



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **329209**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

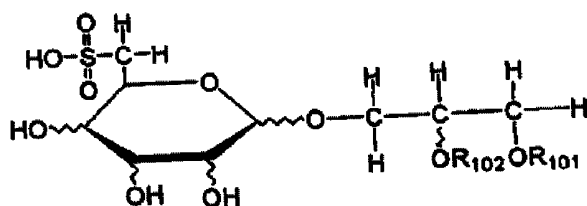
A61K 31/7032 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20014119	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2000.02.21 PCT/JP00/00973
(22)	Inng.dag	2001.08.24	(85)	Videreføringsdag	2001.08.24
(24)	Løpedag	2000.02.21	(30)	Prioritet	1999.02.26, JP, 51397
(41)	Alm.tilgj	2001.10.24			
(45)	Meddelt	2010.09.13			
(73)	Innehaver	Toyo Suisan Kaisha Ltd, 13-40, Konan 2-chome, Minato-ku, JP-108-8501 TOKYO, Japan Takayuki Yamazaki, Noda-shi, Chiba, JP-, Japan Fumio Sugawara, Niiza-shi, Saitama, JP-, Japan Keisuke Ohta, Noda-shi, Chiba, JP-, Japan Kazuyoshi Masaki, Sakado-shi, Saitama, JP-, Japan Kotaro Nakayama, Yotsukaido-shi, Chiba, JP-, Japan Kengo Sakaguchi, Tsukuba-shi, Ibaraki, JP-, Japan Noriyuki Sato, Sapporo-shi, Hokkaido, JP-, Japan Hiroeki Sahara, Sapporo-shi, Hokkaido, JP-, Japan Tatsuya Fujita, Sapporo-shi, Hokkaido, JP-, Japan			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Farmasøytisk preparat inneholdende et sulfopyranosylacylglyserolderivat, slike forbindelser for anvendelse ved behandling av kreft, samt anvendelse av forbindelsene ved fremstilling av medikamenter			
(56)	Anførte publikasjoner	Ingen			
(57)	Sammen drag				

Et medikament inneholdende i det minste en forbindelse valgt fra gruppen bestående av forbindelser representert ved den generelle formel (I):



hvor R_{101} representerer en acylrest av en umettet, høyere fettsyre, og R_{102} representerer et hydrogenatom eller en acylrest av en umettet, høyere fettsyre, og farmasøytisk akseptable salter derav, som en aktiv ingrediens.

Teknisk felt

Den foreliggende oppfinnelse angår et farmasøytisk preparat inneholdende i det minste én forbindelse valgt fra gruppen bestående av sulfopyranosylacylglyserolderivater og farmasøytisk akseptable salter derav som en aktiv ingrediens, slike forbindelser for anvendelse ved behandling av kreft, samt anvendelse av forbindelsene ved fremstilling av medikamenter.

Bakgrunnsteknikk

Naturlige produkter, utledet fra for eksempel alger og høyere planter, inneholder svovelinneholdende glykolipider kjent for å ha fysiologiske aktiviteter.

I et dokument av Ohta et al. (Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 46 (4), (1998)), beskrives det for eksempel at et spesifikt sulfokinovosyldiasylglyserolderivat utledet fra rødalgen Gigartina tenella, ikke bare har inhibitoriske aktiviteter mot DNA-polimerasene α og β fra høyere organismer, men også har en HIV-utledet, revers, transkriptaseinhibitorisk aktivitet. Sulfokinovosyldiasylglyserolderivatet beskrevet i Ohta-dokumentet, er det hvor fettsyren som er bundet, gjennom en esterbinding til C1-karbonatomet i glyserol, er en umettet fettsyre med 20 karbonatomer og med 5 dobbeltbindinger, og hvor en annen fettsyre, som er bundet til C2-karbonatomet i glyserol, er en mettet fettsyre med 16 karbonatomer.

Videre er det i dokumentet Mizushina et al., (Biochemical Pharmacology 55, 537-541 (1998)) beskrevet at en blanding av spesifikke sulfokinovosyldiasylglyserolderivater med inhibitoriske aktiviteter mot en DNA-polymerase α fra kalv og en DNA-polymerase β fra rotte, utledet fra en karsporeplante. Imidlertid hadde blandingen ingen effekt på en HIV-utledet revers transkriptaseaktivitet.

På den annen side er det i et dokument av Sahara et al. (British Journal of Cancer, 75(3), 324-332 (1997)) beskrevet at en fraksjon av sulfokinovosylmonoacylglyseroler, inneholdt i et acetonekstrakt fra en sjøpinnsvintynntarm, utøver antikreftaktiviteter *in vivo* og *in vitro*. Imidlertid inneholder sulfokinovosylmonoacylglyserolfraksjonen, hvori Sahara fant anticanceraktivitetene, hovedsakelig sulfokinovosyldiasylglyserol med en mettet fettsyre med 16 karbonatomer, bundet dertil gjennom en esterbinding. Sulfokinovosylmonoacylglyserolfraksjonen inneholder sulfokinovosylmonoacylglyseroler, hvor acyldelen er den med en umettet fettsyre, i kun en ekstremt liten mengde. I tillegg har Sahara et al. hittil ikke undersøkt antikreftaktiviteter med hensyn til individuelle komponenter inneholdt i sulfokinovosylmonoacylglyserolblanding.

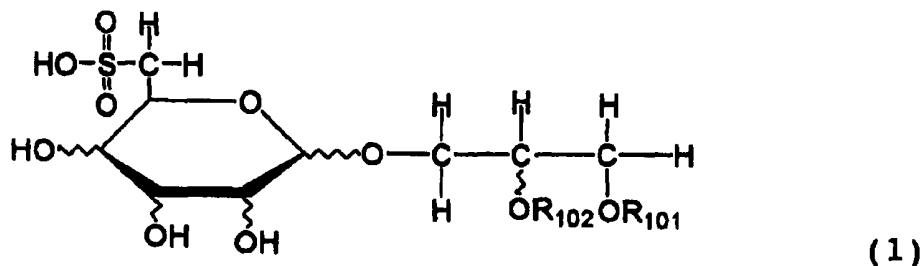
Videre beskriver nasjonal patentsøknad nr. 5-501105 at et sulfokinovosyldiacylglyserolderivat har en antivirusaktivitet. Mer spesielt beskrives at derivatet har en anti-HIV- (human immunsviktvirus)-aktivitet. Imidlertid beskrives det ikke at derivatet har DNA-polymeraseinhibitoriske aktiviteter og antikreft aktiviteter.

Beskrivelse av oppfinnelsen

Et formål ved den foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe et farmasøytisk preparat inneholdende et sulfopyranosylacylglyserolderivat som en aktiv ingrediens.

Oppfinnerne av den foreliggende oppfinnelse fant at spesifikke sulfopyranosylacylglyserolderivater har medisinske aktiviteter, og kom derved frem til den foreliggende oppfinnelse. Den foreliggende oppfinnelse tilveiebringer et farmasøytisk preparat inneholdende, som en aktivitet ingrediens, i det minste en forbindelse valgt fra gruppen bestående av:

forbindelser representert ved den følgende generelle formel (I):



hvor R_{101} er

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_1-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}-$ eller $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_1-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}-$,

R_{102} er et hydrogenatom, og pyranosen er α -kinovose; og farmasøytisk akseptable salter derav.

Kort beskrivelse av tegningene

Fig. 1 viser antikreftaktiviteter til medikamenter ifølge den foreliggende oppfinnelse mot tumorceller.

Fig. 2 viser en antikreftaktivitet til et medikament ifølge den foreliggende oppfinnelse, oppnådd ved en dyretest.

Fig. 3 viser en antikreftaktivitet til et medikament ifølge den foreliggende oppfinnelse, oppnådd ved en dyretest.

Fig. 4 viser en antikreftaktivitet til et medikament ifølge den foreliggende oppfinnelse, oppnådd ved en dyretest.

Fig. 5 viser en antikreftaktivitet til et medikament ifølge den foreliggende oppfinnelse, oppnådd ved en dyretest.

Fig. 6 viser en antikreftaktivitet til et medikament ifølge den foreliggende oppfinnelse, oppnådd ved en dyretest.

Fig. 7 viser en antikreftaktivitet til et medikament ifølge den foreliggende oppfinnelse, oppnådd ved en dyretest.

Beste metode for utføring av oppfinnelsen

I beskrivelsen henviser uttrykket "karbonatomer" i en beskyttelsesgruppe til antallet karbonatomer under forutsetning av at beskyttelsesgruppen er usubstituert. For å være mer spesifikk, når gruppen representert ved R^6 er en substituert alkylgruppe, er dets karbonatom-
 5 antall det for alkylgruppen selv, og karbonatomantallet for substituenten på alkylgruppen teller ikke. De samme betingelser passer i de tilfeller hvor beskyttelsesgruppen er andre enn alkylgruppen.

Først vil sulfopyranosylacylglyserolderivatet, representert ved den generelle formel (1) og inneholdt i medikamentet ifølge den foreliggende oppfinnelse som en aktiv
 10 ingrediens, forklares nærmere.

I sulfopyranosylacylglyserolderivatet representert ved den generelle formel (1) kan pyranose, som er et sukkerskjelett som utgjør pyranosid, inkludere α -D-kinovose (dvs. 6-deoksy- α -glukose), β -D-kinovose (dvs 6-deoksy- β -D-glukose), α -D-fukose (dvs. 6-deoksy- α -D-galaktose), β -D-fukose (dvs. 6-deoksy- β -D-galaktose), α -D-ramnose (dvs. 6-deoksy-
 15 α -D-mannose) og β -D-ramnose (dvs. 6-deoksy- β -D-mannose).

Den absolutte konfigurasjonen til karbonet (asymmetrisk karbon) i 2-posisjonen til glyserolenheten, kan være enten S- eller R-konfigurasjonen.

Sukkerskjelettet til pyranosidet kan enten være en båt- eller stolkonfigurasjon. Imidlertid er stolkonfigurasjonen foretrukket i lys av stabilitet.

I sulfopyranosylacylglyserolderivatet representert ved den generelle formel (1)
 20 representerer R_{101} en acylrest av en umettet, høyere fettsyre.

Fettsyren som gir acylresten, representert ved R_{101} , kan være en umettet, høyere fettsyre med en rett eller forgrenet kjede. Fra synspunktet for å anvende forbindelsen representert ved den generelle formel (1) som et medikament, anvendes fortrinnsvis umettet,
 25 høyere fettsyre med rett kjede.

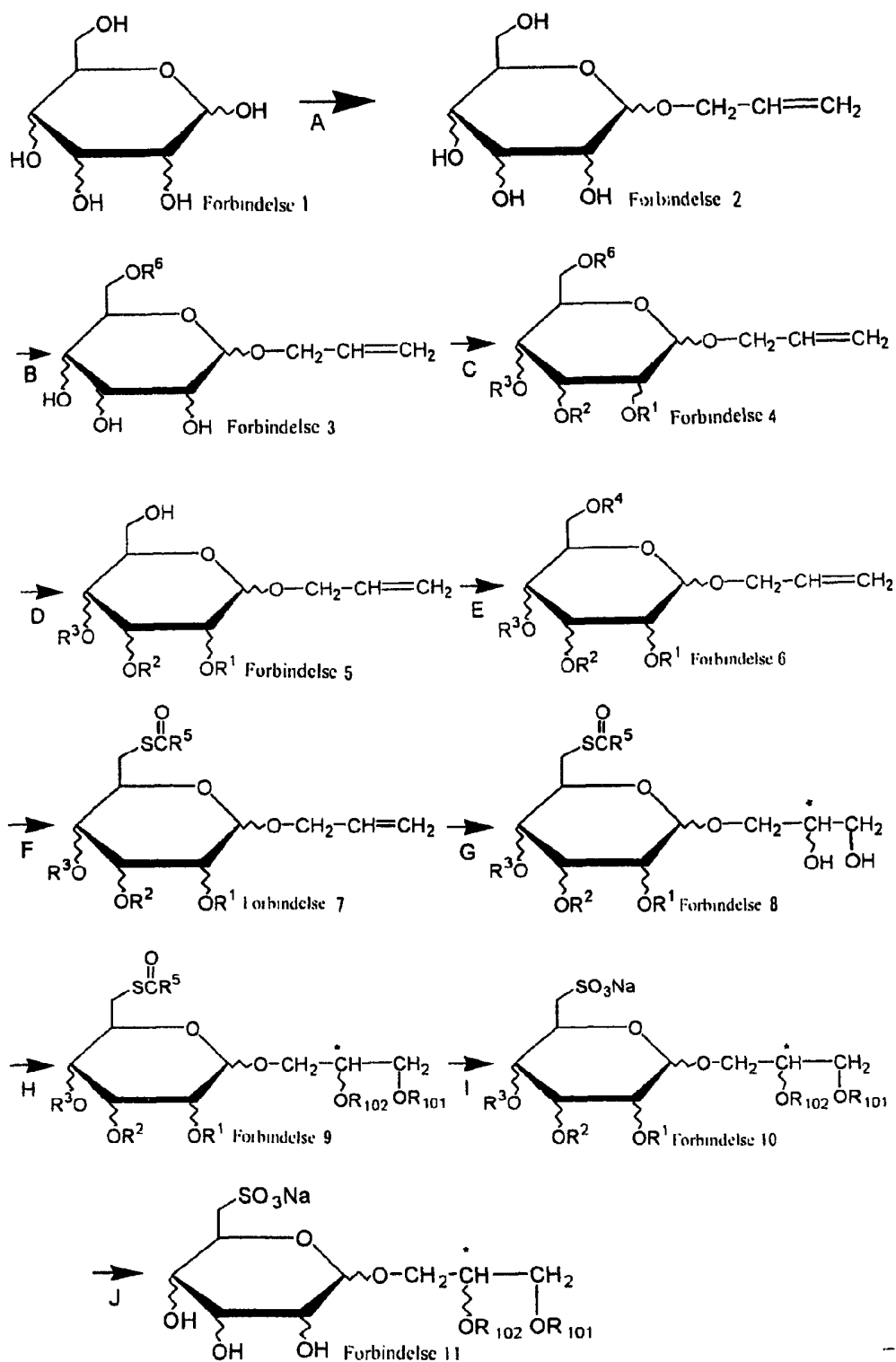
Acylresten av den umettede, høye fettsyren med rett kjede har 14-26 karbonatomer (fortrinnsvis et partall fra 14-26), med en 1-6 umettede bindinger. Acylresten av den umettede, høyere fettsyren med rett kjede representeres ved formelen: $R-C(=O)-$, hvor R er en rettkjedet, alifatisk, umettet hydrokarbongruppe med 13-25 karbonatomer (fortrinnsvis et
 30 oddetall fra 13-25) og 1-6 umettede bindinger er inkludert i hydrokarbongruppen.

I sulfopyranosylacylglyserolderivatet representert ved den generelle formel (1) representerer R_{102} et hydrogenatom eller en acylrest av en umettet, høyere fettsyre. Spesielt representerer fortrinnsvis R_{102} et hydrogenatom med hensyn til en antikreftaktivitet. Når R_{102} er en acylrest av den umettede, høyere fettsyren, kan den samme fettsyren med en
 35 acylrest som definert i R_{101} velges. R_{101} og R_{102} kan være den samme eller en ulik acylrest.

Nedenfor vil en fremgangsmåte for fremstilling av sulfopyranosylacylglyserolderivatet ifølge den foreliggende oppfinnelse forklares.

Sulfopyranosylacylglyserolderivatet ifølge den foreliggende oppfinnelse kan fremstilles via (trinn A) til (trinn J) i henhold til reaksjonsfremgangsmåten vist i skjema 1 nedenfor:

Skjema 1



5 (Trinn A) Hydroksylgruppen bundet til C1-karbonet i pyranosen omdannes til en 2-propenylgruppe. (Trinn B) Hydroksylgruppen på C6-karbonet av pyranosen beskyttes.

(Trinn C) Hydroksylgruppen bundet til C2-, C3- og C4-karbonene i pyranosen beskyttes.

(Trinn D) Beskyttelsesgruppen i C6-karbonet, som tidligere ble beskyttet, blir fjernet.

(Trinn E) Hydroksylgruppen, bundet til C6-karbonet, substitueres med en gruppe (for eksempel en alkylsulfonyloksygruppe eller arylsulfonyloksygruppe) som kan omdannes til

5 en karbonyltiogruppe. (Trinn F) C6-karbonet omdannes til en karbonyltiogruppe. (Trinn G) 2-propenylgruppen, bundet til C1-karbonet, omdannes til et diol. (Trinn H) Begge hydroksylgruppene, eller kun hydroksylgruppen i 1-posisjon i diolet oppnådd på denne måten, foresteres med en ønsket, umettet høyere fettsyre. (Trinn I) Karbonyltiogruppen ved 6-karbonet omdannes til et sulfonatsalt. (Trinn J) Beskyttelsesgruppene på C2-, C3- og C4-
10 karboner av sulfonatsaltet som ble oppnådd, fjernes. Som et resultat fremstilles et salt av et sulfopyranosylacylglyserolderivat ifølge den foreliggende oppfinnelse. Saltet som oppnås på denne måten, utsettes for titrering med en syre, slik som saltsyre, for å gi sulfopyranosyl-acylglyserolderivatet ifølge den foreliggende oppfinnelse.

De tidligere nevnte trinnene A-J vil bli forklart videre i detalj.

15 I trinn A, utføres 2-propenyleringen ved å omsette pyranosen med allylalkohol i nærvær av en sterk syre, slik som trifluormetansulfonsyre, vanligvis ved romtemperatur til 100 °C, fortrinnsvis fra 80-90 °C, i en halv dag til to dager. Imidlertid varierer reaksjonstiden avhengig av reaksjonsbetingelsene.

I trinn B beskyttes hydroksylgruppen bundet til C6-karbonet for å oppnå
20 forbindelsen hvortil -OR⁶ er bundet ved C6-karbonet (hvor R⁶ representerer en alkyl- eller substituert silylgruppe).

En forbindelse som tilveiebringer en alkylgruppe eller substituert silylgruppe som R⁶-gruppen kan anvendes som forbindelsen i stand til å beskytte hydroksylgruppen.

Eksempler på alkylgruppen representert ved R⁶ inkluderer fortrinnsvis store og
25 substituerte alkylgrupper. Substituentene på de store og substituerte alkylgruppene inkluderer metyl- og fenylgrupper. Spesifikke eksempler på substituert alkylgruppe inkluderer t-butyl- og tritylgrupper.

Når gruppen representert ved R⁶ er en substituert silylgruppe, inkluderer eksempler på substituentene på den substituerte silylgruppen lavere alkylgrupper, fortrinnsvis alkyl-
30 grupper med 1-4 karbonatomer (for eksempel metyl-, etyl-, isopropyl- og t-butylgrupper); og arylgrupper, fortrinnsvis arylgrupper med 6 karbonatomer (for eksempel en fenylgruppe). Den substituerte silylgruppen representert ved R⁶ inkluderer fortrinnsvis trisubstituerte silylgrupper, mer foretrukket en t-butyl difenylsilylgruppe.

Når forbindelsen 3 skal oppnås, hvor R⁶ representerer en alkylgruppe, kan
35 beskyttelsen av hydroksylgruppen i trinn B utføres ved tilsetning av en forbindelse representert ved R⁶-X (hvor R⁶ representerer alkylgruppen definert ovenfor, og X representerer et halogenatom, slik som kloratom) til en løsning av forbindelse 2 oppløst i et organisk løsemiddel, slik som vannfritt pyridin, og omsette oppløsningsblandingen ved

romtemperatur i nærvær av en katalysator, slik som p-dimetylamino­pyridin (DMAP). Som forbindelsen R^6 -X anvendes fortrinnsvis trityl­klorid i lys av produserbarhet og reaktivitet.

Når forbindelse 3 oppnås, der R^6 representerer en substituert silyl­gruppe, anvendes for eksempel t-butyldifenylsilyl­klorid, som forbindelsen R^6 -X. Reaksjonen utføres vanligvis i nærvær av en katalysator, slik som imidazol, ved romtemperatur i en halv dag til to dager. Legg merke til at reaksjonstiden varierer avhengig av reaksjonsbetingelsene.

I trinn C beskyttes og omdannes hydroksylgruppen bundet til C2-, C3- og C4-karbonene til henholdsvis $-OR^1$, $-OR^2$ og $-OR^3$, hvor R^1 til R^3 uavhengig av hverandre representerer en alkyl- eller substituert silyl­gruppe. Beskyttelsen av disse hydroksyl­gruppene kan utføres ved aktivering av hydroksyl­gruppene bundet til C2-, C3- og C4-karbonene i forbindelse 3 med natriumhydrid, oppløst i et organisk løsemiddel, slik som N,N-dimetylformamid (DMF), og omsettes med forbindelsen som er i stand til å beskytte disse hydroksyl­gruppene ved romtemperatur.

Som forbindelsen som er i stand til å beskytte hydroksyl­gruppene kan benzylbromid, p-metoksybenzylbromid, t-butyldimetylsilyl­klorid eller tietylsilyl­klorid anvendes.

Reaksjonen som anvender forbindelsen som er i stand til å beskytte hydroksyl­gruppene, kan utføres under egnede reaksjonsbetingelser for hver av beskyttelses­gruppene.

Fjerning av beskyttelses­gruppen bundet til C6-karbonet i trinn D kan utføres ved omsetting av en løsning av forbindelse 4 oppløst i et organisk løsemiddel, slik som metanol, i nærvær av en katalysator, slik som p-toluensulfonsyre, vanligvis i 12 timer til en dag ved romtemperatur. Reaksjonstiden varierer avhengig av reaksjonsbetingelsene.

I trinn E bindes R^4 , som er en alkylsulfonfyl- eller arylsulfonfyl­gruppe, til hydroksyl­gruppen ved C6-karbonet til forbindelse 5, slik at hydroksyl­gruppen omdannes til $-OR^4$, hvilket gir forbindelsen 6.

Reaksjonen som gir $-OR^4$ -gruppen utføres ved tilsetting av en forbindelse, som har alkylsulfonfyl­gruppen eller en forbindelse som har arylsulfonfyl­gruppen, til en løsning med forbindelse 5 oppløst i et organisk løsemiddel, og omsetter disse. Alkyl­gruppen av forbindelsen med alkylsulfonfyl­gruppen inkluderer fortrinnsvis usubstituerte alkyl­grupper, mer foretrukket, lavere alkyl­grupper, mye mer foretrukket, alkyl­grupper med 1-2 karbonatomer (metyl- og etyl­grupper). Forbindelsen med en alkylsulfonfyl­gruppe kan representeres ved $R^{4'}$ -X (hvor $R^{4'}$ representerer en alkylsulfonfyl­gruppe, og X representerer et halogenatom). Spesifikke eksempler inkluderer metansulfonfyl­klorid og etansulfonfyl­klorid.

På den annen side kan aryl­gruppen til forbindelsen med alkylsulfonfyl­gruppen inkludere usubstituerte og substituerte aryl­grupper, fortrinnsvis aryl­grupper med 6 karbonatomer (for eksempel en fenyl­gruppe). I tilfelle av den substituerte aryl­gruppen inkluderer derfor eksempler på substituenten p-metyl- og p-metoksy­grupper. Eksempler på forbindelser med en arylsulfonfyl­gruppe inkluderer forbindelser representert ved $R^{4''}$ -X (hvor $R^{4''}$ representerer en arylsulfonfyl­gruppe, og X representerer et halogenatom).

Spesifikke eksempler inkluderer p-toluensulfonylchlorid, p-metoksybensensulfonylchlorid og bensensulfonylchlorid.

Blant forbindelsene med en alkylsulfonyl- eller arylsulfonylgruppe anvendes fortrinnsvis en forbindelse med en tosylgruppe med hensyn til reaksjonsfasiliteter.

I trinn E-reaksjonen kan pyridin eller diklormetan anvendes som et organisk løsemiddel.

Reaksjonen angitt ovenfor kan utføres, som i tilfelle kan være i nærvær av en katalysator, slik som DMAP, ved romtemperatur i to timer til en dag. Reaksjonstiden varierer avhengig av reaksjonsbetingelsene.

I trinn F erstattes sulfonylgruppen ($-OR^4$) i forbindelse 6 med en karbonyltiogruppe representert ved $-SC(=O)R^5$, hvor R^5 representerer et hydrogenatom, en alkyl- eller arylgruppe.

I reaksjonen tillates omsetting av en forbindelse, i stand til substituering av alkylsulfonyloksy- eller arylsulfonyloksygruppen i forbindelse 6 med karbonyltiogruppen, i et organisk løsemiddel, hvilket gir en forbindelse 7. I det følgende vil denne forbindelsen refereres til som "O-substituert $\rightarrow$ S-substituert forbindelse".

Eksempler på den O-substituerte $\rightarrow$ S-substituerte forbindelsen inkluderer alkali-metallsalter og jordalkalimetallsalter av en tiokarboksytsyre. Eksempler på tiokarboksytsyren inkluderer tiomaursyre, lavere tiokarboksylsyrer, fortrinnsvis alifatiske tiokarboksyler, hver med 1-5 karbonatomer i deres alifatiske hydrokarbonenhet (for eksempel tioeddiksyre eller tiopropionsyre), og aromatiske tiokarboksyler med 6-10 karbonatomer i deres aromatiske hydrokarbonenhet (for eksempel tiobenzosyre).

Alkalimetallet som danner et salt med tiokarboksytsyren inkluderer kalium og natrium. Jordalkalimetallet inkluderer magnesium og kalsium.

Blant de ovenfor nevnte O-substituerte $\rightarrow$ S-substituerte forbindelsene kan salter av tioeddiksyre fortrinnsvis anvendes siden en reaksjon kan utføres stabilt, og svovelatomet lett kan oksidere i et senere trinn.

Eksempler på et organisk løsemiddel anvendt i reaksjonen inkluderer alkoholer, fortrinnsvis lavere alkoholer (for eksempel metanol, etanol og propanol), N,N-dimetylformamid og dimetylsulfoksid.

Den tidligere nevnte reaksjonen kan utføres vanligvis ved romtemperatur til kokepunktet av et løsemiddel som skal anvendes, under røring i en time til en dag. Det er å bemerke at reaksjonstiden varierer avhengig av reaksjonsbetingelsene.

Dihydroksyleringen i trinn G kan utføres ved tilsetning av et oksiderende middel, slik som osmiumtetraoksid, til en løsning med forbindelse 7 oppløst i en løsemiddelblanding, slik som en blanding av t-butanol og vann, og deretter omsette den resulterende blandingen i nærvær av gjenoksidningsmiddel, slik som trimetylamin N-oksid, ved romtemperatur i én time til én dag. Det er å bemerke at reaksjonstiden varierer avhengig av reaksjonsbetingelsene.

Ved forestring i trinn H, kan et sulfopyranosylacylglyserolderivat med en ønsket umettet, høyere fettsyrebinding oppnås, gjennom en esterbinding til dens glyserolenhet.

Denne reaksjonen kan utføres ved tilsetning av en umettet, høyere fettsyre tilsvarende et endelig produkt, til en løsning av forbindelse 8 oppløst i et egnet organisk løsemiddel, slik som diklormetan, og deretter omsette den resulterende blandingen om nødvendig i nærvær av en egnet katalysator, slik som etyldimetylaminopropylkarbodiimid (EDCI)-DMAP.

I trinn H-reaksjonen kan det, som fettsyren som skal tilsettes, anvendes en umettet, høyere fettsyre hvis acylgruppe er den representert ved R_{101} i den generelle formel (1).

I trinn H-reaksjonen oppnås forbindelse 9 i form av en blanding av et diacylester og et monoacylester. Diacylesteren heri er representert ved formel (1) ifølge den foreliggende oppfinnelse, hvor hver av R_{101} og R_{102} er en acylrest av den umettede, høyere fettsyren som ble tilsatt. Monoacylesteren heri har, som R_{101} , kun acylresten av den umettede, høyere fettsyren som ble tilsatt. Om ønskelig kan to eller flere umettede, høyere fettsyrer tilsettes i trinn H-reaksjonen. I dette tilfellet inneholder den resulterende blandingen diacylestere representert ved den generelle formel (1), hvor R_{101} og R_{102} er de samme eller forskjellige, acylrester, og monoesteren har ulike acylrester som R_{101} .

Om nødvendig kan blandingen av monoestere og distere isoleres fra hverandre ved for eksempel kromatografi, og utsettes for det neste reaksjonstrinnet I.

Om ønskelig er det mulig å oppnå en diester hvor R_{102} og R_{101} er forskjellige acylrester ved å omsette en monoester oppnådd i trinn H med en fettsyre som har en forskjellig acylrest i forhold til acylresten (R_{101}) av monoesteren. Dette ytterligere forestringstrinnet kan utføres under de samme betingelser som de i trinn H, bortsett fra at en ulik fettsyre anvendes.

I trinn I kan omdanning til et sulfonatsalt utføres ved tilsetning av et oksideringsmiddel, slik som "OXONE" ($2\text{KHSO}_5 + \text{KHSO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4$) eller molybdenoksidasjonsmiddel (for eksempel hekzaammoniumheptamolybdat), inn i en løsning av forbindelse 9 oppløst i et organisk løsemiddel, som er bufret med eddiksyre og kaliumacetat, og deretter tillate den resulterende blandingen å omsettes ved romtemperatur.

Fjerning av beskyttelsesgruppene bundet til karboner i C2- til C4-karboner i trinn J, kan utføres ved en fremgangsmåte egnet for en beskyttelsesgruppe som anvendes, og er i stand til å opprettholde en dobbeltbinding i den umettede fettsyren. For eksempel kan fjerning av beskyttelsesgruppen utføres ved anvendelse av syrekatalysator (for eksempel trifluoreddiksyre) når beskyttelsesgruppen en silylgruppe.

Det er å bemerke at pyranosylenheten i et utgangsmateriale vanligvis inntar α - eller β -anomere konfigurasjoner i en løsning. Derfor resulterer produktet i hvert trinn i en blanding av α - og β -anomerer. Blandingen separeres til α - og β -anomerer ved kromatografi. Videre kan det, avhengig av sukkertype, være nyttig å utføre en benzilydenering etter trinn A, for derigjennom å separere en anomer ved krystallisering.

Vi vil nå forklare medikamentet ifølge den foreliggende oppfinnelse, inneholdende i det minste en forbindelse valgt fra gruppen bestående av sulfopyranosylacylglyserol-derivater ifølge den foreliggende oppfinnelse, og farmasøytisk akseptable salter derav, som en aktiv ingrediens.

Sulfopyranosylacylglyserolderivatet, som tjener som en aktiv ingrediens i medikamentet ifølge den foreliggende oppfinnelse, kan være en isomer med kinovose, ramnose eller fukose som pyranosen inneholdende pyranosylenheten. Derivatet kan være en isomer hvori pyranolsylenheten er bundet til glyseridylenheten med en α - eller β -konfigurasjon. Derivatet kan være en isomer med hensyn til det asymmetriske karbonet ved C2-karbonet til glyseridylenheten. Medikamentet ifølge den foreliggende oppfinnelse kan inkludere en av disse isomerene alene, eller i kombinasjon med to eller flere isomerer, så lenge som de ikke negativt påvirker aktiviteten.

I den foreliggende oppfinnelse inkluderer den medisinske anvendelse en DNA-polymeraseinhibitor og et antikreftmiddel.

Eksempler på farmasøytisk akseptable salter anvendt i medikamentet ifølge den foreliggende oppfinnelse inkluderer, men er ikke begrenset til, et salt av et monovalent kation, slik som et natrium- eller kaliumion. Heretter er derfor forbindelsene i gruppen bestående av sulfopyranosylacylglyserolderivater og farmasøytisk akseptable salter derav noen ganger henvist til som "medisinsk, aktiv forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse".

Den medisinske, aktive forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse kan administreres oralt eller parenteralt. Den medisinske, aktive forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse kan kombineres med for eksempel en farmasøytisk akseptabel eksipiens eller fortynningsmiddel, avhengig av administreringsruten derav, for å danne en medisinsk formulering.

Formene for middel egnet for oral administrering inkluderer, faste, halvfaste, flytende og gassformer. Spesifikke eksempler inkluderer, men er ikke begrenset til, tabletter, kapsler, pulver, granulat, løsning, suspensjon, sirup eller eliksirmidler.

For å formulere den medisinske aktive forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse til tabletter, kapsler, pulvere, granulater, løsninger eller suspensjoner, blandes forbindelsen med et bindemiddel, et nedbrytningsmiddel og/eller et smøremiddel, og om nødvendig blandes resultatet med et fortynningsmiddel, en buffer, et fuktemiddel, et konserveringsmiddel og/eller et smakstilsetningsstoff, ved en kjent fremgangsmåte. Eksempler på bindemidler inkluderer krystallinsk cellulose, cellulosederivater, maisstivelse og gelatin. Eksempler på nedbrytningsmidler inkluderer maisstivelse, potetstivelse og natriumkarboksymetylcellulose. Eksempler på smøremidler inkluderer talkum og magnesiumstearat. Videre kan også additiver, slik som laktose og mannitol, anvendes så lenge som de anvendes konvensjonelt.

Videre kan den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse administreres i form av en aerosol eller inhalator, som fremstilles ved å lade den aktive forbindelsen i væske- eller finpulverform, sammen med en gass eller flytende sprøytemiddel, og om nødvendig, et kjent hjelpemiddel, slik som et fuktemiddel, inn i en ikke-trykkisolert beholder, slik som en aerosolbeholder eller et forstøvningsapparat. Som sprøytemiddel kan en trykkisolert gass anvendes, for eksempel diklorfluormetan, propan eller nitrogen.

For parenteral administrering kan den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse injiseres for eksempel ved rektal administrering eller injeksjon.

For rektal administrering kan en stikkpille anvendes. Stikkpillen kan fremstilles ved blanding av den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse med en eksipiens som kan smeltes ved kroppstemperatur, men som er fast ved romtemperatur, slik som kakaosmør, karbonvoks eller polyetylenglykol, og forme det resulterende materialet ved kjente metoder.

For administrering ved injeksjon kan den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse injiseres hypodermalt, intrakutant, intravenøst eller intramuskulært. Et injeksjonspreparat kan dannes ved oppløsning, suspendering eller emulgering av den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse i et vandig- eller ikke-vandig løsemiddel, slik som en vegetabilsk olje, et syntetisk glyserid med en fettsyre, en ester av en høyere fettsyre eller propylenglykol, ved en kjent metode. Om ønskelig kan et konvensjonelt additiv, slik som et oppløsningsmiddel, et emulgeringsmiddel, en stabilisator eller et konserveringsmiddel, tilsettes til preparatet.

For formulering av den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse i løsninger, suspensjoner, siruper eller eliksirer, kan et farmasøytisk akseptabelt løsemiddel, slik som sterilisert vann for injeksjon eller normalisert fysiologisk saltløsning anvendes.

Dosen av den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse kan passende bestemmes eller tilpasses i henhold til administreringsform, administreringsrate, graden eller tilstanden av en målsykdom og lignende. I tilfelle av oral administrering kan for eksempel en dose av den medisinske aktive forbindelse settes til 1 - 10 mg/kg kroppsvekt/dag. I tilfelle av administrering ved injeksjon kan en dosering av den medisinske aktive forbindelse settes til 1 - 5 mg/kg kroppsvekt/dag. I tilfelle av rektal administrering kan en dosering av den medisinske aktive forbindelse settes til 1 - 5 mg/kg kroppsvekt/dag. Imidlertid er doseringen ikke begrenset til disse.

Når den medisinske aktive forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelse anvendes som et antikreftmiddel, inkluderer eksempler på krefttyper som skal behandles de som har trekk av ondartede tumorer, slik som faste tumorer, inkludert adenokarsinom, epitelium, sarkom, gliom, melanom og lymfom, og "flytende kreft", slik som leukemi.

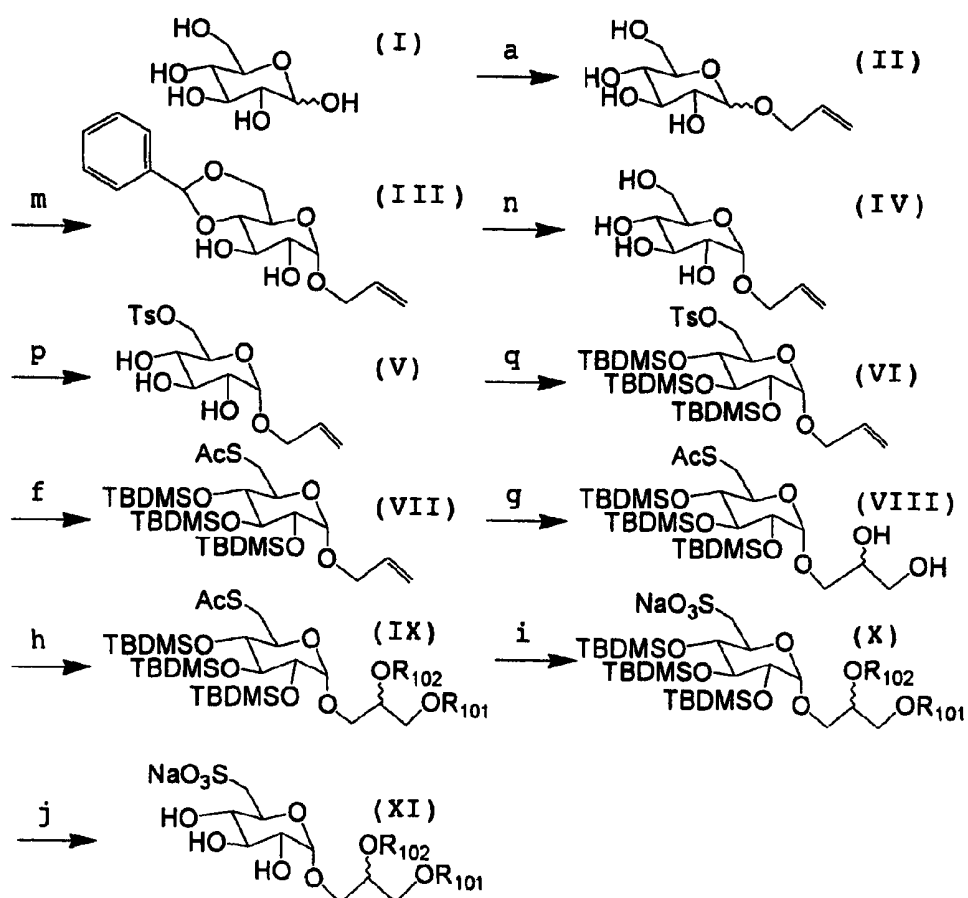
Eksempler

Den foreliggende oppfinnelse vil nå beskrives ved dens eksempler.

Synteseeksempel

Fremstillingstrinnene for et sulfopyranosylacylglyserolderivat vises i skjema 2 for et sulfokinovosylacylglyserol- α -derivat.

Skjema 2



Ts = tosyl, TBDMS = t-butyldimetylsilyl, AcS = acetyltio,

R_{101} = en acylrest av en umettet, høyere fettsyre, og

R_{102} = et hydrogenatom eller en acylrest av en umettet, høyere fettsyre

Reaksjonsbetingelser:

a; allylalkohol, trifluormetansulfonsyre ved 80 °C

m; benzaldehyd, sinkklorid, ved romtemperatur

n; eddiksyre, vann v/100 °C

p; toluensulfonylklorid, dimetylaminopyridin, pyridin, ved romtemperatur

q; t-butyldimetylsilyltrifluormetansulfonat, 2,6-lutidin, diklormetan, ved romtemperatur

f; kaliumtiaoacetat, etanol, under reflux

g; osmiumtetraoksid, trimetylammin-N-oksiddihydrat, t-butanol, vann

h; fettsyre, 1-etyl-3-(3-dimetylamminopropyl)-karbodiimidhydroklorid (EDCI), ved

5 romtemperatur

i; "OXONE", iseddiksyre, kaliumacetat, ved romtemperatur

j; eddiksyre, tetrahydrofuran, trifluoreddiksyre, vann, ved romtemperatur

Skjema 2 er det samme som i Skjema 1, bortsett fra trinnene B til E i Skjema 1.

Nærmere bestemt anvendes trinn m i Skjema 2 i stedet for trinn B i Skjema 1. I trinn m

10 omsettes forbindelsen (II) med benzaldehyd for å fremstille et benzylidenderivat. I kraft av denne reaksjonen krystalliseres og separeres α -anomer.

I Skjema 2-reaksjonen omsettes p-toluensulfonylchlorid med forbindelse (IV), for derved å binde en tosylgruppe ved C6-karbonet derav i trinn p og deretter beskyttes C2-, C3- og C4-karbonene med t-butyldimetylsilylgrupper (trinn Q). I dette tilfellet kan trinn B
15 ved beskyttelse av C6-karbon med en alkyl- eller substituert silylgruppe, og trinn D ved fjerning av beskyttelsen ved C6-karbonet ved fremgangsmåten i Skjema 1 byttes om, på grunn av tosylgruppens stabile natur.

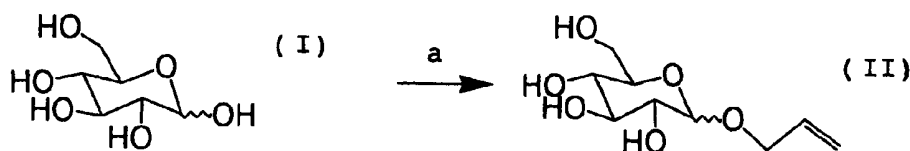
Videre oppnås en blanding av en monoester og diester i trinn H. Monoesteren og diesteren separeres fra hverandre ved kromatografi og utsettes henholdsvis for trinn I.

20

Eksempel 1

Rute a: 1-O-(2-propenyl)-D-glukose (II)

100 g D-glukose (I) ble tilsatt til 250 ml allylalkohol og tilstrekkelig oppløst deri. Til
25 løsningen ble 0,8 ml trifluormetansulfonsyre gradvis tilsatt under isavkjølte betingelser. Deretter ble løsningen omsatt i et oljebad ved 80 °C i 30 timer under røring. På det stadiet der reaksjonen forløp tilstrekkelig, ble reaksjonsblandingen nøytralisert med 1 ml trimetylamin og konsentrert *in vacuo*. Tynnskiktkromatografi viste et utbytte på ca 60 - 70 %.



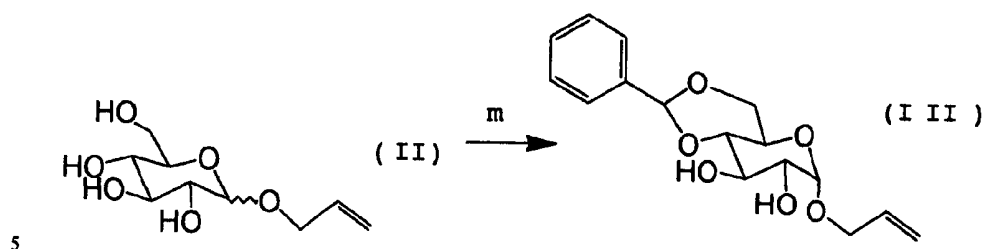
30

Rute m: 1-(2-propenyl)-4,6-O-benzyliden- α -D-glukose (III)

37,5 g av forbindelse (II) ble tilsatt til 210 ml benzaldehyd og oppløst godt. Til
løsningen ble 98 g sinkklorid tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omsatt ved romtemperatur i 4
35 timer. Deretter ble reaksjonsblandingen tilsatt til 500 ml heksan, og deretter ble 100 ml fortynnet natriumhydrogenkarbonat tilsatt. Reaksjonsblandingen ble tillatt å stå ved 0 °C i

30 minutter for krystallisering. Krystallet ble filtrert med suging, og oppløst i 50 ml etanol. Løsningen ble tillatt å stå ved 0 °C i 30 minutter for rekrystallisering (utbytte: 21 g (68, 1 mmol), gjenvinning: 40,0 %).

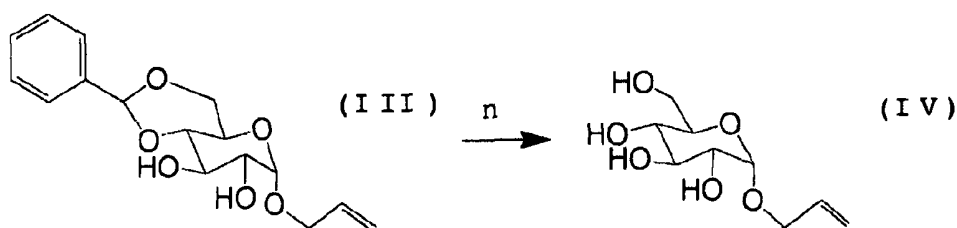
^1H NMR(300MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$); 7.51–7.49(2H, m, Ar),
7.38–7.33(3H, m, Ar), 5.98–5.85(1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$),
5.51(1H, s, Ar-CH), 5.31(1H, dd, $J=1.5\&15.9$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$),
5.23(1H, dd, $J=1.2\&10.4$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.90(1H, d, $J=3.9$,
H-1), 4.28–4.19(2H, m, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.06–4.00(1H, m,
H-5), 3.93(1H, t, $J=9.3$, H-3), 3.87–3.78(1H, m, H-6a),
3.70(1H, t, $J=10.2$, H-2), 3.60(1H, dd, $J=3.8\&9.2$, H-6b),
3.47(1H, t, $J=9.3$, H-4)



Rute n: 1-O-(2-propenyl)-α-D-glukose (IV)

I 260 ml av en løsning av eddiksyre og vann (8 : 5) ble 10,7 g (34,7 mmol) av forbindelse (III) løst. Løsningen ble omsatt ved 100 °C i 1 time, konsentrert *in vacuo*, og
10 renses ved silisiumdioksidgel-”flash”-kromatografi (diklormetan : metanol = 6 : 1) (utbytte: 6,3 g (28,6 mmol), gjenvinning: 82,4 %).

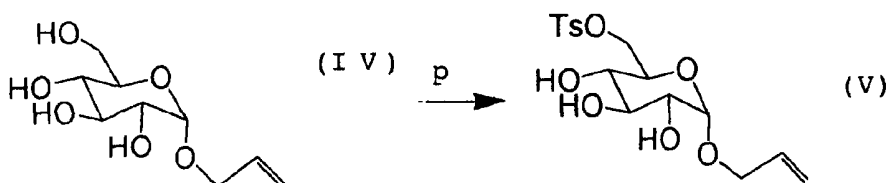
^1H NMR(300MHz, $\text{CD}_3\text{OD} + \text{TMS}$); 5.92–5.79(1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$),
5.26–5.18(1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.07–5.03(1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$),
4.23–3.23(7H, m)



Rute p: 1-O-(2-propenyl)-6-O-(4-tolylsulfonyl)- α -D-glukose (V)

6,3 g (28,6 mmol) av forbindelsen (IV) ble oppløst i 200 ml vannfri pyridin, og 195 mg p-dimetylamino pyridin (DMAP) og 7,0 g av p-toluensulfonylchlorid ble tilsatt. Løsningen ble omsatt i 16 timer ved romtemperatur under røring. Deretter ble reaksjonen
5 bråkjølt ved tilsetning av 20 ml kaldt, destillert vann, og reaksjonsblandingen ble ekstrahert med etylacetat (3 x 200 ml). De organiske lagene ble kombinert, nøytralisert til pH 4 med 1,0 M og 0,1 M saltsyre, vasket med saltoppløsning (2 x 200 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert med vakuum og renset ved silisiumdioksidgel-"flash"-kromatografi (dikormetan : metanol = 20 : 1) (utbytte: 8,6 mg (23,0 mmol), gjenvinning:
10 83,8 %).

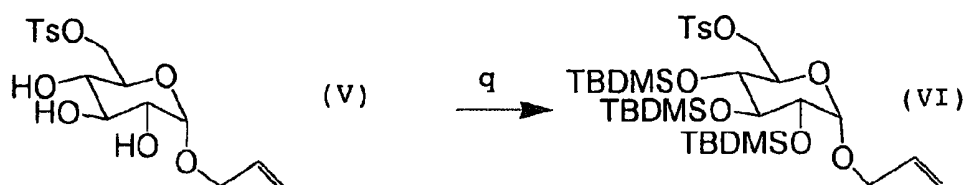
^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$) ; 7.77 (2H, d, $J=8.3$, Ar at TsCH₃), 7.30 (2H, d, $J=8.1$ Ar at TsSO₂), 5.90–5.77 (1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.24 (1H, dd, $J=1.4 \& 17.2$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.11 (1H, dd, $J=1.2 \& 12.4$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.79 (1H, d, $J=3.3$, H-1), 4.38–3.38 (8H, m), 2.40 (3H, s, TsCH₃)



Rute q: 2, 3, 4-tri-O-(t-butyldimetylsilyl)-1-O-(2-propenyl)-6-O-(4-tolylsulfonyl)- α -D-glukose (VI)

11,2 g (29,9 mmol) av forbindelsen (V) ble løst i 25 ml vannfritt diklormetan, og 23,8 g t-butyldimetylsilyltrifluormetansulfonat og 14,4 g 2,6-lutidin ble tilsatt. Løsningen ble omsatt under nitrogenstrøm i 16 timer under røring. Deretter ble reaksjonen bråkjølt ved tilsetning av 150 ml diklormetan, og reaksjonsblandingen ble vasket med saltløsning (2 x
20 100 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert *in vacuo*, renset ved silisiumdioksidgel-"flash"-kromatografi (heksan : etylacetat = 30 : 1) (utbytte: 19,6 g (27,4 mmol), gjenvinning: 91,6 %).

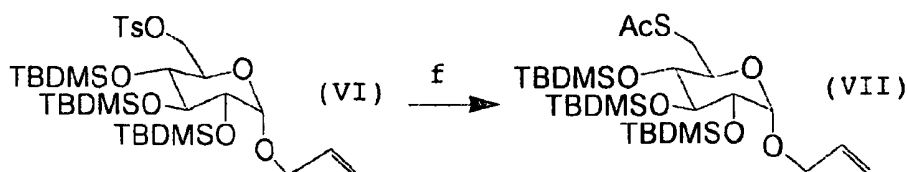
^1H NMR(300MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$); 7.83(2H, d, $J=8.3$, Ar at TsCH_3), 7.29(2H, d, $J=8.0$, Ar at TsSO_2), 5.92-5.79(1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.21(1H, dd, $J=1.5\&17.2$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.11(1H, d, $J=10.4$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.67(1H, d, $J=2.8$, H-1), 4.30-3.44(8H, m), 2.41(3H, s, TsCH_3), 0.91-0.78(27H, m, CH_3 at t-Bu), 0.13 - -0.02(18H, m, Si- CH_3)



Rute f: 2, 3, 4-tri-O-(t-butyldimetylsilyl)-1-O-(2-propenyl)-6-deoksy-6-acetyltio- α -D-glukose (VII)

7,9 g (11,0 mmol) av forbindelsen (VI) ble løst i 20 ml vannfri etanol, og deretter ble 1,8 g kaliumtiaoacetat tilsatt. Løsningen ble omsatt under reflux i 3 timer med røring. Deretter ble reaksjonen bråkjølt ved tilsetning av 100 ml kaldt, destillert vann, og reaksjonsblandingen ble ekstrahert med etylacetat (3 x 200 ml). De organiske lagene ble kombinert, vasket med saltløsning (2 x 200 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert *in vacuo*, og renset ved silisiumdioksidgel-"flash"-kromatografi (heksan : etylacetat = 50 : 1) (utbytte: 5,6 g (9,02 mmol), gjenvinning: 82,0 %).

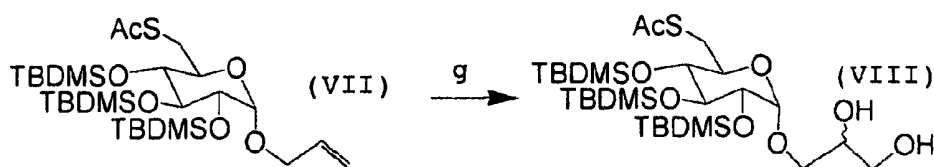
^1H NMR(300MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$); 5.97-5.81(1H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.26(1H, dd, $J=1.6\&17.2$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.13(1H, dd, $J=1.6\&10.4$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.73(1H, d, $J=3.2$, H-1), 4.32-3.42(7H, m), 2.83(1H, dd, $J=9.8\&13.3$, H-6b), 2.30(3H, s, SCOCH_3), 0.91-0.82(27H, m, CH_3 at t-Bu), 0.12 - -0.03(18H, m, Si- CH_3)



Rute g: 3-O-[2, 3, 4-tri-O-(t-butyldimetylsilyl)-6-deoksy-6-acetyltio- α -D-glukopyranosyl]glyserol (VIII)

5 5,6 g (9,02 mmol) av forbindelsen (VII) ble løst i en blanding av t-butanol : H₂O (= 4 : 1), og deretter ble 1,5 g trimetylamin-N-oksiddihydrat og 15 ml 0,04 M løsning av osmiumtetraoksid i t-butanol tilsatt. Løsningen ble omsatt ved romtemperatur i 22 timer under røring. Deretter ble 15 g aktivert trekull tilsatt, og reaksjonsblandingen ble oppbevart under røring i 1,5 timer for å adsorbere osmiumtetraoksidet. Etter filtrering med sug ble reaksjonen bråkjølt ved tilsetning av 200 ml kaldt, destillert vann, og ekstrahert med etylacetat (3 x 200 ml). De organiske lagene ble kombinert, vasket med saltløsning
10 (2 x 300 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert *in vacuo*, og renset ved silisiumdioksidgel-"flash"-kromatografi (heksan : etylacetat = 3 : 1 $\rightarrow$ 2 : 1) (utbytte: 5,2 g (7,94 mmol), gjenvinning: 88,0 %).

¹H NMR(300MHz, CDCl₃+TMS); 4.73(1H, m, H-1(R and S)),
4.12-3.40(10H, m), 2.86(1H, dd, J=9.2&13.6, H-6b),
2.32(3H, s, SC(=O)CH₃), 0.88-0.79(27H, m, CH₃ at t-Bu),
0.08 - -0.03(18H, m, Si-CH₃)

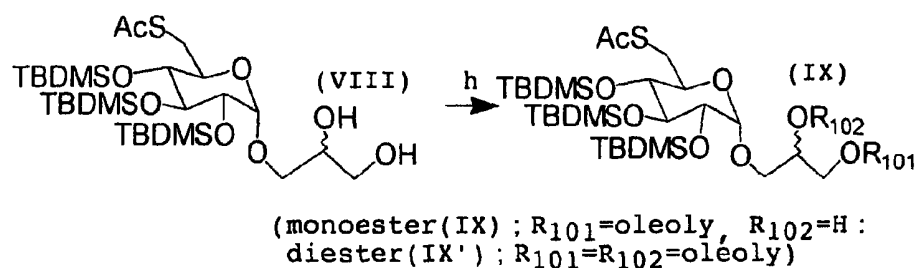


15

Rute h: 3-O-[2, 3, 4-tri-O-(t-butyldimetylsilyl)-6-deoksy-6-acetyltio- α -D-glukopyranosyl]-1-O-oleoyl-glyserol (IX) og 3-O-[2, 3, 4-tri-O-(t-butyldimetylsilyl)-6-deoksy-6-acetyltio- α -D-glukopyranosyl]-1,2-di-O-oleoyl-glyserol (IX')

1,37 g (20,09 mmol) av forbindelsen (VIII) ble løst i 20 ml vannfritt diklormetan, og
20 deretter ble 600 mg EDCI, 26 mg DMAP og 660 mg oljesyre tilsatt. Løsningen ble omsatt ved romtemperatur i 16 timer under røring. Deretter ble reaksjonen bråkjølt ved tilsetning av 200 ml diklormetan, og vasket med saltløsning (2 x 100 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert *in vacuo*, og renset med silisiumdioksidgel-"flash"-kromatografi (heksan : etylacetat = 20 : 1 $\rightarrow$ 10 : 1 $\rightarrow$ 7 : 1) (utbytte av diesteren: 772 mg
25 (652 μ mol) og utbytte av monoesteren: 895 mg (974 μ mol); gjenvinning (begge esterne totalt): 78,0 %).

^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$); 5.32–5.28 (2H, m, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 4.68 (1H, m, H-1(R and S)), 3.98–3.36 (10H, m), 2.81 (1H, dd, $J=9.5 \& 13.4$, H-6b), 2.32–2.27 (5H, m, OCOCH_2 & SCOCH_3), 1.98–1.93 (4H, m, $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$), 1.61–1.56 (2H, m, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$), 1.28–1.23 (20H, br, $-\text{CH}_2-$), 0.88–0.79 (30H, m, CH_3 at t-Bu & CH_3 at Acyl), 0.09 – -0.04 (18H, m, Si- CH_3) (NMR of the monoester)

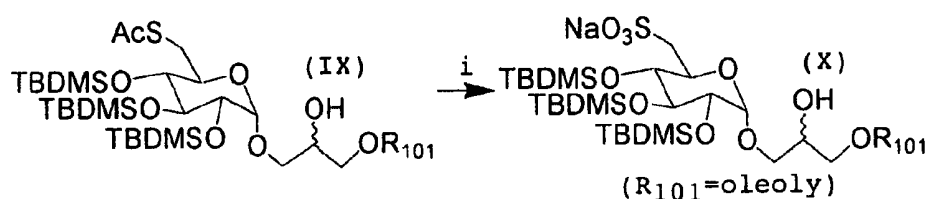


- 5 Rute i: 3-O-[2, 3, 4-tri-O-(t-butyl dimethylsilyl)-6-deoksy-6-sulfo- α -D-glukopyranosyl]-1-O-oleoyl-glycerolnatriumsalt (X)

21,4 mg (23,2 μmol) av forbindelsen (IX: monoester) ble løst i 3,5 ml iseddik, og deretter ble 500 mg kaliumacetat og 35,4 mg "OXONE" tilsatt. Blandingen ble omsatt ved romtemperatur i 6 timer under røring. Deretter ble reaksjonen bråkjølt ved tilsetning av

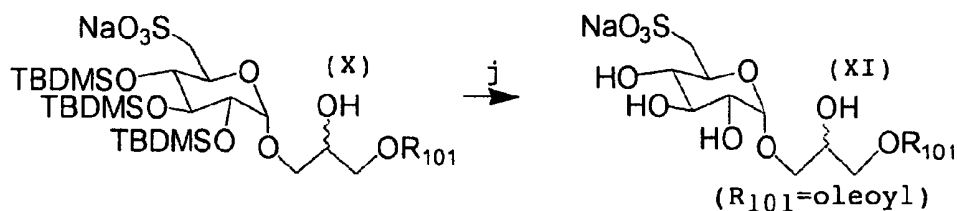
- 10 15 ml kaldt, destillert vann, ekstrahert med etylacetat (5 x 20 ml). De organiske lagene ble kombinert, nøytralisert med mettet natriumhydrogenkarbonatløsning (50 x 70 ml), vasket med saltløsning (2 x 60 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert *in vacuo*, og renset med silisiumdioksidgel-"flash"-kromatografi (diklormetan : metanol = 50 : 1 $\rightarrow$ 20 : 1). Deretter ble reaksjonsproduktene videre renset ved
- 15 høytrykksvæskerkromatografi (ODS kolonne, metanol : vann = 80 : 20) (utbytte: 3,3 mg (3,49 μmol), gjenvinning: 15,0 %).

^1H NMR(300MHz, CDCl_3+TMS); 5.16–5.14(2H, br, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 4.60(1H, br, H-1(R and S)), 4.31–2.88(11H, m), 2.17–2.13(2H, br, OCOCH_2), 1.82–1.80(4H, br, $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$), 1.42(2H, br, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$), 1.11(20H, br, $-\text{CH}_2-$), 0.72(30H, m, CH_3 at t-Bu & CH_3 at Acyl), -0.08(18H, br, Si- CH_3)



- 5 Rute j: 3-O-(6-deoksy-6-sulfo- α -D-glukopyranosyl)-1-O-oleoyl-glyserolnatriumsalt (XI)
358,4 mg (378 μmol) av forbindelsen (X) ble løst i 7 ml av en løsning av eddiksyre, tetrahydrofuran, trifluoreddiksyre og vann (3 : 1 : 0,4 : 1). Løsningen ble omsatt ved romtemperatur i 16 timer under røring, og reaksjonsblandingen ble ekstrahert med etylacetat (3 x 10 ml). De organiske lagene ble kombinert, vasket med saltløsning (2 x 20 ml), tørket
10 over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert *in vacuo*, og renset med silisiumdioksidgel-
"flash"-kromatografi (diklormetan : metanol = 10 : 1 $\rightarrow$ diklormetan : metanol : vann = 65 : 25 : 4) (utbytte: 138,1 mg (229 μmol), gjenvinning: 62,7 %).

^1H NMR(300MHz, $\text{CD}_3\text{OD}+\text{TMS}$); 5.24–5.17(2H, m, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 4.69(1H, m, H-1(R and S)), 4.18–2.75(11H, m), 2.29–2.21(2H, m, OCOCH_2), 1.94–1.90(4H, m, $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$), 1.49(2H, br, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$), 1.20(20H, br, $-\text{CH}_2-$), 0.78(3H, t, $J=6.3$, CH_3)



Eksempel 2

Trinnene h-j ble utført på den samme måten som i eksempel 1, bortsett fra at myristoleinsyre ble anvendt i stedet for oljesyre for å syntetisere 3-O-(6-deoksy-6-sulfo- α -D-glukopyranosyl)-1-O-myristoleoyl-glyserolnatriumsalt (utbytte: 118,7 mg (217 μ mol)
 5 gjenvinning: 59,8 %).

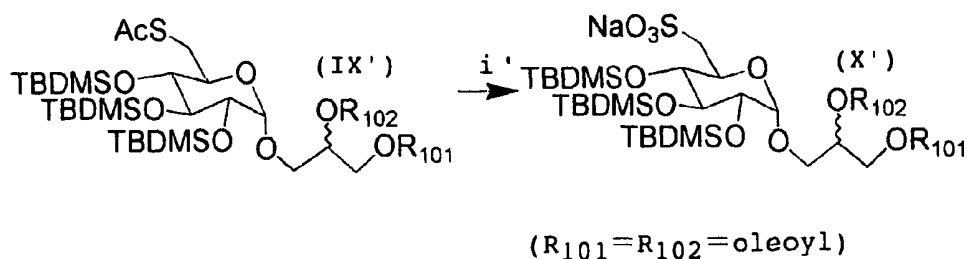
Eksempel 3

Den samme fremgangsmåten som i eksempel 2 ble repetert, bortsett fra at palmitoleinsyre ble anvendt i stedet for oljesyre for å syntetisere 3-O-(6-deoksy-6-sulfo- α -
 10 D-glukopyranosyl)-1-O-palmitoleoyl-glyserolnatriumsalt (utbytte: 142 mg (247 μ mol),
 gjenvinning: 67,7 %).

Eksempel 4

Det samme syntetiseringseksemplet som i eksempel 1, bortsett fra at forbindelsen
 15 (IX': diester) ble anvendt i stedet for forbindelsen (IX: monoester) ved fremstillingen av
 forbindelse (X) fra forbindelse (IX), og at et molybdenoksidationsmiddel ble anvendt i
 stedet for "OXONE", vil bli beskrevet.

13,1 mg (11,0 μ mol) av forbindelsen (IX': diester) ble løst i 0,5 ml diklormetan og
 0,5 ml metanol. 50 μ l 0,06 M løsning av heksammoniumheptamolybdat-tetrahydrat
 20 ((NH₄)₆Mo₇O₂₄ • 4H₂O) i 30 % hydrogenperoksid ble videre tilsatt dertil, og rørt ved
 romtemperatur i 50 timer. Deretter ble 10 ml etylacetat tilsatt til reaksjonsløsningen, og den
 resulterende løsningen ble vasket med mettet natriumhydrogenkarbonatløsning (2 x 5 ml)
 og saltløsning (2 x 5 ml), tørket over vannfritt natriumsulfat, filtrert, konsentrert *in vacuo*,
 og renset ved silisiumdioksidgel-"flash"-kromatografi (diklormetan : metanol = 50 : 1 $\rightarrow$ 10 :
 25 1). Som et resultat ble en fargeløs, oljeaktig forbindelse oppnådd. (Utbytte: 7,8 mg
 (6,4 μ mol), gjenvinning: 58,2 %).



30 Forbindelsen representert ved den generelle formelen (1) ifølge den foreliggende
 oppfinnelse ble utsatt for en fysiologisk analyse.

Analyse 1

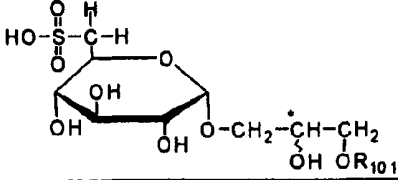
En analyse for inhibitorisk effekt mot en DNA-polymerase- α ble utført på den følgende måte.

0,05 U av en DNA-polymerase- α , rensset og isolert fra en bovin tymus ved en immunoaffinitetskolonne, ble blandet med hver av testforbindelsene, derivater av sulfopyranosylacylglyserol (heretter enkelt henvist til som "SQAG"), nemlig SQAG 1, SQAG 2 og SQAG 3 (angitt i tabell 1) løst i DMSO. Hver blanding ble tilsatt en buffer inneholdende uorganiske salter for den enzymatiske reaksjonen, [^3H]-merket dTTP og forbindelser for reaksjon inneholdende en templat-DNA-tråd, og inkubert ved 37 °C i 60 minutter.

Etter at den enzymatiske reaksjonen var stoppet, ble de resulterende reaksjonsprodukter fiksert på et dedisert filter og målt i en væskescintillasjonsteller. Mengden av enzymatisk inkorporert dTTP ble beregnet som en stråledose (cpm) av [^3H]. Det er å bemerke at hver av sulfopyranosylacylglyserolderivatene er en blanding S- og R-konfigurasjonene med hensyn til en absolutt konfigurasjon av karbonet i 2-posisjonen til glyserolenheten.

Resultatene er vist som IC_{50} i tabell 1 nedenfor.

Tabell 1: Inhibitorisk aktivitet på DNA-polymerase- α

		DNA - polymerase-inhibitorisk aktivitet
Forbindelse	R_{101}	$\text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL})$
SQAG1 (14:1)	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_1-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}-$	9.0
SQAG2 (16:1)	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_1-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}-$	5.5
SQAG3 (18:1)	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_1-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}-$	2.0

Det er klart fra tabell 1 at forbindelsene undersøkt i denne analysen utøver signifikant inhibitorisk aktivitet mot DNA-polymerase- α .

Tarmkreftceller og magekreftceller anvendt i de følgende to analysene anvendes kun med det formål å illustrere at det medisinske aktive middel ifølge den foreliggende oppfinnelse effektivt virker på kreftceller. I disse analysene er således kreftceller, som medikamentet ifølge den foreliggende oppfinnelse er effektivt for, ikke begrenset.

Analyse 2

En analyse på antikreftaktivitet mot dyrkede tarmkreftceller ble utført på følgende måte.

Tarmkreftcellene DLD-1 ble opprettholdt og dyrket i RPMI 1640-medium (inneholdende 10 % kalveserum). Hver av testforbindelsene (SQAG 2, SQAG 3, vist i tabell 1) ble suspendert og fortynnet i mediet, og deretter ble kreftcellene dyrket sammen med mediet i en 96-brønns plate med 3×10^3 celler/brønn. Etter 48 timers dyrking ble MTT-analysen (Mosmann, T: Journal of Immunological Method, 65, 55-63 (1983)) utført for å sammenligne overlevelseshastigheter.

Resultatene er vist i fig. 1.

I fig. 1 indikerer åpne firkanter, bundet via en fast linje, SQAG 2, og åpne sirkler bundet via en fast linje, SQAG 3.

Det er klart fra fig. 1 at alle sulfopyranosylacylglyserolderivatene har signifikant antikreftaktiviteter mot tarmkreftcellene som er anvendt.

Analyse 3

En analyse på antikreftaktivitet mot dyrkede magekreftceller ble utført på samme måte som i analyse 2, bortsett fra at magekreftcellene NUGC-3 ble anvendt i stedet for tarmkreftcellene DLD-1.

Resultatene er også vist i fig. 1.

I fig. 1 indikerer fargelagte firkanter, bundet via en fast linje SQAG 2, og fargelagte sirkler bundet via en fast linje, SQAG 3. Det er klart fra fig. 1 at sulfopyranosylacylglyserolderivater har antikreftaktivitet mot magekreftcellene som ble anvendt.

Analyse 4

Tester for humane kreftceller implantert i mus ble utført på følgende måte.

5×10^5 humane lungekreftceller A-549, dyrket i et MEM-medium inneholdende 5 % kalveserum, ble implantert i nakne mus BALB/cAcl-nukleotid. Størrelsen på tumordannelsessetet ble målt periodisk. Når størrelsen på tumoren nådde 30 - 50 mm³ (42 dager etter implantering), ble musen utsatt for en administreringstest.

Fem mus ble tilfeldig fordelt på to testgrupper og en kontrollgruppe. En testforbindelse (SQAG 1, SQAG 2 og SQAG 3, angitt i tabell 1) løst i PBS i en konsentrasjon på 100 µg/100 µl ble administrert til testgruppene, og PBS ble administrert til kontrollgruppen ved en dose på 100 µl hver 3. dag. Denne administreringsoperasjonen ble repetert 8 ganger. Størrelsen på tumordannelsessetet ble målt ved administrasjonstidspunktet. Volumet av tumoren ble beregnet i henhold til den følgende formel.

Tumorumfangt = tumorete lengde x (tumorete bredde)² x 0,5.

Resultatene oppnådd for testforbindelsene er vist henholdsvis i fig. 2 (SQAG 1), fig. 3 (SQAG 2) og fig. 4 (SQAG 3).

I hver figur representerer den horisontale linjen dager etter implantering av kreftceller, og den vertikale linjen representerer tumorvolum.

Det ble vist at hver av testforbindelsene signifikant undertrykker dannelsen av tumoren, sammenlignet med kontrollgruppen.

5 Ingen spesielle endringer ble observert i tilstanden til musen i testgruppene ved den tidligere nevnte dosering. Musene ble avlivet i den samme tilstand som i kontrollgruppen.

Analyse 5

10 5×10^5 dyrkede lungekreftceller A-549 ble injisert subkutan i hver av 7 uker gamle nakne hunnmus BALB/cAcl-nu som veide 20 - 22 g, og tumorstørrelsen ble målt hver 3. dag i 37 dager etter implantering. 43 dager etter implantering, når størrelsen på tumoren i alle de tumorbærende musene nådde 25 - 35 mm³, ble musene tilfeldig fordelt på 7 grupper med 4 mus i hver. Av de 7 gruppene ble én anvendt som en kontrollgruppe. 100 µl PBS ble injisert subkutan i kontrollgruppemusene. De gjenværende 6 gruppene, SQAG 1 (14:1),
15 SQAG 2 (16:1) og SQAG 3 (18:1), ble subkutan injisert med en oppløsning av hver av testforbindelsene i 100 µl PBS, for å gi doseringer på 4 mg og 20 mg pr 1 kg vekt. Injeksjonen ble utført hver 3. dag. Denne administreringsoperasjonen ble gjentatt 8 ganger fra 43 til 64 dager etter kreftcelleimplantering. Tumorstørrelsen ble målt hver 3. dag inntil 70 dager etter implantering. Tumorvolumet ble beregnet på samme måte som i analyse 4.

20 Resultatene oppnådd for testforbindelsene er vist henholdsvis i fig. 5 (SQAG 1), fig. 6 (SQAG 2) og fig. 7 (SQAG 3).

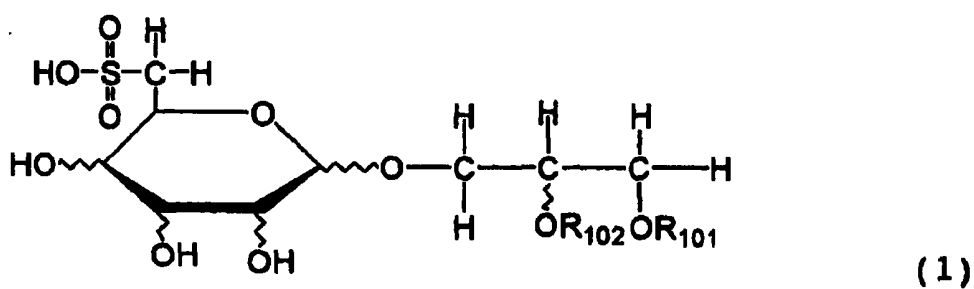
I hver av testgruppene ble det vist at tumordannelsen signifikant undertrykkes sammenlignet med kontrollgruppen. Etter at testen var ferdig, ble hovedorganer, slik som lunge, hjerte, mage, lever, bukspyttkjertel, nyre, tarm og hjerne fra alle musene i hver
25 administreringsgruppe utsatt for patologisk vurdering, og ingen patologiske unormaliteter ble observert i noe organ.

Industriell anvendelse

30 Som forklart i det foran nevnte, i henhold til den foreliggende oppfinnelse, tilveiebringes det et farmasøytisk preparat inneholdende i det minste én forbindelse valgt fra gruppen bestående av sulfopyranosylacylglyserolderivater representert ved den generelle formel (1) og farmasøytisk akseptable salter derav som en aktiv ingrediens.

Patentkrav

1. Farmasøytisk preparat,
karakterisert ved at det, som en aktiv ingrediens, inneholder i det minste én forbindelse valgt fra gruppen bestående av:
forbindelser representert ved den generelle formel (1):



hvor R_{101} er

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_1-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}-$ eller $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_1-(\text{CH}_2)_6-\text{CO}-$,

R_{102} er et hydrogenatom, og pyranosen er α -kinovose; og

farmasøytisk akseptable salter derav.

2. Forbindelse med den generelle formel (1) ifølge krav 1, for anvendelse ved behandlingen av kreft.
3. Anvendelse av forbindelsen med den generelle formel (1) ifølge krav 1 ved fremstillingen av et medikament for behandling av kreft.

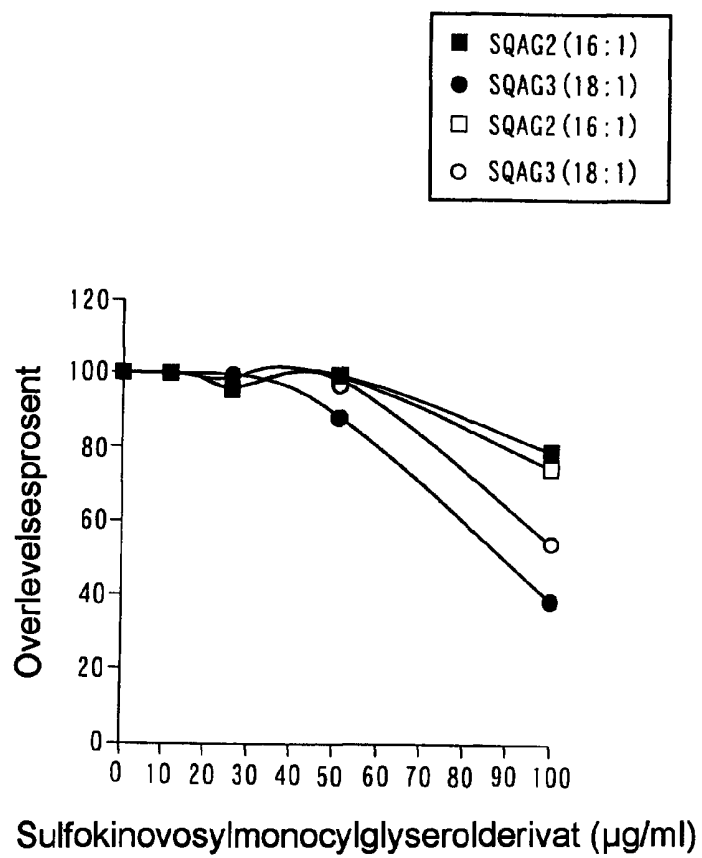


FIG. 1

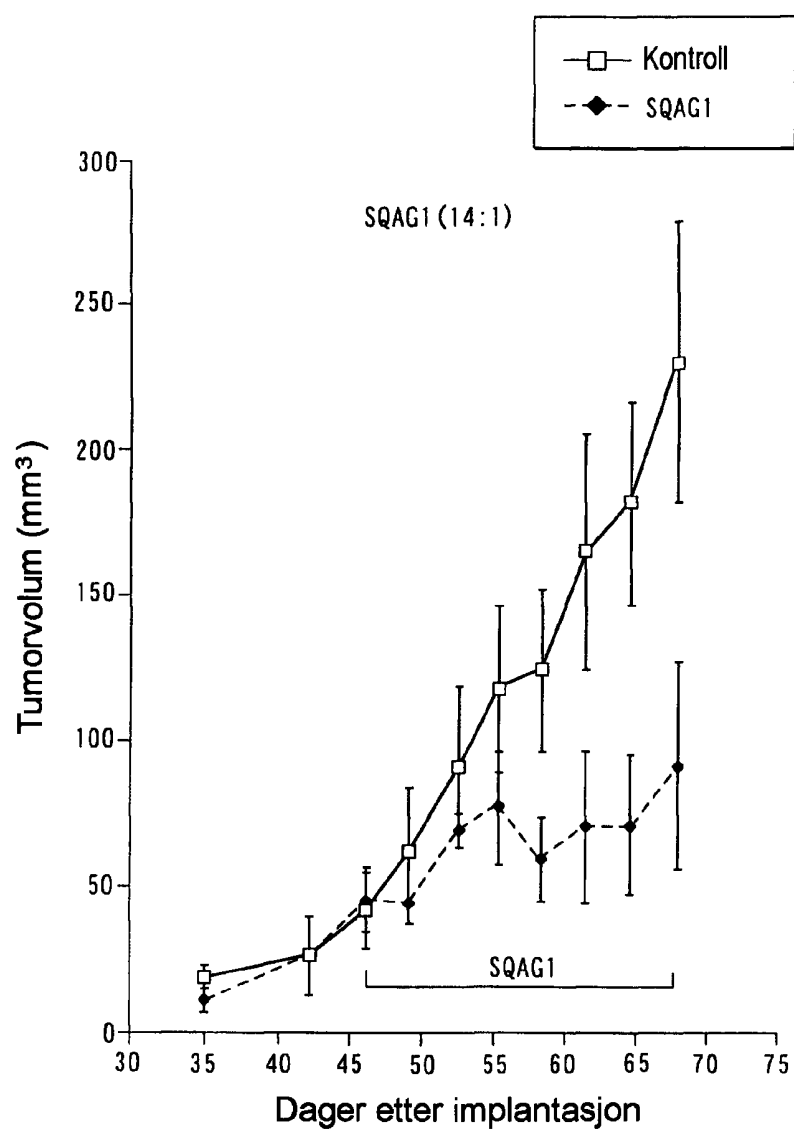


FIG. 2

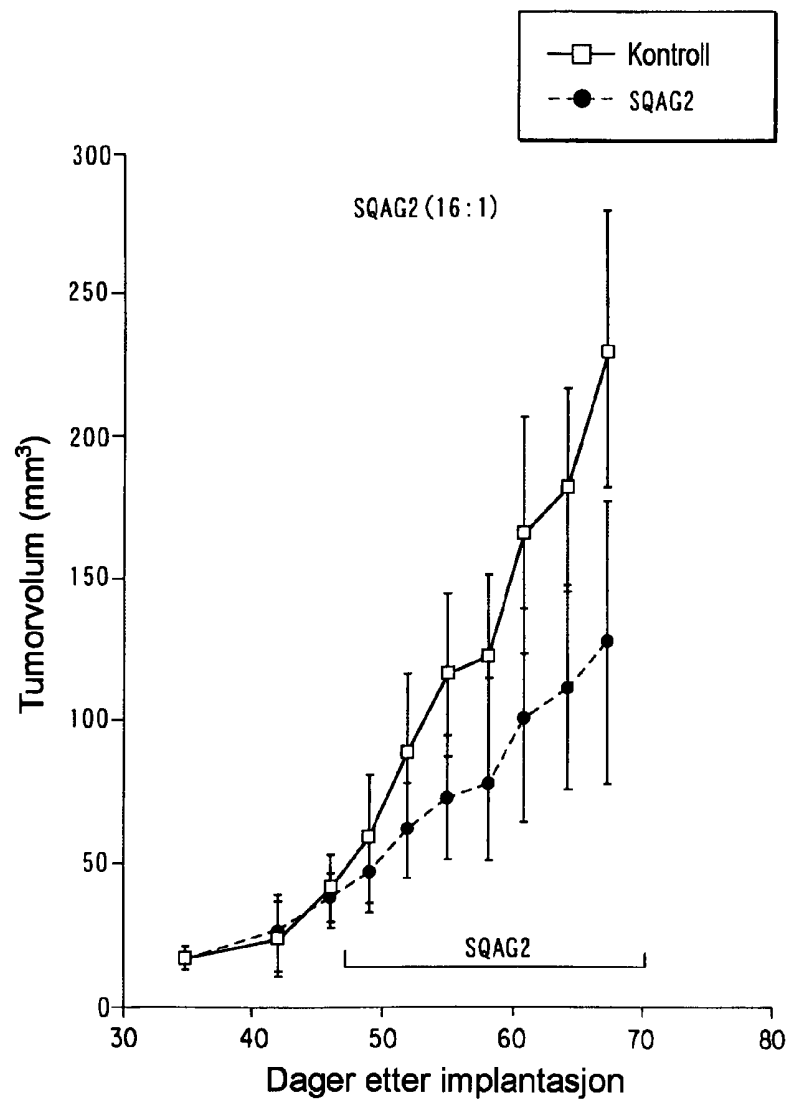


FIG. 3

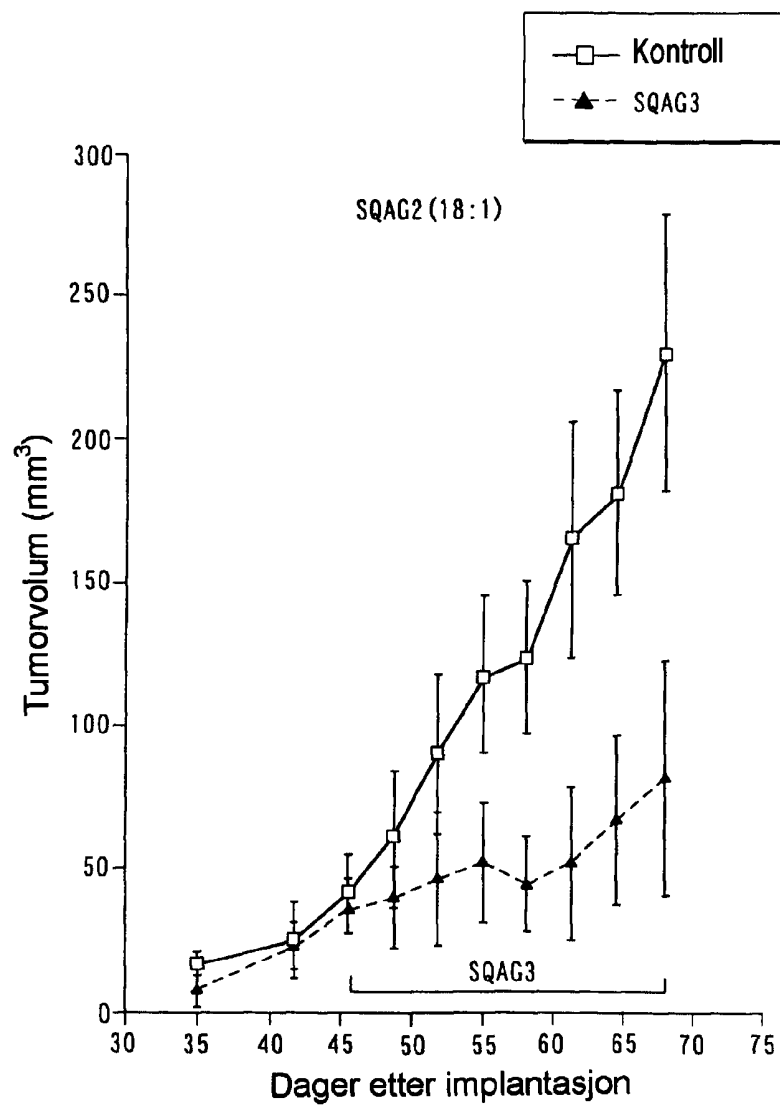


FIG. 4

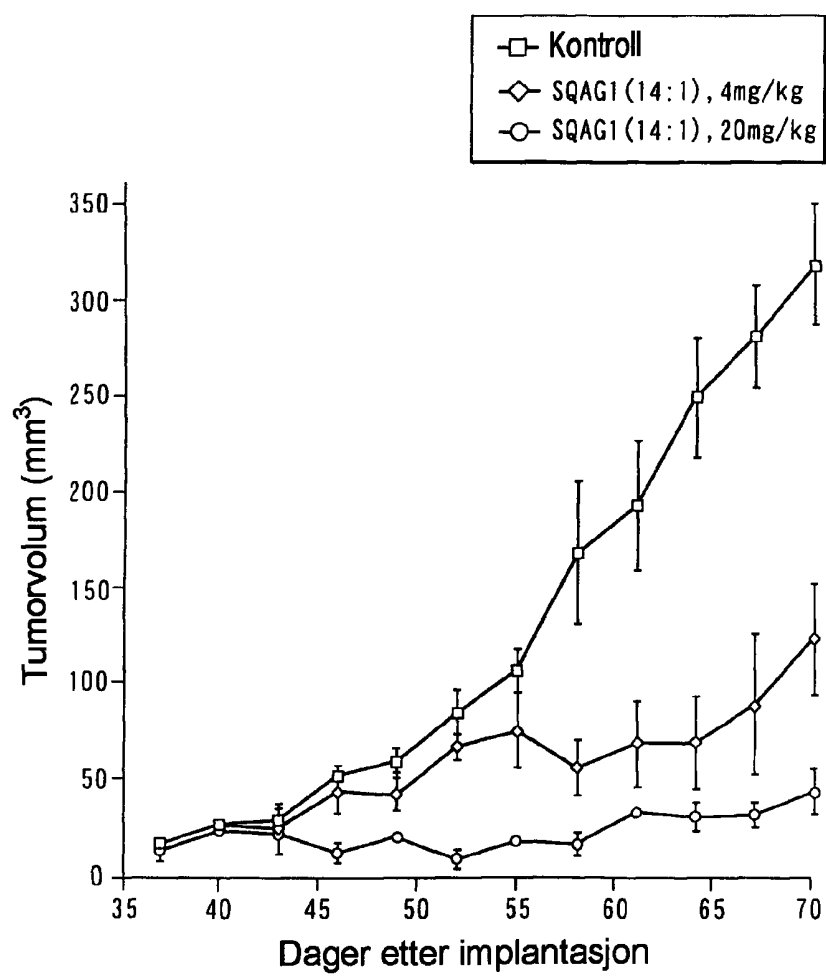


FIG. 5

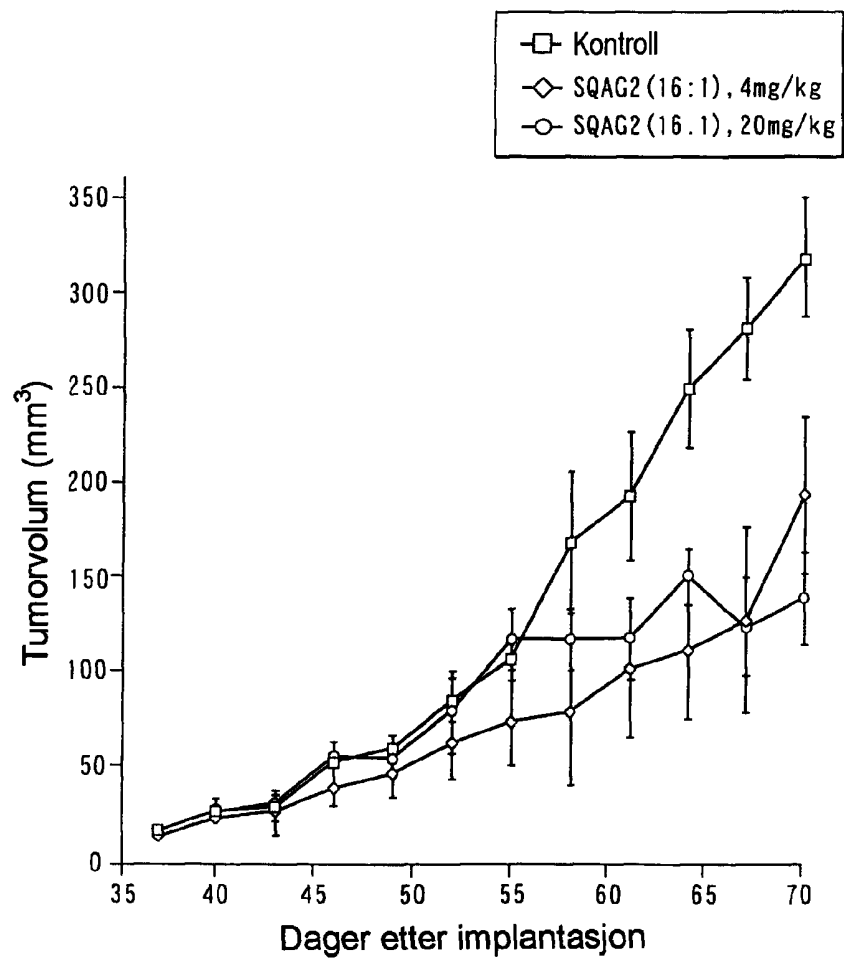


FIG. 6

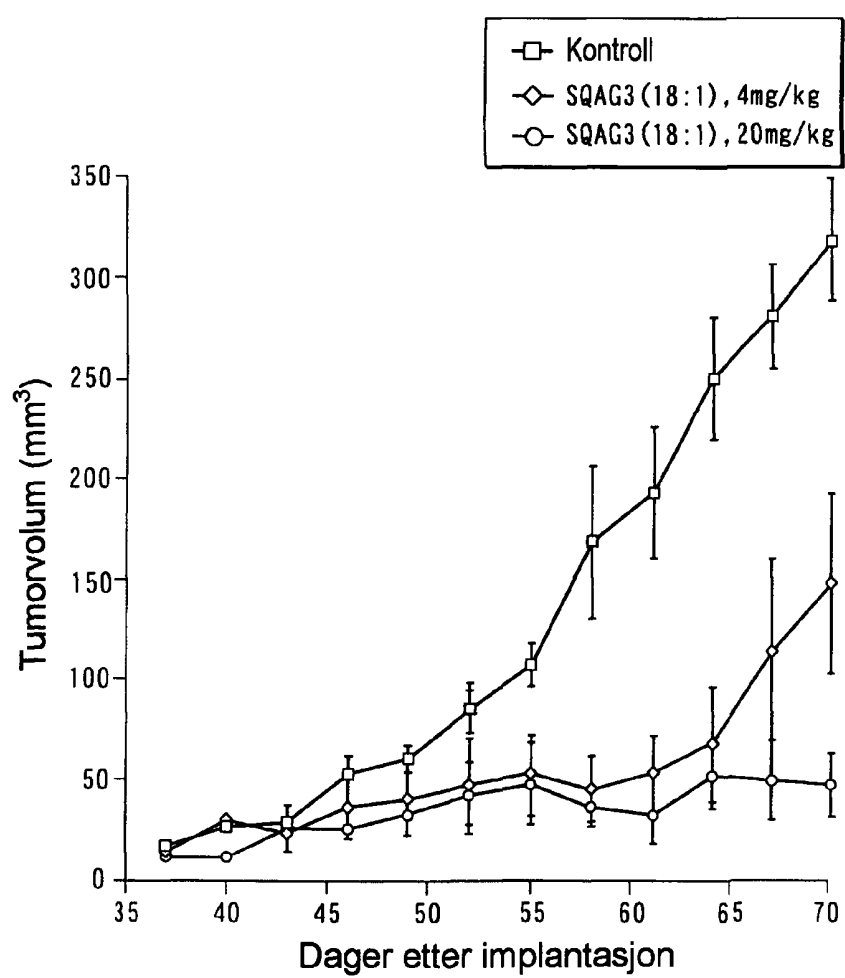


FIG. 7