крім того, процес залишається багатостадійним, що обмежує можливості радикального зниження собівартості.

Таким чином, патент CN 104447376 A представляє собою сучасну технологічну модифікацію класичного синтезу хлорамбуцилу. Його особливість полягає у прагматичній оптимізації умов реакцій і очищення без принципової зміни хімічної логіки маршруту, що робить метод привабливим для промислового впровадження в умовах чинних фармацевтичних стандартів.

У патенті [34] запропоновано формуляційний підхід до підвищення терапевтичної придатності хлорамбуцилу, який принципово відрізняється від класичних методів його хімічного синтезу. Основна ідея розробки полягає не у зміні хімічної структури молекули, а в оптимізації лікарської форми з метою покращення стабільності, біодоступності та контрольованості фармакологічної дії препарату. Зокрема, у патенті описано формуляції хлорамбуцилу у

поєднанні з білковими або полімерними носіями, зокрема альбуміном, що дозволяє модифікувати його фармакокінетичний профіль.

Ключовою особливістю цього підходу є зменшення негативного впливу хімічної нестабільності хлорамбуцилу у водних середовищах шляхом фізико-хімічного захисту активної речовини в складі лікарської форми. Така стратегія сприяє зниженню пікової токсичності, подовженню часу циркуляції препарату в кровотоці та потенційному підвищенню селективності дії щодо пухлинних клітин. На відміну від класичних синтетичних удосконалень, формуляційний підхід не потребує модифікації азотисто-іпритного фармакофору, що зберігає доведену клінічну ефективність хлорамбуцилу.

До переваг запропонованого рішення належать покращення профілю безпеки, можливість адаптації препарату до сучасних терапевтичних стратегій та потенційне розширення сфер його клінічного застосування. Водночас недоліками підходу є технологічна складність виготовлення таких лікарських форм, підвищені вимоги до контролю якості та стабільності, а також можливе зростання вартості готового препарату. Крім того, формуляційна оптимізація не усуває фундаментальних токсикологічних обмежень, притаманних алкілюючим агентам. Ця робота відображає сучасну тенденцію розвитку хлорамбуцилу як лікарського засобу — перехід від удосконалення хімічного синтезу до оптимізації лікарської форми. Особливість цього підходу полягає у спробі інтегрувати класичний цитостатик у сучасні фармацевтичні платформи без зміни його хімічної сутності.

У наступній публікації представлено сучасний підхід до хімічної модифікації хлорамбуцилу шляхом створення ко-проліків на основі його ковалентного поєднання з природною біологічно активною сполукою хонокіолом. Автори розробили синтетичний маршрут, що дозволяє зберегти алкілюючий фармакофор хлорамбуцилу, водночас інтегруючи додатковий протипухлинний фрагмент у межах однієї молекули. Запропонований метод базується на контрольованій дериватизації функціональних груп і характеризується відносною селективністю та відтворюваністю.

Особливістю цього варіанту синтезу [35] є поєднання класичних реакцій органічного синтезу з концепцією раціонального дизайну проліків, що спрямована на поліпшення фармакологічних властивостей хлорамбуцилу. Отримані ко-проліки демонструють підвищену протипухлинну активність у порівнянні з вихідним препаратом, що свідчить про синергетичний ефект комбінування двох фармакофорів. Водночас синтетичний підхід уникає повної перебудови хлорамбуцилового ядра, що знижує ризики, пов'язані з втратою біологічної активності.

До переваг методу належать розширення хімічного та фармакологічного потенціалу хлорамбуцилу, можливість модифікації його фармакокінетичного профілю та зменшення неспецифічної токсичності. Недоліками залишаються підвищена синтетична складність і обмежена придатність таких маршрутів до безпосереднього промислового масштабування. Робота демонструє перехід від традиційного синтезу до молекулярного інжинірингу хлорамбуцилу як платформи для створення нових протипухлинних агентів.

Таким чином, еволюція методів синтезу хлорамбуцилу простежується від ранніх класичних маршрутів, що забезпечували відтворюваність і промислову доступність препарату, до сучасних підходів, орієнтованих на оптимізацію безпеки, селективності та фармакологічної ефективності. Патентні та наукові розробки останніх десятиліть демонструють поступовий перехід від удосконалення окремих технологічних стадій до концепції хлорамбуцилу як хімічної платформи для створення похідних, проліків і нових лікарських форм. Незважаючи на доведену клінічну ефективність класичних синтетичних методик, їхня багатостадійність, використання токсичних реагентів і екологічні обмеження зумовлюють необхідність подальшого вдосконалення. Сучасні приклади, зокрема створення ко-проліків і формуляційних систем, підкреслюють актуальність пошуку нових синтетичних і технологічних рішень, спрямованих на підвищення терапевтичної цінності хлорамбуцилу та адаптацію його до вимог сучасної фармацевтичної науки.

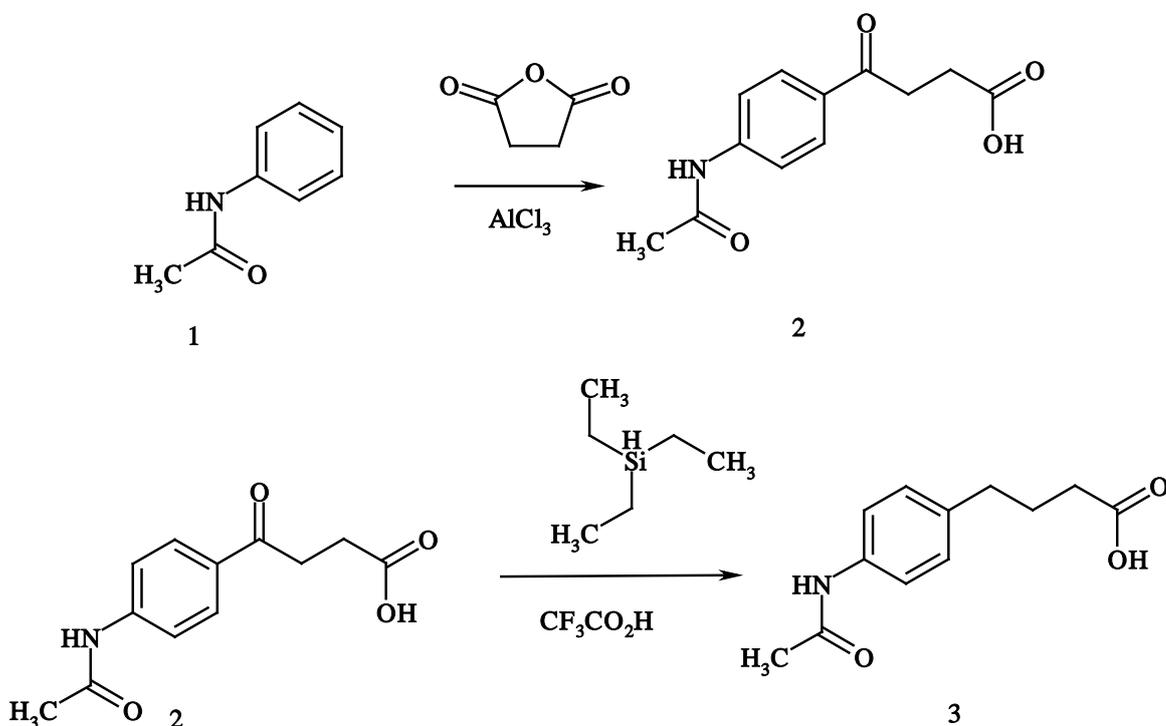
## Розділ 2. Матеріали і методи дослідження

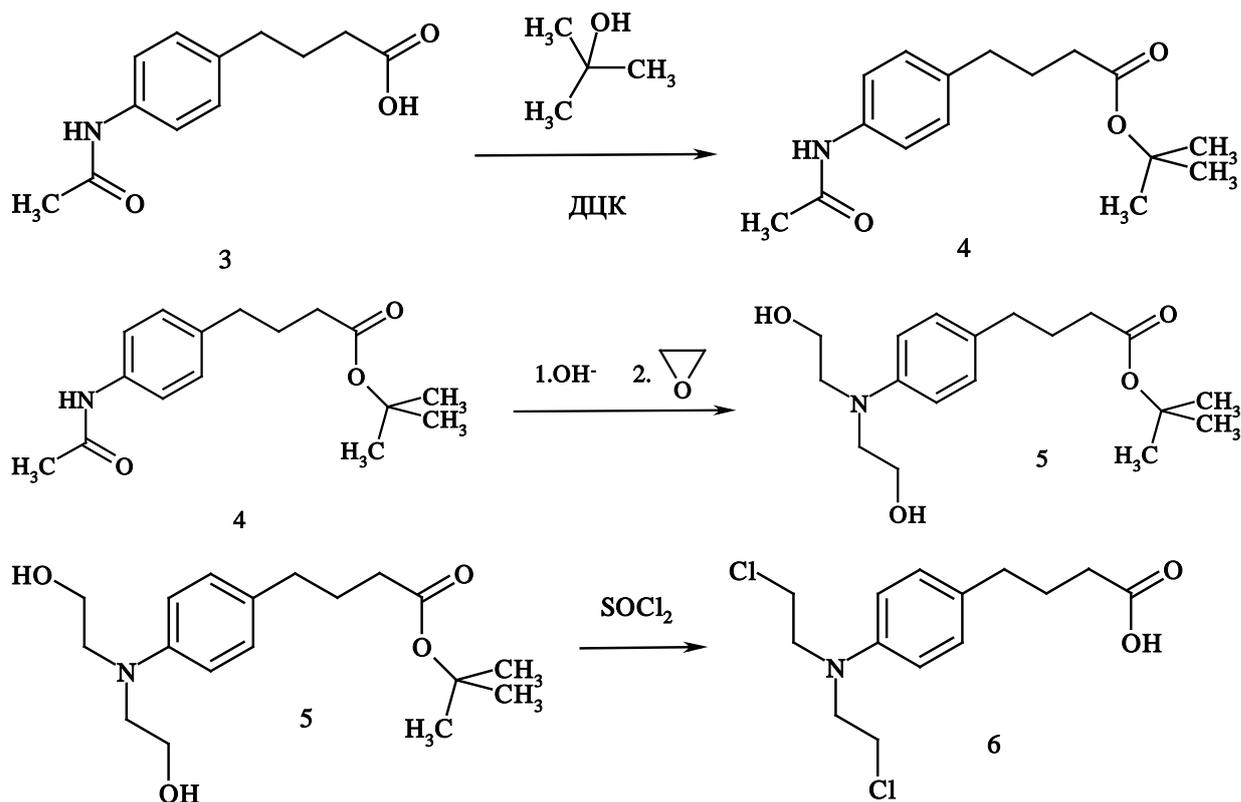
Для виконання синтетичних перетворень було використано реанти компанії Enamine Ltd (Київ, Україна) та розчинники аналітичної якості («ч.д.а.»).

ЯМР-спектроскопічні дослідження проводили на спектрометрі Varian VXR-400 при частотах 400 МГц для  $^1\text{H}$  та 101 МГц для  $^{13}\text{C}$  у розчинах  $\text{DMSO-d}_6$  використовуючи TMS як внутрішній стандарт. Величини хімічних зсувів ( $\delta$ ) і констант спінової взаємодії (J) наводили відповідно в ppm та Гц.

LC-MS аналіз проводили з використанням рідинного хроматографа Agilent 1100 Series (Hewlett-Packard, Каліфорнія, США), обладнаного діодно-матричним детектором і мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL. Температури плавлення визначали з використанням апарата Кофлера.

### Схема синтезу

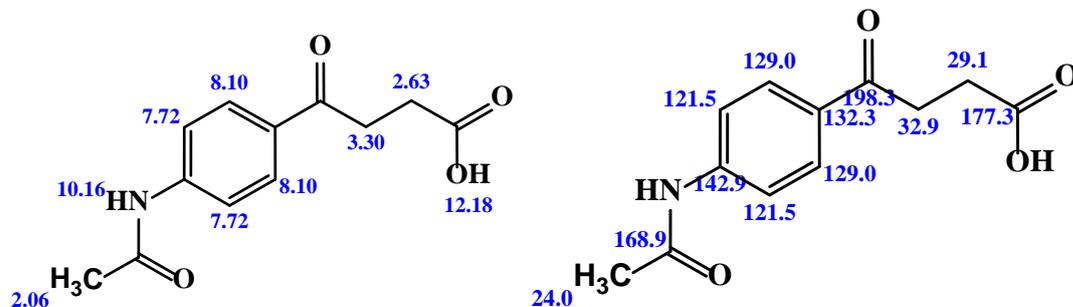




### Методика синтезу сполуки 2.

До 13,5г (0,1моль) ацетаніліду **1** в 300мл сухого дихлорометану додавали 10г (0,1 моль) янтарного ангідриду. До отриманої суспензії при перемішуванні і охолодженні водою додавали порціями 28г (0,21 моль) хлориду алюмінію. Після завершення нагрівання реакційну суміш підігрівали до 25оС, перемішували 12 годин, після чого виливали на 300гр льоду і 200мл 30% хлоридної кислоти. Нижній шар відділяли, сушили, чистили хроматографічно. Вихід 84%. MS, m/z (%): 236(100) [M+1]

### Спектральні характеристики сполуки 2.



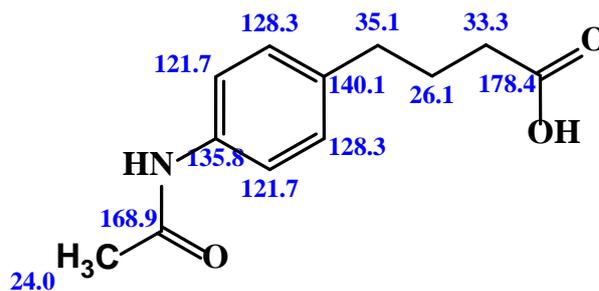
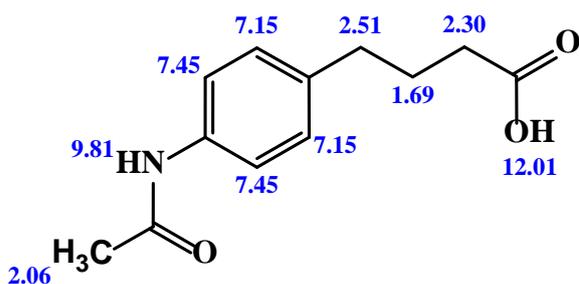
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )

$^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz, DMSO- $d_6$ )

### Методика синтезу сполуки 3.

До 23,5г (0,1моль) сполуки 2 додали 34,8г (0,3 моль) триетилсилану і 1мл трихлороцтової кислоти. Реакційну суміш кип'ятили 5 годин, випарювали на роторному випарювачі розчинник, залишок обробляли водою, екстрагували етилацетатом, сушили, випарювали і чистили хроматографічно. Вихід 81%. MS, m/z (%): 222(100) [M+1]

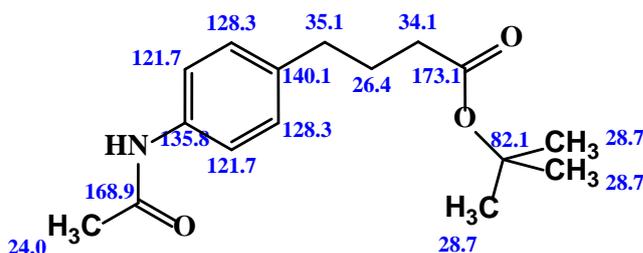
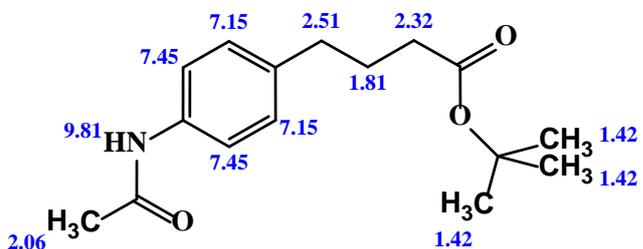
### Спектральні характеристики сполуки 3.



### Методика синтезу сполуки 4.

До 22,1г (0,1моль) сполуки 3 у 200мл дихлорометану 50мл трет-бутанолу, після чого порціями додали 22,7г (0,11 моль) дициклогексилкарбодіміду. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі 5 годин, відфільтровували осад, випарювали на роторному випарювачі розчинник, залишок чистили хроматографічно. Вихід 89%. MS, m/z (%): 278(100) [M+1]

### Спектральні характеристики сполуки 4.



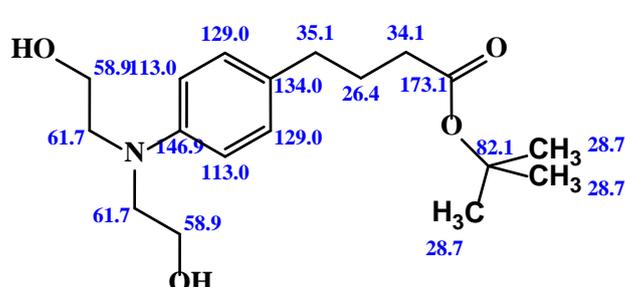
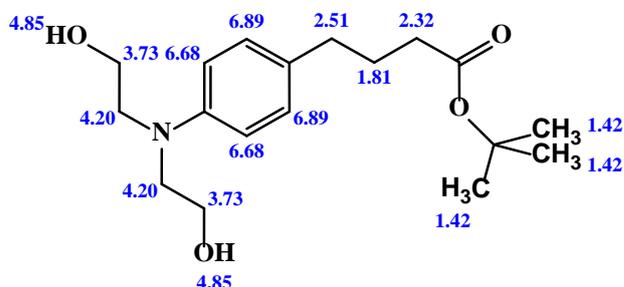
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )

### Методика синтезу сполуки 5.

До 27,7г (0,1моль) сполуки **4** у 200мл етанолу додавали порціями 6,2г (0,11 моль) калій гідроксиду. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі 6 годин, після чого впродовж 3-х годин барботували газоподібний оксид етилену. Реакційну суміш витримували 24 години при кімнатній температурі, випарювали на роторному випарювачі розчинник, залишок чистили хроматографічно. Вихід 74%. MS, m/z (%): 324(100) [M+1]

### Спектральні характеристики сполуки 5.



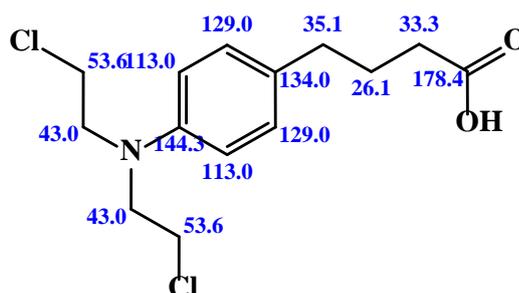
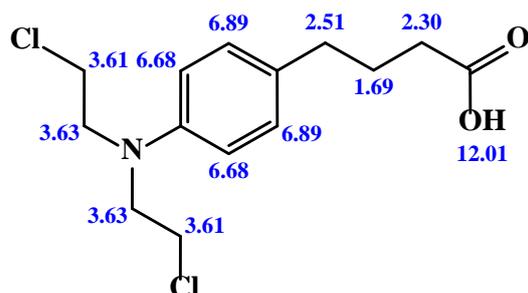
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )

### Методика синтезу сполуки 6.

До 32,3г (0,1моль) сполуки **5** у 200мл дихлороетану прикапували 35,7г (0,3 моль) тіонілхлориду. Реакційну суміш кип'ятили впродовж 5 годин (контроль завершення виділення газу), після чого випарювали на роторному випарювачі розчинник, залишок чистили хроматографічно. Вихід 96%. MS, m/z (%): 305(100) [M+1]

### Спектральні характеристики сполуки 6.



$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )

### Розділ 3. Результати дослідження та їх обговорення

Проведений аналіз літературних джерел, присвячених методам синтезу хлорамбуцилу, показав, що, незважаючи на відносну структурну простоту молекули цільового препарату, більшість відомих синтетичних підходів характеризуються значною багатостадійністю та технологічною складністю. Навіть у найбільш оптимізованих варіантах синтез включає не менше шести послідовних стадій, що неминуче призводить до зниження сумарного виходу та ускладнення масштабування процесу.

Суттєвим недоліком описаних у літературі методів є також необхідність використання жорстко контрольованих умов на завершальних стадіях синтезу. Це зумовлено високою хімічною лабільністю хлороетильних фрагментів, які легко піддаються гідролізу або внутрішньомолекулярним побічним перетворенням у присутності вологи, підвищеної температури чи надлишку кислотних або лужних реагентів. У зв'язку з цим стадії виділення та очищення хлорамбуцилу часто потребують застосування спеціальних методів екстракції, сушіння та рекристалізації, що додатково знижує загальну ефективність процесу.

Окрім цього, у багатьох відомих синтетичних маршрутах заміна гідроксильних груп на хлор у біс(2-гідроксиетильному) фрагменті та гідроліз захисних груп кислотної функції проводяться як окремі стадії. Такий підхід збільшує тривалість синтезу, кількість використовуваних реагентів і проміжних очищень, а також підвищує ризик деградації чутливих функціональних груп молекули.

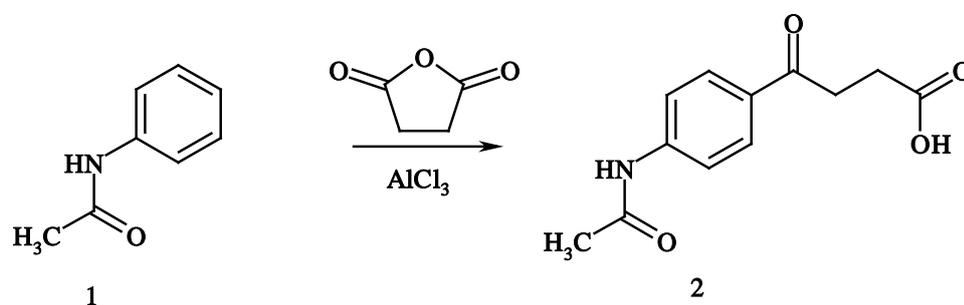
З урахуванням виявлених недоліків існуючих методів у даній роботі було розроблено альтернативний синтетичний підхід до одержання хлорамбуцилу, спрямований на зменшення кількості стадій та підвищення інтегральної ефективності процесу. Запропонований метод включає загалом п'ять стадій, що вже саме по собі є перевагою порівняно з більшістю описаних у літературі маршрутів.

Ключовою особливістю розробленої методики є оптимізація завершального етапу синтезу, на якому реалізовано поєднання двох технологічно важливих перетворень в одну стадію. Зокрема, в умовах кислотного середовища одночасно відбувається заміщення гідроксильних груп у гідроксиетильних фрагментах на атоми хлору та кислий гідроліз трет-бутильного естеру карбоксильної групи. Такий підхід дозволяє суттєво скоротити тривалість синтезу, зменшити кількість використовуваних реагентів і уникнути додаткових стадій очищення проміжних продуктів.

Запропоноване поєднання реакцій також позитивно впливає на стабільність хлороетильного фрагменту, оскільки виключає його тривале перебування в реакційних середовищах, потенційно сприятливих для гідролізу. У результаті досягається підвищення виходу цільового продукту та покращення відтворюваності результатів синтезу.

Таким чином, розроблена методика синтезу хлорамбуцилу є більш раціональною з технологічної точки зору порівняно з відомими літературними аналогами. Скорочення кількості стадій, інтеграція ключових перетворень у фінальній реакції та зниження вимог до умов очищення створюють передумови для подальшої оптимізації процесу та його можливого впровадження у напівпромислових і промислових умовах.

### Етап 1.



Перший етап синтезу полягає у введенні карбонільного фрагмента в ароматичне ядро вихідної сполуки шляхом реакції електрофільного ароматичного заміщення. Вихідну **ацетанлідну похідну** піддавали ацилюванню циклічним ангідридом дикарбонової кислоти в присутності

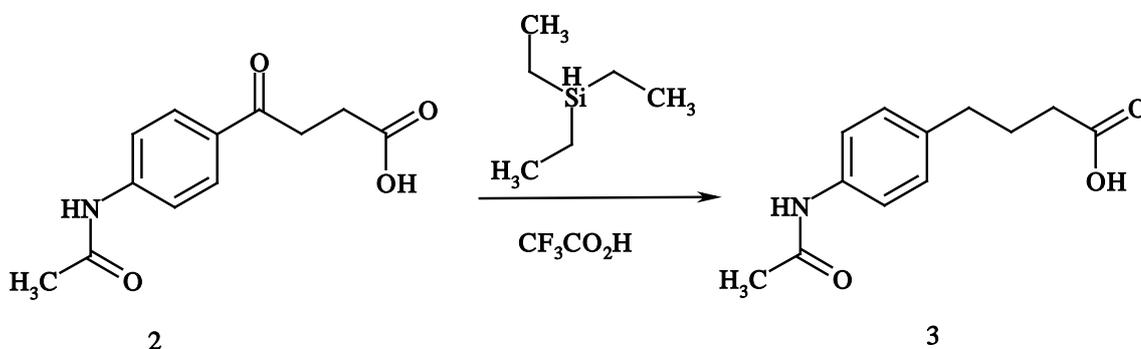
хлориду алюмінію як каталізатора типу Льюїса. Реакція відбувається за механізмом ацилювання Фріделя—Крафтса з утворенням  $\sigma$ -комплексу та подальшою ароматичною стабілізацією.

Ацетамідна група виконує подвійну функцію: з одного боку, вона активує ароматичне ядро та орієнтує електрофільне заміщення переважно у пара-положення, з іншого — знижує ймовірність багаторазового ацилювання. Утворений інтермедіат після гідролітичної обробки реакційної суміші перетворюється на цільову кетокарбонову кислоту, що містить реакційноздатний карбонільний фрагмент для подальших стадій синтезу.

### Застосування $\text{AlCl}_3$

дозволяє провести ацилювання за відносно м'яких температурних умов, що зменшує утворення побічних продуктів. Отримана сполука є ключовим напівпродуктом синтезу, оскільки саме на цьому етапі формується вуглецевий скелет майбутньої молекули хлорамбуцилу.

### Етап 2.



Другий етап синтезу спрямований на селективне відновлення ароматично зв'язаної кетогрупи у сполуці 2 з утворенням відповідного алкільного ланцюга. Для цього використано тріетилсилан у присутності трифтороцтової кислоти, що створює умови для іонно-гідридного відновлення карбонільної функції без залучення класичних металевих відновників.

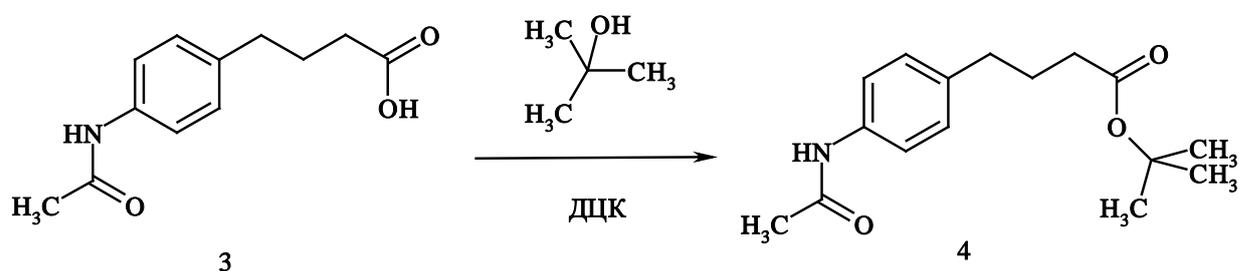
Обрані умови дозволяють ефективно перетворити кетогрупу на метиленовий фрагмент без впливу на карбоксильну групу та ацетамідний захисний фрагмент, які залишаються хімічно стабільними в кислому

середовищі. Це є принципово важливим, оскільки використання жорсткіших відновників (наприклад, гідридів лужних металів або каталітичного гідрування) могло б призвести до побічних перетворень або часткової деградації функціональних груп.

Застосування системи Et  $\text{SiH}_3$  високу селективність та добру відтворюваність результатів. Утворений продукт 3 містить насичений пропіонільний фрагмент, що відповідає структурному мотиву хлорамбуцилу та є зручним напівпродуктом для подальшого функціонального перетворення бокового ланцюга.

Таким чином, на цьому етапі завершується формування вуглецевого скелета молекули, а синтетичний маршрут переходить до стадій, пов'язаних із модифікацією термінальної функціональної групи та підготовкою сполуки до введення хлороетильних замісників.

### Етап 3.



На третьому етапі синтезу здійснювали перетворення карбоксильної групи сполуки 3 у відповідний трет-бутильний естер. Реакцію проводили шляхом взаємодії карбонової кислоти з трет-бутанолом у присутності дициклогексилкарбодіміду (ДЦК) як активуючого агента. Такий підхід забезпечує м'які умови естерифікації та дозволяє уникнути використання сильних мінеральних кислот, небажаних на даному етапі синтезу.

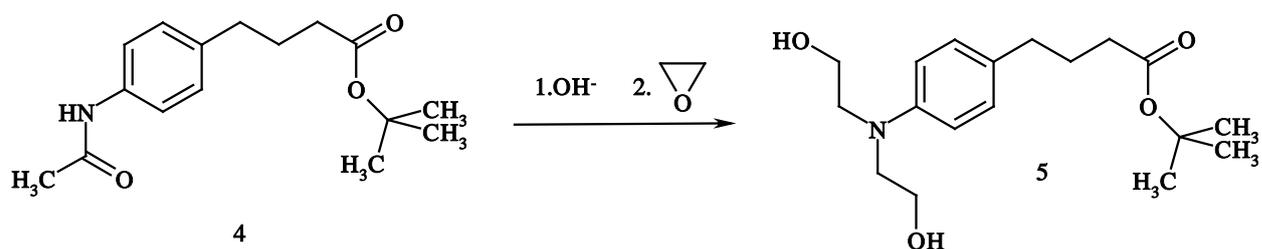
Введення трет-бутильного естеру має важливе технологічне значення, оскільки дозволяє тимчасово захистити карбоксильну функцію від небажаних побічних реакцій на наступних стадіях синтезу. Зокрема, на етапах модифікації бічного ланцюга та заміщення функціональних груп наявність вільної карбоксильної групи могла б призводити до внутрішньомолекулярних

взаємодій або утворення солей, що ускладнює перебіг реакцій та очищення продуктів.

Застосування ДЦК забезпечує високу ефективність активації карбоксильної групи та добру селективність процесу, при цьому ацетамідний фрагмент і ароматичне ядро залишаються хімічно інертними за даних умов. Отриманий продукт 4 є стабільним напівпродуктом, зручним для подальших стадій синтезу, та відіграє ключову роль у реалізації фінального етапу, де передбачено одночасне зняття захисної групи та введення хлороетильних замісників.

Таким чином, на цьому етапі формується функціонально захищена структура молекули, що забезпечує контрольований і прогнозований перебіг наступних перетворень у розробленому синтетичному маршруті.

#### Етап 4.



Четвертий етап спрямований на перетворення ацетамідного захисного фрагмента в активну аміногрупу та подальше введення двох 2-гідроксиетильних замісників, які є прямими попередниками хлороетильних фрагментів хлорамбуцилу. На першій стадії проводили гідроліз ацетамідної групи (деацетилювання) з утворенням відповідної пара-амінопохідної. Цей крок є принципово важливим, оскільки лише вільна анілінова аміногрупа здатна ефективно вступати в реакції нуклеофільного приєднання/заміщення з утворенням третинного аміну.

Далі здійснювали алкілування аміногрупи 2-вуглецевим фрагментом із гідроксильною функцією (введення двох –СН<sub>2</sub>OH) утворюється N,N-біс(2-гідроксиетил)похідна 5. Пара замісників –СН<sub>2</sub>OH є стратегічно вигідною, оскільки на фінальному етапі вони можуть бути

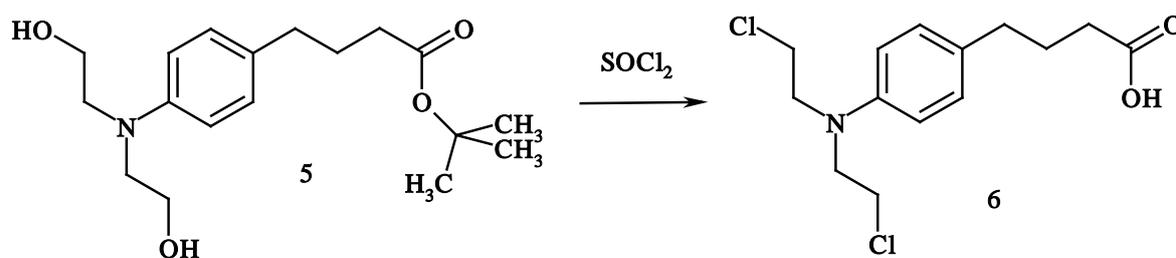
перетворені на –СН

CH<sub>2</sub> Cl 6

на цьому етапі трет-бутильний естер зберігається без змін і виконує роль захисту карбоксильної групи: це запобігає утворенню солей/іонних пар з аміном та спрощує контроль реакції й подальше очищення.

Отримана сполука 5 є ключовим напівпродуктом, який уже містить «азотистий іпритний» фрагмент у формі діол-попередника. Таким чином, після завершення етапу 4 синтетичний маршрут підходить до фінального перетворення, де необхідно одночасно (i) замістити гідроксильні групи на атоми хлору та (ii) зняти трет-бутильний захист із утворенням вільної карбоксильної групи, тобто одержати хлорамбуцил.

### Етап 5.



Фінальний етап синтезу є ключовим у запропонованому маршруті, оскільки саме на ньому формується функціонально «чутлива» частина молекули — хлороетильні замісники, та одночасно відновлюється вільна карбоксильна група, необхідна для отримання хлорамбуцилу. Для реалізації цього етапу використано тіонілхлорид (SOCl<sub>2</sub>), який виконує подвійну роль. Окрім заміни –ОН на –СН<sub>2</sub> у бічних ланцюгах, відбувається також кислий гідроліз трет-бутильного естеру, внаслідок чого карбоксильна група переходить у вільну кислотну форму. Таким чином, дві технологічно значущі операції — хлорування діолу та деблокування

Важливою особливістю даної стадії є те, що за вибраних умов реакції тіонілхлорид виконує подвійну роль. Окрім заміни –ОН на –СН<sub>2</sub> у бічних ланцюгах, відбувається також кислий гідроліз трет-бутильного естеру, внаслідок чого карбоксильна група переходить у вільну кислотну форму. Таким чином, дві технологічно значущі операції — хлорування діолу та деблокування

карбоксихильної функції — інтегровані в одну стадію, що суттєво скорочує загальну тривалість синтезу та кількість проміжних очищень.

Окремо слід підкреслити технологічні переваги такого підходу у контексті стабільності кінцевого продукту. Відомо, що хлоретильний фрагмент є схильним до гідролізу, тому класичні методи, де хлорування проводять раніше, а гідроліз захисної групи — окремо, часто супроводжуються частковою деградацією продукту та зниженням виходу. У розробленій методиці утворений хлорамбуцил не піддається тривалому контакту з водними середовищами: реакцію та робоче виділення можна організувати так, щоб мінімізувати час перебування продукту у вологих/протонних умовах, що позитивно впливає на чистоту та відтворюваність результатів.

У підсумку, етап 5 є визначальним з точки зору ефективності всієї методики: він дозволяє отримати цільовий продукт із меншими втратами на стадіях виділення, знизити ризик побічних перетворень хлоретильних груп і забезпечити технологічно раціональний «фініш» синтезу. Саме інтеграція хлорування та деблокування карбоксихильної групи в одну стадію є основною відмінністю запропонованого підходу від більшості літературних методів і пояснює його перспективність для подальшої оптимізації та масштабування.

## Висновки

1. У результаті аналізу літературних джерел встановлено, що більшість відомих методів синтезу хлорамбуцилу характеризуються значною багатостадійністю (не менше 6 стадій), відносно низькими сумарними виходами та підвищеними вимогами до умов виділення кінцевого продукту, зумовленими хімічною лабільністю хлороетильного фрагмента.
2. У даній роботі розроблено альтернативний синтетичний маршрут одержання хлорамбуцилу, який включає п'ять стадій і забезпечує раціональне формування вуглецевого скелета молекули з мінімізацією кількості проміжних очищень та побічних перетворень.
3. Показано, що використання трет-бутильного естеру як захисної групи карбоксильної функції є доцільним з технологічної точки зору, оскільки забезпечує стабільність проміжних продуктів на стадіях алкілування аміногрупи та дозволяє реалізувати контрольоване деблокування на завершальному етапі синтезу.
4. Ключовою особливістю запропонованої методики є інтеграція хлорування гідроксиетильних фрагментів і кислого гідролізу трет-бутильного естеру в одну стадію з використанням тіонілхлориду, що дозволяє скоротити тривалість синтезу, зменшити втрати на стадіях виділення та знизити ризик деградації хлороетильних груп.
5. Розроблений метод синтезу хлорамбуцилу характеризується підвищеною відтворюваністю та технологічною раціональністю і може бути рекомендований для подальшої оптимізації, масштабування та використання у лабораторній і напівпромисловій практиці синтезу протипухлинних препаратів.

## Список літературних джерел

- 1 Galton D. A. G., Israëls M. C. G., Nabarro J. D. N. Clinical trials of p-(di-2-chloroethylamino)-phenylbutyric acid (CB 1348) in malignant lymphoma. *British Medical Journal*. 1955. Vol. 2, No. 4943. P. 1172–1176. URL: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4684-1378-6\\_4](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4684-1378-6_4) (дата звернення: 29.01.2026).
- 2 Ultmann J. E., Hyman G. A., Gellhorn A. Chlorambucil in treatment of chronic lymphocytic leukemia and certain lymphomas. *Journal of the American Medical Association*. 1956. Vol. 162, No. 2. P. 178–183. URL: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/318183> (дата звернення: 29.01.2026).
- 3 Miller D. G. The clinical use of chlorambucil: a critical study. *New England Journal of Medicine*. 1959. Vol. 261, No. 10. P. 488–492. URL: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM195909102611101> (дата звернення: 29.01.2026).
- 4 Scott R. B. Cancer chemotherapy: the first twenty-five years. *Cancer Research*. 1970. Vol. 30, No. 5. P. 1215–1220. URL: <https://www.jstor.org/stable/25412293> (дата звернення: 29.01.2026).
- 5 DeVita V. T., Chu E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research*. 2008. Vol. 68, No. 21. P. 8643–8653. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6611.
- 6 Highley M. S., Bowen D., Smith I. E. The nitrogen mustards. *Pharmacology & Therapeutics*. 2022. Vol. 238. Art. No. 108174. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108174.
- 7 Alberts D. S., Chang S. Y., Chen H. S. Pharmacokinetics and metabolism of chlorambucil in man. *Cancer Treatment Reports*. 1979. Vol. 63, No. 2. P. 199–204.
- 8 Ehrsson H., Wallin I., Lindfors A. Degradation of chlorambucil in aqueous solution: influence of human albumin binding. *Journal of Pharmacy and*

- 
- Pharmacology. 1981. Vol. 33, No. 5. P. 283–287. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1981.tb13852.x.
- 9 Ehrsson H., Wallin I., Lindfors A. Effect of food on pharmacokinetics of chlorambucil and its main metabolite phenylacetic acid mustard. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1984. Vol. 27, No. 1. P. 69–72. DOI: 10.1007/BF00543732.
  - 10 Adair C. G., McBurney A., McMillan S. A. Can food affect the bioavailability of chlorambucil? *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 1986. Vol. 17, No. 2. P. 133–136. DOI: 10.1007/BF00299876.
  - 11 Lee F. Y., Workman P., Roberts J. J. Pharmacokinetic basis for the comparative antitumour activity and toxicity of chlorambucil and its metabolites in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 1986. Vol. 16, No. 1. P. 1–8. DOI: 10.1007/BF00262151.
  - 12 Bosanquet A. G. Stability of chlorambucil solutions during preparation and storage. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 1986. Vol. 17, No. 2. P. 137–141. DOI: 10.1007/BF00262292.
  - 13 Oppitz M. M., Ehninger G., Schuler U. Studies on the pharmacokinetics of chlorambucil and phenylacetic acid mustard. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 1989. Vol. 24, No. 3. P. 183–188. DOI: 10.1007/BF00451643.
  - 14 Bank B. B., Brundrett R. B., Hill D. L. Studies of chlorambucil–DNA adducts. *Biochemical Pharmacology*. 1992. Vol. 44, No. 6. P. 1189–1195. DOI: 10.1016/0006-2952(92)90451-N.
  - 15 Begleiter A. Chlorambucil in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia & Lymphoma*. 1996. Vol. 22, No. 3–4. P. 187–197. DOI: 10.3109/10428199609054861.
  - 16 Di Antonio M., Ponjavic A., Radzevičius A. et al. Reprogramming the mechanism of action of chlorambucil by coupling to a G-quadruplex ligand. *Journal of the American Chemical Society*. 2014. Vol. 136, No. 37. P. 13143–13155. DOI: 10.1021/ja5014344.

- 
- 17 Florea-Wang D., Pawlik J., Jansen G. Reactions of chlorambucil with DNA studied by LC-MS. *Chemical Research in Toxicology*. 2009. Vol. 22, No. 12. P. 1898–1907. DOI: 10.1021/tx900247n.
- 18 Chlorambucil. National Cancer Institute Drug Dictionary. URL: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug/def/chlorambucil> (дата звернення: 29.01.2026).
- 19 Leukeran® (chlorambucil) tablets. Prescribing information. U.S. Food and Drug Administration. 2011. URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2011/010669s032lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/010669s032lbl.pdf) (дата звернення: 29.01.2026).
- 20 Chlorambucil tablets. DailyMed. National Library of Medicine. URL: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=58a3c995-5ad6-465d-8437-5970c9088213> (дата звернення: 29.01.2026).
- 21 Chlorambucil 2 mg tablets. Summary of Product Characteristics. Electronic Medicines Compendium. URL: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/4656/smpc> (дата звернення: 29.01.2026).
- 22 Leukeran® Product Monograph. Health Canada. 2017. URL: [https://pdf.hres.ca/dpd\\_pm/00040918.PDF](https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00040918.PDF) (дата звернення: 29.01.2026).
- 23 Chlorambucil drug monograph. BC Cancer Agency. 2013. URL: [https://www.bccancer.bc.ca/drug-database-site/Drug%20Index/Chlorambucil\\_monograph\\_1\\_Sept2013\\_formatted1.pdf](https://www.bccancer.bc.ca/drug-database-site/Drug%20Index/Chlorambucil_monograph_1_Sept2013_formatted1.pdf) (дата звернення: 29.01.2026).
- 24 Chlorambucil monograph. Cancer Care Ontario. URL: [https://www.cancercareontario.ca/en/system/files\\_force/chlorambucil.pdf](https://www.cancercareontario.ca/en/system/files_force/chlorambucil.pdf) (дата звернення: 29.01.2026).
- 25 Chlorambucil ± rituximab protocol. Oxford Haematology NSSG. URL: <https://nssg.oxford-haematology.org.uk/lymphoma/documents/lymphoma-chemo-protocols/L-26-chlorambucil.pdf> (дата звернення: 29.01.2026).

- 
- 26 Chlorambucil guideline. SWAG Cancer Alliance. URL: <https://www.swagcanceralliance.nhs.uk/wp-content/uploads/2020/10/Chlorambucil.pdf> (дата звернення: 29.01.2026).
- 27 Chlorambucil. PubChem Compound Summary. National Institutes of Health. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Linfofolizin>. (дата звернення: 29.01.2026).
- 28 Dighiero G., Maloum K., Desablens B. et al. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. *New England Journal of Medicine*. 1998. Vol. 338, No. 21. P. 1506–1514. DOI: 10.1056/NEJM199805213382102.
- 29 Evers N., Caldwell D. *The chemistry of drugs*. 3rd ed. London : Chapman & Hall, 1959. 842 p.
- 30 Chlorambucil synthesis. ChemicalBook. URL: <https://www.chemicalbook.com/synthesis/chlorambucil.htm> (дата звернення: 29.01.2026).
- 31 Method of making chlorambucil : пат. US 3046301 A. Publ. 31.07.1962. URL: <https://patents.google.com/patent/US3046301A/en> (дата звернення: 29.01.2026).
- 32 Process for the preparation of chlorambucil derivatives : пат. US 4261910 A. Publ. 14.04.1981. URL: <https://patents.google.com/patent/US4261910A/en> (дата звернення: 29.01.2026).
- 33 Synthesis process of antineoplastic drug chlorambucil : пат. CN 104447376 A. Publ. 25.03.2015. URL: <https://patents.google.com/patent/CN104447376A/en> (дата звернення: 29.01.2026).
- 34 Chlorambucil formulations : пат. WO 2017205588 A1. Publ. 30.11.2017. URL: <https://patents.google.com/patent/WO2017205588A1> (дата звернення: 29.01.2026).
- 35 Xia L., Wang Y., Yang Y. Honokiol–chlorambucil co-prodrugs: synthesis and anticancer activity. *ACS Omega*. 2020. Vol. 5, No. 39. P. 24957–24966. DOI: 10.1021/acsomega.0c02832.