



(12) PATENT

(19) NO

(11) 325681

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 31/353 (2006.01)

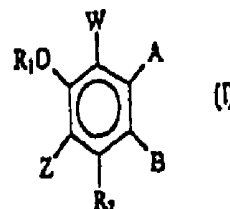
A61K 31/122 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	19990965	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1997.08.29 PCT/AU97/00563
(22)	Inng.dag	1999.02.26	(85)	Videreføringsdag	1999.02.26
(24)	Løpedag	1997.08.29	(30)	Prioritet	1996.08.30, AU, 2039/96
(41)	Alm.tilgj	1999.02.26			
(45)	Meddelt	2008.07.07			
(73)	Innehaver	Novogen Research Pty Ltd, 140 Wicks Road, North Ryde, NSW2113 SYDNEY, AU			
(72)	Oppfinner	George Eustace Joannou, 21 Kooloona Crescent, NSW2063 WEST PYMBLE, AU			
		Graham Edmund Kelly, 47 Coolawin Street, NSW2063 NORTHBRIDGE, AU			
(74)	Fullmektig	Onsagers AS, Postboks 6963 St Olavs Plass, 0130 OSLO			
(54)	Benevnelse	Terapeutiske fremgangsmåter og blandinger som inneholder isoflavoner			
(56)	Anførte publikasjoner	DE 4432947 A1, JP 62106016 A, JP 62106017 A, Pro Soc Exp Biol Med. (1995) 208 (1) 124-30 US 5523087, WO 93/23069 A1, WO 94/423716 A1			
(57)	Sammendrag				

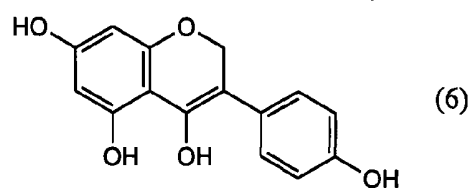
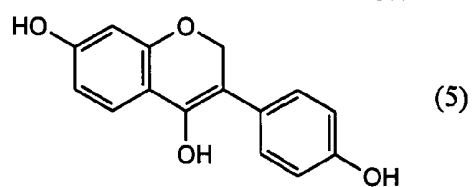
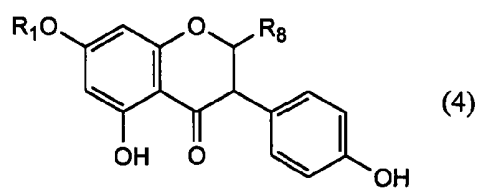
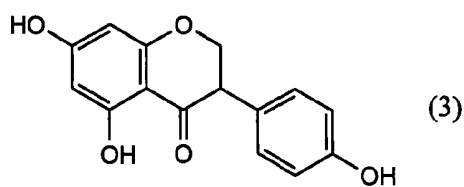
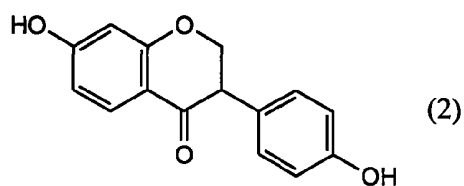
Det er beskrevet terapeutiske behandlingsmetoder, blandinger og matvarer som inneholder isoflavonforbindelser beskrevet med den generelle formel (1) hvor Z er H, R₁ er H eller R_ACO hvor R_A er C₁₋₁₀alkyl eller en aminosyre, R₂ er H, OH eller OR_B hvor R_B er en aminosyre, eller COR_A hvor R_A er som definert tidligere, W er H, A er H eller OH, og B er valgt fra (a), (b), (c), eller W er H, og A og B er sammen en seksleddet ring valgt fra (d), eller W, A og B sammen med de grupper med hvilke de er assosiert, innbefatter (e), eller W og A sammen med de grupper med hvilke de er assosiert, innbefatter (f) og B er (g) hvor R₃ er H, COR_A hvor R_A er som definert tidligere, C_O2R_C hvor R_C er C₁₋₁₀alkyl, eller COR_B hvor R_B er som definert tidligere, R₄ er H, COR_D hvor R_D er H, OH, C₁₋₁₀alkyl eller en aminosyre, CO₂R_C hvor R_C er som definert tidligere, COR_E hvor R_E er H, C₁₋₁₀alkyl eller en aminosyre, COOH, COR_C hvor R_C er som definert tidligere, eller CONHR_E hvor R_E er som definert tidligere, R₅ er H, CO₂R_C hvor R_C er som definert tidligere, eller COR_COR_E hvor R_C og R_E er som definert tidligere, og hvor de to R₅-gruppene som er knyttet til den samme gruppen kan være like eller forskjellige, R₆ er H eller hydroksyC₁₋₁₀alkyl, X er fortrinnsvis O, men kan være N eller S, og Y er (h) hvor R₇ er H eller C₁₋₁₀alkyl.



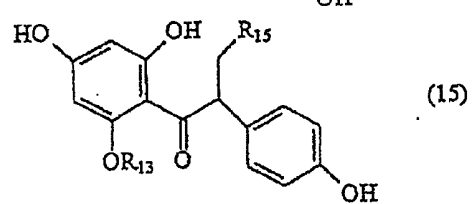
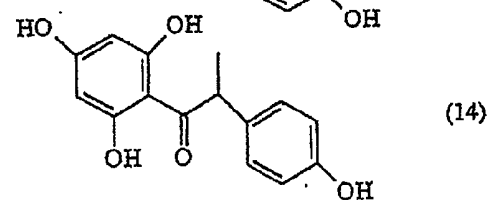
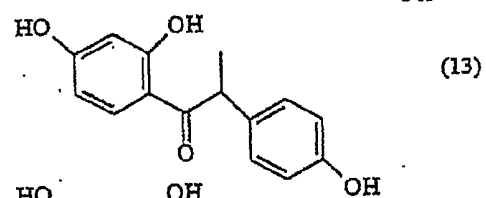
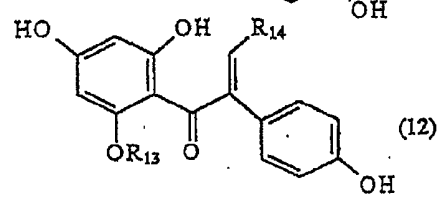
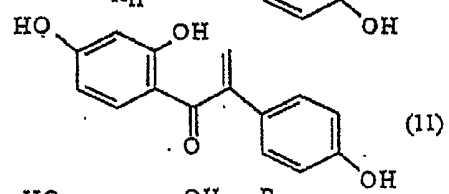
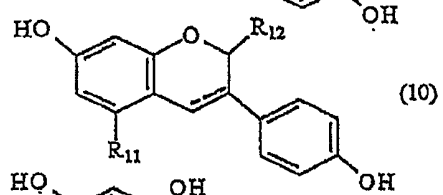
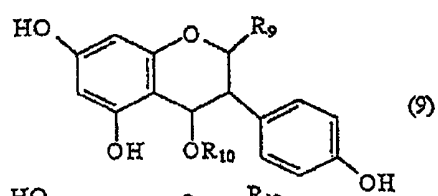
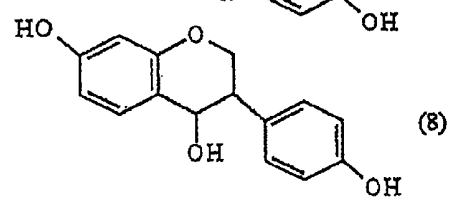
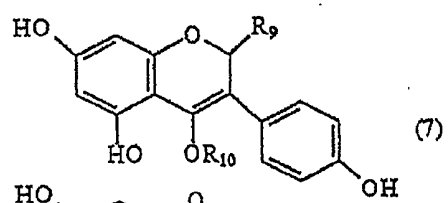
Foreliggende oppfinnelse angår terapeutiske anvendelser av isoflavonforbindelser til fremstilling av et legemiddel for behandling eller profylakse av kreftsykdom.

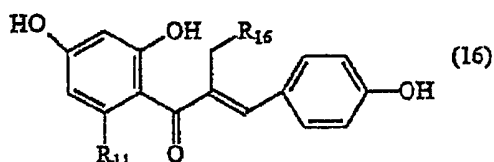
Isoflavonforbindelsene som anvendes ifølge foreliggende oppfinnelse er kjennetegnet ved følgende formler:

5



10





hvor

R_1 er H eller R_ACO hvor R_A er C_{1-10} alkyl eller en aminosyre

R_8 er COR_D hvor R_D er H, OH, C_{1-10} alkyl eller en aminosyre

5 R_9 er CO_2R_C eller COR_E hvor R_C er C_{1-10} alkyl og R_E er H, C_{1-10} alkyl eller en aminosyre,

R_{10} er COR_C eller COR_CCOR_E hvor R_C og R_E er som definert tidligere,

R_{11} er H eller OH,

10 R_{12} er H, $COOH$, CO_2R_C hvor R_C er som definert tidligere, eller $CONHR_E$ hvor R_E er som definert tidligere,

R_{13} er OH, OR_B hvor R_B er en aminosyre eller COR_A hvor R_A er som definert tidligere,

R_{14} er H, eller COR_A hvor R_A er som definert tidligere,

R_{15} er COR_A hvor R_A er som definert tidligere,

15 R_{16} er H, COR_B eller CO_2R_C hvor R_B og R_C er som definert tidligere, og «----» representerer enten en enkeltbinding eller en dobbeltbinding.

Alkylgruppene kan være rette eller grenede kjeder. C_{1-10} alkyl inneholder fortrinnsvis fra 1 til 5 karbonatomer, mest foretrukket metyl, etyl eller propyl.

20 Visse av de ovennevnte forbindelser kan betegnes ved hjelp av navnene dihydrodaidzein (forbindelse 1 hvor R_8 er H), dihydrogenestein (forbindelser 2 og 5), dehydro-O-desmetylangolensin (forbindelse 11), tetrahydrodaidzein (forbindelse 8), equol og dehydroequol (forbindelse 10), O-desmetyl-angolensin (ODMA-forbindelse 13), og 6-hydroksey-O-desmetylangolensin(6-hydroksey-ODMA-forbindelse 14).

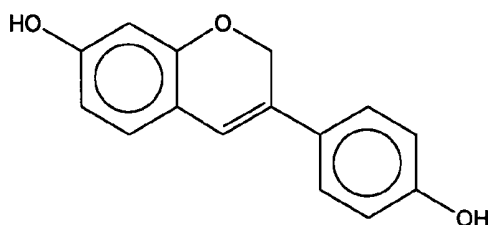
25 Oppfinnerne har overraskende funnet at forbindelser angitt over har spesiell anvendbarhet og effektivitet ved behandling og profylakse av kreftsykdom. Nærmere bestemt omfatter oppfinnelsen i følge et aspekt en avendelse av de ovenfor angitte forbindelsene til fremstilling av et legemiddel til behandling av kreftsykdommer slik som hormonresponsiv kreft eller metastatisk krefttilstand.

30 I følge et aspekt ved oppfinnelsen er kreftsykdommen brystkreft, uteruskreft, ovariekreft, testikkelkreft, tarmkreft, endometriekreft, prostatakreft og leukemi.

I følge et aspekt av oppfinnelsen gjelder anvendelsen fremstilling av et medikament som angitt over for behandling eller profylakse assosiert med kreftcelleapoptose.

I følge et annet aspekt av oppfinnelsen gjelder anvendelsen fremstilling av et medikament som angitt over for behandling eller profylakse assosiert med kreftnekrose. I følge et enda et annet aspekt av oppfinnelsen gjelder anvendelsen fremstilling av et medikament som angitt over for behandling eller profylakse assosiert med inhibisjon av kreftcellevekst.

I følge et ytterligere aspekt angår oppfinnelsen en anvendelse av en eller flere av forbindelsene er valgt fra formel 8 og 10. I henhold til et ytterligere aspekt angår oppfinnelsen anvendelse av forbindelsen dehydroequol med strukturen:



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

Den mengden av forbindelsene (2) – (16) I som er anvendelig i en terapeutisk behandling ifølge foreliggende oppfinnelse, vil være avhengig av en rekke faktorer, som blant annet innbefatter den spesifikke anvendelsen, type av forbindelse som brukes, den tilstand som behandles, hvorledes forbindelsen administreres samt pasientens tilstand. Vanligvis vil daglig dose pr. pasient ligge i området fra 1,0 mg til 2 g, typisk fra 0,5 mg til 1 g, fortrinnsvis fra 50 mg til 200 mg.

Forbindelser med (2) – (16) kan brukes på en slik måte og i de mengder som vanligvis praktiseres innenfor den farmasøytiske industri. Se f.eks. Goodman og Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 1299 (7.utgave 1985). Den spesifikke dose som anvendes vil være avhengig av den tilstand som behandles, pasientens tilstand, administreringsstype og andre velkjente faktorer slik dette er angitt ovenfor.

Et aspekt av oppfinnelsen gjelder anvendelse av i det minste en av de ovenfor nevnte forbindelsene (2) – (16) til fremstilling av et medikament som blir administrert i en daglig dose på 0,1 mg til 2000 mg. I følge et annet aspekt er den daglige dose er 50 mg til 500 mg.

Fremstillingen av en farmasøytisk blanding eller preparat for behandling av de terapeutiske indikasjonene som er beskrevet her (av hensiktsmessighets grunner heretter betegnet som «de aktive forbindelser»), er av typisk og vanlig type ved at de behandles med en eller flere farmasøytisk eller veterinærmessig akseptable bærere og/eller fortynningsmidler av velkjent type.

I følge enda et aspekt fremstilles et medikament i henhold til anvendelsen hvori nevnte minst ene forbindelse med formel (2)-(16) blir administrert sammen med en farmasøytisk akseptabel bærer og/eller eksipient.

5 Bæreren må selvsagt være akseptabel i den forstand at den er forenlig med eventuelt andre bestanddeler i apparatet eller blandingen og må ikke være skadelig for pasienten. Bæreren eller fortynningsmidlet kan være et faststoff eller en væske eller begge deler, og blir fortrinnsvis opparbeidet med forbindelsen som en enhetsdose, f.eks. i form av en tablett, som kan inneholde fra 0,5% til 59 vekt-% av den aktive forbindelse, eller opptil 100 vekt-% av den aktive forbindelsen. En eller flere 10 aktive forbindelser kan inkorporeres i preparater ifølge foreliggende oppfinnelse, og disse kan fremstilles på enhver velkjent måte innenfor den farmasøytiske industri, og hvor fremgangsmåten i alt vesentlig består i at man blander komponentene, eventuelt tilsetter en eller flere andre bestanddeler eller ingredienser.

15 Legemidler som fremstilles i henhold til den foreliggende anvendelse innbefatter de som er egnet for oral, rektal, optisk, buccal (f.eks. sublingual), parenteral (f.eks. subkutan, intramuskulær, intradermal eller intravenøs) og transdermal administrering, skjønt den mest egnete vei i et gitt tilfelle vil være avhengig av type og grad av den tilstand som behandles og type av den spesielle aktive forbindelse som anvendes. Et aspekt ved oppfinnelsen omfatter således anvendelsen av 20 forbindelsene (2) – (16) til fremstilling av et preparat for behandling eller profylakse av kreftsykdommer, hvori preparatet er oralt, rektalt, parenteralt, transdermalt, intradermalt eller topisk medikament.

Preparater som er egnet for oral administrering kan være til stede som diskrete enheter, f.eks. som kapsler, pulverkapsler, drops eller tabletter som da inneholder en 25 forutbestemt mengde av den aktive forbindelsen; som et pulver eller granulater; som en løsning eller en suspensjon i en vandig eller ikke-vandig væske; eller som en olje-i-vann- eller vann-i-olje-emulsjon. Slike preparater kan fremstilles ved hjelp av enhver egnet fremgangsmåte av velkjent type, som innbefatter å bringe sammen den aktive forbindelsen og en egnet bærer (som kan inneholde en eller flere andre 30 ingredienser som angitt ovenfor). Vanligvis vil preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse bli fremstilt ved at man ensartet og tett blander den aktive forbindelsen med en væske eller en finfordelt fast bærer eller begge deler, og hvis nødvendig, former den resulterende blandingen til en enhetsdose. For eksempel kan en tablett fremstilles ved å presse eller støpe et pulver eller granulater inneholdende den 35 aktive forbindelsen, eventuelt med en eller flere andre ingredienser. Pressede tabletter kan fremstilles ved å presse i en egnet maskin, hvor forbindelsen er i form av et frittflytende pulver eller granulater eventuelt blandet med et bindemiddel, smøremiddel, inert fortynningsmiddel og/eller overflateaktive dispergeringsmidler. Støpte tabletter kan fremstilles ved å støpe i en egnet maskin den pulveriserte 40 forbindelsen fuktet med et inert flytende bindemiddel.

Preparater som er egnet for buccal (sublingual) administrering innbefatter drops som inneholder den aktive forbindelsen i en smaksbase, vanligvis sukrose og akasia eller tragakant; og pastiller som inneholder forbindelsen i en inert base så som gelatin og glycerin eller sukrose og akasia.

- 5 Preparater ifølge foreliggende oppfinnelse som er egnet for parenteral administrering kan hensiktsmessig innbefatte sterile vandige preparater av den aktive forbindelsen, og hvor preparatene fortrinnsvis er isotoniske med pasientens blod. Slike preparater blir fortrinnsvis tilført intravenøst, skjønt administreringen eller tilførselen kan også utføres ved hjelp av en subkutan, intramuskulær eller
- 10 intradermal injeksjon. Slike preparater kan hensiktsmessig fremstilles ved å blande forbindelsen med vann eller et glycinbuffer og gjøre den resulterende løsningen steril og isotonisk med blodet. Injiserbare preparater ifølge foreliggende oppfinnelse vil vanligvis inneholde fra 0,1% til 60 % vekt/volum av den aktive forbindelsen og administreres i en mengde på 0,1 ml/minutt/kg kroppsvekt.

- 15 Preparater som er egnet for rektal administrering blir fortrinnsvis fremstilt som enhetsdosesympositorier. Disse kan fremstilles ved å blande den aktive forbindelsen med en eller flere vanlig kjente faste bærere, f.eks. kakaosmør, og så forme den resulterende blandingen.

- 20 Preparater eller blandinger som er egnet for topisk administrering på huden bør fortrinnsvis være i form av en salve, krem, væskeløsning, pasta, gel, spray, en aerosol eller olje. Bærere som kan brukes innbefatter vaselin, lanolin, polyetylenglykol, alkoholer og kombinasjoner av to eller flere av disse. Den aktive forbindelsen vil vanligvis være til stede i en konsentrasjon fra 0,1% til 0,5% vekt/vekt, f.eks. fra 0,5% til 2% vekt/vekt. Eksempler på slike preparater innbefatter
- 25 kosmetiske hudkremer.

- Preparater som er egnet for transdermal administrering kan være til stede som adskilte plastre tilpasset til å være i intim kontakt med epidermis hos pasienten i et lengre tidsrom. Slike plastre kan egnet inneholde den aktive forbindelsen som en eventuelt bufret vandig løsning, med 0,1 molar til 0,2 molar konsentrasjon med
- 30 hensyn til den aktive forbindelsen.

- Preparater som er egnet for transdermal administrering kan også tilføres ved hjelp av iontoforese (se f.eks. Pharmaceutical Research 3 (6) (1986)), og vil vanligvis være i form av en eventuelt bufret vandig løsning av den aktive forbindelsen. Egnete preparater inneholder citrat eller bis/tris-buffer (pH 6) eller etanol/vann og
- 35 kan inneholde fra 0,1 molar til 0,2 molar av den aktive ingrediensen.

Den aktive forbindelsen kan også tilveiebringes i form av matvarer som f.eks. kan tilsettes, blandes med, belegges eller blandes med andre matvarer. Begrepet matvarer brukes i sitt videste begrep og innbefatter flytende blandinger og forskjellige drikkevarer så som meieriprodukter og andre matvarer, f.eks.

helseprodukter, desserter etc. Matvareblandinger som inneholder forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse kan fremstilles ved hjelp av kjente fremgangsmåter.

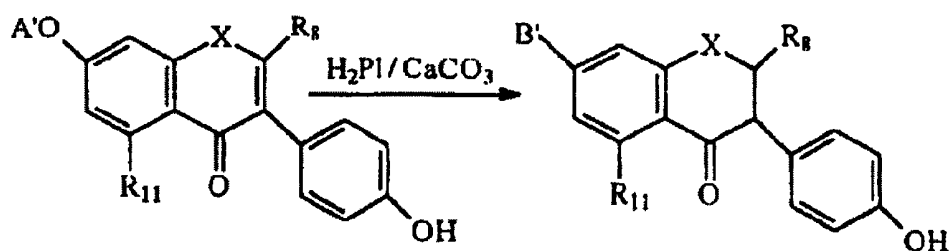
Forbindelser som anvendes i henhold til den foreliggende oppfinnelse har sterk antioksidantaktivitet og vil således finne vid anvendelse både farmasøytisk og veterinærmessig, kan anvendes i kosmetika så som hudkremer for å hindre elding av huden, i solkremer, i matvarer, i helsedrikker, i sjampoer og lignende.

Det er overraskende funnet at forbindelser som anvendes i følge den foreliggende oppfinnelse virker synergistisk med vitamin E for å beskytte lipider, proteiner og andre biologiske molekyler mot oksidasjon. Et ytterligere aspekt ved oppfinnelsen således en anvendelse av forbindelsene med formel (2) – (16), hvori det fremstilles et medikament slik at nevnte minst ene forbindelse med formel (2)-(16) blir administrert med vitamin E.

Terapeutiske fremgangsmåter, anvendelser og blandinger eller preparater kan være for administrering til mennesker eller dyr, så som kjæledyr eller husdyr (f.eks hunder og katter), fugler (så som kyllinger, kalkun, ender), husdyr (så som kveg, sauer, svin og geiter) og lignende.

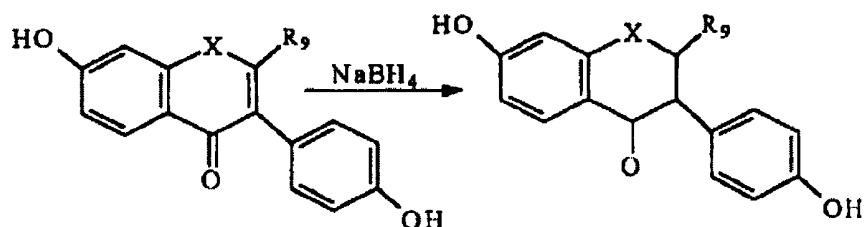
Forbindelser som de omfattet av den foreliggende oppfinnelse kan fremstilles som følger:

A. Hydrogenering av daidzein, genistein eller derivater av disse ved å bruke palladium på kalsiumkarbonat som følger



hvor A' er H eller R₁ hvor R₁ er som definert tidligere, og R₈ og R₁₁ og X er som definert tidligere. Forbindelsene 2, 3, 4, 5, 6 og 7 kan fremstilles ved denne fremgangsmåten. Forbindelsene 5-7 er enolformer av forbindelsene 2-4.

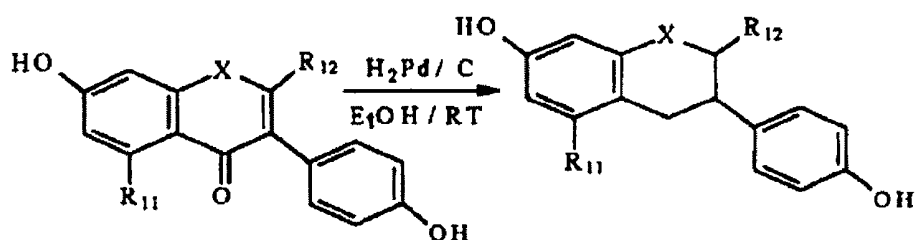
B. Reduksjon av daidzein og daidzeinderivater med natriumborhydrid som følger:



5

hvor R_9 og X er som definert tidligere. Forbindelse 8 kan fremstilles ved denne fremgangsmåten.

C. Hydrogenering av daidzein og daidzeinderivater ved å bruke palladium på trekull som katalysator.

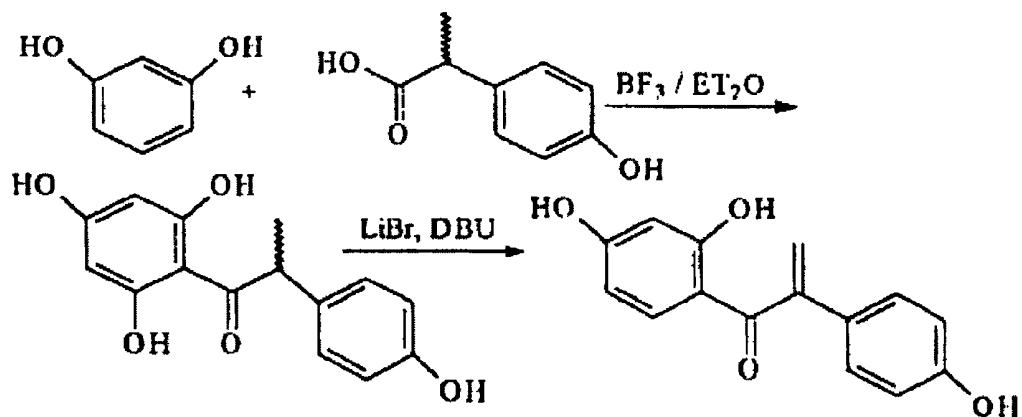


10

hvor R_{11} og R_{12} er som definert tidligere. Forbindelse 10 kan fremstilles ved hjelp av denne fremgangsmåten.

D. Acylering av resorcinol eller derivater av denne fulgt av en dehydrogenering med litumbromid.

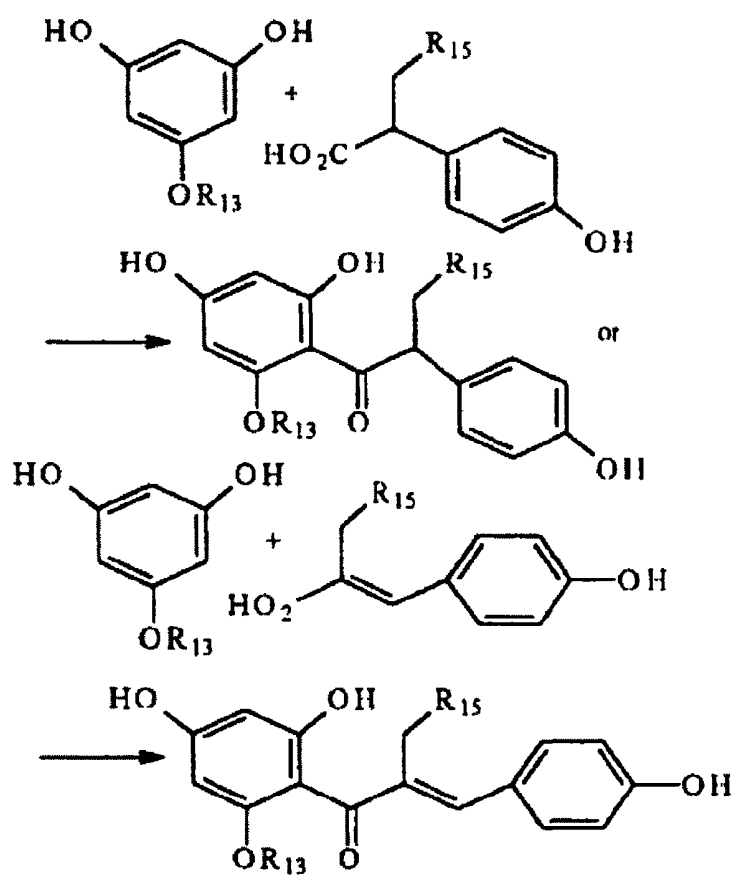
15



Forbindelsene 11 og 14 kan fremstilles ved denne metoden. Forbindelse 12 kan fremstilles på en lignende måte.

E. Acylering av 1, 3 og 5 trisubstituert benzen med 4-hydroksy-fenylisopropylsyre eller derivater av denne.

5



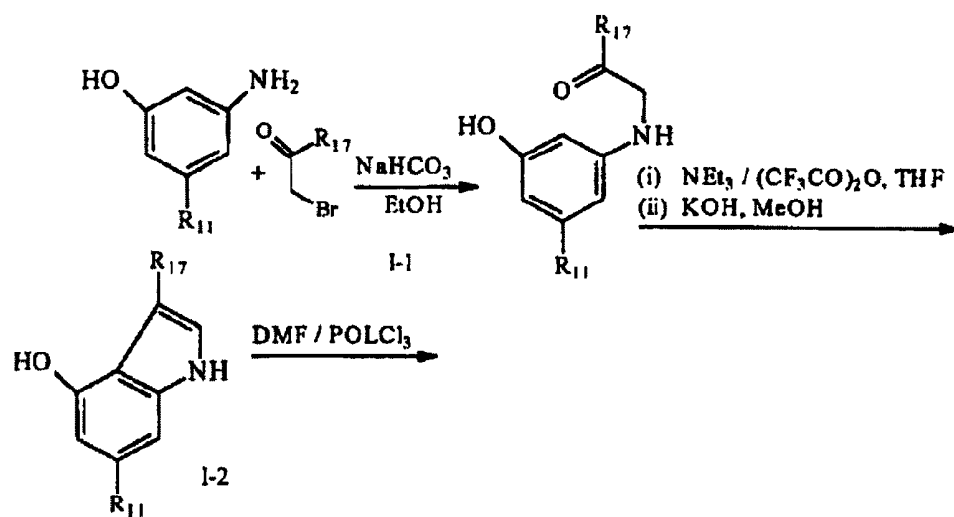
10

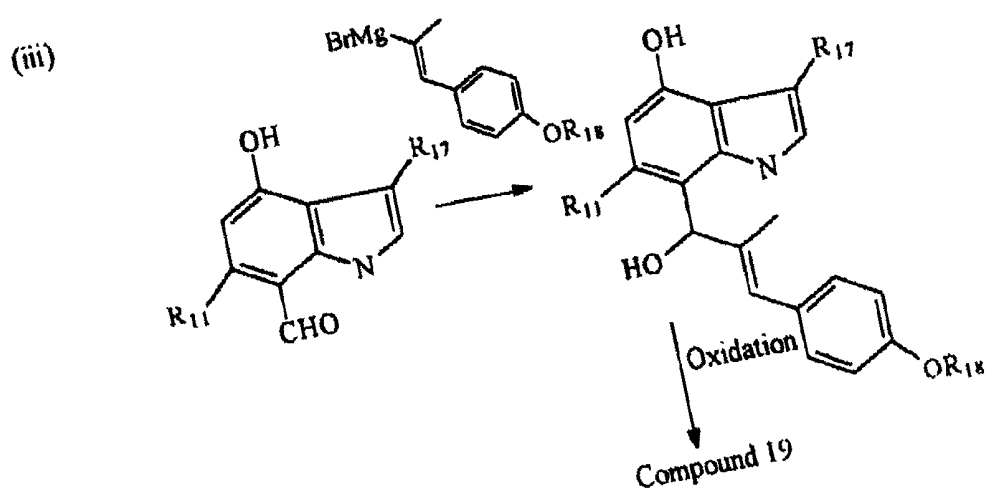
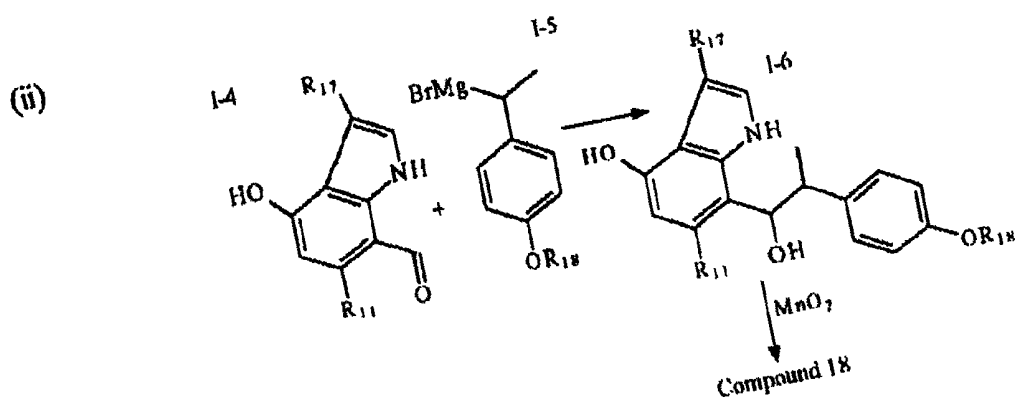
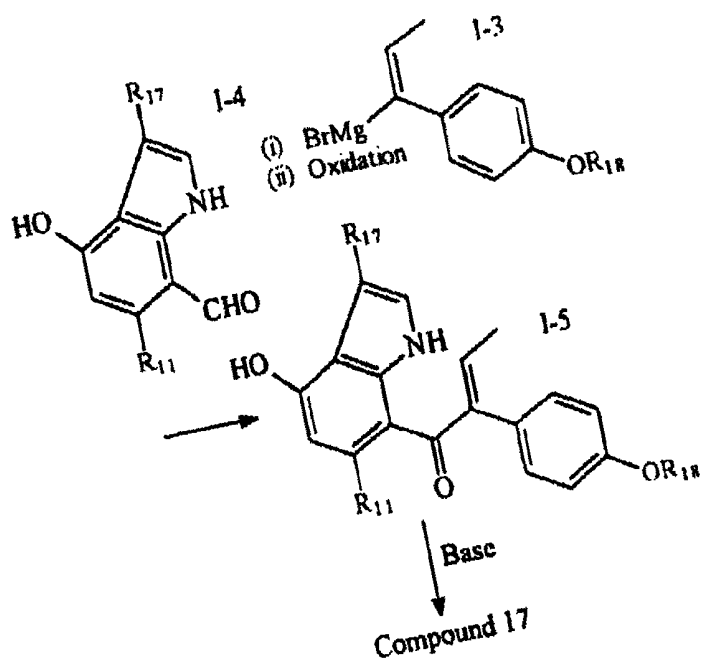
hvor R₁₃ og R₁₅ er som definert tidligere. Forbindelser 15 og 16 kan fremstilles ved denne metoden.

15

F. Forbindelsene med formlene 17, 18 og 19 kan fremstilles ved hjelp av de følgende reaksjonsskjemaer.

(i)





hvor R_{11} , R_{17} og R_{18} er som tidligere definert.

G. HPLC-fraksjonering av human urin eller urinflaksjoner av HPLC/GLC-fraksjonering av bakteriekultur-supernatanter, for derved å få fremstilt rensede forbindelser med formlene 1-19. Produktidentitet er blitt bekreftet ved massespektrometri. Forbindelser med formler 1-19 kan renses ved hjelp av de fremgangsmåter som er beskrevet av Joannou et al. (1995) J. Steroid. Biochem. Molec. Biol. 54, 167-184, som her inngår som en referanse.

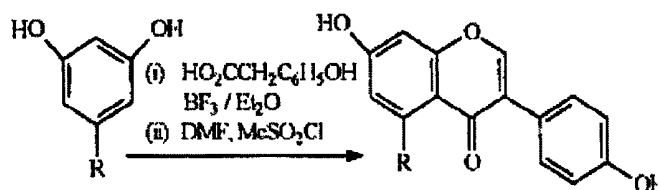
Foreliggende oppfinnere har overraskende observert at nærværet av isoflavonoider i kroppssekreter, mer spesielt isoflavonoidmetabolitter i pasientens urin, er forbundet med en spesifikk terapeutisk reaksjon, medisinsk tilstand eller fravær av en spesifikk medisinsk tilstand. Bestemmelse av det spesifikke biologiske fingeravtrykket med hensyn til forskjellige isoflavonoider som er utskilt av de individuelle pasienter, gjør det mulig å gjennomføre terapeutiske behandlingsmetoder.

Utførelser av oppfinnelsen vil nå bli beskrevet med henvisning til de følgende ikke-begrensende eksempler.

EKSEMPEL 1

Daidzein og genistein

Daidzein kan fremstilles ved en Friedel-Crafts-acylering av resorcinol med 4-hydroksy-fenyleddiksyre ved å bruke bortrifluorideterat som katalysator, og deretter utføre en behandling med DMF og metansulfonylchlorid i et utbytte på 72% ved hjelp av den fremgangsmåten som er beskrevet av Wähälä's (Finnish Chem. Letter 1989, 16, 79). Skjønt genistein er kommersielt tilgjengelig, så er det en meget kostbar forbindelse. Den kan imidlertid syntetiseres ved hjelp av samme fremgangsmåte som beskrevet for daidzein, ved å bruke 1,3,5-trihydroksybenzen istedenfor resorcinol.

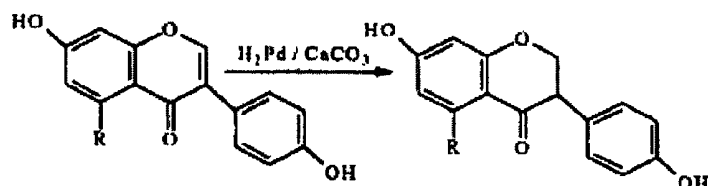


og hvor produktet er daidzein når R er H, og genistein når R er OH.

Dihydrodaidzein og dihydrogenistein (forbindelsene 2 og 3 henholdsvis)

Hydrogenering av daidzein og genistein ved å bruke palladium på kalsiumkarbonat som katalysator gir dihydrodaidzein og dihydrogenistein i godt utbytte.

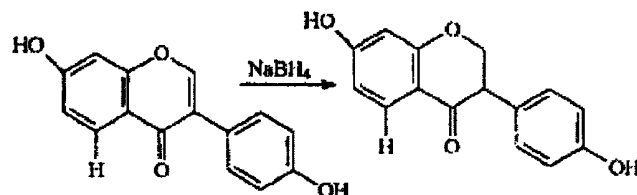
5



hvor produktet er dihydrodaidzein når R er H og dihydrogenistein når R er OH.

Tetrahydrodaidzein (forbindelse 8)

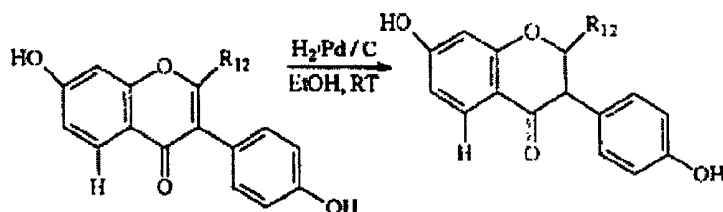
Reduksjon av daidzein med natriumborhydrid gir tittelforbindelsen



10

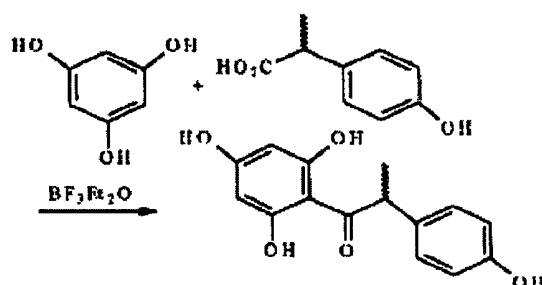
Equolderivater (forbindelse 10)

Equolderivater kan fremstilles ved hydrogenering av daidzeinderivater ved å bruke palladium på trekull som katalysator (Finnish Chem. Lett. 1989, 16, 79).

6-hydroksy-O-demetylangolensin (forbindelse 14)

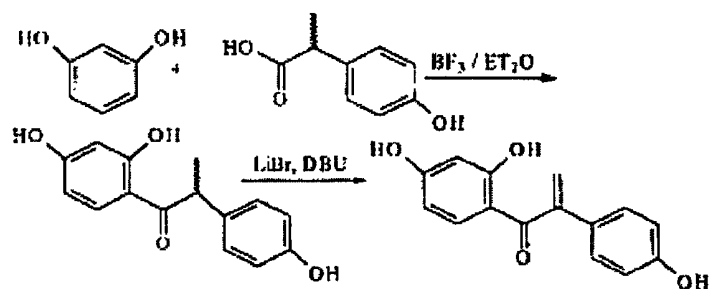
15

4-hydroksyfenylisopropylsyre kan acyleres med 1,3,5-trihydroksybenzen, noe som gir tittelforbindelsen.



2-dehydro-O-demetylangolensin (forbindelse 11)

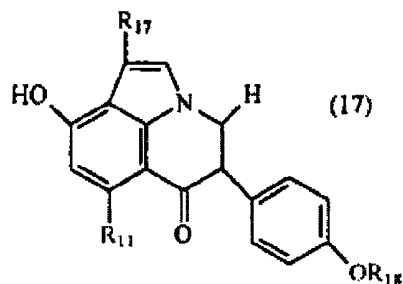
Tittelforbindelsen kan fremstilles ved å acylere resorcinol og deretter dehydrogenere produktet slik det er vist nedenfor.



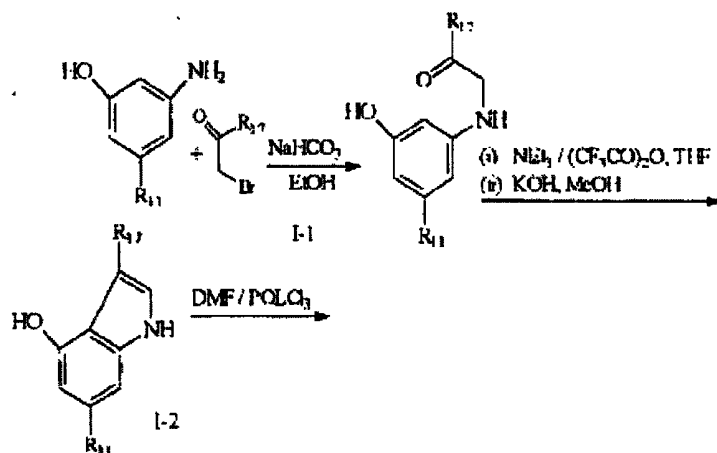
5

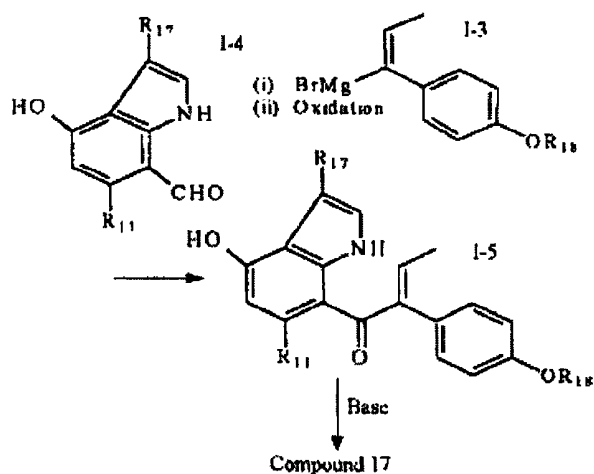
Den foreliggende beskrivelse omhandler også forbindelsene med formlene 17, 18 og 19 kan fremstilles som følger:

Forbindelse 17



- 10 Forbindelser med formel 17 kan fremstilles ved hjelp av det følgende reaksjonsskjema





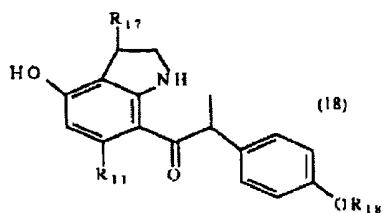
hvor R_{11} , R_{17} og R_{18} er som tidligere definert.

Indol I-2 fremstilles som vist ovenfor ved hjelp av fremgangsmåten til Black et al. (Aust. J. Chem. 33 (1980), sidene 343-350), og som her inngår som referanse.

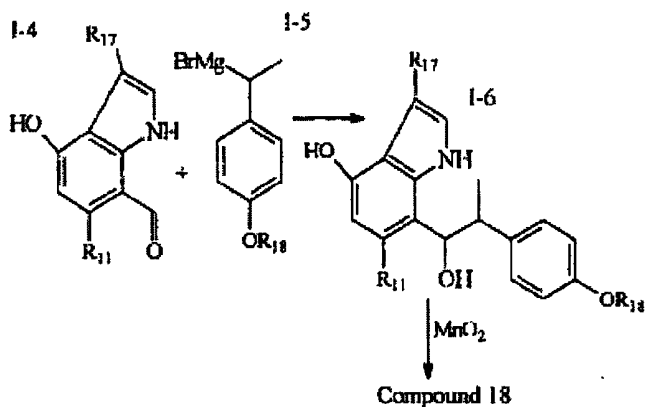
- 5 Indol I-4 fremstilles ved Vilsmeier-reaksjonen. Elektrofilt angrep i 7-C-stillingen er foretrukket fremfor ved 2-C-stillingen når det er en elektrontiltrekkende gruppe i 3-C-stillingen. Nukleofil addisjon av aldehyd med en Grignard-reagens i I-3 gir den sekundære alkoholen som ved oksidasjon med MnO_2 gir ketonet I-5 og med svake baser forbindelser med formel 17.

10

Forbindelse 18



Forbindelser med formel 18 kan fremstilles ved hjelp av det følgende reaksjonsskjema:

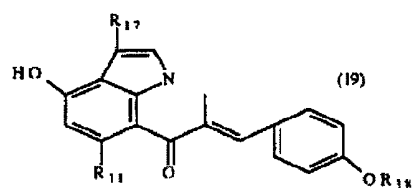


hvor R_{24} , R_{25} og R_{26} er som definert tidligere.

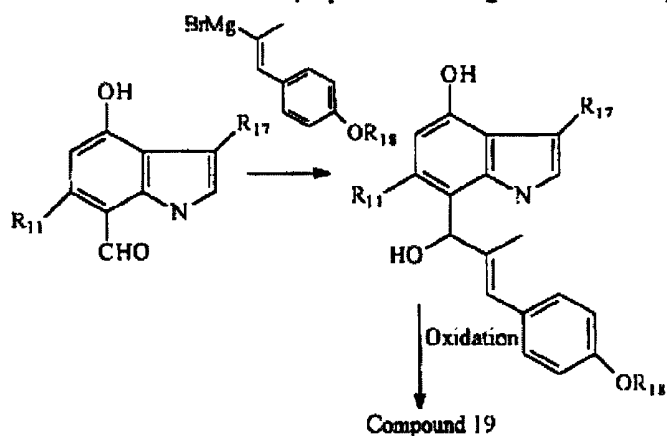
Nukleofil addisjon av 7-aldehydindol I-4 med Grignard-reagens I-5 gir alkoholen I-6 som ved en oksidasjon med MnO_2 gir forbindelser med formel 18.

5

Forbindelse 19



Forbindelser med formel 19 kan fremstilles ved hjelp av det følgende reaksjonsskjema:

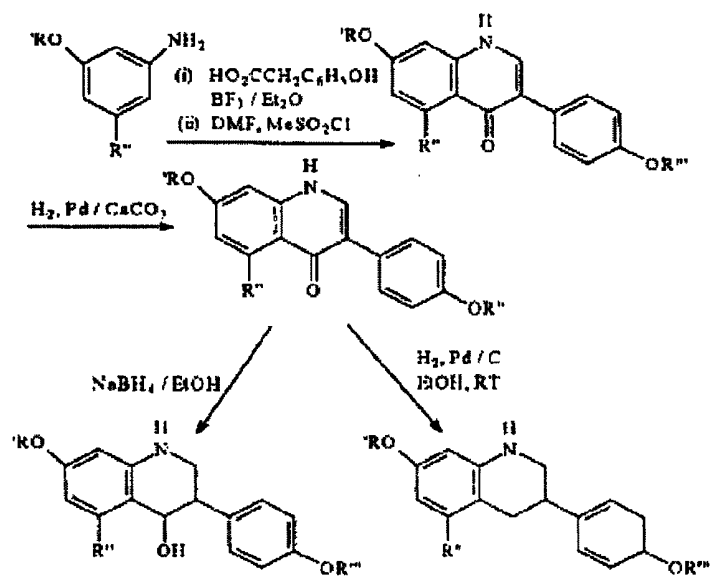


10

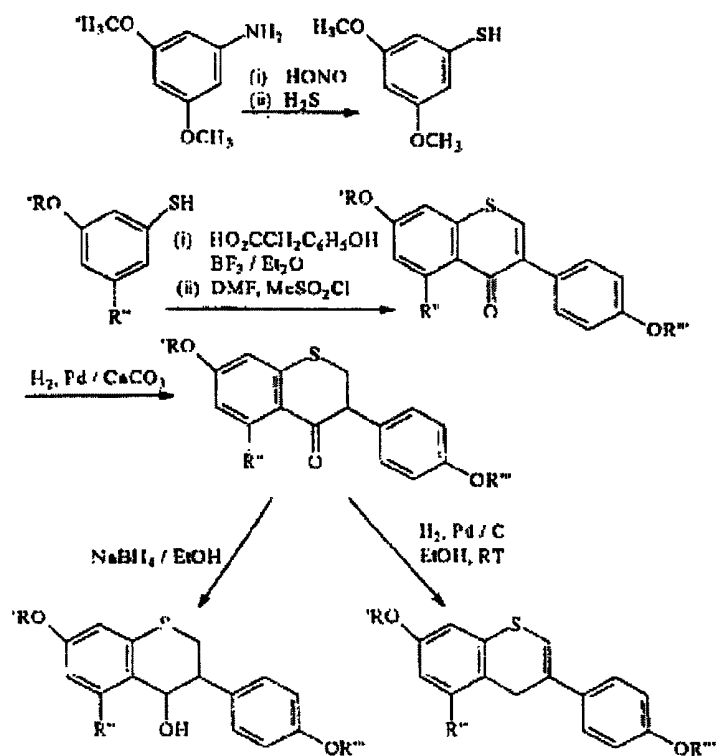
hvor R_{11} , R_{17} og R_{18} er som definert tidligere.

EKSEMPEL 2

Nitrogen og svovelholdige heterosykliske systemer kan syntetiseres som angitt i de følgende reaksjonsskjemaer:



- 5 hvor R' er H eller $-\text{OC}_{1-10}\text{alkyl}$, R'' er OH eller $\text{OC}_{1-10}\text{alkyl}$ og R''' er H eller $\text{OC}_{1-10}\text{alkyl}$.



hvor R', R'' og R''' er som definert tidligere.

5

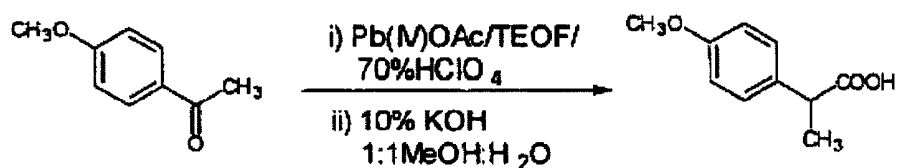
EKSEMPEL 3

1: Syntese av ODMA (O-desmetylangolensin 2,4,4'-trihydroksyfenyl- α -metyldesoksybenzoin). Forbindelse 13.

1.1: 2-(p-metoksyfenyl)propionsyre

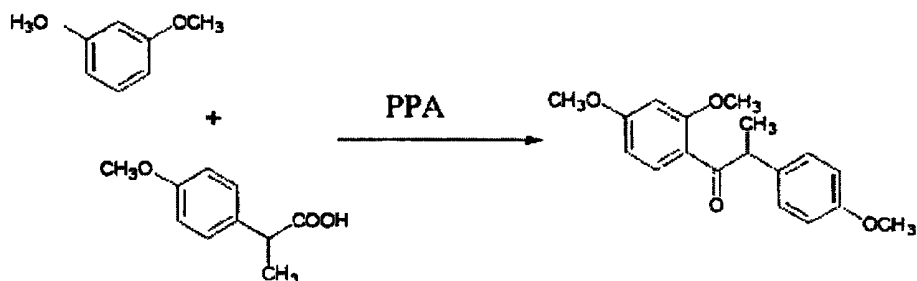
En blanding av p-metoksypropiofenon (2,39 g, 14,5 mmol), 90% bly(IV)acetat
 10 (6,45 g, 14,5 mmol), 15 ml trietylortoformat og 70% perklorsyre (1,2 ml, 29 mmol)
 ble holdt på 55°C i 18 timer. Blandingen ble avkjølt og trietylortoformatet ble
 fjernet under redusert trykk. Resten ble løst i kloroform, og det gjenværende
 bunnfall ble frafiltret og kastet. Kloroformløsningen ble så vasket med vann og
 fordampet, noe som ga den urene esteren. Denne ble løst i 10% KOH 1:1
 15 vann:metanol-løsning, og ble så kokt ved tilbakesløp i 3 timer. Etter avkjøling ble
 etanolen fordampet under redusert trykk, og den vandige løsningen ble vasket med
 3x25 ml dietyleter. Den vandige løsningen ble så surgjort med 2NH₂SO₄ og så igjen
 vasket med 3x25 ml dietyleter. De samlede fraksjoner fra de andre etervaskingen
 ble tørket over natriumsulfat og fordampet, noe som ga propionsyre (1,66 g, 63%).

20



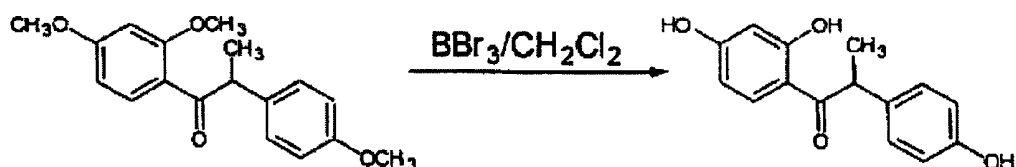
1.2: 2,4,4'-trimetoksy- α -metyldesoksybenzoin

2-(p-metoksyfenyl)propionsyre (0,39 g, 4 mmol) og 1,3-dimetoksybenzen (0,5 g,
 0,5 ml, 4 mmol) ble blandet i 10 g polyfosforsyre (PPA) og reaksjonsblandingen ble
 25 mekanisk rørt ved 75°C i 5 timer. Den ble så avkjølt til romtemperatur og mekanisk
 rørt i ytterligere 12 timer. Reaksjonen ble så stoppet ved isvann, og produktet ble
 ekstrahert med 3x25 ml kloroform. Kloroformlaget ble tørket over natriumsulfat og
 løsemidlet fjernet under redusert trykk. Råproduktet ble rensset ved silikagel-
 kolonnekromatografi (elueringsmiddel 7:2 metylenklorid:etylacetat) noe som ga det
 30 rene 2,4,4'-trimetoksy- α -metyldesoksybenzoin (0,68 g, 58%).



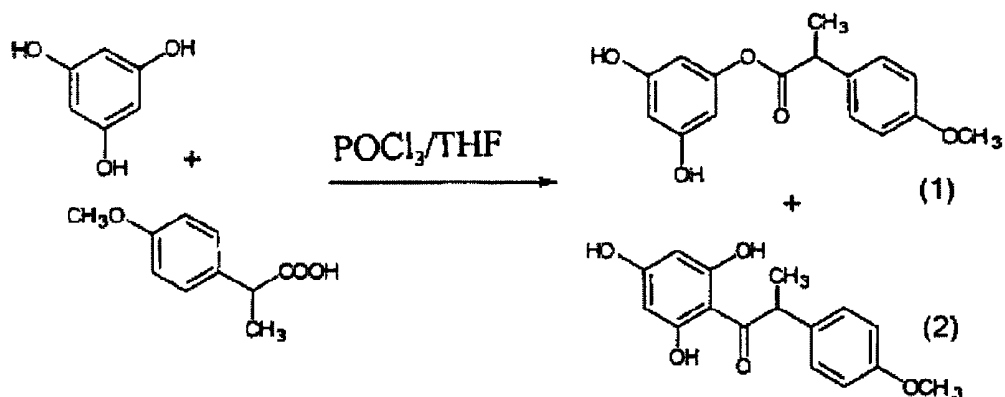
1.3. 2,4,4'-trihydroksyfenyl- α -metyldesoksybenzoin (O-desmetylanolensin eller O-DMA)

- 2,4,4'-trimetoksy- α -metyldesoksybenzoin (0,312 g 1,04 mmol) ble løst i 10 ml tørr metylenklorid. Løsningen ble så tilsatt 5 ekvivalenter 1,0 molar BBr_3 i heksan (1,3 g, 5,2 ml, 5,2 mmol), og reaksjonsblandingen ble rørt under nitrogen i 6 døgn ved romtemperatur. Reaksjonen ble stoppet med isvann og etter røring i 1 time ble produktet ekstrahert ved 3x25 ml dietyleter. Eterlaget ble tørket over natriumsulfat og løsemidlet fjernet under redusert trykk. Det gjenværende råproduktet ble renset ved silikagel-kolonnekromatografi (elueringsmiddel 7:1 metylenklorid:etylacetat), noe som ga det rene 2,4,4'-trihydroksyfenyl- α -metyldesoksybenzoin (0,68 g, 58%).



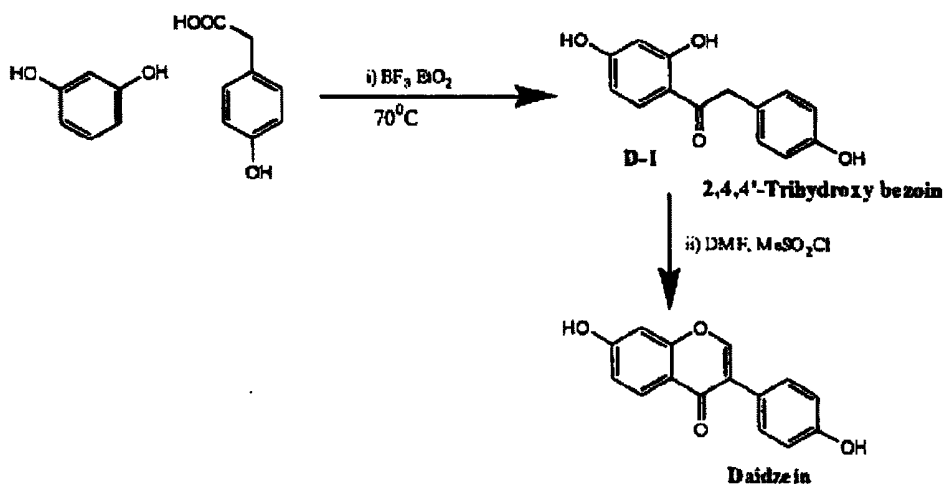
2: Syntese av 4'-metoksy 6-OH-ODMA (4'-metoksy6-OH-O-desmetylangolensin 2,4,6,4'-tetrahydroksyfenyl- α -metyldesoksybenzoin)

- 2.1: Anvendelse av POCl_3 med floroglucinol og p-metoksyfenylpropionsyren**
- 2-(p-metoksyfenyl)propionsyre (0,1 g, 0,55 mmol) og 1,1 ekvivalenter 1,3,5-trihydroksybenzen (floroglucinol) (0,077 g, 0,61 mmol) ble løst i 2 ml tørr tetrahydrofuran (THF). 1,0 ml nylig destillert POCl_3 ble tilsatt løsningen, og reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 4 døgn. Reaksjonen ble så stoppet med isvann, og produktet ble ekstrahert med 3x10 ml dietyleter. Eterlaget ble tørket over natriumsulfat og løsemidlet fjernet under redusert trykk. Det gjenværende råproduktet ble renset ved silikagel-kolonnekromatografi (elueringsmiddel 7:2 metylenklorid:etylacetat), noe som ga to produkter, nemlig esteren (1) og den forønskede 4'-metoksy-6-OH-ODMA (2).



3: Syntese av dihydrodaidzein (forbindelse 1)

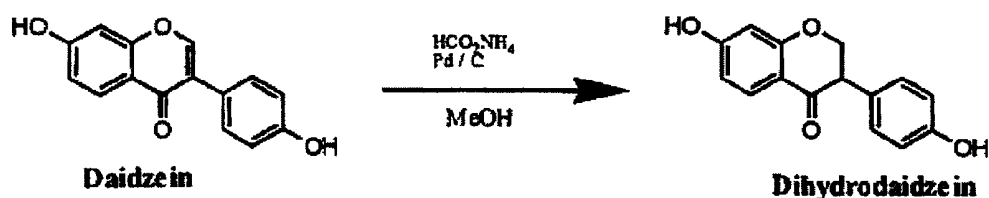
3:1. Syntese av daidzein



5

29 mmol resorcinol og 29 mmol 4-hydroksyfenyleddiksyre ble løst i 20 molekvivalenter nylig destillert bortrifluoreterat under nitrogen. Den resulterende blanding ble rørt og holdt på 70°C over natten. Reaksjonen ble kontrollert ved hjelp av TLC (80% etyleter/heksan). Den resulterende blanding ble avkjølt ved romtemperatur og så dråpevis tilsatt 46,2 ml N,N-dimetylformamid. Blandingen ble igjen holdt på 56°C i 30 minutter, og så dråpevis tilsatt 7 ml metansulfonylchlorid i 10 ml DMF, og den resulterende blandingen ble holdt på $60-70^\circ\text{C}$ inntil LC (80% etyleter/heksan) viste at reaksjonen var nesten ferdig, dvs. etter ca. 10 timer. Etter avkjøling til romtemperatur ble blandingen helt over i 400 ml isvann. Bunnfallet ble frafiltrert, og filtratet ble oppsamlet og tørket. Råproduktet ble omkrystallisert i 94% vandig etanol, og dette ga 3 g ganske rent daidzein i et utbytte på 44%.

3-2 Syntese av dihydrodaidzein

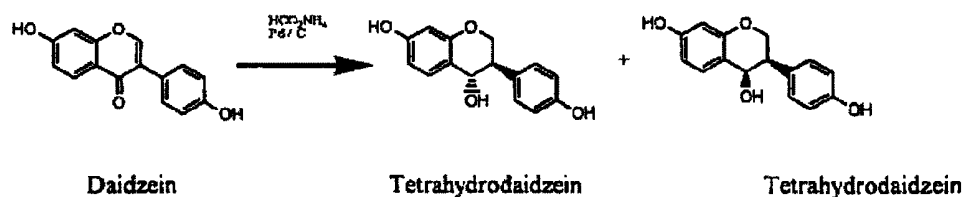


- 5 Til en løsning av daidzein (0,657 g, 2,58 mmol) i 60 ml metanol ble forsiktig tilsatt 0,657 g 10% Pd/C fulgt av ammoniumformat (0,652 g, 10,3 mmol). Blandingen ble så holdt på 50-60°C under røring i én time. Reaksjonen ble kontrollert ved hjelp av TLF (metylenklorid/etylacetat = 7:2 eller 70% etyleter/heksan) og GC. Etter at reaksjonen var ferdig ble katalysatoren frafiltrert, og filtratet ble konsentrert, noe som ga 0,558 g av et råprodukt av dihydrodaidzein som hovedprodukt og trans/cis-isomerene av tetrahydrodaidzein som mindre produkter. Dihydrodaidzeinet ble rensset ved standardmetoder.
- 10

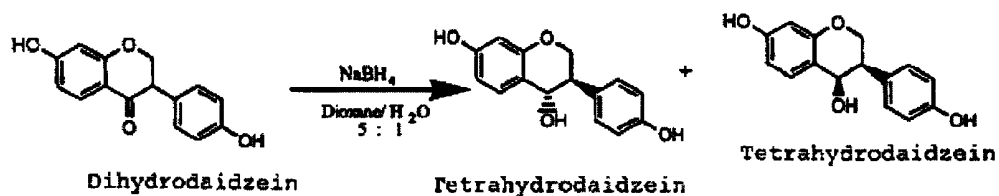
Andre fremgangsmåter for fremstilling av dihydrodaidzein som kan brukes, er f.eks. beskrevet av Jain, A. C. og Mehta, A., J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1986, 215.

15 4: Syntese av tetrahydrodaidzein trans/cis-isomerene (forbindelse 8)

4-1 Syntese av tetrahydrodaidzein trans/cis



4-2 Syntese av tetrahydrodaidzein trans/cis

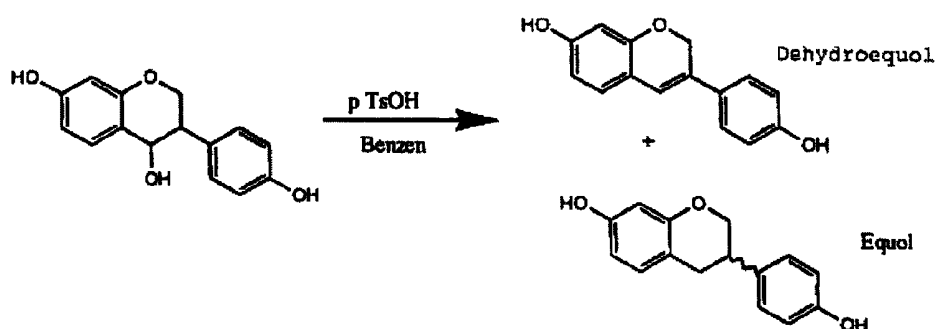


- 20 Dihydrodaidzein (0,001 g, 0,004 mmol) ble løst i 200 ml dioksan og 40 ml vann. Natriumborhydrid (0,002 g, 0,053 mmol) ble tilsatt, og den resulterende blandingen ble rørt ved romtemperatur i to timer. Overskuddet av natriumborhydrid ble så ødelagt ved hjelp av en dråpe eddiksyre, og blandingen ble fordampet til tørrhet under nitrogen. Resten ble ekstrahert med etylacetat, og det organiske lag ble vasket

med vann og så fordampet til tørrhet. Gasskromatografi viste at mesteparten av dihydrodaidzein var omdannet til tetrahydrodaidzeinet, slik dette kunne bekreftes ved GC-MS [M^+384 . (G.E. Joannou, G.E. Kelly, A.Y. Reeder, M. Waring og C. Nelson, J. Steroid. Biochem. Molec. Biol. vol. 54, nr. 3/4, s. 167-184, 1995)].

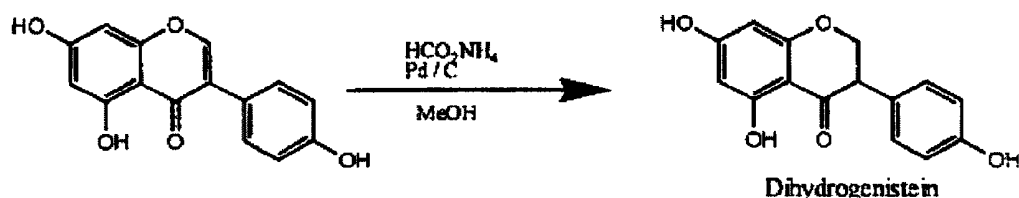
- 5 Tetrahydrodaidzein kan også syntetiseres ved å redusere dihydrodaidzein ved hjelp av natriumborhydridioksan/ H_2O (5:1) (Ref: G.E. Joannou, G.E. Kelly, A.Y. Reeder, M. Waring og C. Nelson. J. Steroid. Biochem. Molec. Biol. vol. 54, nr. 3/4, s. 167-184, 1995)].

10 5: Syntese av dehydroequol (forbindelse 10)



- 15 En blanding av tetrahydrodaidzein (0,02336 g) ble suspendert i 5 ml tørr benzen og så tilsatt 0,0487 g toluensulfonsyre. Den resulterende blandingen ble holdt på 95°C i 35 minutter, hvorefter benzenen ble fordampet, og råproduktet ble renset ved HPLC (metanol/vann = 60:40), og dette ga dehydroequol og equol. Dehydroequolet ble bekreftet ved $^1\text{H NMR}$, GS-MS og høyopløsnings-MS.

20 6: Syntese av dihydrogenistein (forbindelser 2 og 5)



- 25 Genistein (Sigma, 0,0023 g, 0,0085 mmol) ble løst i 2 ml etanol og tilsatt 0,0023 g 10% Pd/C og 0,0027 g ammoniumformat (0,043 mmol) under røring. Blandingen ble så rørt over natten. GC viste at alt utgangsmaterialet var omdannet til dihydrogenistein slik dette kunne bekreftes ved GC, GC-MS og NMR-data. Reduksjonsproduktet ble renset ved HPLC.

EKSEMPEL 4

- Urinen fra frivillige ble undersøkt ved hjelp av gasskromatografi-massespektrometri (GC-MS) slik det er beskrevet av Kelly et al. i Clinica Chemica Act (1993) 9-22, (som her inngår som referanse). De individer hvis urin inneholdt mer enn 0,5 µm og
- 5 vanligvis mellom 2,5 og 50 µm eller mer ble valgt for ytterligere undersøkelser. Prøver av feces ble oppnådd fra disse individene og det ble utført standardmikrobielle kulturer under standard feceskulturbetingelser. Mikrobielle kulturer som skiller ut forbindelser av interesse ble påvist ved hjelp av GC-MS. Organismer som skiller ut minst 50 µg av hver av forbindelsene fra 1 t.o.m. 19 ble isolert. Disse
- 10 organismene ble brukt i en mikrobiell fermentering for å fremstille forbindelsene med formlene 1 t.o.m.19. Når organismen er valgt fra én av de følgende slekter: Lactobacilli, Clostridium perfringens, Bacteroider, Candida albicans og andre gjærarter, Anaerobe cocci, Ruminococcus, Eubacterium, Peptostreptococcus, Clostridium, Bifidobacteria, Peptococcus, Streptococcus og/eller Aaerobe
- 15 streptococci, Gram-negative fakultative bakterier, Fusobacterium, så kan disse brukes direkte i matvarer, f.eks. meieriprodukter, slik at de fremstiller forbindelser med formel 1-19.

EKSEMPEL 5

- 20 Terapeutiske preparater ble fremstilt ved å blande forbindelsene med formlene 1-19 med en base av soyamel (avfettet soyamel ble kjøpt fra Edible Enhanced Protein St. Marys, Australia).
- Et rekke farmasøytiske preparater ble fremstilt som inneholdt fra 40-200 mg av den aktive forbindelsen i en dose.
- 25 For det foreliggende formål ble det fremstilt gelatinkapsler og tabletter som inneholdt 200 mg av hver av de aktive forbindelsene 1-19 i den nevnte base av soyamel, eller i en kolesterolfri yoghurtbase.

EKSEMPEL 6

- 30 **A. Behandling av vaskulære tilstander, det menopausale syndrom, varmetokter, hypertensjon, aterosklerose og hannlig impotens**
- Studier over vaskulær reaktivitet ved hjelp av aortaringer fra rotte er vanligvis ansett å kunne direkte forutsi de biologiske effekter av de brukte forbindelser ved behandlingen av de ovennevnte tilstander (Karapapanis, S. et al (1994) Heptology,
- 35 20, 6, 1516-1521). Den hemmende effekten på sammentrekningsreaksjonene i aortaringen blir målt i nærvær av det vasosammentrekkende midlet noradrenalin ifølge den fremgangsmåte som er beskrevet av Karapapanis (supra). Dihydrodaidzein (forbindelse 1), dihydrogenestein (forbindelse 2 og 5), tetrahydrodaidzein (forbindelse 8), ODMA (forbindelse 13) og equol (forbindelse

10) viser alle sterke hemmende effekter på responsen av noradrenalin, dvs. de hemmet de karsammentrekkende reaksjonene.

Etterfølgende kliniske undersøkelser har vist terapeutiske fordeler ved behandlingen av de ovennevnte betingelser ved å bruke disse forbindelsene.

5

B. Hormonresponsiv kreftbehandling - behandling av hormonrelaterte krefttyper, hvor det inngår brystkreft, eggstokk-kreft, kreft i testiklene, i livmoren, og endometreal og prostatisk kreft

10 Aktiviteten for forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse hemmer veksten av hormonresponsive kreftceller når de ble undersøkt under de godt karakteriserte humane responsive kreftcellelinjene K562 og HL60. Undersøkelsen over effekt mot kreftcellene måler hemmingen av celleformeringen som resulterer i en terminal differensiell celledød. Celledød skyldes enten apoptose eller nekrose ODMA (forbindelse 13) og equol (forbindelse 10) eller er sterke hemmere av veksten av

15 cellelinjene K563 og HL60, og dette resultat er derfor direkte forutsigbart i den forstand at disse forbindelsene vil hemme veksten av hormonrelaterte krefttyper av den type som er nevnte ovenfor. Tetrahydrodaidzein (forbindelse 8) viste sterk inhibering av cellelinje HL60.

20 Etterfølgende kliniske undersøkelser har vist de terapeutiske fordeler ved behandlingen av de ovennevnte tilstander ved å bruke disse forbindelsene.

C. Antioksidantundersøkelser - relevant til behandling av kreft; tilstander som er forbundet med oksidasjon av kolesterol så som aterosklerotisk, vaskulær sykdom; myokardialt infarkt, slag, hjertesykdommer, artritt og

25 **katarakt**

Mange undersøkelser har vist at forbindelser med antioksidantaktivitet er anvendbare terapeutika ved behandlingen av de ovennevnte tilstander (se f.eks. McLaughlan et al (1995) Biochem. Soc. Trans. 23 (2) 2575; og van't Veer et al (1996) Cander Epidemiol Biomarkers Prev. 5 (6) 441-7).

30 Forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse har antioksidantaktivitet.

Tetrahydrodaidzein (forbindelse 8) og dehydroequol (forbindelse 10) er meget effektive antioksidanter. De følgende prøver i forhold til disse forbindelsene ble utført:

1. LDL-antioksidasjonsprøve - denne prøven måler forbindelsens evne til direkte å oppfange frie radikaler eller chelatere overgangsmetaller. Jo lengre forsinkelsestiden, jo mer aktiv er forbindelsen som et antioksidantmiddel under disse betingelsene sammenlignet med askorbat som en positiv kontroll. Disse prøvene ble utført ved hjelp av fremgangsmåten til
- 35

Esterbauer et al Free. Rad. Res. Coms. (1989) 6, 67-75. Kort fortalt blir LDL (0,25 mg/ml) inkubert med 10 μM av den aktive forbindelsen i nærvær av 4 μM Cu^{++} , og LDL ble så undersøkt for oksidasjon ved hjelp av HPLC-analyse. Resultatene er som følger:

Prøve	Forsinkelsestid - minutt	% økning over kontroll
Kontroll	20	
Askorbat	50	150
Tetrahydrodaidzein	>140	> 600
Dehydroequol	>140	> 600

5 Disse signifikante resultatene viser at tetrahydrodaidzein og dehydroequol er ekstremt sterke antioksidanter og kan derfor anses å være effektive terapeutika ved behandling av kreft, myokardialt infarkt, slag, artritt, sollysindusert hudsykdom, katarakt og andre tilstander som skyldes oksidative skader.

10 2. Redox-prøve - Denne prøven måler forbindelsens evne til å hindre LDL-lipidoksidasjon i nærvær av vitamin E. Denne prøven er en fysiologisk prøve, idet vitamin E (α -tokoferol) er til stede med LDL i blodstrømmen, og det er antatt at LDL-oksidasjon er en av de viktigste faktorene med hensyn til utvikling av aterosklerose. Jo lavere verdier, jo høyere vil redox-aktiviteten være. En høy redox-aktivitet antyder at forbindelsen er i stand til å virke sammen med α -tokoferol i LDL, antagelig ved at de reduserer α -tokoferoksylnadikalet. Denne prøven bedømmer indirekte evnen til en

15 forbindelse til synergistisk å virke sammen med α -tokoferol i humant LDL som underkastes mild og kjemisk kontrollert oksidasjon. Oksidasjonen måles ved akkumuleringen av kolesterylsterhydroperoksider på det tidspunkt som tilsvarende 20% forbruk av endogen α -tokoferol. Butylert hydroksytoluen

20 (BHT 10 μ m) blir brukt som en positiv kontroll. Redox-indeksen måles med den relative grad av oksidasjon av LDL i nærvær av prøven delt med den relative grad av oksidasjon i fravær av prøveforbindelsene. Aktive forbindelser gir opphav til lave redox-indekser. Prøvene ble utført som beskrevet av Bowry, V.W. et al (1995) J. Bio. Chem. 270 (11) 5756-5763.

25 Slike tester viser at forbindelsene 1-19 virker synergistisk sammen med vitamin E og hindrer oksidasjonen av lipider, proteiner og andre biologiske molekyler.

30 Som et eksempel ble dehydroequol (forbindelse 10) prøvet i denne prøven, og viser seg å være en spesielt overlegen antioksidant sammenlignet med en positiv kontroll-antioksidant (BHT), idet redox-indeksen for dehydroequol er $4,5 \pm 1,2$, mens den for BHT er 6,3.

Den ovennevnte prøven indikerer at forbindelsene 1-19, og da spesielt dehydroequol, virker synergistisk sammen med vitamin E for å hindre oksidasjon. Dette er en viktig oppdagelse ettersom vitamin E tidligere har

vært ansett å ha motvirkende aktiviteter idet den letter oksidasjon og nedsetter oksidasjon av lipider og proteiner. Preparater som inneholder en eller flere forbindelser fra 1-19 og vitamin E kan brukes ved terapeutisk behandling av kreft, myokardialt infarkt, slag, artritt, sollysindusert hudskade, katarakt, og andre tilstander som er reaktive overfor behandlingen med antioksidanter.

3. Synergisme med α -tokoferol (TRAA) - Denne prøven måler direkte prøveforbindelsens evne til å svekke α -tokoferoksyldradikalen i cetyltrimetylammoniumklorid (HTAC) eller SDS-miceller. Askorbat blir brukt som en positiv kontroll. Resultatene blir uttrykt som den relative konstante hastighet med hensyn til nedbrytning av α -tokoferoksyldradikaler i nærvær av selve prøven dividert med den relative konstante hastigheten med hensyn til nedbrytning av α -tokoferoksyldradikaler i fravær av prøven. TRAA som nærmer seg enhet anses å ha dårlig synergistisk aktivitet, mens aktive forbindelser viser store verdier fordi de eliminerer α -tokoferoksyldradikalene umiddelbart ved innblanding.

Eksperimentene ble utført som angitt av Witting et al (1996) J. Lipid Res., 37, 853-867. Disse undersøkelsene viser at forbindelsene 1-19, og da spesielt dehydroequol (forbindelse 10), dihydrodaidzein og dihydrogenistein virker synergistisk sammen med α -tokoferol.

4. LDL-reseptorundersøkelser - Behandling av aterosklerose, myokardialt infarkt, slag og hypertensjon. Denne vil vise at forbindelser som oppregulerer LDL-reseptoren, fører til nedsatt sirkulerende LDL og reduserer derfor muligheten for aterosklerose, myokardialt infarkt, slag og hypertensjon. Ved å bruke en prøve slik den er beskrevet av Stephan Z.F. og Yurachek, E.C. (1993) J. Lipid. Res. 34, 325-330, ble det vist at forbindelsene med formel 1-19 er effektive med hensyn til å øke LDL-opptaket i leverceller, og dette er direkte forutsigbart med hensyn til nedsettelse av sirkulerende LDL i den humane blodstrømmen. ODMA og equol har vist seg å være spesielt aktive i så henseende.

EKSEMPEL 7

Behandling av kviser

En 18 år gammel pike som hadde hatt kviser etter puberteten og som ikke viste noen reaksjon med hensyn til befruktningshindrende pille eller andre topiske kremer og som ikke ville bruke Roacutane på grunn av risikoårsaker, ble administrert et soya-isoflavonekstrakt som inneholdt genistein, daidzein, formononetin og biochanin A som ble omdannet til sine metabolitter, nemlig forbindelsene 1, 2, 5, 8, 10, 11, 13 og 14, slik dette kunne påvises ved urinanalyse. 40 mg ble administrert to ganger

daglig, og dette ga en markant forbedring med hensyn til kvisetilstanden, både med farge og generelt utseende i løpet av to uker.

En 40 år gammel mann som hadde hatt kviser i tiden etter puberteten og som ikke viste noen reaksjon overfor noen topikal krem og som ikke ville bruke Roacutane på grunn av risikoårsaker, ble administrert et soya-isoflavonekstrakt slik det er beskrevet ovenfor. Disse isoflavonene ble omdannet til senere metabolitter, nemlig forbindelsene 1, 2, 5, 8, 10, 11, 13 og 14, slik dette kunne påvises ved urinalyse. Uventet kunne han rapportere en dramatisk forbedring med hensyn til kviseutviklingen i løpet av to uker, en forandring som ikke var blitt observert over 20 år.

Etterfølgende kliniske undersøkelser har vist de terapeutiske fordelene ved behandlingen av kviser ved å anvende de ovennevnte forbindelser.

Etterfølgende kliniske undersøkelser har vist de terapeutiske fordelene ved behandlingen av de ovennevnte tilstander.

15

EKSEMPEL 8

En 67 år gammel mann som led av prostatakrefte fikk en daglig dose på 16 mg av isoflavonekstrakter fra kløver som inneholdt genistein, daidzein, formononetin og biochanin A. Etter en etterfølgende operasjon for hans prostatakrefte-tilstand så viste en patologirapport på det uttatte prostatavevet en økende insidens av apoptose (Stephens, F.O. (1997) J. Aus. Med. Assoc. 167, 3, 138-140). Analyse av denne pasientens urin viste nærværet av forannevnte metabolitter, noe som indikerer at disse forbindelsene er ansvarlig for lindringen av hans tilstand ved at de degenerende forandringer i prostataektomisnittet, spesielt var apoptosen indikativ på et underskudd av androgen og typisk som en reaksjon overfor østrogenterapi.

20

25

EKSEMPEL 9

En pasientgruppe ble undersøkt som besto av kvinner som tidligere hadde hatt brystkreft (som var blitt behandlet enten kirurgisk eller ved stråling eller begge deler) og kvinner som hadde en sterk familiær forbindelse med brystkreft, d.v.s. at deres mødre eller søsken hadde lidd av brystkreft. Denne undersøkelsen undersøkte hvorvidt forbindelsene 1-19 med en transdermal administrering hver dag gjennom et hudplaster kunne brukes for å hindre brystkreft eller metastatisk kreft etter kreftterapi.

30

35

Plastre ble fremstilt som inneholdt en lipofil bærer krem som ble lett absorbert gjennom huden. Kremen besto av en glycerolkoldkrem som inneholdt glycerin og jordnøttolje. En utvalgt aktiv forbindelse fra enhver av forbindelsene med formlene 1-19, ble blandet med den lipofiliske kremen slik at hvert plaster inneholder fra 10

til 100 mg av den aktive forbindelsen. Dette plasteret ble påsatt huden hver dag og man fikk en rask absorpsjon. Etter to timer ble plasteret fjernet. Alternativt kan plasteret forbli på huden over en større del av hver dag.

5 En undersøkelse som strakk seg over et år fant at denne høyrisikogruppen ikke viste noen tegn til brystkreft eller annen type metastatisk kreft.

Effektiviteten av denne behandlingen er vist i en annen undersøkelse av en lignende gruppe høyrisikopasienter. Forbindelsene 11, 13 og 14 ble transdermalt administrert pasientene på samme måte og i de mengder som er nevnt ovenfor. Man kunne observere de samme fordelaktige resultater etter en prøveperiode på 6 måneder.

10

EKSEMPEL 10

Det ble utført en undersøkelse på en gruppe pasienter som led av ondartet prostatahypertrofi (BPH) og som hadde prostatakreft i forskjellige utviklingsstadier, for å bestemme effekten ved å administrere forbindelsene med formlene 1-19.

15 Administreringsprotokollen var den samme som beskrevet i eksempel 3 og innbefatter en daglig administrering av en gelatinkapsel som inneholder 200 mg aktiv forbindelse. Det ble observert en signifikant nedsatt produksjon av relevante kreftmarkører (PSA, prostata spesifikt antigen). Svulstene viste igjen å ha gått tilbake eller ikke viste noen ytterligere vekst. En annen undersøkelse ble utført på

20 en 45 år gammel mann med BPH og med urinveisobstruksjon og høy urineringsfrekvens. Ved å ta 40 mg pr. dag av et kløverisoflavon inneholdende ekstrakt ble mannen symptomfri. Urinanalyse viste nærvær av de urinære metabolitter som er beskrevet ovenfor.

En pasient som led av avansert kreft i tarmkanalen ble behandlet daglig i tre uker med en intravenøs infusjon av 2 g av forbindelsen med formel 14 løst i steril saltløsning. Pasientens smerter og lidelser generelt ble vesentlig redusert, og det ble observert en reduksjon av kreftmarkører. Utviklingen av svulsten stoppet også i

25 behandlingsperioden.

En annen pasient som led av samme tilstand ble behandlet på samme måte som ovennevnte pasient, bortsett fra at nevnte 2 grams dose av den aktive forbindelsen ble administrert ved hjelp av en bolusinjeksjon. Resultatene oppnådd var de samme som beskrevet i ovennevnte avsnitt.

30

I en ytterligere serie eksperimenter ble en gruppe pasienter som led av terminal magekreft behandlet med daglig bolusinjeksjoner (intravenøst eller intramuskulært)

35 inneholdende 2 g av en forbindelse valgt fra en av de med formlene 1-19. I prøveperioden kunne en observere en markert reduksjon med hensyn til smerte og ubehag. Svulstmarkører (carcino-embryonisk antigen (CEA)) ble redusert, noe som kunne påvises blodanalyse, og svulstens spredning ble også nedsatt.

EKSEMPEL 11

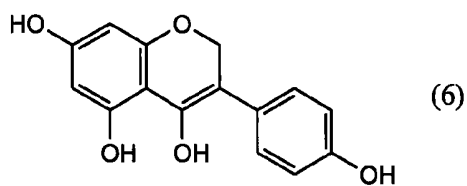
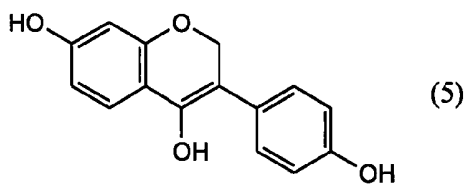
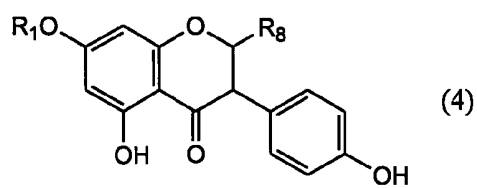
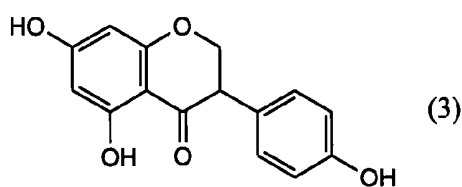
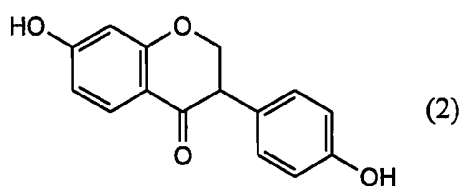
Det ble utført en undersøkelse på pasienter som led av mannlig typeskallethet. Hver av pasientene fikk daglig i hodebunnen pålagt en inert farmasøytisk gel som inneholdt 50 mg av den aktive forbindelsen. Over en undersøkelsesperiode på én
5 måned kunne man observere et lett dun eller små hårstubber på det behandlede området. Denne undersøkelsen indikerer at forbindelsene er effektive for å bekjempe hårtap og at langtidsbehandling skulle gi en regenerering av håret.

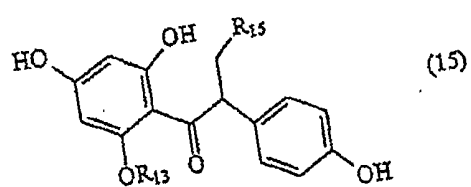
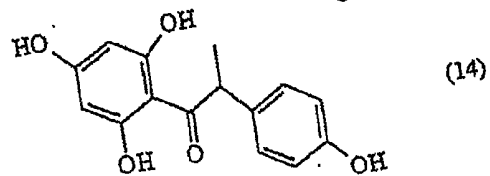
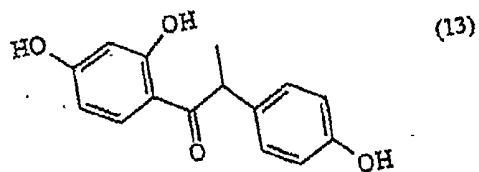
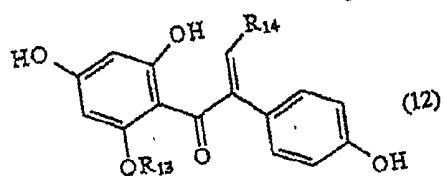
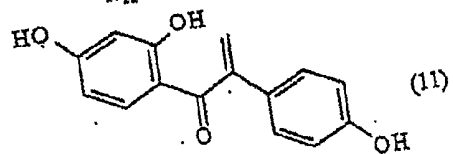
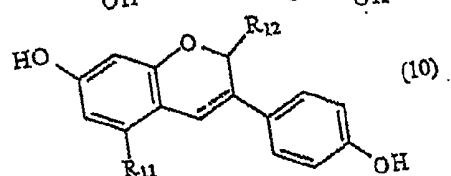
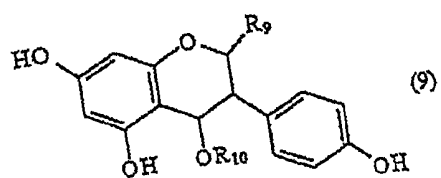
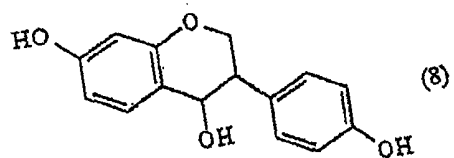
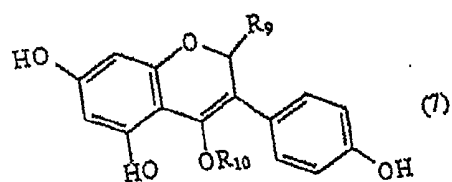
I hele den foreliggende beskrivelse hvis sammenhengen ikke motsier dette, så vil ordet «innbefatte» eller variasjoner av dette eller begrepet «inkludere» eller
10 variasjoner av dette, være forstått slik at det inkluderer det angitte element eller tall eller gruppe av elementer eller tall, men ikke utelukket eventuelle andre elementer eller tall eller grupper av elementer eller tall. I så henseende, ved utformingen av kravene, så vil en utførelse hvor ett eller flere trekk er tillagt ethvert at kravene, anses å ligge innenfor oppfinnelsens intensjon, gitt at de essensielle trekk ved
15 oppfinnelsen slik disse fremkommer i kravene, inngår i en slik utførelse.

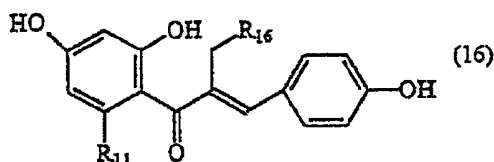
Det er underforstått at oppfinnelsen som her er beskrevet kan underkastes variasjoner og modifikasjoner forskjellig fra de som spesifikt er beskrevet. Det er underforstått at oppfinnelsen innbefatter alle slike variasjoner modifikasjoner som faller innenfor oppfinnelsens intensjon. Oppfinnelsen innbefatter også alle trinn,
20 trekk, blandinger og forbindelser som er referert til eller indikert eller angitt i denne beskrivelsen, enten individuelt eller kollektivt, og enhver og alle kombinasjoner av to eller flere nevnte trinn eller trekk.

PATENTKRAV

1. Anvendelse av en eller flere forbindelser valgt fra:







hvor

R_1 er H eller R_ACO hvor R_A er C_{1-10} alkyl eller en aminosyre

R_8 er COR_D hvor R_D er H, OH, C_{1-10} alkyl eller en aminosyre

5 R_9 er CO_2R_C eller COR_E hvor R_C er C_{1-10} alkyl og R_E er H, C_{1-10} alkyl eller en aminosyre,

R_{10} er COR_C eller COR_CCOR_E hvor R_C og R_E er som definert tidligere,

R_{11} er H eller OH,

10 R_{12} er H, $COOH$, CO_2R_C hvor R_C er som definert tidligere, eller $CONHR_E$ hvor R_E er som definert tidligere,

R_{13} er OH, OR_B hvor R_B er en aminosyre eller COR_A hvor R_A er som definert tidligere,

R_{14} er H, eller COR_A hvor R_A er som definert tidligere,

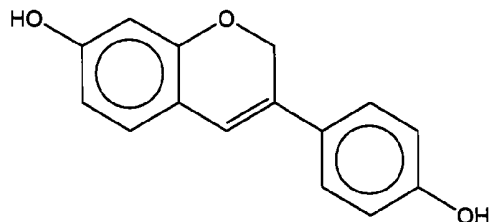
R_{15} er COR_A hvor R_A er som definert tidligere,

15 R_{16} er H, COR_B eller CO_2R_C hvor R_B og R_C er som definert tidligere, og «----» representerer enten en enkeltbinding eller en dobbeltbinding,

til fremstilling av et legemiddel for behandling eller profylakse av en kreftsykdom.

2. Anvendelse som angitt i krav 1, hvori en eller flere av forbindelsene er valgt fra formel 8 og 10.

20 3. Anvendelse som angitt i krav 1 eller 2, hvori forbindelsen med formel 10 er dehydroequol med strukturen:



eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

25 4. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er en hormonresponsiv kreft.

5. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er en metastatisk krefttilstand.

6. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori behandlingen eller profylaksen er assosiert med kreftcelleapoptose.

7. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori behandlingen eller profilaksen er assosiert med kreftnekrose.
8. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori behandlingen eller profilaksen er assosiert med inhibisjon av kreftcellevekst.
- 5 9. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er valgt fra brystkreft, uteruskreft, ovariekreft, testikkelkreft, tarmkreft, endometriekreft, prostatakreft og leukemi.
- 10 10. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er brystkreft.
- 11 11. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er metastatisk brystkreft.
12. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er ovariekreft.
13. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er testikkelkreft.
- 15 14. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er endometriekreft.
15. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er prostatakreft.
- 20 16. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-3, hvori kreftsykdommen er tarmkreft.
17. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-16, hvori medikamentet er et oralt, rektalt, parenteralt, transdermalt, intradermalt eller topisk medikament.
18. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-17, hvori nevnte minst ene forbindelse med formel (2)-(16) blir administrert i en daglig dose på 0,1 mg til 2000 mg.
- 25 19. Anvendelse som angitt i krav 18, hvori den daglige dose er 50 mg til 500 mg.
20. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-19, hvori nevnte minst ene forbindelse med formel (2)-(16) blir administrert sammen med en farmasøytisk akseptabel bærer og/eller eksipient.
- 30 21. Anvendelse som angitt i ethvert av kravene 1-20, hvori nevnte minst ene forbindelse med formel (2)-(16) blir administrert med vitamin E.