



(10) **DE 10 2010 044 516 A1 2011.03.24**

(12)

## Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2010 044 516.9**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 31/122 (2006.01)**

(22) Anmeldetag: **07.09.2010**

**A61P 35/02 (2006.01)**

(43) Offenlegungstag: **24.03.2011**

(30) Unionspriorität:

**098130431**

**09.09.2009 TW**

(74) Vertreter:

**Zeitler, Volpert, Kandlbinder, 80539 München**

(71) Anmelder:

**Golden Biotechnology Corp., Danshuei, Taipei,  
TW**

(72) Erfinder:

**Liu, Sheng-Yun, Danshuei, Taipei, TW; Wen,  
Wu-Che, Danshuei, Taipei, TW; Kuo, Mao-Tien,  
Danshuei, Taipei, TW**

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

(54) Bezeichnung: **Hemmung des Überlebens von Lymphom durch Cyclohexenonverbindungen aus *Antrodia camphorata***

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft eine neue Anwendung einer Verbindung. Die Verbindung 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethylundeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon der Erfindung wird aus den Extrakten von *Antrodia camphorata* isoliert und gereinigt und kann zum Hemmen des Überlebens von Lymphomzellen und als pharmazeutische Zusammensetzung zum Hemmen des Wachstums eines Lymphomtumors verwendet werden.

**Beschreibung**

## Hintergrund der Erfindung

## 1. Gebiet der Erfindung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft eine neue Anwendung zur Hemmung des Krebszellüberlebens, insbesondere die Anwendung zur Hemmung des Überlebens von Lymphomzellen durch eine Verbindung, die aus *Antrodia camphorata* isoliert und gereinigt worden ist.

## 2. Stand der Technik

**[0002]** Ein Lymphom ist ein maligner Tumor, der vorwiegend im Lymphsystem auftritt, das Lymphozyten, Lymphgefäße und Lymphknoten umfasst. Das klinisch-pathologische Merkmal eines Lymphoms besteht darin, dass die geschädigten Lymphozyten durch unreife Lymphozyten ersetzt werden. Auch die pathologischen Veränderungen, die in Lymphorganen auftreten, einschließlich dem Knochenmark, der Milz und dem Thymus, die für die Entwicklung, Speicherung und Differenzierung von Lymphozyten zuständig sind, können ein Lymphom induzieren. Gemäß den verschiedenen Typen von pathologischen Tumorgeweben kann ein Lymphom in die zwei Kategorien eines Hodgkin-Lymphoms und eine Non-Hodgkin-Lymphoms fallen, wobei das Non-Hodgkin-Lymphom der häufigste Lymphomtyp ist.

**[0003]** Die möglichen Ursachen eines Lymphoms sind ein geschwächtes Immunsystem, eine Virusinfektion, eine Exposition gegenüber hohen Strahlungsdosen, die Einnahme von Drogen, bereits ein in der Familie aufgetretenes Lymphom, usw. Forscher berichten, dass die Sterblichkeit bei einem Lymphom in allen Altergruppen durchschnittlich ist und dass die Krankheitsrate bei Männern etwa gleich derjenigen bei Frauen ist. Das frühe Symptom eines Lymphoms ist eine Lymphadenopathie, die am häufigsten in Lymphknoten auftritt, die im zervikalen Bereich, in der Achselhöhle oder der Leistengegend liegen, und die Lymphknotenvergrößerung ist üblicherweise schmerzlos und tritt nacheinander auf. Einige Patienten weisen systemische Syndrome auf, wie z. B. Fieber, Nachtschweiß, Gewichtsverlust, ein lange anhaltendes Gefühl einer ermüdeten oder geschwächten Muskulatur sowie ein Hautjucken oder ein Ausbrechen eines Ausschlags. Darüber hinaus liegt der primäre Schwerpunkt von etwa einem Drittel der Lymphome anstelle der Lymphknoten in inneren Organen, wie z. B. dem Magen, dem Dickdarm, dem Dünndarm und dem oberen Mediastinalraum der Lunge, was Magenschmerzen, Magenblutungen, Darmverschluss oder schwere Lungenatmungsprobleme verursacht.

**[0004]** Die wichtigsten Behandlungen für ein Lymphom variieren mit den histologischen Typen und klinischen Stufen von Krebs und umfassen Bestrahlung, Chemotherapie, Knochenmarktransplantation und die Transplantation von Stammzellen aus peripherem Blut. Im Allgemeinen ist eine Strahlentherapie für Patienten mit einer geringen Malignität und einem partiell Lymphom in einem frühen Stadium geeignet, während eine Chemotherapie vorwiegend für diejenigen geeignet ist, die ein Lymphom mit hochgradiger Malignität in mittleren Stadien und Endstadien aufweisen, und zwar aufgrund einer schnellen Schädigung von Krebszellen und einer einfachen Verteilung im ganzen Körper. Eine Strahlentherapie und eine Chemotherapie führen jedoch üblicherweise zu vielen nachteiligen Nebenwirkungen oder klinisch unangenehmen Symptomen. Daher wird das Auffinden einer natürlichen therapeutischen Substanz ohne Nebenwirkungen die therapeutische Wirksamkeit gegen ein Lymphom ohne einhergehende Beschwerden verbessern.

**[0005]** *Antrodia camphorata* ist unter verschiedenen Namen bekannt, wie z. B. Chang-Chih, *Ganoderma camphoratum*, *Antrodia camphorata*, *Taiwanofungus camphorata* und Kampferpilz, usw., und gehört zur Pilzgattung der Basidiomycota, Homobasidiomyceten, Aphylophorales, Polyporaceae und *Antrodia*, und auch der mehrjährigen Pilze. Es handelt sich um eine in Taiwan endemische Pilzart, die ihren Namen erhielt, weil sie nur auf der Innenwand des hohlen Materials von einer in Taiwan endemischen Lauraceae-Baumart, *Cinnamomum kanehirai*, wächst. Der Preis von *Antrodia camphorata* ist aufgrund der extrem geringen Wachstumsgeschwindigkeit von natürlichem *Antrodia camphorata* sehr hoch.

**[0006]** Die Fruchtkörper von *Antrodia camphorata* sind mehrjährig, ungestielt, hart und holzig und geben einen starken Geruch von Sassafras (Kampferaroma) ab. Das Aussehen ist verschiedenartig und umfasst plattenartige, glockenartige, hufartige oder turmartige Formen. Wenn sie jung sind, weisen sie eine rötliche Farbe auf und sind flach, und haften an der Oberfläche von Holz. Dann werden die Ränder des vorderen Endes einwärts gewellt, neigen sich und erstrecken sich in die Umgebung. Gleichzeitig wandelt sich die Farbe in ein blasses rot-braun oder ein cremefarbenes gelbbraun um, wobei überall Ostiolen vorliegen. Dieser Bereich hat einen sehr hohen medizinischen Wert.

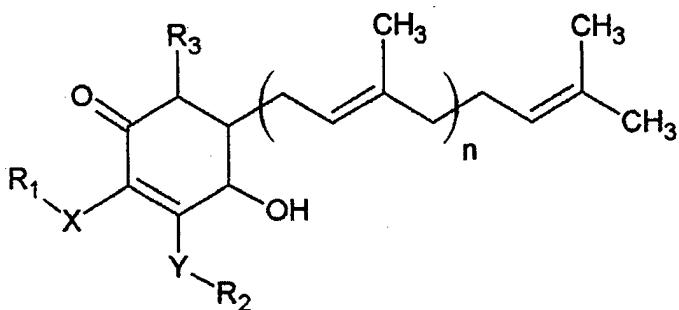
**[0007]** In der traditionellen taiwanesischen Medizin umfassen die heilenden Effekte von *Antrodia camphorata* die Beseitigung von Rheumatismus, die Verbesserung der Vitalität, eine Nährstoffzufuhr in das Blut, die Beseitigung von Blutergüssen, die Verbesserung des Zustands von Milz und Magen, die Verminderung von Stauungen, Entgiftung, die Verminderung von Schwellungen, eine Sedierung und eine Schmerzlinderung, und er wird als starkes Gegenmittel zur Entgiftung von Nahrungsmittelvergiftungen, gegen Diarrhöe, Erbrechen und Pestizidvergiftung verwendet. Ferner weist es therapeutische Zusatzeffekte bei einer Leber- und Magendysfunktion und bei Erkrankungen des Blutkreislaufs auf. *Antrodia camphorata* ist, wie dies allgemein bei essbaren und medizinischen Pilzen der Fall ist, reich an zahlreichen Nährstoffen, einschließlich Polysacchariden (wie z. B.  $\beta$ -Glukosan), Triterpenoiden, Superoxiddismutase (SOD), Adenosin, Proteinen (Immunglobulinen), Vitaminen (wie z. B. Vitamin B, Nikotinsäure), Spurenelementen (wie z. B. Calcium, Phosphor und Germanium, usw.), Nukleinsäuren, Agglutinin, Aminosäuren, Steroiden, Ligninen und Blutdruckstabilisatoren (wie z. B. Antrodiasäure), usw. Es wird angenommen, dass diese physiologisch aktiven Inhaltsstoffe Wirkungen wie z. B. Antitumorwirkungen, eine Erhöhung von immunmodulierenden Aktivitäten, antiallergische Wirkungen, antibakterielle Wirkungen, antihypertensive Wirkungen, eine Blutzuckersenkung, eine Verminderung von Cholesterin, usw., zeigen.

**[0008]** Von den zahlreichen Inhaltsstoffen von *Antrodia camphorata* sind Triterpenoide die am Besten untersuchten Komponenten. Triterpenoide ist der Sammelbegriff für natürliche Verbindungen, die 30 Kohlenstoffatome mit penta- oder hexacyclischen Strukturen enthalten. Der bittere Geschmack von *Antrodia camphorata* ist auf die Triterpenoidkomponente zurückzuführen. Drei neue Triterpenoide des Ergostan-Typs (Antcin A, Antcin B, Antcin C) wurden von Cherng et al. aus den Fruchtkörpern von *Antrodia camphorata* isoliert (I. H. Cherng und H. C. Chiang, 1995, „Three new triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*“, *J. Nat. Prod.*, 58, 365–371). Drei neue Verbindungen, die als „Zhankuic“-Säure A, „Zhankuic“-Säure B und „Zhankuic“-Säure bezeichnet werden, wurden von Chen et al. aus den Fruchtkörpern von *Antrodia camphorata* mit Ethanol extrahiert (C. H. Chen und S. W. Yang, 1995, „New steroid acids from *Antrodia cinnamomea* – a fungus parasitic an *Cinnamomum micranthum*“, *J. Nat. Prod.* 58, 1655–1661). Darüber hinaus haben Cherng et al. auch drei andere neue Triterpenoide in den Fruchtkörpern von *Antrodia camphorata* gefunden, bei denen es sich um von Sesquiterpenlacton und 2-Biphenyl abgeleitete Verbindungen handelt, 4,7-Dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxol und 2, 2',5,5'-Tetramethoxy-3,4,3',4'-bi-methylendioxy-6,6'-dimethylbiphenyl (H. C. Chiang, D. P. Wu, I. W. Cherng und C. H. Ueng, 1995, „A sesquiterpene lactone, phenyl and biphenyl compounds from *Antrodia cinnamomea*“, *Phytochemistry*, 39, 613–616). 1996 wurden vier neue Triterpenoide des Ergostan-Typs (Antcine E und F und Methylantcinate G und H) von Cherng et al. mit den gleichen analytischen Verfahren isoliert (I. H. Cherng, D. P. Wu und H. C. Chiang, 1996, „Triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*“, *Phytochemistry* 41, 263–267). Zwei mit Ergostan verwandte Steroide, „Zhankuic“-Säuren D und E, wurden zusammen mit drei mit Lanostan verwandten Triterpenen, 15-alpha-Acetyldehydrosulfurensäure, Dehydroeburicosäure und Dehydrosulfurensäure, von Yang et al. isoliert (S. W. Yang, Y. C. Shen und C. H. Chen, 1996, „Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea* – a fungus parasitic an *Cinnamomum micranthum*“, *Phytochemistry* 41, 1389–1392).

**[0009]** Obwohl von *Antrodia camphorata*-Extrakten in früher veröffentlichten experimentellen Ergebnissen berichtet worden ist, dass sie die vorstehend genannten Wirkungen aufweisen, und die verschiedenen Verbindungen erfolgreich analysiert und identifiziert worden sind, sind weitere Arbeiten erforderlich, um die für eine Hemmung eines Krebswachstums wirksamen Verbindungen zu identifizieren und folglich wirksam zu einer Krebstherapie, wie z. B. einer Behandlung und Prävention von Lymphom, beizutragen.

#### Zusammenfassung der Erfindung

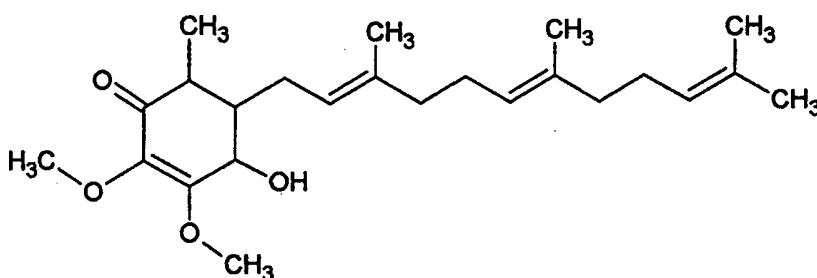
**[0010]** Zur Identifizierung der Antikrebsverbindungen in den Extrakten von *Antrodia camphorata* wurde die Verbindung der Formel (1) in der vorliegenden Erfindung isoliert und gereinigt,



(1)

worin X und Y Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel sein können, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> jeweils ein Wasserstoffatom, Methyl oder (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>3</sub> ist und m = 1–12; n = 1–12.

**[0011]** Eine bevorzugte Verbindung der allgemeinen Formel (1) ist 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon gemäß der Formel (2) mit der Molekülformel C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>, das als blassgelbes Pulver vorliegt und ein Molekulargewicht von 390 aufweist.



(2)

**[0012]** Cyclohexenonverbindungen mit den Strukturen der Formel (1) und der Formel (2) werden durch eine wässrige Extraktion oder eine organische Lösungsmittel-Extraktion von *Antrodia camphorata* gereinigt. Die verwendeten organischen Lösungsmittel umfassen unter anderem Alkohole, wie z. B. Methanol, Ethanol oder Propanol, Ester, wie z. B. Ethylacetat, Alkane, wie z. B. Hexan, oder halogenierte Alkane, wie z. B. Chlormethan, Chlorethan. Von diesen Lösungsmitteln ist ein Alkohol bevorzugt und Ethanol ist besonders bevorzugt.

**[0013]** Cyclohexenonverbindungen der vorliegenden Erfindung werden zum Hemmen des Überlebens von Krebszellen eingesetzt und können ferner als pharmazeutische Zusammensetzung zur Behandlung von Krebs und zur Verbesserung der Krebstherapeutischen Wirkungen verwendet werden. Die Verbindungen der Erfindung können zum Hemmen des Überlebens von Lymphomzellen verwendet werden, was zu einer Verzögerung des Wachstums der Krebszellen und zu einer Unterdrückung der Proliferation der Krebszellen und zu einer weiteren Hemmung der Schädigung durch Krebs führt. Die bevorzugte Verbindung ist 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon der Formel (2).

**[0014]** Andererseits können die Verbindungen der Formel (1) und/oder der Formel (2) in der vorliegenden Erfindung in pharmazeutische Zusammensetzungen oder Medikamente zur Behandlung von Lymphom einbezogen werden, um das Überleben von Krebszellen zu hemmen. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen umfassen nicht nur die Verbindungen der Formel (1) und/oder der Formel (2), sondern auch pharmazeutisch verträgliche Träger. Beispiele für solche Träger umfassen unter anderem Vehikel, wie z. B. Wasser, Füllstoffe, wie z. B. Saccharose oder Stärke, Bindemittel, wie z. B. Cellulosederivate, Verdünnungsmittel, Sprengmittel, Absorptionsverstärker oder Süßungsmittel. Die pharmazeutische Zusammensetzung oder das Medikament kann durch Mischen der Verbindungen der Formel (1) und/oder der Formel (2) mit mindestens einem der Träger mittels herkömmlicher Verfahren, die in dem technischen Gebiet der Pharmazie bekannt sind, hergestellt werden, wobei die pharmazeutische Zusammensetzung unter anderem in der Form eines Pulvers, von Tabletten, Kapseln, Pellets, eines Granulats oder einer anderen, flüssigen Formulierung formuliert werden kann.

**[0015]** Die vorliegende Erfindung wird in der folgenden veranschaulichten Ausführungsform und in Beispielen weiter erläutert. Diese Beispiele sollen den Schutzbereich der Erfindung jedoch nicht beschränken und für den Fachmann sind Modifizierungen offensichtlich, wobei die Modifizierungen dem Wesen der Erfindung entsprechen und vom Schutzbereich der beigefügten Ansprüche umfasst sind.

## Detaillierte Beschreibung der bevorzugten Ausführungsform

**[0016]** Die wässrigen oder organischen Lösungsmittel-Extrakte von *Antrodia camphorata* wurden zur Isolierung und Reinigung einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) unterzogen. Jede Fraktion wurde gewonnen und einem Antikrebstest unterzogen. Die wirksamen Fraktionen mit Antikrebs-Effekten wurden bezüglich der Zusammensetzung analysiert und gegen Lymphomzellen weiter getestet. Der vorstehend beschriebene Ansatz führte dann zur Identifizierung von Verbindungen mit der Formel (1) und der Formel (2), die das Wachstum von Lymphomzellen hemmten.

**[0017]** Die Verbindung 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon gemäß der Formel (2) wird nachstehend als ein Beispiel für die vorliegende Erfindung erläutert. Die Antikrebs-Effekte von 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon wurden unter Verwendung des 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT)-Tests gemäß dem Antikrebs-Arzneistoffscreeningmodell des National Cancer Institute (NCI) zur Analyse von Überlebensraten bezüglich der Lymphomzelllinie U937 getestet. Diese Tests haben gezeigt, dass Cyclohexenonverbindungen von *Antrodia camphorata* die Überlebensraten der Lymphomzelllinie U937 senken und gleichzeitig niedrige Halbwertskonzentrationswerte ( $IC_{50}$ -Werte) zeigen. Daher können Cyclohexenonverbindungen aus *Antrodia camphorata* zur Hemmung des Überlebens von Lymphomzellen und ferner zur Behandlung von Lymphom verwendet werden. Die Details der Beispiele sind nachstehend beschrieben.

## Beispiel 1

## Isolierung von 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon

**[0018]** 100 g Myzelien, Fruchtkörper oder ein Gemisch von beiden von *Antrodia camphorata* wurden in einen Kolben eingebracht. Eine geeignete Menge Wasser und Alkohol (70 bis 100%ige Ethanollösung) wurde dem Kolben zugesetzt und es wurde mindestens 1 Stunde bei 20 bis 25°C gerührt. Die Lösung wurde sowohl durch ein Filtrierpapier als auch durch eine 0,45 µm-Membran filtriert und das Filtrat wurde als Extrakt gesammelt.

**[0019]** Der Extrakt von *Antrodia camphorata* wurde einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)-Analyse unterzogen. Die Trennung wurde auf einer RP18-Säule unter Verwendung einer mobilen Phase durchgeführt, die aus Methanol (A) und 0,1 bis 0,5% Essigsäure (B) bestand, wobei die Gradientenbedingungen Anteil (B) von 95% bis 20% für 0 bis 10 min, von 20% bis 10% für 10 bis 20 min, Halten bei 10% für 20 bis 35 min und Erhöhen von 10% bis 95% für 35 bis 40 min bei einer Flussrate von 1 ml/min betragen. Der Säulenausfluss wurde mit einem UV-VIS-Detektor verfolgt.

**[0020]** Die bei 25 bis 30 min gesammelten Fraktionen wurden gesammelt und konzentriert, wobei 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon erhalten wurde, ein Produkt, das als blassgelbes Pulver vorlag. Die Analyse von 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon zeigte die Molekülformel  $C_{24}H_{38}O_4$ , ein Molekulargewicht von 390 und einen Schmelzpunkt von 48°C bis 52°C. Die Untersuchung der NMR-Spektren zeigte, dass  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ) δ (ppm) = 1,51, 1,67, 1,71, 1,75, 1,94, 2,03, 2,07, 2,22, 2,25, 3,68, 4,05, 5,07 und 5,14,  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ) δ (ppm) = 12,31, 16,1, 16,12, 17,67, 25,67, 26,44, 26,74, 27,00, 39,71, 39,81, 40,27, 43,34, 59,22, 60,59, 120, 97, 123,84, 124,30, 131,32, 135,35, 135,92, 138,05, 160,45 und 197,12.

## Beispiel 2

## In vitro-Überlebenstest bezüglich Antilymphomeffekte

**[0021]** Die hemmenden Effekte der Cyclohexenonverbindungen aus *Antrodia camphorata* von Beispiel 1 auf Lymphomzellen wurden gemäß dem Antikrebs-Arzneistoffscreeningmodell des National Cancer Institute (NCI) bewertet. Die Verbindung 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon von Beispiel 1 wurde Kulturmedien der Lymphomzelllinie U937 zugesetzt, um die Überlebensraten zu bestimmen. Das Zellüberleben wurde unter Verwendung eines MTT-Tests analysiert. Die U937-Zelllinie war eine menschliche histiozytische Lymphomzelllinie.

**[0022]** Der MTT-Test wird üblicherweise zur Analyse der Zellproliferation, der Überlebensrate von lebensfähigen Zellen und der Cytotoxizität verwendet. MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) ist ein gelber Farbstoff, der durch die reduktive Spaltung von dessen Tetrazoliumring durch die Succinattetrazoliumreduktase in den Mitochondrien von Zellen in wasserunlösliches violettes Formazan umgewandelt wer-

den kann. Die Menge des gebildeten Formazans wird zur Bestimmung der Anzahl von lebensfähigen Zellen und zur Berechnung der Überlebensraten verwendet.

**[0023]** Die U937-Zellen wurden in RPMI 1640-Medium, das mit 10% fetalem Rinderserum, 10 U/ml Penicillin und 100 µg/ml Streptomycin ergänzt war, bei 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, für 24 Stunden kultiviert. Proliferierte Zellen wurden einmal mit PBS gewaschen, mit 1× Trypsin-EDTA behandelt und 5 min bei 1200 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt und das Zellpellet wurde durch vorsichtiges Schütteln in 10 ml frischem Medium resuspendiert. Zellen wurden auf 96 Well-Platten ausgesät. Zellen, die mit den Rohextrakten von *Antrodia camphorata* behandelt worden sind (Gesamtethanolextrakte, nicht gereinigt), wurden als Kontrollgruppe vorgesehen, und Zellen, die mit 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon behandelt worden sind, wurden als die Experimentgruppe vorgesehen. Beide Substrate wurden in der Konzentration von 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 bzw. 0,03 µg/ml zugesetzt. Die Zellen wurden 48 Stunden bei 37°C, 5% CO<sub>2</sub> kultiviert. Danach wurden jedem Well 2,5 mg/ml einer MTT-Lösung zugesetzt und 4 Stunden im Dunklen inkubiert, worauf 100 µl Lysepuffer zugesetzt wurden, um die Reaktion zu stoppen. Die Extinktionen wurden bei 570 nm mit einem ELISA-Lesegerät gemessen, um die Überlebensraten zu bestimmen. Der Halbhemmkonzentrationswert (IC<sub>50</sub>-Wert) wurde ebenfalls berechnet und ist in der Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1 Ergebnisse eines in vitro-Überlebenstests bezüglich der Hemmung von Lymphomzellen

Probe	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Experimentgruppe (Formel 2)	
U937	9,71

**[0024]** Aus dem in der Tabelle 1 angegebenen Ergebnis ist ersichtlich, dass der IC<sub>50</sub>-Wert von 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon bezüglich U937 9,71 µg/ml betrug, wobei es sich um einen signifikant niedrigeren Wert handelt, als derjenige von Gesamtextrakten aus *Antrodia camphorata* (Daten nicht gezeigt). Daher kann 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon aus *Antrodia camphorata* eingesetzt werden, um das Überleben von Lymphomzellen zu hemmen.

**[0025]** Die Verbindung 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon, die erfindungsgemäß aus *Antrodia camphorata* isoliert worden ist, kann somit verwendet werden, um das Überleben von menschlichen Lymphomzellen wirksam zu hemmen. Die Cyclohexenonverbindungen aus *Antrodia camphorata* induzieren keine unangenehmen Nebenwirkungen, keine Toxizität oder Komplikationen, wenn sie zur Behandlung von Lymphom eingesetzt werden. Darüber hinaus können diese Verbindungen der Erfindung auch zusammen mit Chemotherapie-Arzneistoffen bei der Behandlung von Lymphom verwendet werden, um die Anwendungsmenge von Chemotherapie-Arzneistoffen zu senken sowie die Nebenwirkungen aufgrund der Chemotherapie-Arzneistoffe zu vermindern. Darüber hinaus können sie in pharmazeutische Zusammensetzungen einbezogen werden. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen umfassen nicht nur eine wirksame Menge (oder aktive Dosis) der Cyclohexenonverbindungen aus *Antrodia camphorata* der vorliegenden Erfindung, sondern auch pharmazeutisch verträgliche Träger. Beispiele für solche Träger umfassen unter anderem Vehikel wie Wasser, Füllstoffe, wie z. B. Saccharose oder Stärke, Bindemittel, wie z. B. Cellulose-derivate, Verdünnungsmittel, Sprengmittel, Absorptionsverstärker oder Süßungsmittel. Die Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung kann durch Mischen der Cyclohexenonverbindung aus *Antrodia camphorata* mit mindestens einem der Träger mittels herkömmlicher Verfahren, die in dem technischen Gebiet der Pharmazie bekannt sind, hergestellt werden, und kann in der Form eines Pulvers, von Tabletten, Kapseln, Pellets, eines Granulats oder einer anderen, flüssigen Formulierung formuliert werden. Der Zweck der Behandlung von Lymphom kann dann erreicht werden.

**ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG**

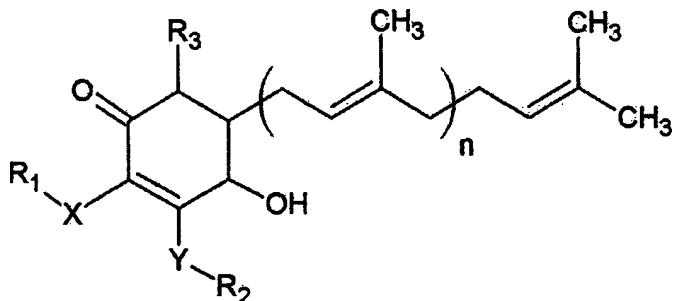
Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

**Zitierte Nicht-Patentliteratur**

- I. H. Cherng und H. C. Chiang, 1995, „Three new triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*”, *J. Nat. Prod.*, 58, 365–371 [0008]
- C. H. Chen und S. W. Yang, 1995, „New steroid acids from *Antrodia cinnamomea* – a fungus parasitic an *Cinnamomum micranthum*”, *J. Nat. Prod.* 58, 1655–1661 [0008]
- Cherng et al. [0008]
- H. C. Chiang, D. P. Wu, I. W. Cherng und C. H. Ueng, 1995, „A sesquiterpene lactone, phenyl and biphenyl compounds from *Antrodia cinnamomea*”, *Phytochemistry*, 39, 613–616 [0008]
- Cherng et al. [0008]
- I. H. Cherng, D. P. Wu und H. C. Chiang, 1996, „Triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*”, *Phytochemistry* 41, 263–267 [0008]
- Yang et al. [0008]
- S. W. Yang, Y. C. Shen und C. H. Chen, 1996, „Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea* – a fungus parasitic an *Cinnamomum micranthum*”, *Phytochemistry* 41, 1389–1392 [0008]

## Patentansprüche

1. Verwendung einer Verbindung mit der folgenden Formel zur Herstellung eines Medikaments zum Hemmen des Überlebens von Lymphomzellen:



worin X und Y Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel sind, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> jeweils ein Wasserstoffatom, Methyl oder (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>3</sub> ist und m = 1–12; n = 1–12.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Verbindung 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon ist.

3. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Verbindung aus *Antrodia camphorata* isoliert worden ist.

4. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Verbindung aus wässrigen Extrakten von *Antrodia camphorata* isoliert worden ist.

5. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Verbindung aus organischen Lösungsmittel-Extrakten von *Antrodia camphorata* isoliert worden ist.

6. Verwendung nach Anspruch 5, wobei die organischen Lösungsmittel aus der Gruppe, bestehend aus Alkoholen, Estern, Alkanen und halogenierten Alkanen, ausgewählt sind.

7. Verwendung nach Anspruch 6, wobei der Alkohol Ethanol ist.

8. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Lymphomzellen von der U937-Zelllinie stammen.

9. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Medikament in einer Form vorliegt, die aus der Gruppe, bestehend aus Pulver, Tablette, Kapsel, Pellet, Granulat und Flüssigkeit, ausgewählt ist.

10. Pharmazeutische Zusammensetzung zum Hemmen des Überlebens von Lymphomzellen, die eine aktive Dosis einer Verbindung nach Anspruch 1 und einen pharmazeutisch verträglichen Träger umfasst.

11. Zusammensetzung nach Anspruch 10, wobei die Verbindung 4-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-methyl-5-(3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trienyl)-cyclohex-2-enon ist.

12. Zusammensetzung nach Anspruch 11, wobei die Verbindung aus *Antrodia camphorata* isoliert worden ist.

13. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei die Verbindung aus wässrigen Extrakten von *Antrodia camphorata* isoliert worden ist.

14. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei die Verbindung aus organischen Lösungsmittel-Extrakten von *Antrodia camphorata* isoliert worden ist.

15. Zusammensetzung nach Anspruch 14, wobei die organischen Lösungsmittel aus der Gruppe, bestehend aus Alkoholen, Estern, Alkanen und halogenierten Alkanen, ausgewählt sind.

16. Zusammensetzung nach Anspruch 15, wobei der Alkohol Ethanol ist.

17. Zusammensetzung nach Anspruch 10, wobei die Lymphomzellen von der U937-Zelllinie stammen.

18. Zusammensetzung nach Anspruch 10, wobei die Zusammensetzung in einer Form vorliegt, die aus der Gruppe, bestehend aus Pulver, Tablette, Kapsel, Pellet, Granulat und Flüssigkeit, ausgewählt ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen