

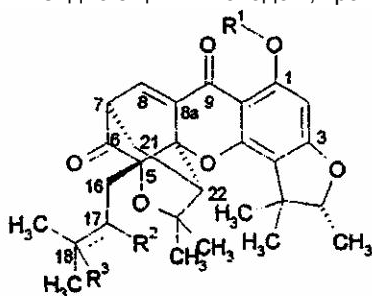
Цей винахід стосується нових похідних ксантону, їх одержання і використання як лікарських засобів. Більш конкретно, цей винахід спрямований на виділення нового природного продукту на основі ксантону, соотепенсеону, із листа *Dasymaschalon sootepense Craib*, Annonaceae, його ідентифікування та одержання його похідних і використання соотепенсеону та його похідних як протиракових агентів.

Рак є, мабуть, одним з найактивніших негативних чинників, які діють у світі на сьогодні, і вся світова наукова спільнота докладає зусиль для його профілактики та викорінення.

Очевидно, що створення нових хіміотерапевтичних агентів для боротьби з раком є медичною проблемою надзвичайної важливості. Проте розроблення нових лікарських засобів в області боротьби з раком є складним завданням, оскільки протиракові агенти мають бути смертельними для клітин пухлини або пригнічувати їх життєдіяльність, але в той же час не викликати надмірного ураження нормальних клітин. На даний час стан знань в галузі біології раку та в медичній хімії не гарантує створення нових класів сполук, які б могли бути ефективними протипухлинними агентами. Незважаючи на значний прогрес в галузях біології раку, молекулярної фармакології, фармакокінетики, медичної хімії та суміжних галузях, рівень знань про сполуки, що їх пошук ведеться, є ще недостатнім.

Оскільки на протязі останніх десятиліть на перший план вийшла концепція хіміотерапевтичного лікування злоякісних захворювань, у всьому світі ведуться інтенсивні дослідження сполук рослинного походження та їхніх похідних як нових інгібіторів пухлин. Прикладами важливих протиракових агентів рослинного походження є алкалоїди вінкалейкобластин (вінбластин) і лейкокристин (вінкристин); обидві сполуки виділені з рослини *Catharanthus roseus*. Широкий огляд природних продуктів як протиракових агентів подано в роботі Шрадха Сінха та Аудха Джайн (Shradha Sinha, Audha Jain, in: *Progress in Drug Research*, Vol.42, pp.53-132 (1994), Basel (Switzerland)).

Згідно з цим винаходом, пропонуються нові цитотоксичні похідні ксантону загальної формули (I)



(I)

де

R^1 є атом водню; метил ($-CH_3$), $-C_2-C_6$ -алкіл, форміл ($-CHO$); ацетил ($-COCH_3$), $-CO-C_2-C_6$ -алкіл, $-CO-C_3-C_8$ -циклоалкіл, $-CO-C_6-C_{18}$ -арил або $-CO-C_7-C_{24}$ -аралкіл, кожен з яких факультативно несе один або кілька замісників, обраних із групи, яка складається з таких радикалів: $-OH$, $-SH$, $-NH_2$, $-NHC_1-C_6$ -алкіл, $-N(C_1-C_6-алкіл)_2$, $-NHC_6-C_{14}$ -арил, $-N(C_6-C_{14}-арил)_2$, $-N(C_1-C_6-алкіл)(C_6-C_{14}-арил)$, $-NHCOR^2$, $-NO_2$, $-CN$, $-(CO)R^3$, $-(CS)R^4$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-O-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_6-C_{14}$ -арил, $-O(CO)R^5$, $-S-C_1-C_6$ -алкіл, $-S-C_6-C_{14}$ -арил, $-SOR^6$ та $-SO_2R^7$, причому символи R^2-R^7 незалежно один від одного означають атом водню, $-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_6-C_{14}$ -арил, $-NH_2$, $-NHC_1-C_6$ -алкіл, $-N(C_1-C_6-алкіл)_2$, $-NHC_6-C_{14}$ -арил, $-N(C_6-C_{14}-арил)_2$, $-N(C_1-C_6-алкіл)(C_6-C_{14}-арил)$, $-S-C_1-C_6$ -алкіл, $-S-C_6-C_{14}$ -арил;

радикал $-COO-C_1-C_6$ -алкіл, який факультативно несе один або кілька замісників, обраних із групи, яка складається з таких радикалів: $-OH$, $-SH$, $-NH_2$, $-NHC_1-C_6$ -алкіл, $-N(C_1-C_6-алкіл)_2$, $-NHC_6-C_{14}$ -арил, $-N(C_6-C_{14}-арил)_2$, $-N(C_1-C_6-алкіл)(C_6-C_{14}-арил)$, $-NHCOR^8$, $-NO_2$, $-CN$, $-(CO)R^9$, $-(CS)R^{10}$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-O-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_6-C_{14}$ -арил, $-O(CO)R^{11}$, $-S-C_1-C_6$ -алкіл, $-S-C_6-C_{14}$ -арил, $-SOR^{12}$ та $-SO_2R^{13}$, причому символи R^8-R^{13} незалежно один від одного означають атом водню, $-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_6-C_{14}$ -арил, $-NH_2$, $-NHC_1-C_6$ -алкіл, $-N(C_1-C_6-алкіл)_2$, $-NHC_6-C_{14}$ -арил, $-N(C_6-C_{14}-арил)_2$, $-N(C_1-C_6-алкіл)(C_6-C_{14}-арил)$, $-S-C_1-C_6$ -алкіл, $-S-C_6-C_{14}$ -арил;

радикал $-CONR^{14}R^{15}$, де символи R^{14} і R^{15} незалежно один від одного означають атом водню, $-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_1-C_6$ -алкіл, $-O-C_6-C_{14}$ -арил, $-NH_2$, $-NHC_1-C_6$ -алкіл, $-N(C_1-C_6-алкіл)_2$, $-NHC_6-C_{14}$ -арил, $-N(C_6-C_{14}-арил)_2$, $-N(C_1-C_6-алкіл)(C_6-C_{14}-арил)$, $-S-C_1-C_6$ -алкіл, $-S-C_6-C_{14}$ -арил;

або протикатіон, обраний із групи, яка складається з лужних або лужноземельних металів, таких як Li, Na, K, Ca, Mg, $NR^{16}R^{17}R^{18}R^{19+}$, де символи $R^{16}-R^{19}$ незалежно один від одного означають атом водню або $-C_1-C_6$ -алкіл;

кожний з R^2 і R^3 складає частину подвійного зв'язку $C^{17}=C^{18}[-C^{17}H=C^{18}(CH_3)_2]$ або є атомом водню $[-C^{17}H_2-C^{18}H(CH_3)_2]$,

або таутомери, енантіомери, стереоізомери або фізіологічно прийнятні солі чи сольвати таких сполук, або їх суміші.

У випадку, коли сполука вищезазначеної формули I існує в формі феноляту з дво- або багатовалентним протикатіоном, залишковий позитивний заряд може бути компенсованим шляхом поєднання з фізіологічно прийнятним аніоном, таким як Cl^- або OH^- .

Новий сполуці формули I, де R^1 є атомом водню, а R^2 і R^3 утворюють частину подвійного зв'язку $C^{17}=C^{18}$, присвоєно назву соотепенсеон (1).

Згідно з іншим аспектом винаходу, запропоновано спосіб виготовлення сполук формули I шляхом виділення соотепенсеону (1) із листа *Dasymaschalon sootepense Craib*, Annonaceae з наступним одержанням його похідних.

Крім того, цей винахід пропонує використання сполук формули (I) як лікарських засобів, зокрема, для лікування ракових захворювань.

Далі, цей винахід пропонує фармацевтичні композиції, які включають в себе ефективну кількість сполуки формули (I), для лікування пацієнта, який потребує такого лікування. Термін "ефективна кількість сполуки формули (I)" у значенні, вживаному в цьому описі, означає кількість сполуки, яка при введенні в організм пацієнта інгібує ріст клітин пухлини, вбиває злоякісні клітини, зменшує об'єм або розміри пухлин або повністю видаляє пухлину у пацієнта, якого піддають лікуванню.

Таким чином, по суті чисті сполуки згідно з цим винаходом можна вводити до складу дозованих лікарських форм, використовуючи фармацевтично прийнятні носії для перорального, місцевого або парентерального введення в організм пацієнтів, які потребують онкологічної терапії.

У варіанті, якому віддається перевага, пацієнтом є ссавець, зокрема, людина.

Ефективна кількість сполуки, яку треба вводити в організм пацієнта, як правило, залежить від площі поверхні тіла та маси тіла пацієнта, а також від його стану. Співвідношення доз для тварин та людини (виражених в міліграмах на квадратний метр поверхні тіла) описано в роботі Фрайрайх та ін. (E.J. Freireich et al., *Cancer Chemother. Rep.*, 50 (4), 219 (1966)). Площу поверхні тіла можна приблизно визначити за даними про зріст і масу тіла пацієнта (дивись, наприклад, *Scientific Tables*, Geigy Pharmaceuticals, Ardlly, N.Y., pp.537-538 (1970)). Рівні дозування, яким віддається перевага, залежать також від оцінки природи конкретного ракового захворювання, на яке страждає пацієнт, і загального фізичного стану пацієнта; цю оцінку дає лікар-куратор. Ефективні протипухлинні дози запропонованих сполук ксантону лежать у межах від 1мкг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 5000мкг/кг маси тіла пацієнта, більша перевага віддається дозам у межах від 2мкг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 1000мкг/кг маси тіла пацієнта.

Як відомо обізнаним фахівцям, ефективні дози варіюють також залежно від шляху введення, вживаного розріджувача та можливості сумісного вживання з іншими терапевтичними засобами, в тому числі з іншими протипухлинними агентами, і радіаційною терапією.

Запропоновані фармацевтичні композиції можна вводити внутрішньовенним, внутрішньом'язовим, внутрішньошкірним, підшкірним, внутрішньоочеревинним, місцевим шляхами або внутрішньовенним шляхом у формі ліпосом.

До прикладів дозованих лікарських форм належать водні розчини активного агента в ізотонічному сольовому розчині, 5%-ній глюкозі або в інших добре відомих фармацевтично прийнятних рідких носіях. Як фармацевтичні наповнювачі для забезпечення введення активного агента можна використовувати додаткові агенти, що сприяють розчинності, які добре відомі обізнаним фахівцям. В альтернативних варіантах сполуки згідно з цим винаходом можуть бути хімічно модифіковані для підвищення водорозчинності, наприклад, шляхом одержання фармацевтично прийнятних фенолатів.

Запропоновані сполуки можуть бути введені в дозовані лікарські форми, призначені для вживання іншими шляхами, з використанням добре відомих способів. Фармацевтичні композиції можна виготовляти, наприклад, у вигляді дозованих форм для перорального вживання, як-от капсул, м'яких капсул або таблеток. До складу капсул може входити будь-який відомий фармацевтично прийнятний матеріал, такий як желатин або похідні целюлози. Таблетки можна виготовляти за звичайною методикою шляхом пресування суміші активного агента із твердими носіями та змащувальними речовинами, добре відомими обізнаним фахівцям. Прикладами твердих носіїв є крохмаль, цукор, бентоніт. Сполуки згідно з цим винаходом можна вживати також у формі таблеток у твердій оболонці або капсул, які включають в себе, наприклад, лактозу або маніт як в'язучу речовину і звичайні наповнювачі та агенти, які сприяють процесу виготовлення таблеток.

Терміни "ефективна кількість" і "ефективна доза" стосовно до лікування тварин, вживані в цьому описі, означають такі кількості алкалоїду, які спричиняють ремісію або інгібування росту ракової пухлини у тварини, в організм якої вони введені, без небажаних токсичних реакцій. Ефективна кількість може варіювати залежно від шляху введення в організм, схеми вживання, виду пухлини та від інших чинників, які всі можна варіювати без виходу за межі обсягу або ефективності винаходу. Як правило, ефективною є доза в межах приблизно 0,001-100,0мг/кг маси тіла на день.

Терміни "рак" або "пухлина" у значенні, вживаному в цьому описі, охоплюють такі види пухлин (але жодним чином не обмежені ними): аденокарциноми, гліобластоми (а також інші пухлини мозку), злоякісні пухлини молочних залоз, шийки матки, прямої кишки, матки, шлунка, печінки, легенів (дрібноклітинні та не дрібноклітинні), лімфоми (в тому числі не лімфограулематозні, лімфосаркоми Беркітта, дифузні великоклітинні, фолікулярні лімфоми і дифузні лімфограульоми), меланома (метастатична), нейробластома, остеогенна саркома, пухлини яєчників, ретинобластома, саркоми м'яких тканин, пухлини яєчок та інші пухлини, що реагують на хіміотерапію.

Інші цілі та переваги винаходу легко стануть очевидними з наведеного нижче опису.

Сполуки згідно з Формулою (I), які є предметом цього винаходу, мають п'ятичленну циклічну систему ксантону (огляд таких сполук наведено в роботі Султанбава "Ксантоноїди тропічних рослин" (M.U.S. Sultanbawa, *Tetrahedron* 36 (1980), 1465-1506). Сповідється, що подібні циклічні системи мають такі природні сполуки:

Гамбогієва кислота (2), виділена з *Garcinia hanburyi* (дивись роботи M.Amorosa et al., *Ann. Chim. (Roma)*, 1966, 56, 232; A.S.Ahmad et al., *J.Chem. Soc. (C)*, 1966, 772 (структура); A.Arnore et al., *Tetr. Lett.* 1967, 4201 (дані ЯМР, структура)); морелін (3), виділений з *Garcinia morelli* (дивись роботи B.S.Rao, *J.Chem. Soc.* 1937, 853 (виділення); G.Kartha et al., *Tetr. Lett.* 1963, 459 (кристалічна структура); P.M.Nair et al., *Indian J.Chem.* 1964, 2, 402 (структура)); ганбурін (4), виділений з *Garcinia hanburyi* (дивись роботу J.Asano et al., *Phytochemistry* 1996, 41, 815 (виділення, УФ та ІЧ спектри, дані ПМР та ЯМР)); і форбезіон (5), виділений з *Garcinia forbesii* (дивись роботу Yuan Wah Eong, L.J.Harrison, G.J.Bennett, Hugh T.-W. Tan, *J.Chem. Research (S)* 1996, 392-393).

Ці сполуки мають при атомі вуглецю C-5 ізопренільний бічний ланцюг, а також фенольний гідроксил, що утворює водневий зв'язок. Морелін (3) та гамбогієва кислота (2) містять як спільний структурний фрагмент циклічну систему хромену. Усі сполуки (2)-(5) містять як спільний структурний фрагмент вуглецевий скелет біцикло[2.2.2]октену, конденсований з циклічною системою 2,2-диметилтетрагідрофурану (див. Фіг.1).

Ці сполуки, однак, мають істотні структурні відмінності від сполук формули I, які є предметом цього винаходу:

1) ізопренільний бічний ланцюг при C-5 окиснений до альдегіду, як в (3), або до карбонової кислоти, як у (2);

2) дигідрофурановий цикл, конденсований у положеннях 3,4, відсутній, як у (4), або замість нього присутній піраноновий цикл, конденсований у положеннях 2,3, як у (3);

3) циклічна система заміщена додатковим ізопренільним бічним ланцюгом при C-5, як у (3) і (5).

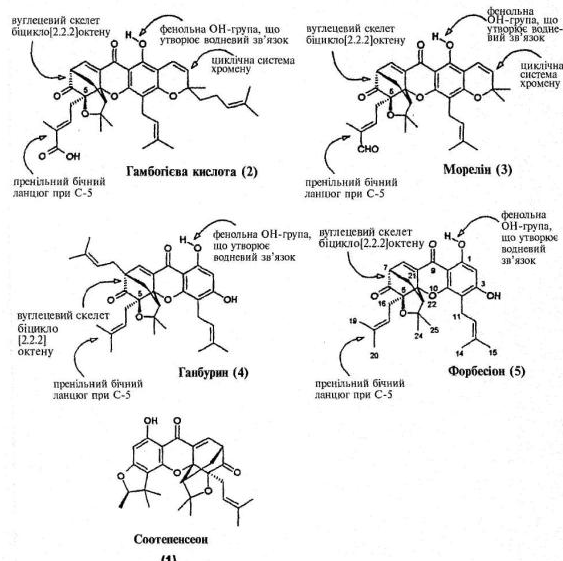
Навпаки, сполуки згідно з цим винаходом містять дигідрофуранові цикли, повністю заміщені, за винятком вуглецевого атома 2', конденсовані з модифікованою циклічною системою ксантону.

Таксономічні характеристики *Dasymaschalon sootepense* Craib дивись у монографії Хейвуда "Квіткові рослини світу" (V.H. Heywood, "Flowering Plants of the World", Univ. Press, Oxford, 1978).

Сполуки згідно з цим винаходом несподівано виявляють незвичайно високу протипухлинну активність. Крім того, ці сполуки мають низьку токсичність.

Таким чином, ксантонові сполуки згідно з цим винаходом є новими та мають винахідницький рівень.

Структури сполук (2)-(5) показано нижче:



Приклад 1

Виділення соотепенсеону (1; VR-3016, D-25637) із *Dasymaschalon sootepense*

Рослинний матеріал був зібраний у листопаді 1994р. в місцевості Дойтунг, провінція Чіанграй (Doitung, Chiangrai), північний Таїланд. Листя висушували на сонці (при приблизно 30-35°C) протягом 3 днів і зберігали у мішку із тканини. Сухе листя *D. sootepense* (6,4кг), подрібнене в порошок, послідовно екстрагували гексаном (110л), хлороформом (107л) і метанолом (180л), одержуючи відповідні неочищені екстракти в кількості відповідно 204,2г; 192,7г; і 1187,0г. Неочищений метанольний екстракт потім розподіляли між сумішами етилацетат (12л)-вода (4,35л) і n-бутанол (10л)-вода, при цьому одержано етилацетатну, n-бутанольну і водну фракції в кількості відповідно 103,6г; 388,7г; і 401,8г.

Етилацетатну фракцію (100г) хроматографували на силікагелі (Merck №7734, 1,62кг, екстракт попередньо змішували зі 180г силікагелю) з елюванням сумішами гексан-етилацетат і етилацетат-метанол. Фракції (по 300мл кожна) відбирали на основі тонкошарової хроматографії з одержанням в загальній кількості 19 фракцій (F₁-F₁₉). Фракції F₇ (1,10г) і F₈ (0,84г), одержані при елюванні 7-8% етилацетату в гексані, повторно хроматографували на силікагелі, застосовуючи як елюенти суміші гексан-етилацетат. Із фракції, одержаної при елюванні 30% етилацетату в гексані, виділено тверду речовину світло-жовтого кольору, яку піддавали подальшому очищенню шляхом радіальної хроматографії (силікагель, 20% етилацетату в гексані) і перекристалізації з суміші хлористого метилена з метанолом; одержано VR-3016 (0,2373г). Маточний розчин очищали рідинною хроматографією високої ефективності (елюент - хлористий метилен) з подальшою перекристалізацією з того ж розчинника; одержано додатково 0,1103г VR-3016. На основі спектроскопічних даних і рентгенодифракційного аналізу монокристалу сполуку було ідентифіковано як нову модифіковану похідну ксантону, яку було названо соотепенсеон 1.

Фізико-хімічні характеристики соотепенсеону (1):

Температура плавлення 192-193°C

Оптична активність: $[\alpha]_D^{28}$ -8,00, c=0,075 в хлороформі.

Елементний аналіз: знайдено С, 72,32; Н, 6,89.

Розраховано для C₂₈H₃₂O₆: С, 72,39; Н, 6,94.

ІЧ спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, в хлороформі, см⁻¹: 3560, 3033, 3011, 2980, 2932, 1740, 1638, 1590, 1470, 1428, 1382.

УФ спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, в етанолі, нм (log e): 213 (3,06), 263 (2,18), 326 (sh) (2,66), 355 (2,74).

Мас-спектр: m/z (70 eV): 464 (2%), 436 (100), 421 (45), 367 (17), 339 (60), 297 (40), 281 (8), 241 (7), 215 (28), 69 (90).

Дані ЯМР: ¹H і ¹³C ЯМР (300МГц і 400МГц, в дейтерохлороформі): див. Таблиці 1 і 2.

Описана схема виділення ілюстрована Схемою 1.

Характеристика структури соотепенсеону (1)

Структуру соотепенсеону було визначено шляхом аналізу його спектральних характеристик, тобто

інфрачервоного спектра, ультрафіолетового спектра, мас-спектра і особливо спектрів ^1H ЯМР і ^{13}C ЯМР.

Таблиця 1

Характеристики ^1H ЯМР для
соотепенсеону (1) (одиниці δ , кратності)

Протони та їх належність	Соотепенсеон (1)	Дальня кореляція ^1H - ^{13}C (корельовані атоми C)
C2-H	6,05 (s)	C1, C4, C9a
C7-H	3,42 (dd)	C6, C8a, C5*, C2"
C8-H	7,50 (d)	C4b, C6, C7
C1'-H	1,40 (d)	C2', C3'
C2'-H	4,40 (q)	-
C4'-H	1,18 (s)	C2', C3', C4'
C5'-H	1,60 (s)	C2', C3', C4'
C1"-CH ₂	2,27 (dd)	-
C1"-CH ₂	1,37 (dd)	-
C2"-H	2,45 (d)	C4b, C8a, C1", C3"
C4"-H	1,28 (s)	C2", C3"
C5"-H	1,73 (s)	C2", C3"
C1'''-CH ₂	2,58 (bd)	C4b, C5, C3''', C4'''
C1'''-CH ₂	2,50 (dd)	C4b
C2'''-H	4,40 (m)	-
C4'''-H	1,37 (dd)	C2'', C3''
C5'''-H	1,10 (dd)	C2'', C3''
C1-OH	13,10 (s)	C1, C2, C9a

* здогадна кореляція

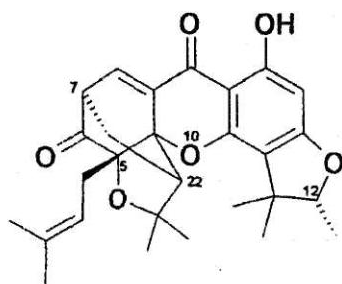
Таблиця 2

Характеристики ^{13}C ЯМР для соотепенсеону (1)
(одиниці δ , кратності)

Атоми C та їх належність	Соотепенсеон (1)
C1	166,2 (s)
C2	92,6 (s)
C3	168,5 (s)
C4	113,6 (d)
C4a	156,0 (s)
C4b	90,9 (s)
C5	84,6 (s)
C6	203,6 (s)
C7	47,1 (d)
C8	134,1 (d)
C8a	133,7 (s)
C9	178,9 (s)
C9a	101,4 (s)
C1'	13,5 (q)
C2'	91,0 (d)
C3'	43,2 (s)
C4'	21,0 (q)
C5'	23,9 (q)
C1"	26,0 (t)
C2"	49,6 (d)
C3"	82,9 (s)
C4"	28,9 (q)
C5"	30,7 (q)
C1'''	29,0 (t)
C2'''	117,8 (d)
C3'''	135,3 (s)
C4'''	25,5 (q)
C5'''	16,9 (q)

Відносна стереохімія

Відносну стереохімію соотепенсеону (1) було підтверджено шляхом рентгенодифракційного аналізу його монокристалу. Виходячи з цих даних, абсолютна конфігурація відповідає або стереохімії сполуки, показаної нижче



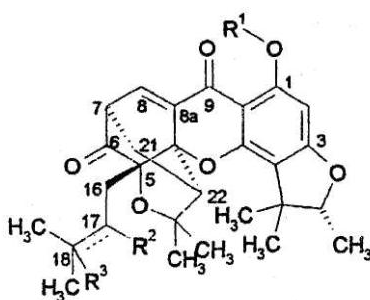
Соотепенсеон

(1)

або відповідній енантімерній формі цієї сполуки. Відносна стереохімія, зображена вище для соотепенсеону (1), дійсна також для похідних соотепенсеону згідно з формулою (I), за винятком тих похідних, які у обраних умовах реакції зазнають інверсії або рацемізації при одному або кількох хіральных центрах C-5, C-7, C-10a, C-12 і C-22.

Одержання похідних соотепенсеону

Таблиця 3



(I)

Сполука №	R ¹	R ²	R ³
1 (соотепенсеон)	H	R ² і R ³ утворюють частину подвійного зв'язку між C ¹⁷ і C ¹⁸	
6	ацетил	те ж	
7	фармацевтично прийнятний протиіон*	те ж	
8	C ₂ -C ₂₀ -алкілкарбоніл	те ж	
9	метил	те ж	
10	C ₂ -C ₂₀ -алкіл	те ж	
11	бензоїл	те ж	
12	бензоїн, заміщений -OH або -OCH ₃	те ж	
13	H	H	H

*придатними протикаціонами для фенолят-аніону є, наприклад, Na⁺, K⁺, ½Mg⁺⁺, ½Ca⁺⁺, HN(C₁-C₆-алкіл)₃⁺

Сполуки 6-13 можна одержати на основі соотепенсеону (1), використовуючи стандартні методики одержання похідних, які застосовуються в органічній хімії і добре відомі обізнаним фахівцям.

Приклад 2

Одержання 1-О-ацетилсоотепенсеону (6)

Розчин 1мг соотепенсеону (1) в 1мл безводного оцтового ангідриду перемішували при кімнатній температурі протягом 1год. Випаровували розчинник на водяній бані під зниженим тиском. Вихід: 1мг сполуки (6) у вигляді неочищеного залишку.

Солі соотепенсеону (7) можна одержати, наприклад, із використанням методик та реагентів, описаних у монографії Губен-Вейля "Методи органічної хімії" (Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4th Edition (1963)), том 6/2, "Кисневімісні сполуки I", частина 2 (Sauerstoffverbindungen I, part 2, pp.35ff). Наприклад, один еквівалент відповідної основи водять в реакцію з одним еквівалентом соотепенсеону у відповідному розчиннику, а потім випаровують розчинник або відділяють осаджену сіль (7) фільтруванням. Відповідну основу можна обрати, наприклад, із групи, що складається з гідроксидів лужноземельних металів та органічних амінів.

Метилування ОН-групи (одержання сполуки 9) можна здійснити, виходячи з соотепенсеону (1), із використанням діазометану, по аналогії з методикою, описаною Мустафа та Гішмат (Mustafa, Hishmat, JOSEAN, J.Org. Chem.; 22, 1957, 1644, 1646).

Ацилювання ОН-групи (одержання сполук 6, 8, 11 і 12) можна здійснити, виходячи з соотепенсеону (1), з використанням методики та реагентів, аналогічних описаним у монографії Губена-Вейля "Методи органічної хімії" (Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4th Edition (1985)), том E5, "Карбонові кислоти та їх похідні" (Carbonsäuren und Carbonsäure-Derivate, pp.691ff).

Алкілювання ОН-групи при С-1 (одержання сполуки 10) можна здійснити, виходячи з соотепенсеону (1), із використанням стандартних методик та стандартних реагентів, описаних у монографії Губена-Вейля "Методи органічної хімії" (Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4th Edition), том VI/3, "Кисневімісні сполуки", частина 3 (Sauerstoffverbindungen, part 3, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1965, pp.49ff).

Гідрування ізопренільного подвійного зв'язку $C^{17}=C^{18}$ до одинарного зв'язку $C^{17}-C^{18}$ (де кожний з R^2 і R^3 у формулі (I) є атомом водню; сполука 13) можна здійснити з використанням стандартних методик, описаних у монографії Губена-Вейля "Методи органічної хімії" (Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4th Edition), том IV/1c, "Відновлення", частина I (Reduktion, part I, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1981, pp.15ff).

Біологічна активність

Сполуки згідно з цим винаходом менш токсичні, ніж стандартні сполуки (дивись Таблицю 1). З іншого боку, соотепенсеон (1; D-25637) у тесті з порожнистим волокном показує вищу активність порівняно зі стандартними сполуками (дивись Таблицю 3).

Таблиця 1

Токсичність соотепенсеону (D-25637)

Сполука	LD50 (мг/кг, в/ч, на мишах)
Соотепенсеон (1; D-25637)	понад 100
Актиноміцин D	приблизно 1
Вінбластин	приблизно 6
Адріаміцин	приблизно 40
Блеоміцин	приблизно 80

в/ч – внутрішньоочеревинно

Обговорення результатів:

Токсичність соотепенсеону щонайменше у 100 разів нижче у порівнянні з актиноміцином D, приблизно в 16 разів нижче, ніж у вінбластину, і на 60% і 20% нижче порівняно відповідно з адріаміцином і блеоміцином.

2. Протипухлинна активність in vitro (ХТТ-тест на проліферацію/цитотоксичність)

Випробування за методом ХТТ було виконано, як описано в роботі Скуд'єро та інших (D.A.Scudiero et al., Cancer Res. 48 (Sept. 1, 1988), pp.4827-4833). Результати цього випробування виражають як величину дози, яка спричиняє 50%-не інгібування росту клітин порівняно з контролем через 45год. після введення речовини. Визначене таким чином значення дози позначають як ED50, і активність вказують для рівнів ED50, які не перевищують 30мкг/мл. Що нижче рівень ED50, то вище активність випробовуваної сполуки. Характеристики активності соотепенсеону (1), одержаного за Прикладом 1, подано нижче в Таблиці 2.

Таблиця 2

Сполука	Лінія клітин	ED50, мкг/мл
Соотепенсеон (1; D-25637)	KB	1,74
	L1210	1,74
	SK-OV-3	1,74
	LNCAP	1,74
Актиноміцин D	KB	0,17
	L1210	0,17
	SK-OV-3	1,74
	LNCAP	0,17
Адріаміцин	KB	0,17
	L1210	0,017
	SK-OV-3	0,17
	LNCAP	0,17
Блеоміцин	KB	0,17
	L1210	0,017
	SK-OV-3	0,17
	LNCAP	0,17
Вінбластин	KB	0,17
	L1210	0,017
	SK-OV-3	0,17

	LNCaP	0,17
--	-------	------

KB - карцинома епідермісу порожнини рота
L1210 - лімфатична лейкемія мишей
LNCaP - лімфомний метастаз карциноми
простати
SK-OV-3-карцинома яєчників людини
MCF-7-рак молочної залози людини

Обговорення результатів:
D-25637 має значну протиракову активність відносно всіх ліній пухлинних клітин, які використано при випробуваннях.

3. Протипухлинна активність соотепенсеону (D-25637) in vivo (випробування на порожнистому волокні)
Тест на порожнистому волокні було виконано, як описано в роботі Холлінгшед та інших (M.G.Hollingshead et al., Life Sciences, Vol.57, No.2, pp.131-141, 1995). Результати подано в Таблиці 3.

Таблиця 3

Сполука	Доза, мг/кг	Локалізація пухлини	% інгібування для клітин:	
			KB	MCF-7
Соотепенсеон (1; D-25637)	4×10в/ч	підшкірна	49	41
Актиноміцин D	4×0,1в/ч	підшкірна	40	-150
Адріаміцин	4×4в/ч	підшкірна	52	41
Блеоміцин	4×8в/ч	підшкірна	53	-67
Вінбластин	4×0,65в/ч	підшкірна	13	-165

KB - карцинома епідермісу порожнини рота
MCF-7 - рак молочної залози людини
в/ч - внутрішньоочеревинно

Обговорення результатів:
D-25637 є більш активним (49% інгібування) відносно лінії KB пухлинних клітин порівняно з вінбластином (13%) і актиноміцином D (40%) і має приблизно таку ж активність, як блеоміцин (53%). Крім того, відносно клітинної лінії MCF-7 D-25637 показав таку ж протиракову активність, як адріаміцин (41%), в той час як актиноміцин D, блеоміцин та вінбластин сприяли росту пухлини (негативні значення інгібування вказують на збільшення росту клітин порівняно з необробленою контрольною групою).

Схема 1

