

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **16.02.2001**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **16.02.2000 05.09.2000**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/0003629 2000/0021774**
(33) Země priority: **GB GB**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.02.2003**
(Věstník č. 2/2003)
(86) PCT číslo: **PCT/GB01/00655**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/060810**

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 2791

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 307/22
A 61 K 31/341
A 61 P 35/00

(71) Přihlašovatel:
PHARMA MAR, S. A., Madrid, ES;

Pachastrissa sp.

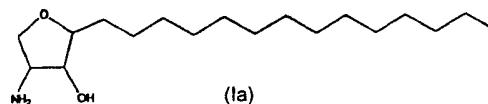
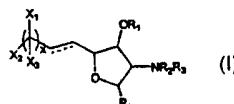
(72) Původce:
Higa Tatsuo, Okinawa, JP;
Tanaka Junichi, Okinawa, JP;
Garcia Gravalos Dolores, Madrid, ES;

(74) Zástupce:
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:
Oxy- a amino-substituované deriváty
tetrahydrofurylu s protinádorovým účinkem

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I, kde substituenty definované jako R_1 , R_2 , R_3 a R_4 jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, $C(=O)R'$, $P(=O)(R'R'')$, $S(=O)R'R''$, substituovaná nebo nesubstituovaná C_1 - C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina nebo R_1 , R_2 , R_3 případně tvoří část heterocyklického kruhu, dále R_2 je případně nezávisle vnitřní sůl, dále X_1 , X_2 , a X_3 jsou nezávisle umístěny v jakékoliv pozici řetězce a jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H, OH, OR', SH, SR', SOR', SO₂R', NO₂, NH₂, NHR', N(R')₂, NHC(O)R', CN, halogen, =O, C(=O)H, C(=O)CH₃, CO₂H, CO₂CH₃, substituovaná nebo nesubstituovaná C_1 - C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále x je mezi 6 až 20, dále tečkovaná čára znamená jednu nebo několik dvojných vazeb umístěných v jakékoliv pozici postranního řetězce, jsou užitečné pro léčbu nádorů a zahrnují sloučeninu IK-8-73-4 strukturního vzorce Ia, která byla izolována z houby



Oxy- a amino-substituované deriváty tetrahydrofurylu s protinádorovým účinkem

Oblast techniky

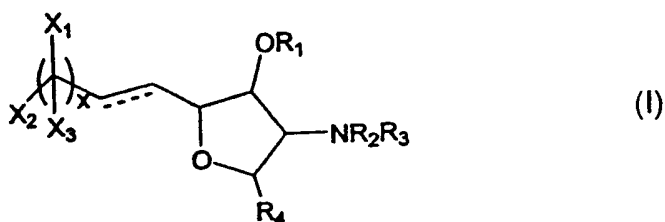
Tento vynález se týká protinádorových sloučenin.

Dosavadní stav techniky

Mořské organismy jsou velkým zdrojem biologicky účinných molekul. Sloučeniny jako je ecteinascidin 743 jsou předmětem klinických testů. Některé důležité účinné sloučeniny byly izolovány z hub, především palau'amin (izolovaný z mořské houby nalezené na ostrově Palau). Mezi další sloučeniny mořského původu patří spisulosiny jako je spisulosin 285, který je známý svým protinádorovým účinkem, s odkazem na WO 9 952 521.

Podstata vynálezu

Tento vynález se týká sloučenin, které jsou analogické ke skupině spisulosinů, a které mají obecný vzorec I,



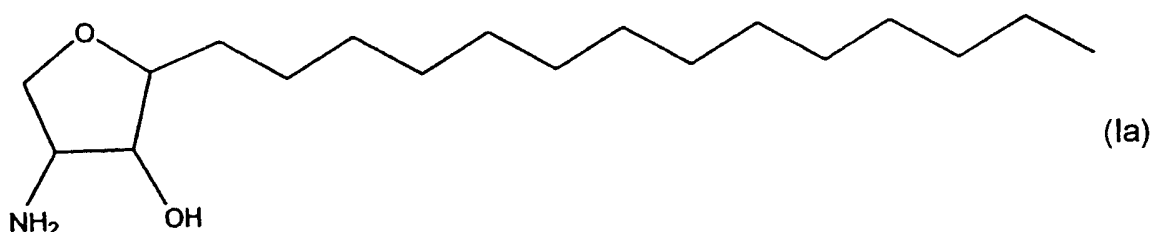
kde substituenty definované jako R_1 , R_2 , R_3 a R_4 jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, $C(=O)R'$, $P(=O)R'R''$, $S(=O)R'R''$, substituovaná nebo nesubstituovaná C_1 - C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkinylová

skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde všechny skupiny R' , R'' jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H, OH, NO_2 , NH_2 , SH, CN, halogen, =O, $\text{C}(=\text{O})\text{H}$, $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_1\text{-C}_{18}$ alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_2\text{-C}_{18}$ alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_2\text{-C}_{18}$ alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde R_1 , R_2 , R_3 případně tvoří část heterocyklického kruhu (nasycený jako například morfolin a oxazolidin nebo obsahující nenasycené dvojně vazby jako například morfolinon, oxazolidinon, které obvykle mají 5 nebo 6 atomů v kruhu), dále kde R_2 je případně nezávisle vnitřní sůl, dále kde X_1 , X_2 a X_3 v obecném vzorci I jsou nezávisle umístěny v jakékoliv pozici řetězce včetně té, která je bližší ke kruhu a to na jakémkoliv z uhlíků označených tečkovanou čarou a nezávisle se vyberou ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , $\text{SO}_2\text{R}'$, NO_2 , NH_2 , NHR' , $\text{N}(\text{R}')_2$, $\text{NHC}(\text{O})\text{R}'$, CN, halogen, =O, $\text{C}(=\text{O})\text{H}$, $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_1\text{-C}_{18}$ alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_2\text{-C}_{18}$ alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_2\text{-C}_{18}$ alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde substituenty definované jako R' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , $\text{SO}_2\text{R}'$, NO_2 , NH_2 , NHR' , $\text{N}(\text{R}')_2$, $\text{NHC}(\text{O})\text{R}'$, CN, halogen, =O, $\text{C}(=\text{O})\text{H}$, $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_1\text{-C}_{18}$ alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_2\text{-C}_{18}$ alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná $\text{C}_2\text{-C}_{18}$ alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde x je mezi 6 až 20, dále kde tečkovaná čára znamená jednu nebo několik dvojných vazeb umístěných v jakékoliv pozici postranního řetězce, dále kde stereochemie skupin OR_1 a NR_2R_3 je nezávisle *syn* nebo *anti*.

Tyto sloučeniny vykazují účinky proti leukémii, rakovině plic, rakovině tlustého střeva, rakovině ledvin, rakovině prostaty, rakovině vaječníku, rakovině prsu, sarkomům (zhoubné nádory pojivových tkání) a melanomům.

Tyto sloučeniny se tedy používají v lékařství, především při léčbě nádorů. Tento vynález se také týká farmaceutických přípravků obsahujících takovéto sloučeniny pro léčbu nádorů, například primárních (pevných) nádorů a dále použití těchto sloučenin pro přípravu léků pro léčbu nádorů.

Především se vynález týká sloučeniny označené IK-8-73-4. Sloučenina IK-8-73-4 má sumární vzorec $C_{18}H_{37}NO_2$ a strukturní vzorec Ia:



Sloučeniny tohoto vynálezu lze připravit ve formě solí, například R_2 je případně nezávisle vnitřní sůl. Výhodné vnitřní soli se připraví použitím jakékoliv minerální nebo organické kyseliny jako je například kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina vinná, kyselina jantarová atd. Způsob, použití a prostředky tohoto vynálezu zahrnují takovéto farmaceuticky přijatelné soli.

V některých výhodných provedeních je skupina R_4 vodík. Jedna ze skupin R_2 a R_3 nebo obě jsou výhodně vodík. Skupina R_1 je obvykle vodík. Jedna nebo dvě ze skupin X_1 , X_2 a X_3 nebo všechny tři jsou výhodně vodík. Obvykle tečkovaná čára chybí, to jest v tomto místě je jednoduchá vazba. Výhodně je x 10 až 18, výhodněji 10 až 14, například 12.

Mezi výhodné halogenové substituenty ve sloučeninách tohoto vynálezu patří F, Cl, Br a I.

Pokud není specifikováno jinak, mají alkylové skupiny výhodně 1 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 8 atomů uhlíku, ještě výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku a nejvýhodněji 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku. Mezi zvláště výhodné alkylové skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu patří methyl, ethyl, propyl včetně isopropylu. Termín alkylová skupina, pokud není specifikováno jinak, znamená cyklické a necyklické skupiny, přičemž cyklické skupiny obsahují minimálně tři uhlíky v kruhu.

Výhodné alkenylové a alkinylové skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu mají jednu nebo více nenasycených vazeb a 2 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 2 až 8 atomů uhlíku, ještě výhodněji 2 až 6 atomů uhlíku a nejvýhodněji 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku. Termíny alkenylová a alkinylová skupina znamenají cyklické a necyklické skupiny, přičemž přímé nebo rozvětvené necyklické skupiny jsou obvykle výhodnější.

Výhodné alkoxylové skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu mají jednu nebo více kyslíkových vazeb a 1 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 8 atomů uhlíku, ještě výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku a nejvýhodněji 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku.

Výhodné alkylthio skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu mají jednu nebo více thioetherových vazeb a 1 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 8 atomů uhlíku a ještě výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku. Zvláště výhodné jsou alkylthio skupiny s 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku.

Výhodné alkylsulfinylové skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu mají jednu nebo více sulfoxidových (SO) skupin a 1 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 8 atomů uhlíku a ještě výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku. Zvláště výhodné jsou alkylsulfinylové skupiny mající 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku.

Výhodné alkylsulfonylové skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu mají jednu nebo více sulfonylových (SO₂) skupin a 1 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 8 atomů uhlíku a ještě výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku. Zvláště výhodné jsou alkylsulfonylové skupiny mající 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku.

Výhodné aminoalkylové skupiny mají jednu nebo více primárních, sekundárních a/nebo terciálních amino skupin a 1 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 8 atomů uhlíku, ještě výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku, dokonce ještě výhodněji 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku. Sekundární a terciální aminové skupiny jsou obvykle výhodnější než primární aminové skupiny.

Výhodné heteroaromatické skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu mají jeden, dva nebo tři heteroatomy vybrané ze skupiny obsahující N, O nebo S atomy a patří mezi ně například kumarinyl včetně 8-kumarinyly, dále chinolinyly včetně 8-chinolinyly, dále pyridyl, pyrazinyl, pyrimidyl, furyl, pyrrolyl, thienyl, thiazolyl, oxazolyl, imidazolyl, indolyl, benzofuranyl a benzothiazolyl. Výhodné heteroalicyklické skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu mají jeden, dva nebo tři heteroatomy vybrané ze skupiny obsahující N, O nebo S atomy a patří mezi ně například tetrahydrofuranyl, tetrahydropyranyl, piperidinyly, morfolinové a pyrrolidinylové skupiny.

Mezi výhodné karbocyklické arylové skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu patří sloučeniny s jedním nebo více kruhy, včetně sloučenin s více kruhy, které obsahují oddělené a/nebo kondenzované arylové skupiny. Typické karbocyklické arylové skupiny obsahují 1 až 3 oddělené nebo kondenzované kruhy a 6 až 18 atomů uhlíku v kruzích. Mezi zvláště výhodné karbocyklické skupiny patří fenyl, včetně substituovaného fenylu jako je například 2-substituovaný fenyl, 3-substituovaný fenyl, 2,3-substituovaný fenyl, 2,5-substituovaný fenyl, 2,3,5-substituovaný fenyl a 2,4,5-substituovaný fenyl, včetně fenylu, kde jeden nebo více z jeho substituentů je elektron přitahující skupina jako například halogen, kyano skupina, nitro skupina, alkanoyl, sulfinyly, sulfonyly a tak podobně, dále naftyl, včetně 1-naftylu a 2-naftylu, dále bifenyl, fenantryly a anthracyl.

Substituované R' skupiny ve sloučeninách tohoto vynálezu lze substituovat na jedné nebo více dostupných pozicích pomocí jedné nebo více vhodných skupin, mezi které například patří halogen jako je fluoro, chloro, bromo a jodo skupina, dále

kyano skupina, dále hydroxylová skupina, dále nitro skupina, dále azido skupina, dále alkanoyl skupina jako je C_1-C_6 alkanoyl skupina jako je acylová skupina apod., dále karboxamido skupina, dále alkylové skupiny včetně skupin s 1 až 12 atomy uhlíku nebo 1 až 6 atomy uhlíku a výhodněji 1 až 3 atomy uhlíku, dále alkenylové a alkinylové skupiny včetně skupin s jednou nebo více nenasyčenými vazbami a s 2 až 12 atomy uhlíku nebo 2 až 6 atomy uhlíku, dále alkoxy skupiny s jednou nebo více kyslíkovými vazbami a s 1 až 12 atomy uhlíku nebo 1 až 6 atomy uhlíku, dále aryloxy skupina jako je fenoxi skupina, dále alkylthio skupiny včetně skupin s jednou nebo více thioetherovými vazbami a s 1 až 12 atomy uhlíku nebo 1 až 6 atomy uhlíku, dále alkylsulfinylové skupiny včetně skupin s jednou nebo více sulfinylovými vazbami a s 1 až 12 atomy uhlíku nebo 1 až 6 atomy uhlíku, dále alkylsulfonylové skupiny včetně skupin s jednou nebo více sulfonylovými vazbami a s 1 až 12 atomy uhlíku nebo 1 až 6 atomy uhlíku, dále aminoalkylové skupiny s jedním nebo více N atomy a s 1 až 12 atomy uhlíku nebo 1 až 6 atomy uhlíku, dále karbocyklické arylové skupiny s 6 nebo více atomy uhlíku, zvláště fenyl (R je například substituovaná nebo nesubstituovaná bifenylová skupina) a dále aralkylové skupiny jako je benzyl.

Stejně úvahy platí i pro substituenty povolené pro X_1 , X_2 a X_3 , včetně substituované C_1-C_{18} alkylové skupiny, substituované C_2-C_{18} alkenylové skupiny, substituované C_2-C_{18} alkinylové skupiny, substituované arylové skupiny, substituované heteroaromatické skupiny, stejně jako pro skupiny, u kterých bylo zmíněno R' . Tyto definice jsou uvedeny výhodně proto, aby se předešlo nesmyslným mnohonásobným substitucím, jako je alkyl substituovaný alkylem, což je alkylová skupina, jakož i proto, aby se předešlo strukturám, které nejsou věrohodné pro účel tohoto vynálezu. Výhodně jsou tvořeny maximálně 10 až 50, výhodněji 12 až 40, 14 až 30 nebo nejvýhodněji 16 až 20 atomy uhlíku na molekulu.

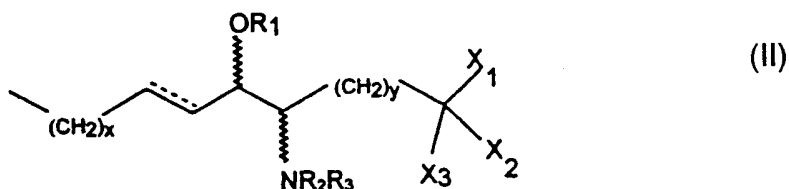
Substituenty X_1 , X_2 a X_3 v obecném vzorci I jsou nezávisle umístěny v jakékoliv pozici řetězce včetně té, která je bližší ke kruhu a to na jakémkoliv z uhlíků označených tečkovanou čarou a nezávisle vybrány. Tedy jeden ze substituentů je například v pozici přilehlé ke kruhu, další je uprostřed a další je vzdálen od kruhu.

Výhodné vnitřní soli se připraví použitím jakékoliv minerální nebo organické kyseliny jako je například kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina vinná, kyselina jantarová atd.

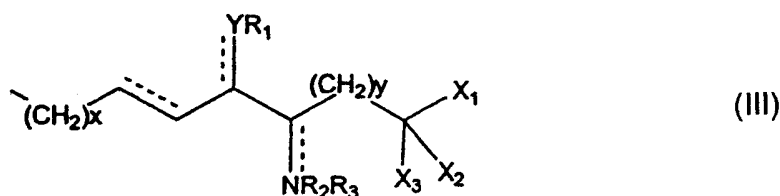
Ve výhodné skupině sloučenin tohoto vynálezu je R_4 alkylový řetězec se substituentem $-NR_2R_3$ a substituentem $-YR_1$ nebo $=YR_1$ na dalším uhlíku ve směru k furanovému kruhu, kde se Y vybere ze skupiny obsahující N, O, P, S a je výhodně O. Výhodně je amino skupina na druhém a na třetím uhlíku za předpokladu, že se terminální uhlík počítá jako první.

Sloučenina je v $-(CH_2)_n-$ případně nenasycená, výhodně jednoduše nenasycená.

Výhodné sloučeniny tohoto vynálezu mají postranní řetězec obecného vzorce II nebo III,



nebo

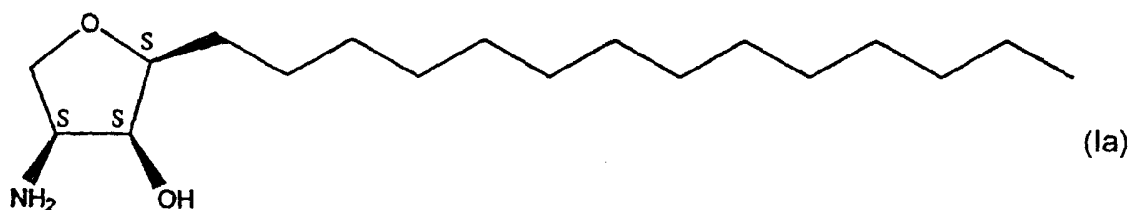


kde tečkovaná čára znamená jednoduchou nebo dvojnou vazbu, dále kde X_1 , X_2 a X_3 v obecném vzorci II a v obecném vzorci III jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN, halogen,

=O, C(=O)H, C(=O)CH₃, CO₂H, CO₂CH₃, substituovaná nebo nesubstituovaná C₁-C₁₈ alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C₂-C₁₈ alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C₂-C₁₈ alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde x a y je případně 0 až 20. Výhodně je x 8 až 16, výhodněji 10, 11, 12, 13 nebo 14. Výhodně je y 0, 1 nebo 2. V současné době je nejvýhodnější, když x je 11, 12 nebo 13 a y je 0 nebo 1.

Sloučeninu IK-8-73-4 lze izolovat z houby *Pachastrissa sp*, Desmospongiae, Astrophorida, Calthropellidae. Tento vynález se tedy týká také sloučeniny IK-8-73-4 izolované z *Pachastrissa sp* a způsobu izolace IK-8-73-4 charakterizovaného tím, že se tato sloučenina izoluje z *Pachastrissa sp*.

Sloučenina izolovaná z této houby má následující stereochemický strukturní vzorec (2S,3S,4S) Ia:



Biologický účinek této sloučeniny je ilustrován následujícími údaji IC₅₀, µg/ml:

P388	A459	HT29	Mel28
leukemie	lidské plíce	lidské tlusté střevo	melanom
0,01	0,01	0,01	0,01

Mezi jiná zvláště výhodná provedení tohoto vynálezu patří farmaceutické prostředky vhodné jako protinádorová činidla, která obsahují jako účinnou látku sloučeninu nebo sloučeniny tohoto vynálezu, nebo způsoby jejich přípravy.

Mezi příklady farmaceutických prostředků patří pevné (tablety, pilulky, kapsle, granule atd.) nebo kapalně prostředky (roztoky, suspenze nebo emulze) s vhodným složením pro orální, místní nebo parenterální podání.

Podání sloučenin nebo prostředků tohoto vynálezu lze provést jakýmkoliv vhodnými metodami jako je intravenózní infuze, orální podání, intraperitoneální a intravenózní podání.

Sloučeniny tohoto vynálezu lze také připravit syntézou. Sloučeniny lze připravit podle postupu na obrázku 6 uvedeném v Liebigs Ann. Chem., 1990, 1069-1078. Na obrázku 6 se sloučenina 43, (2R, 3S, 4S)-4-benzoylamido-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran, připraví ze sloučeniny 35, (4S, 1'S, 2'R)-4,5-dihydro-4-(1',2'-dihydroxytetradecy)-2-fenyl-1,3-oxazolu. (2R, 3S, 4S)-4-benzoylamido-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran se poté převede přes (2R, 3S, 4S)-4-benzylamido-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran a (2R, 3S, 4S)-4-amino-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran na sloučeninu 45, (2R, 3S, 4S)-4-acetamido-3-acetoxy-2-dodecyltetrahydrofuran. 4-benzylamido-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran a (2R, 3S, 4S)-4-amido-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran jsou meziprodukty a nečistí se.

Tento postup lze použít pro přípravu dalších sloučenin tohoto vynálezu pomocí změny výchozího materiálu 35 nebo 43 na obrázku 6 dle potřeby a izolováním debenzylované sloučeniny získané na konci druhého kroku při přeměně sloučeniny 43 na sloučeninu 45, které je dle potřeby následované derivatizací. Kromě toho jsou dostupné i další postupy syntézy tetrahydrofuranů a lze je přizpůsobit pro získání sloučenin tohoto vynálezu.

Syntetické sloučeniny tohoto vynálezu se výhodně připraví v téměř úplně čisté formě, to jest zbavené nečistot včetně výchozího materiálu a činidel. Především se jedná o benzyl a debenzylovanou sloučeninu, která se získá na konci prvního a druhého kroku při přeměně sloučeniny 43 na sloučeninu 45 dle postupu uvedeného

v Liebigs Ann. Chem., 1990, 1069-1078. Tento vynález se dále týká prostředků a použití benzoylových a acetylových sloučenin, sloučenin 43 a 45.

Mezi příklady farmaceutických prostředků tohoto vynálezu patří pevné (například tablety, pilulky, kapsle, granule atd.) nebo kapalné prostředky (roztoky, suspenze nebo emulze) s vhodným složením pro orální, místní nebo parenterální podání a případně obsahují čistou sloučeninu nebo čistou sloučeninu v kombinaci s nosičem nebo s jinými farmakologicky účinnými sloučeninami. Pro účely parenterálního podávání je nutné tyto prostředky sterilizovat.

Pro dodání sloučeniny do těla zvířat nebo člověka lze sloučeninu výhodně spojit s proteinovým nosičem nebo s jiným vhodným činidlem. Spojení případně nastává přímo mezi nosičem a sloučeninou nebo nepřímo přes vhodný spojovací řetězec.

Podání sloučenin nebo prostředků tohoto vynálezu lze provést jakýmkoliv vhodnými metodami jako je intravenózní infuze, orální podání, intraperitoneální a intravenózní podání. Výhodné jsou doby infuze do 24 hodin, výhodnější 2 až 12 hodin, nejvýhodnější 2 až 6 hodin. Žádoucí jsou především krátké doby infuze, což umožňuje provádět léčbu bez toho, aby pacient zůstal přes noc v nemocnici. Jestliže je to nutné, lze infuzi zavést na dobu 12 až 24 hodin nebo dokonce na dobu delší. Infuzi lze provádět ve vhodných intervalech, například 2 až 4 týdny. Farmaceutické prostředky obsahující sloučeninu tohoto vynálezu lze podávat prostřednictvím liposomální nebo nanosférické enkapsulace v prostředku s trvalým uvolňováním nebo pomocí jiných standardních možností podání.

Optimální dávka sloučeniny se mění v závislosti na druhu prostředku, způsobu podání a jednotlivých *situs*, hostitele a nádoru, které jsou léčeny. V úvahu je nutno vzít i další faktory jako je věk, tělesná hmotnost, pohlaví, strava, doba podávání, rychlost exkrece, stav hostitele, kombinace léků, citlivost reakce a vážnost onemocnění. Podávání lze provádět kontinuálně nebo periodicky až do maximální přípustné dávky.

Sloučeninu tohoto vynálezu lze při léčbě použít v kombinaci s jinými léky. Tyto jiné léky tvoří buď část stejného prostředku nebo jsou ve formě odděleného prostředku podávaného ve stejnou nebo různou dobu. Mezi příklady těchto jiných léků patří například:

- a) léky s antimitotickými účinky, zvláště ty, které se zaměřují na cytoskeletální prvky včetně modulátorů mikrotubulu jako jsou taxanové léky (jako je taxol, paclitaxel, taxoter, docetaxel), podofylotoxiny nebo vinca alkaloidy (získané z rostliny *Vinca rosea*) (vincristin, vinblastin),
- b) antimetabolické léky jako je 5-fluorouracil, cytarabin, gemcitabin, analogy purinu (jako je pentostatin, methotrexat),
- c) alkylační léky jako je hořčičný dusík (jako je cyklofosfamid nebo ifosfamid),
- d) léky, které se zaměřují na DNA jako jsou antracyklinové léky, adriamycin, doxorubicin, pharmorubicin nebo epirubicin,
- e) léky, které se zaměřují, jako je etoposid,
- f) hormony a hormonální agonisté nebo antagonisté jako jsou estrogeny, antiestrogeny (tamoxifen a příbuzné sloučeniny) a androgeny, flutamid, leuprorelin, goserelin, cyprotron nebo octreotid,
- g) léky, které se zaměřují na přenos signálu v nádorových buňkách včetně derivátů protilátek jako je herceptin,
- h) alkylační léky jako jsou platinové léky (cis-platin, carboplatin, oxaliplatin, paraplatin) nebo nitrosomočoviny,
- i) léky potenciálně ovlivňující metastázy nádorů jako jsou matrix metaloproteinázové inhibitory,
- j) genová terapie a antisence (komplementární sekvence genu) činidla,
- k) protilátky,
- l) další biologicky účinné sloučeniny mořského původu, hlavně ecteinascidiny jako je ecteinascidin 743 a didemniny (skupina látek původem z moře) jako je aplidin.

Příklady provedení vynálezu

Na ostrově Iriomote, Okinawa byla v květnu 1998 nalezena neidentifikovaná houba (OP-98-18). Tato houba (0,10 kg, nevysušená) byla extrahována acetonem (0,50 l, 3krát) a acetonový roztok se zakoncentroval. Získaná vodní suspenze se rozdělila pomocí EtOAc (ethylacetát), což vedlo ke vzniku 470 mg lipofilního materiálu (IC_{50} 0,25 μ g/ml). Většina získaného materiálu (310 mg) se podrobila chromatografické separaci nejdříve na silikagelu (aktivní frakce, 63,0 mg, eluované EtOAc:MeOH (methanol), 1:1) poté preparační TLC (oxid křemičitý, EtOAc:MeOH, 3:1) a nakonec separaci na kationtové ionexové koloně (eluované MeOH a MeOH + 0,05% TFA (kyselina trifluoroctová)). Celkem se získalo 10,1 mg (3,2 % z extraktu) sloučeniny 1.

Stejná sloučenina byla nalezena i u jiných druhů hub. Původně se předpokládalo, že houby jsou různé, avšak extrakty vykazaly stejná ^1H NMR spektra stejných druhů. Původní houba byla identifikována jako *Pachastrissa* sp. (Demospongiae, Astrophorida, Calthropellidae). Tato houba je uložena v laboratoři (voucher no. OP-98-18 a OP-98-21) a v muzeu v Queenslandu (QM G317 007). Odběr byl proveden 9. května 1998 na Sakiyama Bay, ostrov Iriomote, Okinawa.

Byl proveden odběr houby *Pachastrissa* sp. (OP-98-21). Houba se přenesla do laboratoře a až do extrakce se udržovala zmražená. Vzorek (0,20 kg, nevysušený) se extrahoval acetonem (0,5 l, 3krát) a přefiltrovaný acetonový extrakt se zakoncentroval. Získaná vodní suspenze se rozdělila pomocí EtOAc. Organická vrstva (1,40 g) vykazovala IC_{50} 0,1 μ g/ml. Vodná vrstva se zakoncentrovala a získaný pevný materiál se promyl MeOH. Filtrací se získal v MeOH rozpustný materiál. Tento MeOH extrakt (1,62 g) vykazoval IC_{50} 0,02 μ g/ml.

Většina (1,4 g) MeOH extraktu se podrobila separaci, nejdříve na Sephadex LH₂₀ (CH_2Cl_2 :MeOH, 1:1), poté na HPLC (RP18, eluované ne MeOH:H₂O (19:1), ale EtOAc:MeOH (1:1)) a nakonec na kationtové ionexové koloně (MeOH,

MeOH + 0,1% TFA), což vedlo ke vzniku 11,5 mg (0,8 % z extraktu) sloučeniny 1. Separace složek se nejprve zkoušela pomocí MeOH:H₂O. Zmíněná separace však nepřinesla žádoucí účinek, tak se k promytí kolony použilo méně polární rozpouštědlo EtOAc:MeOH. Tím se získala zmíněná sloučenina v této frakci (kontrola byla provedena pomocí NMR a také pomocí výsledků cytotoxicity).

Sloučenina 1 (volná forma, IK-8-73-4):

bílá amorfnní pevná látka,

[α]_D²¹+180 (c 0,1, EtOH),

IR (film) ν max 3342, 2920, 2850, 2355, 1556, 1469, 1215, 1039, 758, 667 cm⁻¹,

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 0,90 (3H, m, H-18), 1,29 (24H, brs, H-6 až 17), 1,62 (2H, m, H-5), 3,43 (1H, dd, J = 7,9, 8,9 Hz, H-1), 3,51 (1H, dt, J = 4,3, 8,9 Hz, H-2), 3,81 (1H, dt, J = 2,8, 6,7 Hz, H-4), 3,86 (1H, dd, J = 2,8, 4,3 Hz, H-3), 3,90 (1H, dd, J = 7,6, 7,9 Hz, H-1),

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 84,3 d (C-4), 73,3 d (C-3), 72,1 t (C-1), 56,0 d (C-2), 33,1 t, 30,9 t (C-5), 30,8 t, 30,7 t, 30,5 t, 30,5 t, 27,1 t a 23,7 t (C-6 až C-17), 14,4 q (C-18),

ESIMS m/z 300 ([M+H]⁺).

Sloučenina 1 (forma soli, IK-8-61-4):

bílá amorfnní pevná látka,

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 0,87 (3H, m, H-18), 1,29 (24H, brs, H-6 až 17), 1,65 (2H, m, H-5), 3,71 (1H, dt, J = 3,5, 6,6 Hz, H-4), 3,79 (1H, dd, J = 5,0, 8,5 Hz, H-1), 3,88 (1H, m, H-2), 3,91 (1H, dd, J = 7,3, 8,5 Hz, H-1), 4,25 (1H, dd, J = 3,5, 5,2 Hz, H-3),

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 84,3 d (C-4), 70,9 d (C-3), 68,9 t (C-1), 54,3 d (C-2), 33,0 t, 30,8 t, 30,7 t, 30,7 t, 30,4 t, 29,7 t (C-5), 27,2 t a 23,7 t (C-6 až C-17), 14,4 q (C-18),

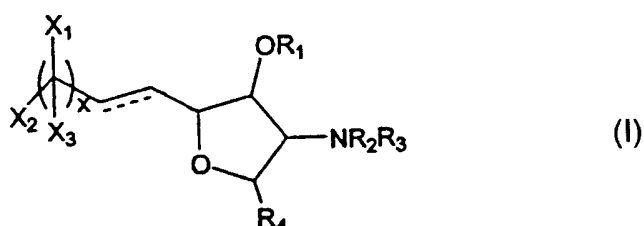
ESIMS m/z 299 (M⁺).

Průmyslová využitelnost

Tyto sloučeniny vykazují účinky proti leukémii, rakovině plic, rakovině tlustého střeva, rakovině ledvin, rakovině prostaty, rakovině vaječníku, rakovině prsu, sarkomům (zhoubné nádory pojivových tkání) a melanomům.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina obecného vzorce I,

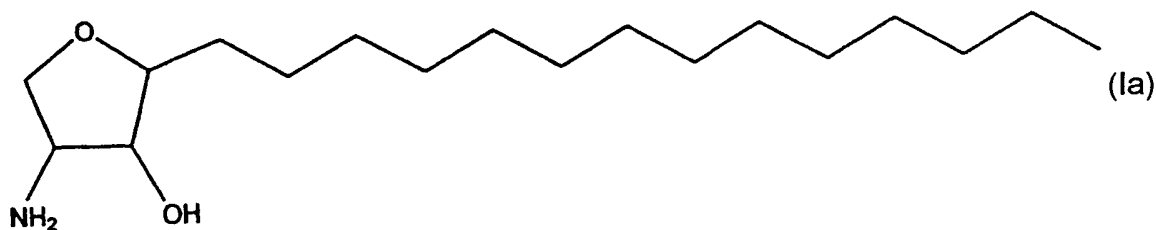


kde substituenty definované jako R_1 , R_2 , R_3 a R_4 jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H , $C(=O)R'$, $P(=O)R'R''$, $S(=O)R'R''$, substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde substituenty R' , R'' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H , OH , NO_2 , NH_2 , SH , CN , halogen, $=O$, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde R_1 , R_2 , R_3 případně tvoří část heterocyklického kruhu, dále kde R_2 je případně nezávisle vnitřní sůl, dále kde X_1 , X_2 a X_3 jsou nezávisle umístěny v jakékoliv pozici řetězce a jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H , OH , OR' , SH , SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN , halogen, $=O$, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde substituenty definované jako R' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H , OH , OR' , SH , SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$,

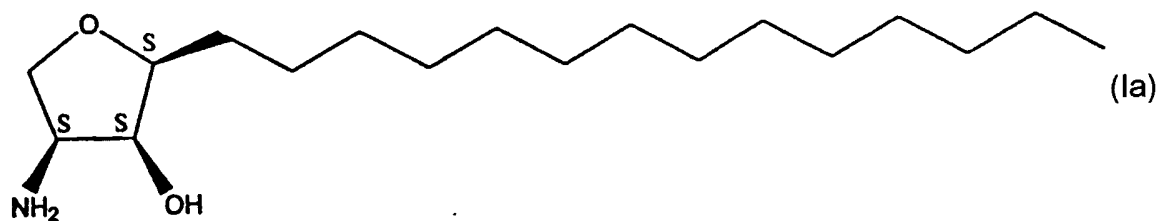
NHC(O)R', CN, halogen, =O, C(=O)H, C(=O)CH₃, CO₂H, CO₂CH₃, substituovaná nebo nesubstituovaná C₁-C₁₈ alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C₂-C₁₈ alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C₂-C₁₈ alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde x je mezi 6 až 20, dále kde tečkovaná čára znamená jednu nebo několik dvojných vazeb umístěných v jakékoliv pozici postranního řetězce, dále s výjimkou následujících sloučenin,

(2R, 3S, 4S)-4-benzoylamido-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran, nečištěný (2R, 3S, 4S)-4-benzylamido-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran, (2R, 3S, 4S)-4-amino-3-hydroxy-2-dodecyltetrahydrofuran, (2R, 3S, 4S)-4-acetamido-3-acetoxy-2-dodecyltetrahydrofuran, (2R, 3S, 4S)-4-amino-3-hydroxy-2-oktyltetrahydrofuran, 4-amino-3-hydroxy-2-tetradecyltetrahydrofuran, 4-amino-2-hexadecyl-3-hydroxytetrahydrofuran a 4-(2-hydroxypentanoylamino)-2-hexadecyl-3-hydroxytetrahydrofuran.

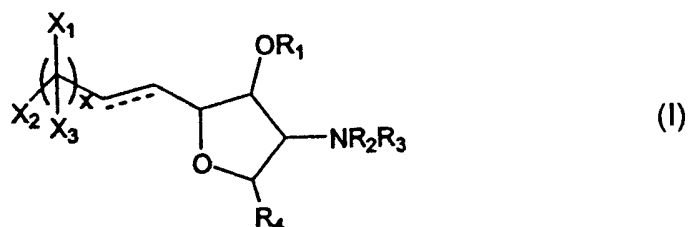
2. Sloučenina podle nároku 1 strukturního vzorce Ia.



3. Sloučenina podle nároku 1 stereochemického strukturního vzorce (2S,3S,4S) Ia.



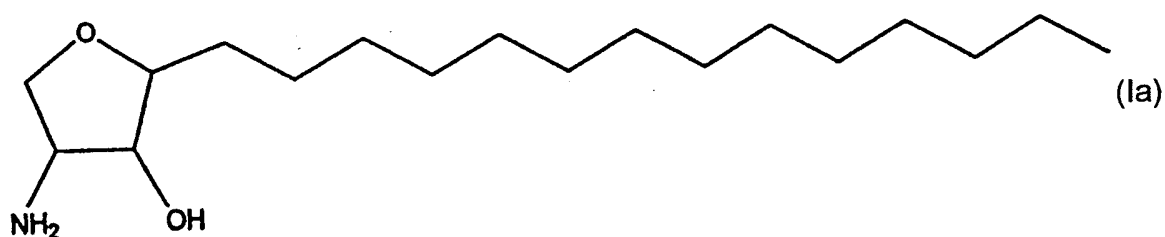
4. Použití sloučeniny obecného vzorce I,



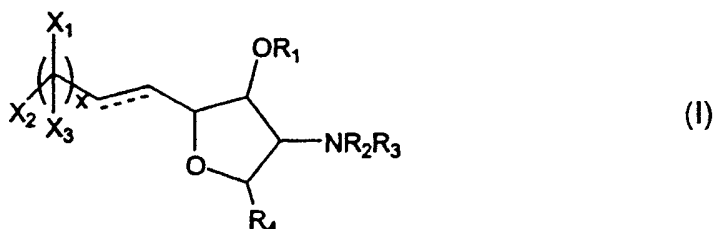
kde substituenty definované jako R_1 , R_2 , R_3 a R_4 jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, $C(=O)R'$, $P(=O)R'R''$, $S(=O)R'R''$, substituovaná nebo nesubstituovaná C_1 - C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde substituenty R' , R'' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, OH, NO_2 , NH_2 , SH, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1 - C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde R_1 , R_2 , R_3 případně tvoří část heterocyklického kruhu, dále kde R_2 je případně nezávisle vnitřní sůl, dále kde X_1 , X_2 a X_3 jsou nezávisle umístěny v jakékoliv pozici řetězce včetně té, která je bližší ke kruhu a to na jakémkoliv z uhlíků označených tečkovanou čarou a jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1 - C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde substituenty definované jako R' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná

nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde x je mezi 6 až 20, dále kde tečkovaná čára znamená jednu nebo několik dvojných vazeb umístěných v jakékoliv pozici postranního řetězce, při přípravě léku na léčení nádoru.

5. Použití podle nároku 4 sloučeniny strukturního vzorce Ia.



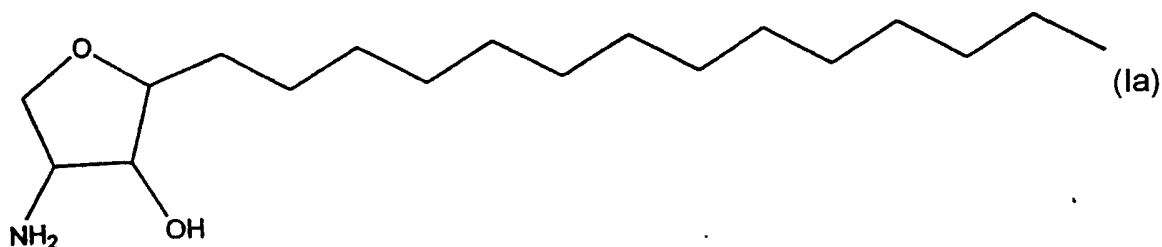
6. Použití podle nároku 4 nebo 5, kde se sloučenina podává v kombinaci s jinými léky ve stejnou nebo různou dobu.
7. Způsob léčení nádorů vyznačující se tím, že se podá účinné množství sloučeniny obecného vzorce I,



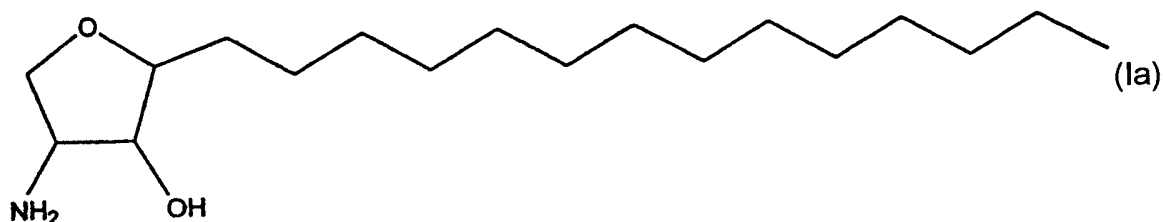
kde substituenty definované jako R_1 , R_2 , R_3 a R_4 jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, $C(=O)R'$, $P(=O)R'R''$, $S(=O)R'R''$, substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná

C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde substituenty R' , R'' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, OH, NO_2 , NH_2 , SH, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde R_1 , R_2 , R_3 případně tvoří část heterocyklického kruhu, dále kde R_2 je případně nezávisle vnitřní sůl, dále kde X_1 , X_2 a X_3 jsou nezávisle umístěny v jakékoliv pozici řetězce a jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde substituenty definované jako R' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde x je mezi 6 až 20, dále kde tečkovaná čára znamená jednu nebo několik dvojných vazeb umístěných v jakékoliv pozici postranního řetězce.

8. Způsob podle nároku 7 vyznačující se tím, že má sloučenina strukturní vzorec Ia.

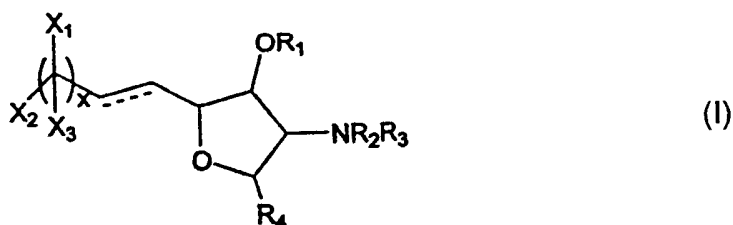


9. Způsob přípravy sloučeniny IK-8-73-4 strukturního vzorce Ia,



vyznačující se tím, že jako zdroj se použije houba *Pachastrissa* sp. obsahující sloučeninu IK-8-73-4 a tato sloučenina se z ní izoluje.

10. Farmaceutický prostředek pro léčbu nádoru vyznačující se tím, že obsahuje sloučeninu obecného vzorce I,



kde substituenty definované jako R_1 , R_2 , R_3 a R_4 jsou každý nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H, $C(=O)R'$, $P(=O)R'R''$, $S(=O)R'R''$, substituovaná nebo nesubstituovaná C_1 - C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2 - C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná

C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde substituenty R' , R'' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, OH, NO_2 , NH_2 , SH, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, dále kde R_1 , R_2 , R_3 případně tvoří část heterocyklického kruhu, dále kde R_2 je případně nezávisle vnitřní sůl, dále kde X_1 , X_2 a X_3 jsou nezávisle umístěny v jakékoliv pozici řetězce včetně té, která je bližší ke kruhu a to na jakémkoliv z uhlíků označených tečkovanou čarou a jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde substituenty definované jako R' jsou každý nezávisle vybrán ze skupiny obsahující H, OH, OR' , SH, SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NH_2 , NHR' , $N(R')_2$, $NHC(O)R'$, CN, halogen, =O, $C(=O)H$, $C(=O)CH_3$, CO_2H , CO_2CH_3 , substituovaná nebo nesubstituovaná C_1-C_{18} alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkenylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná C_2-C_{18} alkinylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná heteroaromatická skupina, dále kde x je mezi 6 až 20, dále kde tečkovaná čára znamená jednu nebo několik dvojných vazeb umístěných v jakékoliv pozici postranního řetězce, a farmaceuticky přijatelný nosič.

11. Farmaceutický prostředek podle nároku 10 vyznačující se tím, že obsahuje sloučeninu strukturního vzorce Ia.

