

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

307 234

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07D 487/08 (2006.01)
A61K 31/529 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
G01N 33/532 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2015-922**
 (22) Přihlášeno: **21.12.2015**
 (40) Zveřejněno: **28.06.2017**
(Věstník č. 26/2017)
 (47) Uděleno: **07.03.2018**
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: **18.04.2018**
(Věstník č. 16/2018)

(56) Relevantní dokumenty:

Bříza, Tomáš, et al. "Optical sensing of sulfate by polymethinium salt receptors: colorimetric sensor for heparin." Chemical Communications 16 (2008): 1901-1903.; Zeng, Lintao, et al. "Highly selective and sensitive heparin probing from supramolecular assembly of pyrene derivatives." Organic letters 11.19 (2009): 4294-4297.; Boyle, Elaine M., et al. "Thiourea Derived Tröger's Bases as Molecular Cleft Receptors and Colorimetric Sensors for Anions." The Journal of organic chemistry 78.17 (2013): 8312-8319.
 CZ 20140317 A3; EP 2940021 A1.

(73) Majitel patentu:

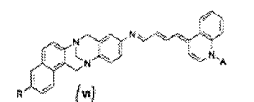
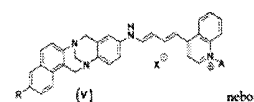
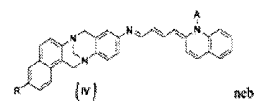
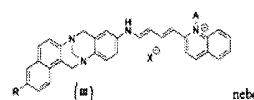
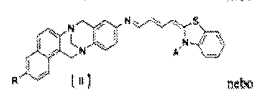
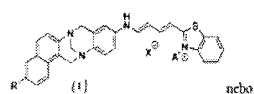
1. Lékařská Fakulta Univerzity Karlovy, Praha 2,
 CZ
 Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
 Praha 6, CZ

(72) Původce:

Ing. Martin Havlík, Ph.D., Praha 6, CZ
 Ing. Tomáš Bříza, Ph.D., Praha 4, CZ
 Ing. Zdeněk Kejík, Ph.D., Sokolov, CZ
 doc. Ing. Bohumil Dolenský, Ph.D., Stochov, CZ
 Ing. Robert Kaplánek, Ph.D., Praha 10, CZ
 Ing. Jakub Rak, Plzeň, CZ
 RNDr. Jarmila Králová, CSc., Praha 2, CZ
 prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc., Horoměřice, CZ
 prof. MUDr. Pavel Martásek, DrSc., Praha 4, CZ
 prof. RNDr. Vladimír Král, DSc., Praha 2, CZ

(74) Zástupce:

PATENT SKY s.r.o., Ing. Petra Kolářová, Dušní
 8/11, 110 00 Praha 1



(54) Název vynálezu:

**Nesymetrický derivát Trögerovy báze s
 tetramethiniovou substitucí a jeho použití**

(57) Anotace:

Nesymetrický derivát Trögerovy báze
 s tetramethiniovou substitucí,
 mající tetramethiniovou substituci na b nebo f části
 arylového zbytku 1,5-methano-1,5-diazocinového
 kruhu, v enantiomerní či racemické formě. Tyto
 systémy mohou být využity pro stanovení
 polysacharidových nádorových markerů a mohou
 nalézt uplatnění v rozpoznávání a diagnostice
 nádorových onemocnění.

Nesymetrický derivát Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí a jeho použití

Oblast techniky

Nesymetrický derivát Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí, použitelný jako optický senzor pro sacharidové nádorové markery, pro cílený transport léčiv v terapii nádorových onemocnění.

Dosavadní stav techniky

V posledních letech bylo dosaženo významného pokroku ve výzkumu, diagnóze a léčbě rakoviny, přesto je její mortalita stále příliš vysoká. Pro úspěšnou léčbu rakoviny je včasná diagnóza klíčovým faktorem. Pro včasné rozpoznání nádorového onemocnění je nutné jej rozpoznávat na buněčné úrovni. Efektivní rozpoznávání může být založeno na specifických interakcích charakteristického molekulárního partnera (nádorového markeru) s vhodným analytickým činidlem. Nádorové markery, např. některé záporně nabitě sacharidy (heparan sulfát, chondroitin sulfát, kyselina hyaluronová, kyselina sialová atd.) jsou důležité molekulární znaky buněčného fenotypu a mohou být použity pro jeho rozpoznávání. Tyto fenotypové znaky se mění během rakovinového vývoje. Nádorové markery mohou být detekovány pomocí vhodných selektivních analytických činidel, které jsou využitelné pro konstrukci optických senzorů a tím pro diagnostiku nádorových onemocnění. V cílené protinádorové terapii mohou být tato činidla použita jako rozpoznávací část systému pro cílený transport léčiv v terapii nádorových onemocnění.

Rozpoznávání nádoru za pomoci nádorových markerů je velmi efektivní metoda pro detekci nádorových buněk. Je známo, že řada nádorových markerů jsou (oligo)sacharidové deriváty a jejich biologická koncentrace může silně korelovat s pravděpodobností výskytu rakoviny u pacienta. Dalším důležitým nádorovým znakem jsou změněné aktivity enzymů, které se podílejí na syntéze a hydrolýze těchto (oligo) sacharidových derivátů. Metoda stanovení enzymové aktivity je založena na měření koncentrace produktu, nebo výchozí látky v čase. Různé optické senzory tedy mohou být použity i pro sledování aktivity těchto enzymů měřením koncentrace látek účastnících se těchto enzymových reakcí (Dennis, J. W.; Granovsky, M.; Warren, C. E.: *Glycoprotein glycosylation and cancer progression, Biochim. Biophys. Acta*, 1999, 1473, 21-34; Kameda, K.; Shimada, H.; Ishikawa, T.; Takimoto, A.; Momiyama, N.; Hasegawa, S.; Misuta, K.; Nakano, A.; Nagashima, Y.; Ichikawa Y.: *Expression of highly polysialylated neural cell adhesion molecule in pancreatic cancer neural invasive lesion, Cancer Lett.* 1999, 137, 201-207; Rajpura, B.; Patel, P. S.; Chawda, J. G.; Shah R. M.: *Clinical significance of total and lipid bound sialic acid levels in oral pre-cancerous conditions and oral cancer, J. Oral Pathol. Med.* 2005, 34, 263-267; Miyagi, T.; Wada, T.; Yamaguchi, K.; Hata K.: *Sialidase and malignancy: A minireview, Glycoconjugate J.* 2004, 20, 189-198).

Optické senzory pro některé sacharidové nádorové markery již byly popsány. Jedná se např. o konjugáty monoklonálních protilátek a fluorescenčních molekul (Jelinek, R.; Kolusheva, S.: *Carbohydrate biosensors, Chem. Rev.* 2004, 104, 5987-6015). Ty sice dosahují vysoké účinnosti, nicméně jejich praktické využití silně limituje jejich vysoká cena. Dále se jedná například o metalokomplexy porfyrinových derivátů (Sugasaki, A.; Sugiyasu, K.; Ikeda, M.; Takeuchi, M.; Shinkai, S.: *First successful molecular design of an artificial lewis oligosaccharide binding system utilizing positive homotropic allosterism, J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 10239-10244), konjugáty porfyrinů se žlučovými kyselinami využitelnými pro záporně nabitě polysacharidové markery (Králová, J.; Koivukorpi, J.; Kejik, Z.; Poučková, P.; Sievanen, E.; Kolehmainen, E.; Král, V.: *Porphyrin-bile acid conjugates: from saccharide recognition in the solution to the selective cancer cell fluorescence detection, Org. Biomol. Chem.* 2008, 6, 1548-1552), lanthanoidové komplexy pro sialové Lewisovy antigeny (Alpturk, O.; Rusin, O.; Fakayode,

S. O.; Wang, W.; Escobedo, J. O.; Warner, I. M.; Crowe, V. E.; Král, V.; Pruet, J. M.; Strongin, R. M.: *Lanthanide complexes as fluorescent indicators for neutral sugars and cancer biomarkers*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2006, 103, 9756-9760), systémy na bázi boronových kyselin pro stanovení kyseliny sialové a sialových Lewisových antigenů (Yang, Y.; Lewis, P. T.; Escobedo, J. O.; Luce, N. N.; Treleaven, W. D.; Cook, R. L.; Strongin, R. M.: *Mild colorimetric detection of sialic acid*, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 2004, 69, 1282-1291) a pentamethiniové soli (Bříza, T.; Kejík, Z.; Císařová, I.; Králová, J.; Martásek, P.; Král, V.: *Optical sensing of sulfate by polymethinium salt receptors: colorimetric sensor for heparin*, *Chem. Commun.* 2008, 16, 1901-1903; Bříza, T.; Králová, J.; Kejík, Z.; Martásek, P.; Král, V.: *Využití polymethiniových solí jako senzorů pro nádorové markery*, *Česká patentová přihláška* PV 2013-5). Pentamethiniové soli nemohou být použity pro stanovení některých nádorových markerů, např. kyseliny hyaluronové a kyseliny sialové, což značně snižuje jejich využitelnost. Dosud nejsou známy takové receptory, které by umožňovaly stanovení více typů sacharidových nádorových markerů včetně těchto kyselin.

Pro konstrukci optických senzorů jsou důležité mnohé parametry: vysoká hodnota optického koeficientu, poloha absorpčních maxim ve viditelné oblasti, vysoká fluorescence a velké spektrální změny při vazbě na analyt (Gomes-Hens, A.; Aguilar-Caballeros, M. P.: *Long-wavelength fluorophores new trends in their analytical use*, *Trend. Anal. Chem.* 2004, 23, 127-136; Ajayaghosh, A.: *Chemistry of squaraine-derived materials: Near-IR dyes, low band gap systems, and cation sensors*, *Acc. Chem. Res.* 2005, 38, 449-459; Král, V.; Vašek, P.; Cígler, P.; Králová, J.; Poučková, P.: *Preparation of porphyrin derivatives with polymethine substitution for photodynamic therapy*, *Patent*, 2004, CZ 293672 B6). Tyto receptory je tak možné následně použít jako optické senzorové systémy pro stanovení sacharidových nádorových markerů a tím umožnit včasnou diagnostiku nádorových onemocnění.

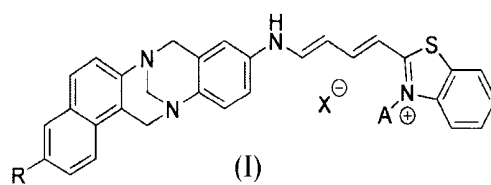
Je známo, že bio dostupnost některých hydrofobních farmaceuticky aktivních látek může být výrazně zvýšena jejich podáním ve formě cyklodextrinových komplexů. Vzhledem tomu, že sacharidové tumorové markery jsou exprimované převážně nádorovými buňkami, mohou být tyto optické senzory použity i jako rozpoznávací součást transportního systému léčiv. Aplikace vhodných protinádorových léčiv ve formě inklusního komplexu s kýženými receptory s cyklodextrinovou substitucí může vést k výraznému zvýšení účinnosti těchto léčiv a podstatně redukovat jejich vedlejší účinky (Chida, K.; Murakami, A.; Tagawa, T.; Ikuta, T.; Kuroki, T.: *Cholesterol sulfate, a second messenger for the isoform of protein kinase C, inhibits promotional phase in mouse skin carcinogenesis*, *Canc. Res.* 1995, 55, 4865-4869; Tsutsumi, R.; Hiroi, H.; Momoeda, M.; Hosokawa Y.; Nakazawa, F.; Koizumi, M.; Yano, T.; Tsutsumi, O.; Taketani, Y.: *Inhibitory effects of cholesterol sulfate on progesterone production in human granulosa-like tumor cell line, KGN*, *Endocrine J.* 2008, 55, 575-581; Králová, J.; Kejík, Z.; Bříza, T.; Poučková, P.; Král, A.; Martásek, P.; Král V.: *Porphyrin-Cyclodextrin Conjugates as a Nanosystem for Versatile Drug Delivery and Multimodal Cancer Therapy*, *J. Med. Chem.* 2010, 53, 128-138).

Podstata vynálezu

Připravili jsme optické senzorové systémy, které jsou využitelné pro rozpoznávání sacharidových nádorových markerů a jsou schopné dobře detekovat také kyselinu hyaluronovou a kyselinu sialovou, které patří k důležitým nádorovým markerům a taktéž jsou využitelné v cíleném transportu pro léčbu nádorových onemocnění. Jako funkční pro konstrukci optických senzorů detekujících i látky, které nebylo možné dříve touto metodou spolehlivě určit, se ukázaly nové struktury sestávající z Trögerovy báze s methiniovou substitucí.

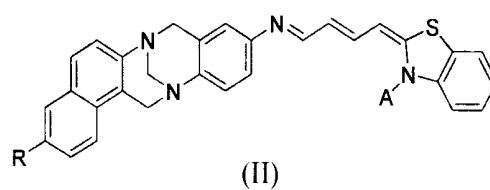
Vytvořili jsme nesymetrické deriváty Trögerovýchází s tetramethiniovou substitucí, které velice dobře tvoří stabilní barevné komplexy se sacharidovými markery, kterými jsou heparan sulfát, chondroitin sulfát, kyselina hyaluronová a kyselina sialová,

obecného vzorce I

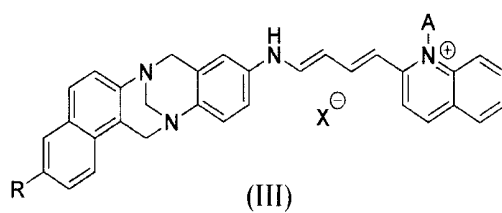


5

obecného vzorce II

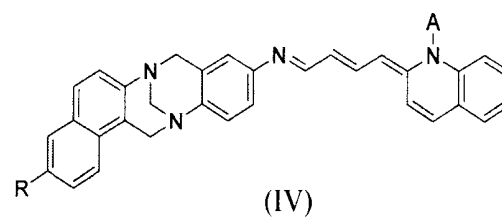


10 obecného vzorce III,

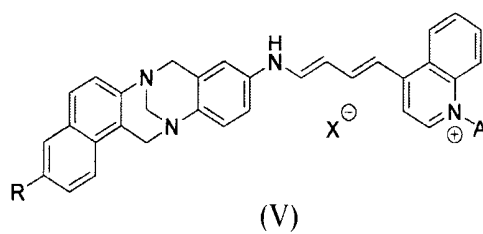


obecného vzorce IV

15

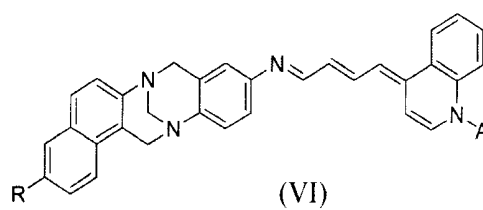


obecného vzorce V,



20

a obecného vzorce VI



v enantiomerní či racemické formě,

kde R je H, COOMe;

5

A je alkyl C1 až C12, glykolové řetězce s počtem 1 až 8 glykolových (-OCH₂CH₂-) opakujících se jednotek končící O-alkyl substituentem C1 až C12 nebo -OH skupinou, alkyl C1 až C8 sulfonové kyseliny nebo odpovídající jejich lithné nebo sodné, nebo draselné, nebo cesné, nebo rubidné soli, allyl, propargyl, benzyl;

10

X je vybrána ze skupiny zahrnující: acetát, bromid, dihydrogenfosfát, fluorid, fosfát, hexafluorofosfát, hydrogensulfát, chlorid, chloristan, jodid, mesylát, monohydrogenfosfát, mravenčan, nitrát, nonafluorbutylsulfonát, sulfát, tetrafluorborát, tosylát, triflát, trifluoracetát, trichloracetát, uhličitán;

15

a jejich soli s anorganickými nebo organickými kyselinami vybranými ze skupiny tvořené acetylacetáty, adipáty, askorbáty, benzoáty, besyláty, boritany, butanoáty, citráty, deoxycholáty, dihydrogenfosfáty, fenylacetáty, fosfáty, fumaráty, galát, glutaráty, hippuráty, hydrobromidy, hydrofluoridy, hydrogensulfáty, hydrochloridy, hydrojodidy, chloristany, choláty, isokyanát, 20 isonikotináty, kapryláty, kyanatany, laktáty, lauráty, lithocholáty, maláty, maleáty, malonáty, mandeláty, mesyláty, monohydrogenfosfáty, mravenčany, myristáty, napsyláty, nikotináty, nitráty, octany, oleáty, oxaláty, oxopropanoáty, palmitáty, pikrát, pimeláty, propionáty, rhodanidy, salicyláty, sebakáty, skořicáty, stearáty, suberáty, sukcináty, sulfáty, tetrafluorboráty, tosyláty, trifláty, trifluoracetáty, trichloracetáty, uhličitany, valeráty, vínany a soli přirozených 25 aminokyselin.

30

Tyto nesymetrické deriváty Trögerovýchází s tetramethiniovou substitucí, vykazují vysokou afinitu a spektrální odezvu pro všechny klinicky významné typy sacharidových nádorových markerů, včetně kyseliny hyaluronové a kyseliny sialové. Tyto receptory mají řadu vlastností, které je předurčují pro použití v optických senzorech, jako je například vysoká hodnota optického koeficientu, poloha absorpčních maxim ve viditelné oblasti, vysoká fluorescence a velké spektrální změny při vazbě na analyt.

35

Tyto nesymetrické deriváty Trögerovýchází s tetramethiniovou substitucí, lze využít ke sledování rakovinné – narušené aktivity různých enzymů. Při této změně enzymové aktivity dochází k produkci látek (rakovinných markerů), jejichž koncentrace může být stanovena pomocí optických senzorů.

40

Vlastnosti a způsob přípravy nesymetrických derivátů Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí jsou doloženy následujícími příklady.

Příklady provedení vynálezu

45

Příklad 1

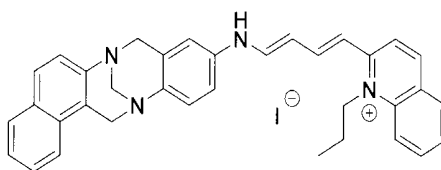
Příprava látky 1, spadajícího pod obecný vzorec III.

50

Směs 8*H*,14*H*-7,13-methanobenzo[*b*]nafto[2,1-*f*][1,5]diazocin-10-aminu (50 mg, 0,17 mmol), 2-((1*E*,3*E*)-4-(*N*-fenylacetamido)buta-1,3-dien-1-yl)-1-propylchinolin-1-ium jodidu (101 mg, 0,21 mmol) a dimethylformamidu (7 ml) byla zahřívána na 80 °C po dobu tří hodin a poté míchána přes noc při 20 °C. Směs byla odpařena dosucha a produkt separován pomocí kolonové chromatografie (silikagel 4×30 cm, eluent dichlormethan/methanol 10:1). Produkt byl získán ve formě tmavé kovově lesklé mikrokrytalické látky (výtěžek 90 mg, 81 %). ¹H NMR (300 MHz,

55

(CD₃)₂SO): 10.81 (1H, br d, 13.0), 8.34 (1H, d, 9.4), 8.27 (1H, dd, 13.8, 12.1), 8.09 (1H, br dd, překryv), 8.08 (1H, d, 8.9), 8.02 (1H, d, 9.4), 7.99 (1H, dd, 8.0, 1.6), 7.87 (1H, ddd, 8.9, 7.0, 1.6), 7.80 (1H, dd, 8.0, 1.3), 7.73 (1H, d, 8.8), 7.71 (1H, dd, 8.3, 1.1), 7.61 (1H, t, 7.5), 7.48 (1H, ddd, 8.3, 6.9, 1.3), 7.40 (1H, ddd, 8.0, 6.9, 1.1), 7.33 (1H, d, 8.8), 7.23 (1H, d, 8.7), 7.03 (1H, dd, 8.7, 2.5), 6.87 (1H, d, 2.5), 6.58 (1H, d, 13.8), 6.25 (1H, t, 11.9), 4.91 (1H, d, 17.0), 4.71 (1H, d, 17.0), 4.52 (2H, překryv), 4.51 (1H, d, 17.0), 4.36 (1H, d, 11.5), 4.34 (1H, d, 11.5), 4.32 (1H, d, 17.0), 1.79 (2H, sex, 7.8), 1.08 (3H, t, 7.4). ¹³C APT NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO): 154.22, 154.14 (CH), 149.78 (CH), 145.04, 144.61, 138.57 (CH), 138.35, 135.57, 133.29 (CH), 130.89, 130.13, 129.59 (CH), 129.43, 128.30 (CH), 127.34 (CH), 126.53 (CH), 126.30 (CH), 126.11 (CH), 125.35, 124.66 (CH), 124.58 (CH), 121.47 (CH), 121.39, 118.94 (CH), 117.37 (CH), 115.75 (v br, CH), 114.20 (v br, CH), 107.64 (br, CH), 106.62 (CH), 66.18 (CH₂), 57.01 (CH₂), 56.47 (CH₂), 49.37 (CH₂), 20.78 (CH₂), 10.66 (CH₃).

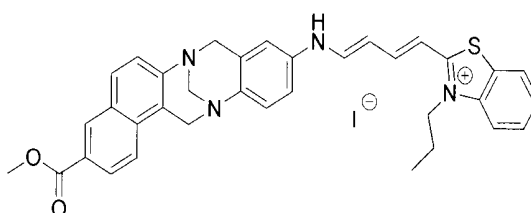


Struktura látky 1

Příklad 2

Příprava látky 2, spadajícího pod obecný vzorec I.

Methyl 10-amino-8H,14H-7,13-methanobenzo[b]naphtho[2,1-f][1,5]diazocin-3-karboxylát (105 mg; 0,30 mmol), 2-((1E,3E)-4-(N-fenylacetamido)buta-1,3-dien-1-yl)-3-propylbenzo[d]thiazol-3-ium jodid (147 mg, 0,30 mmol) a dimethylformamidu (7 ml) byla zahřívána na 80°C po dobu tří hodin a poté míchána přes noc při 20 °C. Směs byla odpařena dosucha a produkt separován pomocí kolonové chromatografie (silikagel 4×30 cm, eluent dichlormethan/methanol 10:1). Produkt byl získán ve formě tmavě kovově lesklé mikrokrytalické látky (výtěžek 153 mg, 88 %). ¹H NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO): 11.10 (1H, br d, 13.3), 8.50 (1H, d, 1.8), 8.37 (1H, br t, 12.4), 8.08 (1H, dd, 8.0, 1.2), 7.94 (1H, dd, 8.8, 1.8), 7.94 (1H, d, 8.9), 7.89 (1H, br dd, 13.5, 12.2), 7.85 (1H, br d, 8.4), 7.81 (1H, br d, 8.8), 7.59 (1H, ddd, 8.3, 7.4, 1.3), 7.47 (1H, ddd, 7.9, 7.4, 0.9), 7.44 (1H, d, 8.9), 7.24 (1H, d, 8.7), 7.09 (1H, dd, 8.7, 2.5), 6.95 (1H, d, 2.5), 6.75 (1H, d, 13.7), 6.18 (1H, t, 11.9), 4.94 (1H, d, 17.0), 4.74 (1H, d, 17.1), 4.54 (1H, d, 17.0), 4.41-4.33 (5H, m), 3.88 (3H, s), 1.74 (2H, sex, 7.4), 0.96 (3H, t, 7.4). ¹³C APT NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO): 167.57, 166.27, 154.28 (CH), 151.70 (CH), 147.64, 144.83, 141.15, 135.23, 133.27, 130.81 (CH), 129.34, 129.25, 128.79 (CH), 128.23 (CH), 126.12 (CH), 125.77 (CH), 125.57 (CH), 125.47 (CH), 125.43, 123.34 (CH), 122.09 (CH), 121.62, 116.17 (CH), 114.52 (CH), 114.31 (CH), 107.33 (CH), 101.17 (CH), 65.97 (CH₂), 57.01 (CH₂), 56.34 (CH₂), 52.16 (CH₃), 47.82 (CH₂), 21.01 (CH₂), 10.76 (CH₃).

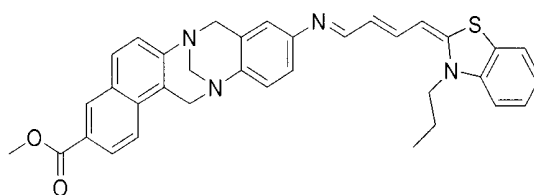


Struktura látky 2

Příklad 3

Příprava látky 3, spadajícího pod obecný vzorec II.

- Látka 2 (100 mg; 0,14 mmol) byla rozpuštěna v dichlormethanu (50 ml) a třepána s vodným amoniakem (100 ml) po dobu 5 minut. Organická fáze byla separována a protřepána s vodou (100 ml) a pak sušena síranem hořečnatým. Směs byla filtrována a odpařena dosucha. Produkt byl získán ve formě tmavé látky (výtěžek 75 mg, 92 %). ¹H NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO): 8.10 (1H, d, 9.5), 7.79 (1H, dd, 8.0, 1.3), 7.71 (1H, d, 8.6), 7.71 (1H, d, překryv), 7.48 (1H, dd, 14.1, 11.9), 7.47 (1H, ddd, překryv), 7.39 (1H, ddd, překryv), 7.40-7.32 (2H, m), 7.31 (1H, d, 8.6), 7.29 (1H, d, 9.8), 7.20 (1H, br d, 8.5), 7.12 (1H, d, 8.5), 7.08 (1H, br d, 9.8), 6.99 (1H, t, 7.4), 6.88 (1H, dd, 8.5, 2.3), 6.69 (1H, d, 2.3), 6.17 (1H, dd, 14.1, 9.5), 5.51 (1H, d, 11.9), 4.89 (1H, d, 17.0), 4.66 (1H, d, 16.7), 4.50 (1H, d, 17.0), 4.41-4.25 (3H, překryv), 3.82-3.71 (2H, m), 1.61 (2H, sex, 7.5), 1.03 (3H, t, 7.3). ¹³C APT NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO): 160.95 (CH), 148.39, 145.24, 145.00, 143.98, 142.51 (CH), 140.33, 130.93, 130.65 (CH), 130.09, 129.26 (CH), 128.35, 128.29 (CH), 127.85 (CH), 127.23 (CH), 126.47 (CH), 125.28, (CH), 124.61 (CH), 124.57 (CH), 122.65, 121.90 (CH), 121.48, 121.45 (CH), 121.12 (CH), 120.02 (CH), 119.78, (CH), 118.29 (CH), 113.24 (CH), 97.83 (CH), 66.28 (CH₂), 57.09 (CH₂), 56.47 (CH₂), 46.80 (CH₂), 18.55 (CH₂), 10.78 (CH₃).



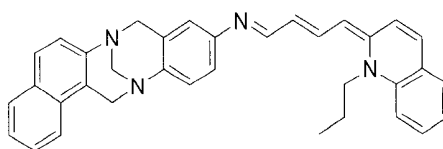
Struktura látky 3

25

Příklad 4

Příprava látky 4, spadajícího pod obecný vzorec IV.

- Látka 1 (70 mg; 0,11 mmol) byla rozpuštěna v dichlormethanu (50 ml) a třepána s koncentrovaným amoniakem (100 ml) po dobu 5-ti minut. Organická fáze byla separována a protřepána s vodou (100 ml) a pak sušena síranem hořečnatým. Směs byla filtrována a odpařena dosucha. Produkt byl získán ve formě pevné látky (výtěžek 51 mg, 91 %).



35

Struktura látky 4

40

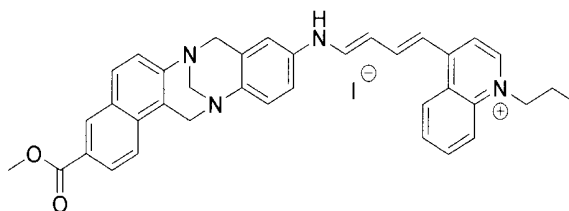
Příklad 5

Příprava látky 5, spadajícího pod obecný vzorec V.

- Methyl 10-amino-8*H*,14*H*-7,13-methanobenzo[*b*]naphtho[2,1-*f*][1,5]diazocin-3-karboxylát (58 mg; 0,20 mmol), 4-((1*E*,3*E*)-4-(*N*-fenylacetamido)buta-1,3-dien-1-yl)-1-propylchinolin-1-ium jodidu (96 mg; 0,20 mmol) a dimethylformamidu (7 ml) byla zahřívána na 80 °C po dobu tří hodin a poté míchána přes noc při 20 °C. Směs byla odpařena dosucha a produkt separován

45

pomocí kolonové chromatografie (silikagel 4×30 cm, eluent dichlormethan/methanol 10:1). Produkt byl získán ve formě tmavé kovově lesklé mikrokrytalické látky (výtěžek 93 mg, 73 %).



5

Struktura látky 5

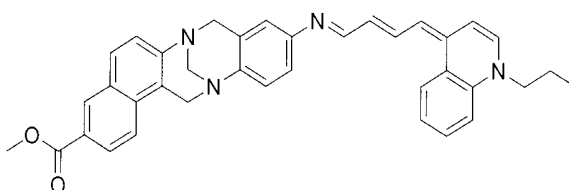
Příklad 6

10

Příprava látky 6, spadajícího pod obecný vzorec VI.

Látka 5 (80 mg; 0,13 mmol) byla rozpuštěna v dichlormethanu (50 ml) a třepána s koncentrovaným amoniakem (100 ml) po dobu 5-ti minut. Organická fáze byla separována a protřepána s vodou (100 ml) a pak sušena síranem hořečnatým. Směs byla filtrována a odpařena dosucha. Produkt byl získán ve formě pevné látky (výtěžek 59 mg, 92 %).

15



20

Struktura látky 6

Příklad 7

25

Tvorba komplexů látek 1 až 6 se sacharidovými nádorovými markery

Interakce testovaných derivátů (receptorů) 1-6 s vybranými analyty byla studována pomocí UV-Vis spektroskopie v 1 mmol/l roztoku chloridu sodného ve směsi voda/metanol (7:3, V/V). Roztok receptoru byl připraven rozpuštěním 3 mg derivátu v 5 ml metanolu a alikvotní podíl byl přidán do 100 ml použitého rozpouštědla, tak aby vznikl roztok testovaného derivátu o koncentraci 7,4 μmol/l. Roztok testovaných analytů byl připraven rozpuštěním 15 mg v 3 ml vody a alikvotní podíl byl přidán do 100 ml použitého rozpouštědla, tak aby vznikl roztok použitého analytu o 2 mmol/l koncentraci. Před začátkem titrace bylo pH roztoku analytů a receptorů adjustováno na hodnotu 7,34. Podmíněné vazebné konstanty K byly spočítány pomocí nelineární regrese pomocí programu Letagrop Spefo 2005 z hodnot maxim absorbance. Protože analyty na bázi polymeru mají různou délku, uváděné hodnoty konstant stability K byly spočítány použitím koncentrace každé opakující se disacharidové jednotky. Koncentrace použitých receptorů byla 7,4 μmol/l, koncentrace studovaných analytů se pohybovala v rozmezí od 0 až 0,5 mmol/l. Velikost objemu jednoho přidavku roztoku analytu ke 2,4 ml roztoku použitých derivátů byla od 0,005 do 0,1 ml.

40

Pozorovali jsme vysokou selektivitu a výrazné spektrální změny při UV-VIS spektroskopické studii látky 1 nesymetrických derivátů Trögerovýchází s tetramethiniovou substitucí pro sacharidové tumorové markery oproti běžně dostupným bioanalytům. Naměřená data prokázala, že nesymetrické deriváty Trögerovýchází s tetramethiniovou substitucí mohou být použity jako receptory pro stanovení a částečně i rozlišení různých typů sacharidových nádorových markerů.

45

Např. červenofialový roztok sloučeniny I v přítomnosti sulfátovaných polysacharidů (chondroitin sulfát a heparan sulfát) změnil svoji barvu na oranžovou, zatímco v přítomnosti kyseliny hyaluronové byl růžový. Selektivitu našich sloučenin pro sacharidové tumorové markery jsme prokázali pomocí UV-VIS spektroskopie.

5

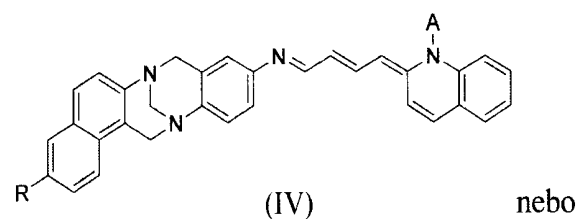
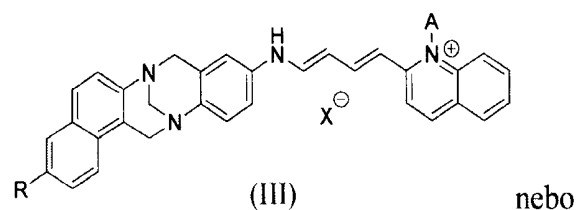
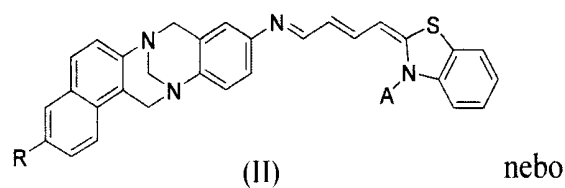
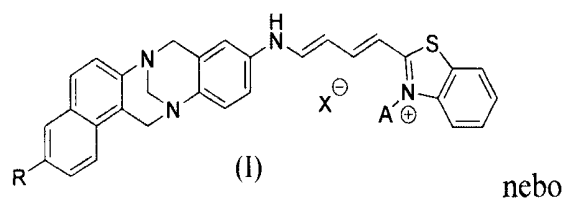
Průmyslová využitelnost

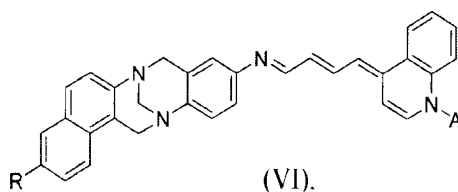
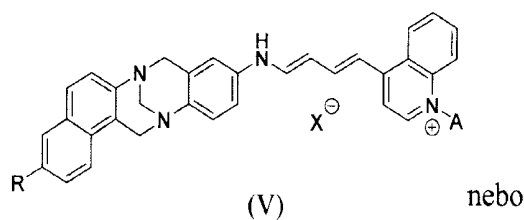
Deriváty nesymetrických Trögerovýchází s tetramethiniovou substitucí jsou využitelné ve farmaceutickém průmyslu k přípravě optických systémů pro diagnostiku nádorových onemocnění a v terapii nádorových onemocnění.

15

PATENTOVÉ NÁROKY

20 **1.** Nesymetrický derivát Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí, obecného vzorce I až VI





kde R je H, COOMe,

- 5 A je alkyl C1 až C12, glykolové řetězce s počtem 1 až 8 glykolových (-OCH₂CH₂-) opakujících se jednotek končící O-alkyl substituentem C1 až C12 nebo -OH skupinou, alkyl C1 až C8 sulfonové kyseliny nebo odpovídající jejich lithné nebo sodné, nebo draselné, nebo cesné, nebo rubidné soli, allyl, propargyl, benzyl;
- 10 X je vybrána ze skupiny zahrnující: acetát, bromid, dihydrogenfosfát, fluorid, fosfát, hexafluorofosfát, hydrogensulfát, chlorid, chloristan, jodid, mesylát, monohydrogenfosfát, mravenčan, nitrát, nonafluorbutylsulfonát, sulfát, tetrafluoroborát, tosylát, triflát, trifluoracetát, trichloracetát, uhličitan;
- 15 a jejich soli s anorganickými nebo organickými kyselinami vybranými ze skupiny tvořené acetylacetáty, adipáty, askorbáty, benzoáty, besyláty, boritany, butanoáty, citráty, deoxycholáty, dihydrogenfosfáty, fenylacetáty, fosfáty, fumaráty, galát, glutaráty, hippuráty, hydrobromidy, hydrofluoridy, hydrogensulfáty, hydrochloridy, hydrojodidy, chloristany, choláty, isokyanát, isonikotináty, kapryláty, kyanatany, laktáty, lauráty, litocholáty, maláty, maleáty, malonáty, mandeláty, mesyláty, monohydrogenfosfáty, mravenčany, myristáty, napsyláty, nikotináty, nitráty, octany, oleáty, oxaláty, oxopropanoáty, palmitáty, pikrát, pimeláty, propionáty, rhodanidy, salicyláty, sebakáty, skořicáty, stearáty, suberáty, sukcináty, sulfáty, tetrafluoroboráty, tosyláty, trifláty, trifluoracetáty, trichloracetáty, uhličitan, valeráty, vínany a soli přirozených
- 20 aminokyselin;
- 25 v enantiomerní či racemické formě.
2. Nesymetrický derivát Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí podle nároku 1 pro použití jako léčivo.
- 30 3. Použití nesymetrického derivátu Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí podle nároku 1 pro výrobu optických senzorů pro stanovení a rozpoznávání sacharidových nádorových markerů.
- 35 4. Použití nesymetrického derivátu Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí podle nároku 1 pro výrobu léčiva pro diagnostiku nádorů.
- 40 5. Použití nesymetrického derivátu Trögerovy báze s tetramethiniovou substitucí podle nároku 1 pro výrobu léčiva pro léčení nádorových onemocnění.