



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

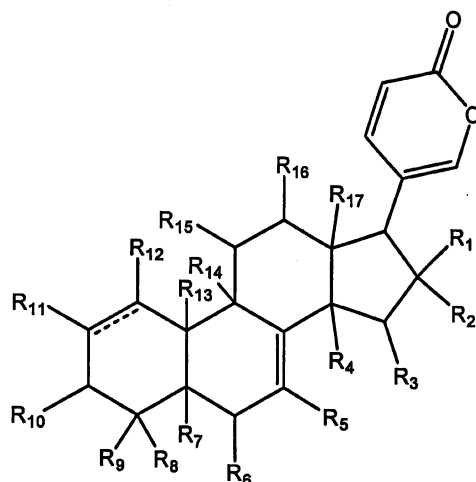
(11) 
1-0021030

(51)⁷ **C07J 19/00, 71/00, A61K 31/585, A61P** (13) **B**
35/00

-
- (21) 1-2012-03455 (22) 26.04.2011
(86) PCT/EP2011/056566 26.04.2011 (87) WO2011/134954 03.11.2011
(30) 10382095.7 27.04.2010 EP
(45) 27.05.2019 374 (43) 25.01.2013 298
(73) PHARMA MAR, S.A. (ES)
Avda. de los Reyes, 1, Polígono Industrial La Mina-Norte, E-28770 Colmenar Viejo - Madrid, Spain
(72) FERNANDEZ RODRIGUEZ, Rogelio (ES), REYES BENITEZ, José Fernando (ES),
FRANCESCH SOLLOSO, Andrés (ES), CUEVAS MARCHANTE, María del Carmen (ES)
(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

(54) **HỢP CHẤT STEROIT LACTON KHÔNG NO Ở VỊ TRÍ THỨ 7 (8) CÓ TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ BỆNH UNG THƯ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ**

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I:



(I)

trong đó R₁-R₁₇ và đường nét đứt ----- có các nghĩa khác nhau để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có tác dụng để điều trị bệnh ung thư và được phẩm chứa chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có tính tương đồng về cấu trúc so với các hợp chất bufadienolit được mô tả trong giải pháp kỹ thuật. Để xem các hợp chất bufadienolit, hãy xem Huimin Gao et al trong tài liệu: Nat. Prod. Rep., 2011, 28, 953.

Các hợp chất bufadienolit được báo cáo trong giải pháp kỹ thuật là các steroid tự nhiên, ban đầu được phân tách ra từ các nguồn tự nhiên ở trên trái đất như các cây thuộc các họ Crassulaceae, Hyacinthaceae, Iridaceae, Melianthaceae, Ranunculaceae, và Santalaceae, và các động vật thuộc loài *Bufo* (cóc), *Photinus* (đom đóm), và *Rhabdophis* (rắn) (Steyn et al. Nat. Prod. Rep. 1998, 15, 397-413; Krenn et al. Phytochemistry, 1998, 48(1), 1-29).

Trong số các hợp chất bufadienolit này, các hợp chất Scilliroside và Scilla khác đã được phân tách từ cây hành biển đỏ, *Urginea maritima*, và được mô tả có độc tố cao, đặc biệt là Scilliroside mà ảnh hưởng đến hệ tim mạch và hệ thần kinh trung ương, là nguyên nhân gây ra các cơn co giật và chết (Verbiscar et al. J. Agric. Food Chem. 1986, 34, 973-979; Kopp et al. Phytochemistry, 1996, 42(2), 513-522). Majinda et al. cũng đã phân lập các hợp chất bufadienolit từ *Urginea sanguinea*, tạo ra cây trồng không an toàn được dùng làm thảo dược (Planta Med. 1997, 63, 188-190).

Hoạt tính kháng virus kháng một loạt rinovirus và hoạt tính trị ecpet của một số hợp chất bufadienolit đã được đánh giá lần lượt bởi Kamano et al. (Chem. Pharm. Bull. 1988, 36(1), 326-332) và Takechi et al. (Phytochemistry, 1996, 41(1), 125-127), và đã phát hiện ra rằng hầu hết các hợp chất này đều thể hiện một số hoạt tính ức chế.

Ngoài ra, hoạt tính gây độc tế bào của một số hợp chất bufadienolit đã được đánh giá bởi một vài tác giả. Đặc biệt là, Jing et al. đã báo cáo rằng bufalin có tác dụng ức chế sự phát triển hiệu nghiệm trên các tế bào ung thư bạch cầu ở người (các dòng tế bào HL-60, ML1, U937, và K562), caxinom biểu mô (dòng tế bào HeLa), ung thư gan

(dòng tế bào PLC/PRF/5), và caxinom biểu bì (dòng tế bào A431), nhưng ít hiệu nghiệm hơn đối với bệnh bạch cầu M1 ở chuột, khối u ác tính B16, và dòng tế bào mô ung thư dạng bạch huyết P388 và u gan AH66 ở chuột và dòng tế bào PC12 của tế bào ưa crôm. Họ cũng đã phát hiện rằng bufalin kích thích sự chết tế bào theo chương trình điển hình ở dòng tế bào HL-60 bệnh bạch cầu ở người mà không phải bạch cầu ở người (Jpn. J. Cancer Res. 1994, 85(6), 645-651).

Kupchan et al. đã mô tả một số hợp chất bufadienolit được phân tách từ *Bersama abyssinica* mà thể hiện hoạt tính ức chế kháng caxinom của dòng tế bào mũi-hầu (KB) ở người (Bioorg. Chem. 1971, 1, 13-31; J. Org. Chem. 1971, 36(18), 2611-2616).

Kamano et al. đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của 80 hợp chất bufadienolit và cardenolit, được phân tách từ thuốc Trung Hoa Ch'an Su (thu được từ tuyến da của con cóc như *Bufo gargarizans*), kháng dòng tế bào caxinoma gan sơ phát PLC/PRF/5 và dòng tế bào kháng colkixin của cây bả chó PLC/PRF/5. Trong số chúng, 16 hợp chất đã được thể hiện là có độc tố tế bào hiệu nghiệm ($IC_{50} < 10^{-3}$ $\mu\text{g/mL}$) kháng dòng tế bào PLC/PRF/5 (Bioorg. Med. Chem. 1998, 6, 1103-1115; J. Med. Chem. 2002, 45, 5440-5447). Hợp chất bufadienolit khác đã được phân tách bởi Nogawa et al. từ cùng một nguồn, các hợp chất này đã được thử nghiệm kháng caxinom mũi hầu ở người (KB), bệnh bạch cầu ở người (HL-60), bệnh bạch cầu ở chuột (MH60), ung thư tuyến tụy (BXPC3), ung thư tuyến vú (MCF7), u nguyên bào đệm CNS (SF268), NSC ở phổi (NCIH460), caxinom ở ruột kết (KM20L2), và các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt (DU145) (J. Nat. Prod. 2001, 64, 1148-1152).

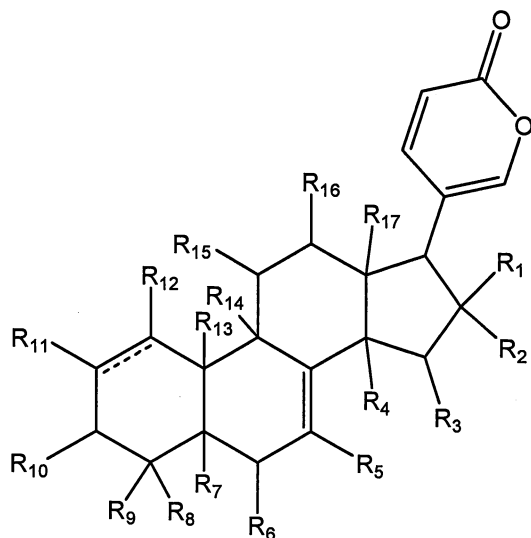
Ye et al. đã điều chế các hợp chất bufadienolit mới từ bufalin bằng cách hydroxyl hóa vi khuẩn. Các hợp chất này được thử nghiệm chống lại các dòng tế bào ung thư gan ở người Bel-7402, ung thư dạ dày ở người BGC-823, caxinom cổ ở người HeLa, và bệnh bạch cầu HL-60 ở người, thể hiện một số trong số các độc tố tế bào hiệu nghiệm có thể so sánh với các độc tố tế bào của bufalin (J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 2004, 91, 87-98; J. Nat. Prod. 2005, 68, 626-628).

Vì bệnh ung thư là nguyên nhân chính gây chết ở động vật và ở người, đã và đang có rất nhiều nỗ lực để đạt được hoạt tính và độ an toàn trị liệu trị ung thư cho các

bệnh nhân mắc bệnh ung thư. Vấn đề cần được giải quyết bởi sáng chế là đề xuất các hợp chất mà hữu ích trong việc điều trị bệnh ung thư.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức chung I hoặc các muối được dụng, các tiền dược chất hoặc các chất đồng phân lập thể của nó:



(I)

trong đó:

mỗi R_1 và R_2 độc lập được chọn từ hydro, halogen, OR_a , $OCOR_a$, và $OCOOR_a$, hoặc R_1 và R_2 cùng là $=O$;

mỗi R_3 , R_{15} , và R_{16} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, và $=O$, với điều kiện là khi nhóm $=O$ có mặt thì hydro của nguyên tử C mà $=O$ được gắn vào đó không có mặt;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_{11} , R_{12} , và R_{14} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, và $OCOOR_a$;

mỗi R_8 , R_9 , và R_{17} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế;

R_{10} được chọn từ hydro, OR_b , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, và $=O$, với điều kiện là khi nhóm $=O$ có mặt thì hydro của nguyên tử C mà $=O$ được gắn vào đó không có mặt;

R_{13} được chọn từ hydro, COR_a , C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, và C_2-C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_a độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, và nhóm dị vòng được thế hoặc không được thế;

mỗi R_b độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2-C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, nhóm dị vòng được thế hoặc không được thế, và đường được thế hoặc không được thế; và

đường nét đứt ----- là liên kết khác, nhóm epoxy, hoặc là không có mặt.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng hoặc chất đồng phân lập thể của nó, để dùng làm thuốc, cụ thể là dùng làm thuốc để điều trị bệnh ung thư.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng hoặc chất đồng phân lập thể của nó, trong việc điều trị bệnh ung thư, hoặc trong việc bào chế thuốc, tốt hơn là để điều trị bệnh ung thư. Các khía cạnh khác của sáng chế mô tả các phương pháp điều trị, và các hợp chất để sử dụng trong các phương pháp này. Do đó, sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị động vật có vú bất kỳ, đặc biệt là người, bị ảnh hưởng bởi bệnh ung thư mà bao gồm việc cho cá nhân bị mắc bệnh dùng lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu hợp chất như được xác định ở trên.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng hoặc chất đồng phân lập thể của nó, để dùng làm thuốc điều trị bệnh ung thư.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng, tiền được chất hoặc chất đồng phân lập thể của nó, cùng với chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức chung I như được xác định ở trên.

Trong các hợp chất này, các nhóm có thể được chọn theo hướng dẫn sau:

Các nhóm alkyl có thể phân nhánh hoặc không phân nhánh, và tốt hơn là có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon. Một lớp được ưu tiên hơn của các nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Thậm chí tốt hơn nữa là các nhóm alkyl có 1, 2, 3 hoặc 4 nguyên tử cacbon. Metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl là các nhóm alkyl được đặc biệt ưu tiên trong các hợp chất của sáng chế. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ alkyl, trừ khi có quy định khác, dùng để chỉ cả các nhóm dạng vòng và không phải dạng vòng, mặc dù các nhóm dạng vòng sẽ bao gồm ít nhất ba thành phần cacbon trong vòng.

Các nhóm alkenyl và alkynyl được ưu tiên trong các hợp chất của sáng chế có thể được phân nhánh hoặc không được phân nhánh, có một hoặc nhiều liên kết không no và từ 2 đến 12 nguyên tử cacbon. Một lớp được ưu tiên hơn của các nhóm alkenyl và alkynyl có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon. Thậm chí được ưu tiên hơn là các nhóm alkenyl và alkynyl có 2, 3 hoặc 4 nguyên tử cacbon. Các thuật ngữ alkenyl và alkynyl được sử dụng ở đây dùng để chỉ cả nhóm dạng vòng hoặc không phải dạng vòng, mặc dù các nhóm dạng vòng sẽ bao gồm ít nhất ba thành phần cacbon trong vòng.

Các nhóm aryl thích hợp trong các hợp chất của sáng chế bao gồm các hợp chất một vòng hoặc nhiều vòng, bao gồm các hợp chất nhiều vòng mà có chứa các nhóm aryl tách riêng và/hoặc được ngưng tụ. Các nhóm aryl thông thường chứa từ 1 đến 3 vòng được tách riêng hoặc được ngưng tụ và từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon trong vòng. Tốt hơn là, các nhóm aryl chứa từ 6 đến 10 nguyên tử cacbon trong vòng. Các nhóm aryl được đặc biệt ưu tiên bao gồm phenyl được thế hoặc không được thế, naphthyl được thế hoặc không được thế, biphenyl được thế hoặc không được thế, phenanthryl được thế hoặc không được thế, và anthryl được thế hoặc không được thế.

Các nhóm dị vòng thích hợp bao gồm các nhóm dị vòng thơm và các nhóm dị vòng béo chứa từ 1 đến 3 vòng được tách riêng và/hoặc được ngưng tụ và từ 5 đến 18 nguyên tử trong vòng. Các nhóm dị vòng thơm và các nhóm dị vòng béo chứa từ 5 đến 10 nguyên tử trong vòng. Các nhóm dị vòng thơm thích hợp trong các hợp chất của sáng chế có chứa một, hai hoặc ba nguyên tử khác loại được chọn từ các nguyên tử N,

O hoặc S và bao gồm, ví dụ, coumarinyl bao gồm 8-coumarinyl, quinolyl bao gồm 8-quinolyl, isoquinolyl, pyridyl, pyrazinyl, pyrazolyl, pyrimidinyl, furyl, pyrrolyl, thienyl, thiazolyl, isothiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, isoxazolyl, oxazolyl, imidazolyl, indolyl, isoindolyl, indazolyl, indolizinyl, phthalazinyl, pteridinyl, purinyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, furazanyl, pyridazinyl, triazinyl, cinnolinyl, benzimidazolyl, benzofuranyl, benzofurazanyl, benzothienyl, benzothiazolyl, benzoxazolyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, naphthyridinyl và furopyridyl. Các nhóm dị vòng béo thích hợp trong các hợp chất của sáng chế chứa một, hai hoặc ba nguyên tử khác loại được chọn từ các nguyên tử N, O hoặc S và bao gồm, chẳng hạn, pyrrolidinyl, tetrahydrofuryl, dihydrofuryl, tetrahydrothienyl, tetrahydrothiopyranyl, piperidyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, thioxanyl, piperazinyl, azetidiny, oxetanyl, thietanyl, homopiperidyl, oxepanyl, thiepanyl, oxazepinyl, diazepinyl, thiazepinyl, 1,2,3,6-tetrahydropyridyl, 2-pyrrolinyl, 3-pyrrolinyl, indolinyl, 2H-pyranyl, 4H-pyranyl, dioxolanyl, dioxanyl, 1,3-dioxolanyl, pyrazolinyl, dithianyl, dithiolanyl, dihydropyranyl, dihydrothienyl, pyrazolidinyl, imidazolinyl, imidazolidinyl, 3-azabicyclo[3.1.0]hexyl, 3-azabicyclo[4.1.0]heptyl, 3H-indolyl, và quinolizinyl.

Thuật ngữ đường bao gồm monosacarit, disacarit, trisacarit, polysacarit, oligosacarit, và các dẫn xuất sacarit. Tốt hơn là, sacarit được chọn từ rhamnoza, glucoza, digitoxoza, digitaloza, digginoza, sarmentoza, vallaroza, và fructoza. Các dẫn xuất của nó, bao gồm glycosit của đường, N-glycosylamin, các dẫn xuất O-axyl, các dẫn xuất O-metyl, rượu đường, axit đường, đường deoxy, và các nhóm có liên quan, là các nhóm đường cũng được ưu tiên.

Các nhóm halogen thích hợp trong các hợp chất của sáng chế bao gồm F, Cl, Br và I.

Các nhóm được đề cập ở trên có thể được thế ở một hoặc nhiều vị trí có sẵn bằng một hoặc nhiều nhóm thích hợp như OR', =O, SR', SOR', SO₂R', NO₂, NHR', N(R')₂, =N-R', NHCOR', N(COR')₂, NHSO₂R', NR'C(=NR')NR'R', CN, halogen, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCON(R')₂, CONHR', CON(R')₂, C₁-C₁₂ alkyl được thế hoặc không được thế, C₂-C₁₂ alkenyl được thế hoặc không được thế, C₂-C₁₂ alkynyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, và nhóm dị vòng được thế hoặc không được thế, trong đó mỗi trong số các nhóm R' độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, OH, NO₂, NH₂, SH, CN, halogen, COH, COalkyl,

COOH, C₁-C₁₂ alkyl được thể hoặc không được thể, C₂-C₁₂ alkenyl được thể hoặc không được thể, C₂-C₁₂ alkynyl được thể hoặc không được thể, aryl được thể hoặc không được thể, và nhóm dị vòng được thể hoặc không được thể. Trong đó chính các nhóm này được thể, các phần tử thể có thể được chọn từ danh mục trên.

Thuật ngữ “các muối được dụng và các tiền được chất” dùng để chỉ muối được dụng bất kỳ, este, solvat, hydrat hoặc hợp chất khác bất kỳ mà, khi cho bệnh nhân dùng có khả năng tạo ra (trực tiếp hoặc gián tiếp) hợp chất như được mô tả ở đây. Tuy nhiên, sẽ được đánh giá rằng các muối không được dụng cũng nằm trong phạm vi của sáng chế vì các hợp chất này có thể hữu ích trong việc điều chế các muối được dụng. Việc điều chế các muối và tiền được chất có thể được thực hiện bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực.

Ví dụ, các muối được dụng của các hợp chất được đưa ra ở đây được tổng hợp từ hợp chất gốc, mà chứa gốc bazơ hoặc axit, bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nhìn chung, các muối này, ví dụ, được điều chế bằng cách cho các dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng tỷ lượng của bazơ hoặc axit thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ hoặc trong hỗn hợp của cả hai. Nhìn chung, môi trường không chứa nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol hoặc axetonitril là được ưu tiên. Các ví dụ về các muối cộng axit bao gồm các muối cộng axit vô cơ như, ví dụ, hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, sulphat, nitrat, phosphat, và các muối cộng axit hữu cơ như, ví dụ, axetat, trifloaxetat, maleat, fumarat, xitrat, oxalat, suxinat, tartrat, malat, mandelat, metansulfonat và *p*-toluensulfonat. Các ví dụ về các muối cộng bazơ bao gồm các muối vô cơ như, ví dụ, các muối natri, kali, canxi và amoni, và các muối kiềm hữu cơ như, ví dụ, etylendiamin, etanolamin, *N,N*-dialkylentanolamin, trietanolamin và các muối aminoaxit bazơ.

Các hợp chất của sáng chế có thể ở dạng tinh thể hoặc dưới dạng các hợp chất tự do hoặc dưới dạng các solvat (chẳng hạn các hydrat) và được dự định rằng cả hai dạng đều nằm trong phạm vi của sáng chế. Các phương pháp solvat hóa nhìn chung đã biết trong lĩnh vực.

Hợp chất bất kỳ mà là tiền được chất của hợp chất có công thức I là nằm trong phạm vi của sáng chế. Thuật ngữ “tiền được chất” được dùng trong ngữ cảnh rộng

nhất của nó và bao gồm các dẫn xuất của nó được chuyển hóa in vivo thành các hợp chất của sáng chế. Các ví dụ về các tiền dược chất bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các dẫn xuất và các chất chuyển hóa của các hợp chất có công thức I hoặc II mà bao gồm các gốc có thể thủy phân sinh học như các amit có thể thủy phân sinh học, các este có thể thủy phân sinh học, các carbamat có thể thủy phân sinh học, các carbonat có thể thủy phân sinh học, các ureit có thể thủy phân sinh học, và các chất tương tự phosphat có thể thủy phân sinh học. Tốt hơn là, các tiền dược chất của các hợp chất với các nhóm chức carboxyl là các este alkyl bậc thấp của axit carboxylic. Các este carboxylat thường được tạo thành bằng cách este hóa bất kỳ các gốc axit carboxylic nào có mặt trên phân tử. Các tiền dược chất thông thường có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp đã được biết rõ, như các phương pháp được mô tả bởi Burger trong tài liệu: “Medicinal Chemistry and Drug Discovery 6th ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) và “Design and Applications of Prodrugs” (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers).

Hợp chất bất kỳ được đề cập ở đây được dự định là hợp chất đặc hiệu cũng như một số các biến thể hoặc các dạng nhất định. Cụ thể, các hợp chất được đề cập ở đây có thể có tâm không đối xứng và do đó có mặt ở các dạng đồng phân đối ảnh thể hoặc dạng đồng phân không đối quang. Như vậy, hợp chất bất kỳ được đưa ra được đề cập ở đây được dùng để chỉ hợp chất bất kỳ của raxemat, một hoặc nhiều dạng đồng phân đối ảnh thể, một hoặc nhiều dạng đồng phân không đối quang, và các hỗn hợp của nó. Tương tự, hiện tượng đồng phân lập thể hoặc hiện tượng đồng phân hình học về liên kết đôi là cũng có thể, do đó trong một số trường hợp phân tử này có thể tồn tại dưới dạng chất đồng phân (E) hoặc chất đồng phân (Z) (chất đồng phân dạng *trans* và *cis*). Nếu phân tử này có chứa một số liên kết đôi, mỗi liên kết đôi sẽ có chính hiện tượng đồng phân đối ảnh thể của nó, mà có thể là giống, hoặc khác với, hiện tượng đồng phân đối ảnh thể của các liên kết đôi khác của phân tử. Ngoài ra, các hợp chất được đề cập ở đây có thể có mặt dưới dạng các chất đồng phân atrop. Tất cả chất đồng phân lập thể bao gồm các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân đối quang, các chất đồng phân hình học và các chất đồng phân atrop của các hợp chất được đề cập ở đây, và các hỗn hợp của nó, được xem là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Ngoài ra, hợp chất bất kỳ được đề cập đến ở đây có thể có mặt dưới dạng được đánh dấu đồng vị tức là các hợp chất mà khác khi có mặt của một hoặc nhiều nguyên

tử được làm giàu phóng xạ. Ví dụ, các hợp chất có các cấu trúc này ngoại trừ sự thay thế của ít nhất một nguyên tử hydro bằng đơ-te-ri hoặc triti, hoặc sự thay thế ít nhất một nguyên tử cacbon bằng cacbon được làm giàu bằng ^{13}C hoặc ^{14}C , hoặc thay thế ít nhất một nguyên tử nitơ bằng nitơ được làm giàu bằng ^{15}N là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Để đưa ra mô tả chính xác hơn, một số các cụm từ định lượng được đưa ra ở đây không được định lượng bằng thuật ngữ “khoảng”. Cần hiểu rằng, thuật ngữ “khoảng” có thể được sử dụng hoặc không được sử dụng, mỗi định lượng được đưa ra ở đây có nghĩa đề cập đến giá trị đưa ra thực tế, và cũng có nghĩa là đề cập đến giá trị xấp xỉ đối với giá trị đã đưa ra mà sẽ được suy ra hợp lý dựa vào kỹ năng của người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các giá trị tương đương và khoảng xấp xỉ do các điều kiện thử nghiệm và/hoặc xác định cho giá trị đã nêu.

Trong các hợp chất có công thức chung I, mỗi R_1 và R_2 tốt hơn là, và độc lập được chọn từ hydro, halogen, OR_a , và OCOR_a , trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa, mỗi R_1 và R_2 độc lập được chọn từ hydro và halogen, halogen được ưu tiên nhất là Cl.

Mỗi R_3 , R_5 , R_6 , R_{14} , và R_{15} được ưu tiên đặc biệt, độc lập được chọn từ hydro, OR_a , và OCOR_a , trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa, R_3 , R_5 , R_6 , R_{14} , và R_{15} là hydro.

R_4 tốt hơn là được chọn từ hydro và OR_a , trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa R_4 là OR_a và R_a là hydro.

R_7 tốt hơn là được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa R_7 là hydro.

Mỗi R_8 và R_9 được đặc biệt ưu tiên, độc lập được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa, mỗi R_8 và R_9 là C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl; được ưu tiên nhất là metyl.

R_{10} tốt hơn là được chọn từ OR_b , $OCOR_a$, và $=O$, với điều kiện là khi R_{10} là $=O$ thì không có mặt hydro của nguyên tử C mà R_{10} được gắn vào, và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế và R_b được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, và đường được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. R_b được đặc biệt ưu tiên là hydro, C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, monosacarit, disacarit, và trisacarit; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl, isobutyl, rhamnoza, glucoza, digitoxoza, digitaloza, digginoza, sarmentoza, vallaroza, và fructoza. Tốt hơn nữa R_{10} là $=O$ hoặc OR_b , trong đó R_b là metyl.

Theo một lớp được ưu tiên của các hợp chất của sáng chế trong đó đường nét đứt ----- là không có mặt, mỗi R_{11} và R_{12} được đặc biệt ưu tiên độc lập được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl.

Theo lớp được ưu tiên khác nữa của các hợp chất của sáng chế trong đó liên kết khác hoặc nhóm epoxy là có mặt ở vị trí đường nét đứt nêu trên, R_{11} và R_{12} được đặc biệt ưu tiên là hydro.

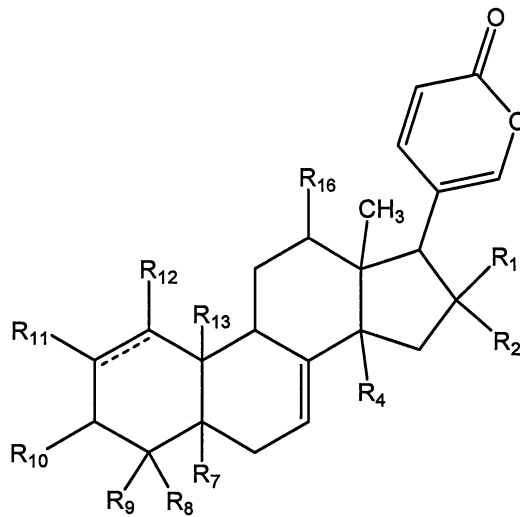
R_{13} tốt hơn là được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thể hoặc không được thể, và COR_a , trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thể hoặc không được thể. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. R_{13} tốt hơn nữa là C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể và COR_a , trong đó R_a là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể. R_{13} được ưu tiên đặc biệt là metyl được thể hoặc không được thể, etyl được thể hoặc không được thể, propyl được thể hoặc không được thể, và COR_a , trong đó R_a là hydro. Các phần tử thể được ưu tiên của metyl, etyl, và propyl là OR' trong đó R' là hydro hoặc COalkyl, R' được ưu tiên nhất là hydro.

R_{16} tốt hơn là được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thể hoặc không được thể. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. R_{16} tốt hơn nữa là hydro hoặc OR_a , trong đó R_a là hydro.

R_{17} được đặc biệt ưu tiên là C_1 - C_{12} alkyl được thể hoặc không được thể. R_{17} tốt hơn nữa là C_1 - C_6 alkyl được thể hoặc không được thể; và thậm chí tốt hơn nữa là metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. R_{17} được ưu tiên nhất là metyl.

Được đặc biệt ưu tiên là sự có mặt của liên kết khác hoặc nhóm epoxy thay cho đường nét đứt ----- nêu trên.

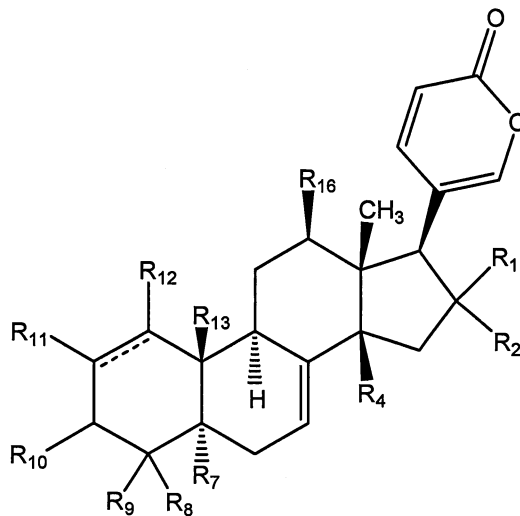
Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức chung II hoặc các muối được dụng hoặc các chất đồng phân lập thể của nó:



(II)

trong đó R₁, R₂, R₄, R₇, R₈-R₁₃, R₁₆ và đường nét đứt ----- có nghĩa giống như được nêu trên.

Hóa học lập thể được đặc biệt ưu tiên của các hợp chất có công thức chung II nêu trên là sau đây:



Trong các hợp chất có công thức chung II, mỗi R₁ và R₂ tốt hơn là và độc lập được chọn từ hydro, halogen, OR_a, và OCOR_a, trong đó R_a được chọn từ hydro và C₁-C₁₂ alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C₁-C₆ alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa là, mỗi R₁ và R₂ độc lập được chọn từ hydro và halogen, halogen được ưu tiên nhất là Cl.

R_4 tốt hơn là được chọn từ hydro và OR_a , trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa R_4 là OR_a và R_a là hydro.

R_7 tốt hơn là được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa R_7 là hydro.

Mỗi R_8 và R_9 được đặc biệt ưu tiên độc lập được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa, mỗi R_8 và R_9 là C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl; được ưu tiên nhất là metyl.

R_{10} tốt hơn là được chọn từ OR_b , và $OCOR_a$, và $=O$, với điều kiện là khi R_{10} là $=O$ thì không có mặt hydro của nguyên tử C mà R_{10} được gắn vào, và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế và R_b được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, và đường được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. R_b được đặc biệt ưu tiên là hydro, C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, monosacarit, disacarit, và trisacarit; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl, isobutyl, rhamnoza, glucoza, digitoxoza, digitaloza, digginoza, sarmentoza, vallaroza, và fructoza. Tốt hơn nữa R_{10} là $=O$ hoặc OR_b , trong đó R_b là metyl.

Theo một lớp được ưu tiên của các hợp chất của sáng chế trong đó không có mặt đường nét đứt -----, mỗi R_{11} và R_{12} được đặc biệt ưu tiên độc lập được chọn từ

hydro, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl.

Theo lớp được ưu tiên khác nữa của các hợp chất của sáng chế trong đó liên kết khác hoặc nhóm epoxy là có mặt ở vị trí đường nét đứt ----- nêu trên, R_{11} và R_{12} được đặc biệt ưu tiên là hydro.

R_{13} tốt hơn là được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, và COR_a , trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa, R_{13} là C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế và COR_a , trong đó R_a là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế. Thậm chí tốt hơn nữa, R_{13} là metyl được thế hoặc không được thế, etyl được thế hoặc không được thế, propyl được thế hoặc không được thế, và COR_a , trong đó R_a là hydro. Các phần tử thế được ưu tiên của metyl, etyl, và propyl là OR' trong đó R' là hydro hoặc COalkyl, R' được ưu tiên nhất là hydro.

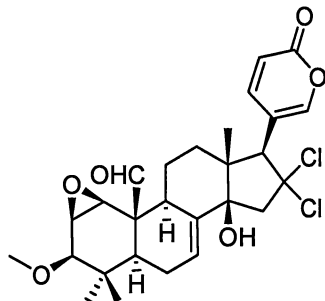
R_{16} tốt hơn là được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế. R_a được đặc biệt ưu tiên là hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế; và thậm chí tốt hơn nữa là hydro, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl và butyl, bao gồm n-butyl, *tert*-butyl, *sec*-butyl và isobutyl. Tốt hơn nữa R_{16} là hydro hoặc OR_a , trong đó R_a là hydro.

Được đặc biệt ưu tiên là sự có mặt của liên kết khác hoặc nhóm epoxy ở vị trí được chỉ ra có đường nét đứt -----.

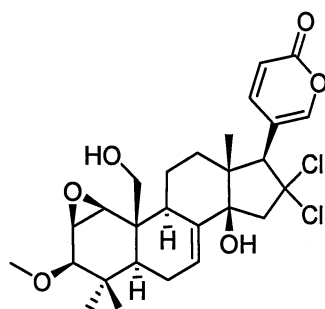
Trong bản mô tả này và trong phần các định nghĩa, khi có một vài phần tử thế R_a có mặt trong các hợp chất của sáng chế, và trừ khi rõ ràng được quy định theo cách khác, cần hiểu rằng mỗi phần tử có thể độc lập nhau trong định nghĩa nêu trên, tức là R_a không thể hiện tính cần thiết nhóm tương tự đồng thời trong hợp chất đã nêu của sáng chế.

Trong các đoạn nêu trên, ưu tiên đối với các nhóm phần tử thế R_1 đến R_{17} và đường nét đứt là được xác định. Cũng cần hiểu rằng sự kết hợp khác nhau của những ưu tiên này cũng được ưu tiên trong phạm vi của các hợp chất của sáng chế.

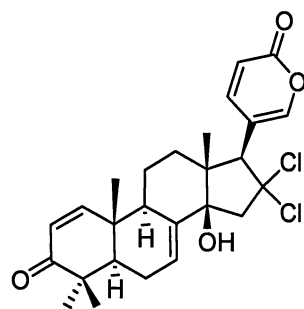
Các hợp chất được đặc biệt ưu tiên của sáng chế là các hợp chất sau:



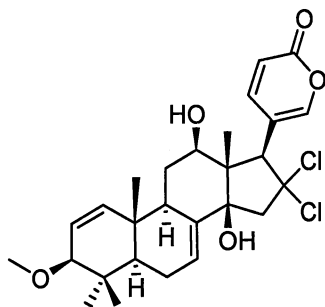
Aegomyxin A



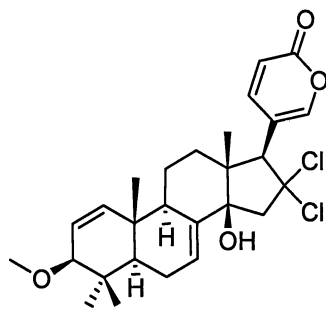
Aegomyxin B



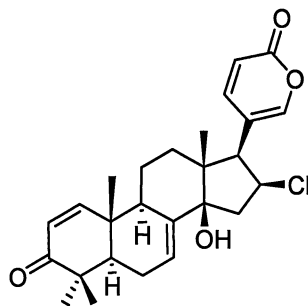
Aegomyxin C



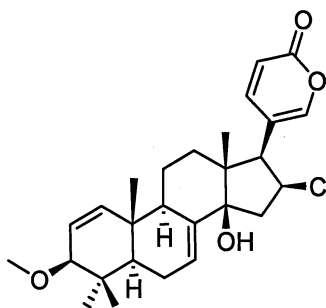
Aegomyxin D



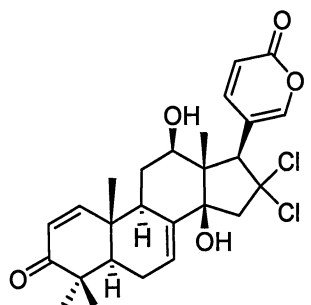
Aegomyxin E



Aegomyxin F



Aegomyxin G



Aegomyxin H

hoặc các muối được dùng hoặc các chất đồng phân lập thể của nó. Hóa học lập thể được chỉ ra ở đây cho các Aegomyxin A-H là có liên quan.

Các Aegomyxin A-H được phân tách từ động vật thân lỗ của họ Mycalidae, giống *Mycale*, giống phụ *Aegogropila*, loài *Mycale (Aegogropila) crassissima* (Dendy, 1905). Mẫu *Mycale (Aegogropila) crassissima* (Dendy, 1905) đã được nộp lưu ở the Institute of Marine Sciences and Limnology of the Universidad Nacional Autónoma of

Mexico, với mã tham chiếu là MFIA-399. Bọt biển này được thu gom bằng tay sử dụng lặn SCUBA ở đảo Mafia Island (07° 39,558' S / 39° 55,043' E) ở độ sâu nằm trong khoảng từ 5 đến 31,4 m.

Mô tả bọt biển như sau: các mẫu đã được xét nghiệm đã được phát triển lớp mỏng trên đá. Màu sắc của các mẫu vật sống là màu nâu, mặc dù chúng đã được mô tả là màu da cam hoặc màu nâu vàng nhạt. Bỏ thể có gai: Các gai xương lớn là gai đầu chùy phụ thẳng, thường có tyle có thể cảm nhận được cứng nhắc, và thường có xu hướng bị uốn nhẹ. Chúng có độ dài trung bình khoảng 270 μm , độ rộng ống thông khoảng 4,6 μm và độ rộng tyle khoảng 4,8 μm . Các gai nhỏ bao gồm các vuốt không đều palmat (ba lớp kích cỡ: Vuốt không đều 1 trung bình khoảng 36 μm , vuốt không đều 2 trung bình khoảng 27 μm , và vuốt không đều 3 trung bình khoảng 11 μm), gai dạng sicma (một lớp: gai dạng sicma Robust trung bình là khoảng 57 μm), và tinh thể dạng kim (rất hiếm). Sự sắp xếp khung: Các dải gai đầu chùy phụ đi lên phía ngoài từ đĩa nền và được kết thúc ở bề mặt trong trong các búi và các bụi cây yếu ớt. Thể áo có hình mắt lưới được phát triển tốt của các bó của các mycalostyle và các gai xương nhỏ được rải ngẫu nhiên ở cả lớp tế bào khoang roi và thể áo. Các vuốt không đều không tạo thành các thể hoa thị. *Mycale crassissima* thường ở vùng được thu gom của đảo Mafia Island và cũng đã được tìm thấy ở Mombassa, Zanzibar, Madagascar, Ceylon, và Arafura Sea, trên đá và các dải đá ngầm san hô, có độ sâu từ 1 đến 60 m.

Ngoài ra, các hợp chất của sáng chế có thể thu được bằng cách tổng hợp theo các quy trình thông thường sau trong hóa học hữu cơ tổng hợp và đã được biết rõ bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, các hợp chất của sáng chế này có thể thu được thích ứng với các quy trình được mô tả trong tài liệu chuyên ngành như trong tài liệu: Steyn et al. Nat. Prod. Rep. 1998, 15, 397-413; Huimin Gao et al trong Nat. Prod. Rep., 2011, 28, 953; WO 01/79256; WO 2006/120472; và CA 2,418,458. Cách tổng hợp có thể sử dụng kết hợp các bước được lấy ra từ nhiều trong các viện dẫn này.

Tương tự, các hợp chất tự nhiên, tổng hợp hoặc đã được biến đổi của sáng chế có thể được biến đổi thêm bằng một loạt phản ứng hóa học để thu được các hợp chất khác của sáng chế. Như vậy, các nhóm hydroxyl có thể được axyl hóa bằng các quy trình kết hợp tiêu chuẩn hoặc quy trình axyl hóa, ví dụ bằng cách sử dụng axit axetic hoặc anhydrit axetic trong pyridin hoặc chất tương tự. Các nhóm format có thể thu

được bằng cách gia nhiệt các tiền chất hydroxyl trong axit formic. Các nhóm hydroxy cũng có thể được oxy hóa thành oxo ($=O$), ví dụ, bằng cách sử dụng mangan dioxit hoặc crom, hoặc được chuyển hóa thành alkoxy amino thấp, ví dụ, bằng cách sử dụng 2-bromoethylamin được bảo vệ. Các nhóm carboxy có thể được alkyl hóa, ví dụ, được methyl hóa bằng cách xử lý bằng diazometan. Các gốc glycosit có thể được đưa vào bằng các phản ứng kết hợp đường chuẩn.

Dấu hiệu quan trọng của các hợp chất được mô tả có công thức I và II ở trên là hoạt tính sinh học của chúng và cụ thể là hoạt tính độc tế bào của chúng.

Theo sáng chế này, tác giả sáng chế đề xuất được phẩm mới chứa các hợp chất có công thức chung I và II mà có hoạt tính gây độc tế bào và có tác dụng để điều trị bệnh ung thư. Như vậy, sáng chế còn đề xuất được phẩm chứa hợp chất của sáng chế, hoặc muối được dung hoặc chất đồng phân lập thể của nó với chất mang được dung.

Các ví dụ về được phẩm bao gồm được phẩm rắn bất kỳ (viên nén, viên tròn, viên nang, hạt v.v.) hoặc được phẩm lỏng để dùng qua đường miệng, dùng tại chỗ hoặc dùng ngoài đường tiêu hóa (dung dịch, huyền phù hoặc nhũ tương).

Việc dùng hợp chất hoặc được phẩm theo sáng chế có thể là theo phương pháp thích hợp bất kỳ, như truyền trong tĩnh mạch, các chế phẩm dùng qua đường miệng, và dùng trong bụng hoặc trong tĩnh mạch. Các tác giả sáng chế ưu tiên là thời gian truyền được sử dụng cho đến 24 giờ, tốt hơn nữa là từ 1 đến 12 giờ, tốt nhất là từ 1 đến 6 giờ. Thời gian truyền ngắn cho phép việc xử lý được thực hiện mà không cần ở qua đêm trong bệnh viện là mong muốn đặc biệt. Tuy nhiên, việc truyền có thể nằm trong khoảng từ 12 đến 24 giờ hoặc thậm chí lâu hơn nếu cần. Việc truyền có thể được thực hiện ở các khoảng thích hợp từ 1 đến 4 tuần. Được phẩm chứa các hợp chất của sáng chế có thể được vận chuyển bằng cách bọc liposom hoặc cầu nano, trong các chế phẩm giải phóng kéo dài hoặc bằng các phương tiện vận chuyển tiêu chuẩn khác.

Liều chính xác của các hợp chất sẽ thay đổi theo chế phẩm cụ thể, cách dùng, và các vị trí cụ thể, vật chủ và khối u đang được điều trị. Các yếu tố khác như độ tuổi, thể trọng, giới tính, chế độ ăn, thời gian dùng, tốc độ bài tiết, tình trạng của vật chủ, kết hợp thuốc, độ nhạy phản ứng và mức độ nghiêm trọng của bệnh sẽ được chú ý. Việc dùng có thể được thực hiện liên tục hoặc theo chu kỳ với liều lượng được dung nạp tối đa.

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ “điều trị”, “đang điều trị” và “xử lý” bao gồm trừ tiết gốc, loại bỏ, biến đổi, hoặc không chế khối u hoặc các tế bào ung thư nguyên phát, theo vùng hoặc ung thư ác tính hoặc mô và làm giảm thiểu hoặc làm chậm sự phát tán ung thư.

Các hợp chất của sáng chế có hoạt tính chống lại bệnh ung thư bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư ruột kết, và bệnh ung thư vú.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Mô tả sinh vật ở biển và vị trí thu gom

Mycale (Aegogropila) crassissima (Dendy, 1905) đã được thu gom bằng tay sử dụng lặn SCUBA ở đảo Mafia Island (07° 39,558' S / 39° 55,043' E) ở độ sâu nằm trong khoảng từ 5 đến 31,4 m. Nguyên liệu động vật được nhận biết bởi Dr. José Luis Carballo (Universidad Nacional Autónoma of Mexico). Vật mẫu của mẫu vật đã được nộp lưu ở the Institute of Marine Sciences and Limnology of the Universidad Nacional Autónoma of Mexico, với mã tham chiếu là MFIA-399.

Ví dụ 2: Phân lập các Aegomyxin A và B

Mẫu vật được làm đông lạnh của Ví dụ 1 (67g) đã được nghiền mịn và được chiết bằng H₂O và hỗn hợp của MeOH:CH₂Cl₂ (50:50) ở nhiệt độ 23°C. Chất chiết hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra 500 mg sản phẩm thô. Nguyên liệu này được sắc ký (VLC) trên Lichroprep RP-18 với gradien theo bước từ H₂O thành MeOH và CH₂Cl₂. Hai phân đoạn thu được từ việc sắc ký này được tinh chế thêm như được mô tả dưới đây. Phân đoạn này được rửa giải bằng H₂O:MeOH 1:3 (23 mg) được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (Symmetry Prep C18, 7,8 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 60 đến 75% MeCN trong 10 phút sau đó từ 75 đến 100% MeCN trong 10 phút, phát hiện UV, dòng chảy 2,3 mL/phút) để thu được Aegomyxin A (0,6 mg). Phân đoạn được rửa giải bằng MeOH (83 mg) được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (Symmetry Prep C18, 7,8 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 50 đến 75% MeCN trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 2,3 mL/phút) để tạo ra Aegomyxin A (1,8 mg) và Aegomyxin B (0,8 mg).

Aegomyxin A: chất rắn màu trắng vô định hình. (+)HRMALDIMS m/z 523,1622 [M+H]⁺ (theo lý thuyết đối với C₂₇H₃₃³⁵Cl₂O₆ 523,1649); ¹H (500 MHz) và

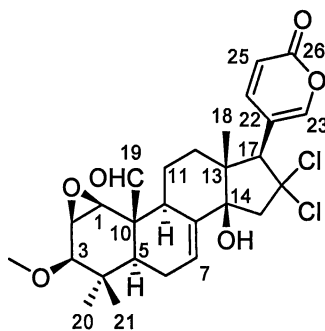
^{13}C NMR (75 MHz) trong CDCl_3 xem Bảng 1

Aegomyxin B: Chất rắn màu trắng vô định hình. (+)HRMALDIMS m/z 525,1788 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (theo lý thuyết đối với $\text{C}_{27}\text{H}_{35}^{35}\text{Cl}_2\text{O}_6$ 525,1805); ^1H (500 MHz) và ^{13}C NMR (75 MHz) trong CD_3OD xem Bảng 2.

Bảng 1. Các số liệu ^1H và ^{13}C NMR của Aegomyxin A (CDCl_3).

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
1	3,74, d (3,8)	54,3, d	C5,C9,C10,C19	H2,H11a
2	3,25, d (3,8)	55,7, d	C3,C4	OMe,H1,H3
3	2,88, s	84,4, d	C1,C2,C4, C20,C21,OMe	OMe,H2,H5,H20
4	-	36,7, s	-	-
5	1,51, dd (10,6, 7,8)	41,0, d	C4,C9,C10, C6,C19,C21	H3,H6,H9,H20
6	2,40, m	22,7, t	C7	H5,H7,H19,H20,H21
7	6,19, m	122,8, d	-	H6,14-OH
8	-	137,5, s	-	-
9	2,62, m	41,1, d	-	H5,H11a,H12a,H15a
10	-	49,8, s	-	-
11a	1,90, m	22,7, t	C8	H1,H9,H11b
11b	1,25, m		C9	H11a,H12b,H18,H19
12a	1,89, m	39,3, t	C13,C14,C15,C18	H9,H12b,H15a,H17
12b	1,72, m		C13	H11b,H12a,H17,H18

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
13	-	51,0, s	-	-
14	-	83,8, s	-	-
14-OH	1,87, m	-	C14	H7,H18
15a	3,47, d (15,8)	62,0, t	C13,C14,C16	H9,H12a,H15b
15b	2,81, d (15,8)		C13,C14,C16,C17	H15a
16	-	92,5, s	-	-
17	3,46, s	71,2, d	C12,C13,C16, C22,C23,C24	H12a,H12b,H23
18	0,74, s	16,5, q	C12,C13,C14,C17	H11b,H12b,H24,14-OH
19	9,87, s	205,6, d	C1,C10	H6,H11b,H21
20	0,94, s	25,0, q	C3,C4,C5,C21	OMe,H3,H5,H6,H21
21	0,66, s	16,2, q	C3,C4,C5,C20	H6,H19,H20
22	-	116,7, s	-	-
23	7,33, d (2,7)	151,0, d	C17,C22,C24	H17
24	8,00, dd (9,9, 2,7)	147,9, d	C26	H18,H25
25	6,28, d (9,9)	113,9, d	C22,C26	H24
26	-	161,4, s	-	-
OMe	3,51, s	58,3, q	C3	H2,H3,H20

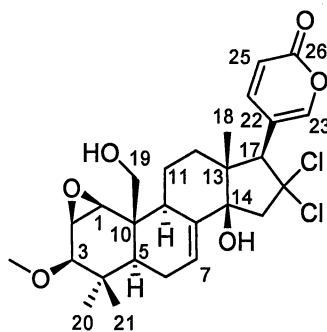


Aegomyxin A

Bảng 2. Các số liệu ^1H và ^{13}C NMR của Aegomyxin B (CD_3OD).

N ^o	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
1	3,74, d (3,7)	56,6, d	C5,C10	H2,H11
2	3,18, d (3,7)	57,5, d	C3,C4	OMe,H1,H3
3	2,85, s	87,0, d	OMe,C1,C2,C4,C5, C20,C21	OMe,H2,H5,H20
4	-	37,6, s	-	-
5	1,05, dd (12,4, 5,0)	43,2, d	C3,C4,C6,C9,C10, C19,C21	H3,H9,H20
6	1,99, m	22,7, t	C7, C8	H7,H20
7	6,05, m	124,6, d	-	H6
8	-	139,6, s	-	-
9	2,42, m	46,1, d	-	H5,H15a
10	-	40,0, s	-	
11	1,90, m	23,5, t	C12	H1,H18
12	1,79, m	40,7, t	C11	H17,H18

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
13	-	52,6, s	-	-
14	-	84,7, s	-	-
15a	3,43, d (15,8)	64,1, t	C8,C13,C14,C16	H9,H15b
15b	2,76, d (15,8)		C14,C16,C17	H15a
16	-	94,9, s	-	-
17	3,61, s	72,8, d	C12,C13,C14,C16, C22,C24,C25	H12,H23
18	0,79, s	17,3, q	C12,C13,C14,C17	H11,H12,H24
19a	3,98, d (12,1)	60,7, t	C1,C5,C9,C10	H19b,H21
19b	3,75, d (12,1)		C1,C5,C9,C10	H19a
20	0,89, s	26,4, q	C3,C4,C5,C21	H3,H5,H6
21	0,92, s	17,3, q	C3,C4,C5,C20	H19a
22	-	119,8, s	-	-
23	7,57, d (2,2)	152,9, d	C17,C22,C24,C26	H17
24	8,30, dd (9,8, 2,2)	151,5, d	C23,C26	H18,H25
25	6,28, d (9,8)	113,7, d	C22,C26	H24
26	-	164,1, s	-	-
OMe	3,49, s	58,4, q	C3	H2,H3



Aegomyxin B

Ví dụ 3: Phân lập các Aegomyxin C, D, E, F và G

Nhóm thứ hai của các mẫu vật của mẫu của ví dụ 1 (160 g) được nghiền mịn và được chiết bằng H_2O và hỗn hợp của $MeOH:CH_2Cl_2$ (50:50) ở nhiệt độ $23^\circ C$. Chất chiết hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô là 3,12g. Nguyên liệu này được sắc ký (VLC) trên Lichroprep RP-18 bằng gradien theo bước từ H_2O đến $MeOH$ và CH_2Cl_2 . Hai phân đoạn thu được từ phép sắc ký này được tinh chế thêm như được mô tả dưới đây. Phân đoạn này được rửa giải bằng $H_2O:MeOH$ theo tỷ lệ 1:3 (122 mg) được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (Symmetry Prep C18, 7,8 x 150 mm, gradien $H_2O:MeCN$ từ 45 đến 65% $MeCN$ trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 2,3 mL/phút) để thu được Aegomyxin F (2,6 mg) và hỗn hợp của các hợp chất Aegomyxin khác (5,1 mg). Hỗn hợp này được tinh chế thêm bằng HPLC bán điều chế (X Terra Phenyl, 10 x 150 mm, gradien $H_2O:MeCN$ từ 45 đến 60% $MeCN$ trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 2,3 mL/phút) để thu được Aegomyxin C (0,5 mg) và D (2,8 mg). Phân đoạn này được rửa giải bằng $MeOH$ (230 mg) được cho cho Silica gel CC nhanh rửa giải bằng gradien của hexan:EtOAc để thu được 11 phân đoạn (S1 đến S11). Phân đoạn S6 (hexan:EtOAc 70:30) và S7 (hexan:EtOAc 60:40) được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (X Terra Phenyl, 10 x 150 mm, gradien $H_2O:MeCN$ từ 50 đến 55% $MeCN$ trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 3,0 mL/phút) để thu được Aegomyxin E (1,3 mg) từ S6 và Aegomyxin G (0,3 mg) từ S7.

Aegomyxin C: Chất rắn màu trắng vô định hình. (+)HRMALDIMS m/z 477,1581 $[M+H]^+$ (theo lý thuyết đối với $C_{26}H_{31}^{35}Cl_2O_4$ 477,1594); 1H (500 MHz) và ^{13}C NMR (75 MHz) trong CD_3OD xem Bảng 3.

Aegomyxin D: Chất rắn màu trắng vô định hình. (+)HRMALDIMS m/z 509,1834 $[M+H]^+$ (theo lý thuyết đối với $C_{27}H_{35}^{35}Cl_2O_5$ 509,1856); 1H (500 MHz) và

^{13}C NMR (125 MHz) trong CD_3OD xem Bảng 4.

Aegomyxin E: Chất rắn màu trắng vô định hình. (+)HRMALDIMS m/z 493,1898 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (theo lý thuyết đối với $\text{C}_{27}\text{H}_{35}^{35}\text{Cl}_2\text{O}_4$ 493,1907); ^1H (500 MHz) và ^{13}C NMR (75 MHz) trong CD_3OD xem Bảng 5.

Aegomyxin F: Chất rắn màu trắng vô định hình. (+)HRMALDIMS m/z 443,1997 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (theo lý thuyết đối với $\text{C}_{26}\text{H}_{32}^{35}\text{ClO}_4$ 443,1984); ^1H (500 MHz) và ^{13}C NMR (75 MHz) trong CD_3OD xem Bảng 6.

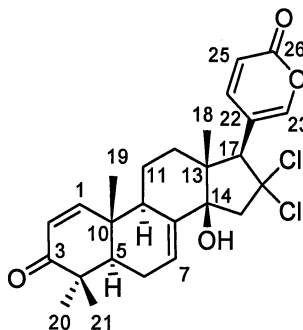
Aegomyxin G: Chất rắn màu trắng vô định hình. (+)HRMALDIMS m/z 459,2306 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (theo lý thuyết đối với $\text{C}_{27}\text{H}_{36}^{35}\text{ClO}_4$ 459,2297); ^1H (500 MHz) và ^{13}C NMR (75 MHz) trong CD_3OD xem Bảng 7.

Bảng 3. Các số liệu ^1H và ^{13}C NMR của Aegomyxin C (CD_3OD).

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
1	7,12, d (10,3)	157,2, d	C3,C5,C10	H2,H11a
2	5,91, d (10,3)	124,4, d	C4,C10	H1
3	-	206,7, s	-	-
4	-	44,9, s	-	-
5	1,85, m	48,9, d	C4,C6,C10,C19	H6,H9,H20
6	2,17, m	24,0, t	-	H5,H7,H9,H20
7	6,15, m	124,4, d	C5,C14	H6
8	-	138,4, s	-	-
9	2,21, m	46,9, d	-	H5,H6,H15a
10	-	38,9, s	-	-
11a	1,87, m	21,9, t	C19	H1,H11b

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
11b	1,54, dddd (13,7, 13,7, 13,7, 3,4)		-	H11a,H12b,H18,H19
12a	1,96, ddd (13,7, 13,7, 3,5)	40,3, t	-	H12b,H15a,H17
12b	1,79, ddd (13,7, 3,4, 3,4)		C18	H11b,H12a,H17,H18
13	-	52,4, s	-	-
14	-	84,7, s	-	-
15a	3,44, d (16,1)	63,6, t	C8,C13,C14,C16	H9,H12a,H15b
15b	2,78, d (16,1)		C14,C16,C17	H15a
16	-	94,9, s	-	-
17	3,62, s	72,5, d	C12,C13,C14,C16, C22,C23	H12a,H12b,H23
18	0,77, s	17,2, q	C12,C13,C14,C17	H11b,H12b
19	1,07, s	14,9, q	C1,C5,C9,C10	H11b,H21
20	1,15, s	24,0, q	C3,C4,C5,C21	H5,H6
21	1,13, s	22,5, q	C3,C4,C5,C20	H19
22	-	119,7, s	-	-
23	7,58, d (2,2)	152,9, d	C22,C24,C26	H17
24	8,32, dd (10,3, 2,2)	151,4, d	C23,C26	H25
25	6,29, d (10,3)	113,7, d	C22,C26	H24

N ^o	¹ H, m, <i>J</i> (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
26	-	164,1, s	-	-



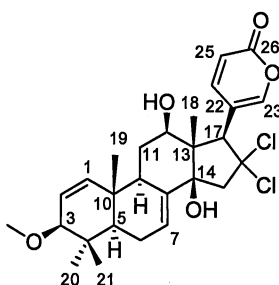
Aegomyxin C

Bảng 4. Các số liệu ¹H và ¹³C NMR của Aegomyxin D (CD₃OD).

N ^o	¹ H, m, <i>J</i> (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
1	5,82, dd (10,7, 2,4)	135,3, d	C3,C5	H2,H11a,H19
2	5,67, dd (10,7, 1.0)	126,5, d	-	H1,OMe
3	3,40, m	87,3, d	OMe,C1,C2, C4,C20,C21	H5,H20
4	-	37,7, s	-	-
5	1,45, dd (11,9, 4,2)	49,2, d	C3,C4,C6,C9, C10,C19,C21	H3,H9,H20
6a	2,14, m	23,4, t	C7,C8	H6b,H7,H20
6b	2,04, m		-	H6a,H19,H21
7	6,12, m	125,9, d	C5,C9,C14	H6a
8	-	137,9, s	-	-
9	2,08, m	46,8, d	C8,C10	H5,H11a,H12,H15a

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
10	-	38,4, s	-	
11a	1,83, ddd (12,7, 4,4, 4,2)	30,3, t	C8,C9,C12,C13	H1,H9,H12,H11b
11b	1,53, ddd (12,7, 12,7, 11,9)		C9,C10,C12,C13	H11a,H18,H19
12	3,84, dd (11,9, 4,2)	74,9, d	C17,C18	H9,H11a,H15a,H17
13	-	58,3, s	-	-
14	-	85,0, s	-	-
15a	3,28, d (16,1)	64,0, t	C8,C14,C16	H9,H12,H15b
15b	2,80, d (16,1)		C13,C14,C16,C17	H15a
16	-	95,1, s	-	-
17	4,15, s	68,2, d	C12,C13,C14,C16, C22,C23,C24	H12,H18,H23
18	0,65, s	10,5, q	C12,C13,C14,C17	H11b,H17,H19,H24
19	0,92, s	15,3, q	C1,C5,C9,C10	H1,H6b,H11b,H18,H21
20	0,99, s	26,6, q	C3,C4,C5,C21	H3,H5,H6a,H21
21	0,85, s	17,2, q	C3,C4,C5,C20	H6b,H19,H20
22	-	120,0, s	-	-
23	7,54, d (2,9)	156,0, d	C22,C24,C26	H17
24	8,27, dd (9,8, 2,9)	151,6, d	C23,C26	H18,H25

N ^o	¹ H, m, <i>J</i> (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
25	6,28, d (9,8)	113,7, d	C22,C26	H24
26	-	164,1, s	-	-
OMe	3,41, s	58,3, q	C3	H2



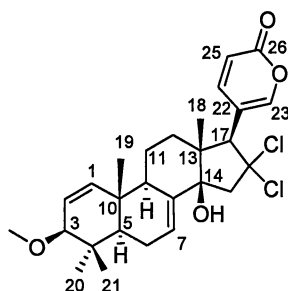
Aegomyxin D

Bảng 5. Các số liệu ¹H và ¹³C NMR của Aegomyxin E (CD₃OD).

N ^o	¹ H, m, <i>J</i> (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
1	5,83, dd (10,5, 2,3)	135,7, d	C2,C5,C9	H2,H11a,H19
2	5,65, dd (10,5, 1,5)	126,2, d	C4	H1,H3
3	3,40, m	87,3, d	C1	H2,H5,H20
4	-	37,7, s	-	-
5	1,42, dd (12,0, 4,5)	48,9, d	C19	H3,H9,H20
6a	2,12, m	23,4, t	-	H6b,H7,H20
6b	2,01, m			H6a,H19,H21
7	6,11, br d (5,6)	125,2, d	C5,C14	H6a
8	-	139,0, s	-	-
9	2,02, m	49,1, d	-	H5,H15a

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
10	-	38,6, s	-	-
11a	1,71, m	21,9, t	-	H1,H11b
11b	1,51, dddd (13,8, 13,7, 13,7, 3,4)			H11a,H18,H19
12a	1,90, ddd (13,7, 13,7, 3,4)	40,5, t	-	H12b,H15a,H17
12b	1,74, m			H12a,H17
13	-	52,5, s	-	-
14	-	84,8, s	-	-
15a	3,43, d (15,6)	63,9, t	C16	H9,H12a,H15b
15b	2,76, d (15,6)		C14,C16,C17	H15a
16	-	95,0, s	-	-
17	3,59, s	72,6, d	C14,C16,C22, C23,C24	H12a,H12b,H23
18	0,74, s	17,2, q	C12,C13, C14,C17	H11b,H24
19	0,91, s	15,3, q	C1,C5,C9,C10	H1,H6b,H11b,H21
20	0,99, s	26,7, q	C3,C4,C5,C21	H3,H5,H6a,H21
21	0,85, s	17,2, q	C3,C4,C5,C20	H6b,H19,H20
22	-	119,7, s	-	-
23	7,57, d (2,4)	152,8, d	C22	H17

N ^o	¹ H, m, <i>J</i> (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
24	8,31, dd (9,8, 2,4)	151,5, d	-	H18,H25
25	6,28, d (9,8)	113,7, d	C22,C26	H24
26	-	164,1, s	-	-
OMe	3,41, s	58,3, q	C3	-



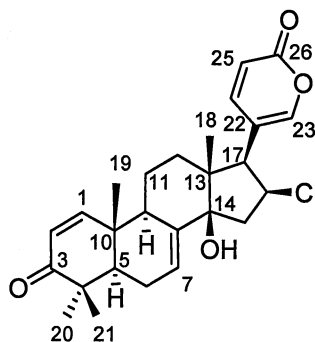
Aegomyxin E

Bảng 6. Các số liệu ¹H và ¹³C NMR của Aegomyxin F (CD₃OD).

N ^o	¹ H, m, <i>J</i> (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
1	7,10, d (10,3)	157,5, d	C3,C5,C6, C9,C10,C19	H2,H11a,H19
2	5,88, d (10,3)	126,1, d	C4,C10,C19	H1
3	-	206,8, s	-	-
4	-	45,0, s	-	-
5	1,83, dd (12,1, 4,2)	48,5, d	C4,C6,C9, C19,C20,C21	H6,H9,H20
6	2,18, m	23,9, t	C7,C8	H5,H7,H19,H20,H21

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
7	6,13, br d (5,0)	123,0, d	C5,C6,C14	H6
8	-	140,0, s	-	-
9	2,14, m	47,3, d	C7,C8,C10	H5,H11a,H12b,H15a
10	-	38,5, s	-	-
11a	1,79, m	21,8, t	C8,C9,C12,C13	H1,H9,H11b
11b	1,48, dddd (12,6, 12,6, 12,6, 3,9)		C9,C12	H11a,H18,H19
12a	1,65, ddd (13,7, 3,9, 3,9)	39,5, t	C9,C11,C13,C14,C18	H12b,H17,H18
12b	1,59, ddd (13,7, 12,6, 3,0)		C11,C13	H9,H12a,H17
13	-	52,0, s	-	-
14	-	84,7, s	-	-
15a	3,00, dd (16,0, 9,5)	52,2, t	C8,C16	H9,H15b,H16
15b	2,01, dd (16,0, 2,9)		C13,C14,C16,C17	H15a
16	4,90, ddd (9,5, 9,5, 2,9)	60,3, d	C14,C22	H15a,H17
17	3,12, d (9,5)	58,9, d	C12,C13,C14,C15, C16,C23,C24	H12a,H12b,H16, H18,H23
18	0,76, s	17,6, q	C12,C13,C14,C17	H11b,H12a,H17, H23,H24

N°	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
19	1,05, s	14,9, q	C1,C5,C9,C10	H1,H6,H11b,H21
20	1,13, s	25,5, q	C3,C4,C5,C21	H5,H6
21	1,11, s	22,5, q	C3,C4,C5,C20	H6,H19
22	-	121,2, s	-	-
23	7,46, d (2,3)	152,4, d	C17,C22,C24,C26	H17,H18
24	8,36, dd (9,8, 2,3)	153,3, d	C23,C26	H18,H25
25	6,22, d (9,8)	112,8, d	C22,C26	H24
26	-	164,6, s	-	-



Aegomyxin F

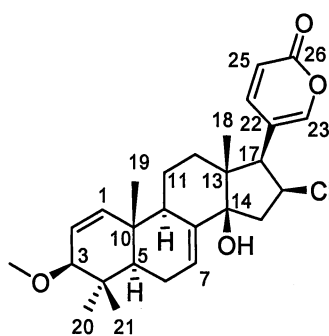
Bảng 7. Các số liệu ^1H và ^{13}C NMR của Aegomyxin G (CD_3OD).

N°	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
1	5,81, br d (10,4)	136,0, d	C3	H2,H11a,H19
2	5,62, d (10,4)	120,0, d	C4,C10	H1,H3,OMe
3	3,67, br s	87,4, d	OMe,C1,C2, C4,C20,C21	H2,H5,H20

N°	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
4	-	37,7, s	-	-
5	1,40, dd (12,0, 4,3)	49,4, d	-	H3,H6a,H9,H20
6a	2,07, m	23,7, t	-	H5,H7,H20
6b	1,99, m			H7,H21
7	6,08, br d (5,4)	123,8, d	C14	H6a,H6b
8	-	140,6, s	-	-
9	1,99, m	49,0, d	-	H5,H15a
10	-	38,6, s	-	-
11a	1,62, m	21,8, t	-	H1,H11b
11b	1,45, dddd (12,6, 12,6,12,6, 4,1)			H11a,H18,H19
12a	1,58, m	39,7, t	-	H17
12b	1,54, m			H15a,H17
13	-	52,0, s	-	-
14	-	85,0, s	-	-
15a	2,97, dd (15,7, 9,6)	52,3, t	C17	H9,H12b,H15b,H16
15b	2,00, dd (15,7, 3,0)		-	H15a
16	4,89, ddd (9,6, 9,5, 3,0)	60,3, d	-	H15a,H17
17	3,09, d, (9,5)	59,0, d	C12,C13,C14, C22,C24	H12a,H12b,H16, H23

N ^o	¹ H, m, <i>J</i> (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
18	0,73, s	17,6, q	C12,C13,C14, C17	H11b,H24
19	0,90, s	15,4, q	C1,C5,C9,C10	H1,H11b
20	0,97, s	26,7, q	C4,C5,C3,C21	H3,H5,H6a
21	0,83, s	17,2, q	C4,C5,C3,C20	H6b
22	-	121,3, s	-	-
23	7,45, d (2,5)	152,3, d*	C22,C24,C26	H17
24	8,36, dd (9,9, 2,5)	152,3, d*	-	H18,H25
25	6,21, d (9,9)	112,7, d	C22,C26	H24
26	-	164,7, s	-	-
OMe	3,39, s	58,3, q	C3	H2

*việc gán số liệu có được thay đổi



Aegomyxin G

Ví dụ 4: Phân lập Aegomyxin D, F và H

Nhóm thứ ba của các mẫu vật của mẫu của ví dụ 1 (700 g) được nghiền mịn và được chiết bằng H₂O và hỗn hợp của MeOH:CH₂Cl₂ (50:50) ở 23°C. Chất chiết hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô bằng 33g. Hòa tan sản

phẩm thô trong MeOH:H₂O (1:9, 500 mL) và được chiết bằng hexan (3 x 500 mL), EtOAc (3 x 500 mL) và nBuOH (2 x 500 mL).

Phân đoạn hexan (4 g) được sắc ký (VLC) trên Lichroprep RP-18 bằng gradien theo bước từ H₂O:MeOH (3:1) đến MeOH và sau đó đến CH₂Cl₂. Phân đoạn này được rửa giải bằng H₂O:MeOH theo tỷ lệ 1:3 (430 mg) được cho qua HPLC pha đảo điều chế (Symmetry Prep C18, 19 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 45 đến 65% MeCN trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 14,6 mL/phút) để thu được 7 phân đoạn (H1 đến H7). Phân đoạn H4 được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (X Terra Phenyl, 10 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 30 đến 50% MeCN trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 3,8 mL/phút) để thu được Aegomyxin F (8,3 mg). Phân đoạn H5 được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (X Terra Phenyl, 10 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 45 đến 60% MeCN trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 3,8 mL/phút) để thu được Aegomyxin D (20,4 mg).

Phân đoạn EtOAc (1,2 g) đã được sắc ký (VLC) trên Lichroprep RP-18 bằng gradien theo bước từ H₂O:MeOH (3:1) đến MeOH và sau đó đến CH₂Cl₂. Phân đoạn này được rửa giải bằng H₂O:MeOH 1:3 (162 mg) được cho qua HPLC pha đảo điều chế (Symmetry Prep C18, 19 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 45 đến 65% MeCN trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 14,6 mL/phút) để thu được 7 phân đoạn (H1 đến H7). Phân đoạn H2 được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (X Terra Phenyl, 10 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 30 đến 55% MeCN trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 3,8 mL/phút) để thu được Aegomyxin H (1,4 mg). Phân đoạn H4 được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (X Terra Phenyl, 10 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 30 đến 50% MeCN trong 20 phút, phát hiện UV, dòng chảy 3,8 mL/phút) để thu được Aegomyxin F (12,2 mg). Phân đoạn H5 được cho qua HPLC pha đảo bán điều chế (X Terra Phenyl, 10 x 150 mm, gradien H₂O:MeCN từ 45 đến 60% MeCN trong 30 phút, phát hiện UV, dòng chảy 3,8 mL/phút) để thu được Aegomyxin D (21,7 mg).

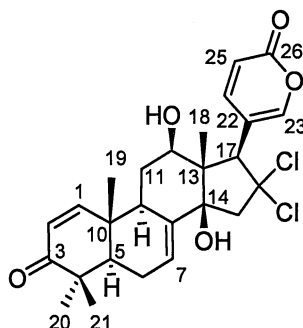
Aegomyxin H: Chất rắn màu trắng vô định hình. (+)ESIMS m/z 493 [M+H]⁺, ¹H (500 MHz) và ¹³C NMR (75 MHz) trong CD₃OD xem Bảng 8.

Bảng 8. Các số liệu ¹H và ¹³C NMR của Aegomyxin H (CD₃OD).

N ^o	¹ H, m, J (Hz)	¹³ C, m	HMBC	ROESY
----------------	---------------------------	--------------------	------	-------

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
1	7,10, d (10,3)	156,7, d	C3,C4,C5, C9,C10,C19	H2,H9, H11a,H19
2	5,91, d (10,3)	126,4, d	C4,C10	H1
3	-	206,5, s	-	-
4	-	45,0, s	-	-
5	1,89, dd (11,7, 4,5)	48,5, d	C4,C6,C7, C9,C10,C19	H9,H20
6	2,19, m	24,0, t	C8	H7,H19, H20,H21
7	6,15, m	125,1, d	C5,C14	H6
8	-	137,3, s	-	-
9	2,27, m	44,6, d		H1,H5,H11a, H12,H15a
10	-	38,6, s	-	-
11a	1,95, ddd (12,6, 4,2, 4,2)	30,2, t	C8,C9,C12,C13	H1,H9,H11b,H12
11b	1,55, ddd (12,6, 12,6, 12,6)		C8,C9,C10,C12,C13	H11a,H18,H19
12	3,89, dd (12,6, 4,2)	74,7, d	C17,C18	H9,H11a, H15a,H17
13	-	58,2, s	-	-
14	-	84,9, s	-	-

Nº	^1H , m, J (Hz)	^{13}C , m	HMBC	ROESY
15a	3,33, d (15,9)	63,7, t	C8,C14,C16	H9,H12,H15b
15b	2,80, d (15,9)		C13,C14,C16,C17	H15a
16	-	95,0, s	-	-
17	4,15, s	68,2, d	C12,C13,C14,C16, C22,C23,C24	H12,H18,H23
18	0,67, s	10,4, q	C12,C13,C14,C17	H11b,H17, H23,H24
19	1,07, s	14,9, q	C1,C5,C9,C10	H1,H6,H11b
20	1,14, s	25,4, q	C4,C5,C21	H5,H6
21	1,12, s	22,5, q	C4,C5,C20	H6
22	-	119,9, s	-	-
23	7,55, d (2,6)	153,0, d	C17,C22,C24,C26	H17,H18
24	8,27, dd (9,8, 2,6)	151,5, d	C23,C26	H18,H25
25	6,28, d (9,8)	113,7, d	C22,C26	H24
26	-	164,1, s	-	-



Aegomyxin H

Ví dụ 5: Phân tích sinh học để phát hiện hoạt tính trị khối u

Mục đích của thử nghiệm này là để đánh giá hoạt tính kim tế bào *in vitro* (khả năng làm chậm hoặc ngừng sự phát triển của tế bào khối u) hoặc hoạt tính gây độc tế bào (khả năng giết chết tế bào khối u) của các mẫu vật được thử nghiệm.

Dòng tế bào

Tên	N° ATCC	Loài	Mô	Các đặc tính
A549	CCL-185	người	phổi	caxinom phổi (NSCLC)
HT29	HTB-38	người	ruột kết	ung thư tuyến ruột kết trực tràng
MDA-MB-231	HTB-26	người	vú	ung thư tuyến vú

Đánh giá hoạt tính độc tố tế bào bằng cách sử dụng thử nghiệm đo nhiệt lượng SBR

Thử nghiệm đo nhiệt lượng, bằng cách sử dụng phản ứng sulforhodamin B (SRB) đã được làm thích ứng để tạo ra phép đo định lượng của sự phát triển tế bào và khả năng sống được (theo kỹ thuật được mô tả bởi Skehan et al. J. Natl. Cancer Inst. 1990, 82, 1107-1112).

Dạng thử nghiệm này sử dụng vi đĩa môi trường nuôi cấy tế bào SBS chuẩn có 96 lỗ (Faircloth et al. Methods in Cell Science, 1988, 11(4), 201-205; Mosmann et al, Journal of Immunological Methods, 1983, 65(1-2), 55-63). Tất cả các dòng tế bào được sử dụng trong nghiên cứu này thu được từ the American Type Culture Collection (ATCC) và dẫn xuất từ các loại ung thư ở người khác nhau.

Các tế bào được duy trì trong môi trường Eagle được biến đổi Dulbecco (DMEM) đã được bổ sung huyết thanh bào thai bê 10% (FBS), 2mM L-glutamin, 100 U/mL penixilin và 100 U/mL streptomycin ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂ và độ ẩm 98%. Đối với các thử nghiệm, các tế bào được thu hoạch từ môi trường nuôi cấy dưới hợp lưu bằng cách sử dụng trypsin hóa và được tái huyền phù trong môi trường mới trước khi đếm và dát mỏng.

Các tế bào được gieo trong các đĩa vi chuẩn độ có 96 lỗ, ở mật độ 5×10^3 tế bào đối với mỗi lỗ trong các phần nhỏ là 150 μ L, và được gắn vào bề mặt đĩa trong 18 giờ (qua đêm) trong môi trường không có thuốc. Sau đó, một đĩa đối chứng (chưa được xử

lý) của mỗi dòng tế bào được cố định (như được mô tả dưới đây) và được sử dụng cho giá trị tham chiếu thời gian bằng không. Các đĩa nuôi cấy sau đó được xử lý bằng các hợp chất thử nghiệm (50 μ L phần phân ước 4X dung dịch gốc trong môi trường nuôi cấy hoàn chính cộng với 4% DMSO) bằng cách sử dụng mười dãy pha loãng (nồng độ nằm trong khoảng từ 10 đến 0,00262 μ g/mL) và ba phiên bản môi trường nuôi cấy (nồng độ cuối cùng của DMSO bằng 1%). Sau 72 giờ xử lý, hiệu quả trị khối u được xác định bằng cách sử dụng phương pháp SRB: Tóm lại, các tế bào được rửa hai lần bằng PBS, được cố định trong 15 phút trong dung dịch glutaraldehyt 1% ở nhiệt độ trong phòng, được rửa hai lần trong PBS, và được nhuộm màu trong dung dịch SRB 0,4% trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Các tế bào sau đó được rửa vài lần bằng dung dịch axit axetic 1% và được làm khô trong không khí ở nhiệt độ trong phòng. SRB sau đó được chiết trong dung dịch bazơ trizma 10 mM và sự hấp phụ được xác định trong thiết bị đọc đĩa đo âm phổ tự động ở 490 nm. Ảnh hưởng đối với sự sống sót và phát triển tế bào được đánh giá bằng cách áp dụng thuật toán NCI (Boyd MR and Paull KD. Drug Dev. Res. 1995, 34, 91-104).

Bằng cách sử dụng giá trị trung bình $\pm$ SD của ba phiên bản môi trường nuôi cấy, đường cong phản ứng liều lượng được tạo ra một cách tự động bằng cách sử dụng phân tích hồi quy không tuyến tính. Ba thông số tham chiếu được tính toán (thuật toán NCI) bằng phép nội suy tự động: GI_{50} = nồng độ hợp chất mà tạo ra sự ức chế phát triển tế bào 50%, khi so sánh với môi trường nuôi cấy đối chứng; TGI = tổng ức chế sự phát triển tế bào (tác dụng kìm tế bào), khi so sánh với môi trường nuôi cấy đối chứng, và LC_{50} = nồng độ hợp chất mà tạo ra giết chết tế bào lưới 50% (tác dụng gây độc tế bào).

Bảng 9 và 10 minh họa các số liệu về hoạt tính sinh học của các hợp chất theo sáng chế.

Bảng 9. Thử nghiệm độc tố tế bào-Các số liệu hoạt tính (mol) của Aegomycin A, B, C và D.

		Aegomycin A	Aegomycin B	Aegomycin C	Aegomycin D
MDA-MB-231	GI_{50}	1,91E-8	7,61E-8	6,28E-8	6,48E-8
	TGI	3,63E-8	1,67E-7	1,97E-7	9,81E-8

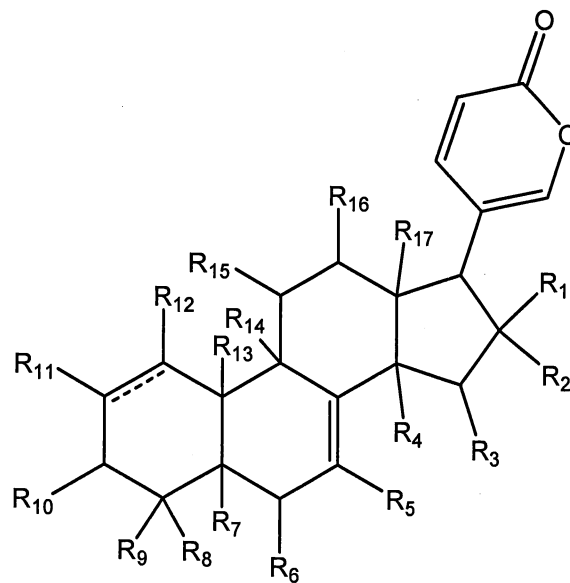
		Aegomycin A	Aegomycin B	Aegomycin C	Aegomycin D
	LC ₅₀	6,11E-8	3,81E-7	6,91E-7	1,73E-7
HT29	GI ₅₀	1,05E-8	3,04E-8	9,84E-9	3,14E-8
	TGI	3,25E-8	2,28E-7	1,05E-7	1,35E-7
	LC ₅₀	1,15E-7	3,04E-6	>2,09E-5	1,45E-6
A549	GI ₅₀	3,82E-9	5,90E-9	7,54E-9	8,64E-9
	TGI	4,39E-9	7,61E-9	1,72E-8	1,28E-8
	LC ₅₀	5,35E-9	1,14E-8	4,19E-8	1,83E-8

Bảng 10. Thử nghiệm độc tố tế bào - Các số liệu hoạt tính (mol) của Aegomycin E, F, G và H

		Aegomycin E	Aegomycin F	Aegomycin G	Aegomycin H
MDA-MB-231	GI ₅₀	1,97E-7	8,80E-8	1,70E-7	8,11E-8
	TGI	3,65E-7	2,71E-7	4,36E-7	2,03E-7
	LC ₅₀	7,50E-7	9,48E-7	1,29E-6	6,08E-7
HT29	GI ₅₀	1,18E-7	6,55E-8	1,46E-7	3,65E-8
	TGI	4,86E-7	4,06E-7	6,75E-7	2,03E-7
	LC ₅₀	5,27E-6	3,16E-6	3,92E-6	4,86E-6
A549	GI ₅₀	4,26E-8	2,48E-8	3,92E-8	8,31E-9
	TGI	5,67E-8	3,84E-8	6,32E-8	1,46E-8
	LC ₅₀	7,50E-8	6,10E-8	1,11E-7	2,84E-8

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức chung I:



(I)

trong đó:

R_1 được chọn từ hydro và halogen;

R_2 là halogen;

mỗi R_3 , R_{15} , và R_{16} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, và $=O$, với điều kiện là khi nhóm $=O$ có mặt thì hydro của nguyên tử C mà $=O$ được gắn vào đó không có mặt;

mỗi R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_{11} , R_{12} , và R_{14} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, và $OCOOR_a$;

mỗi R_8 , R_9 , và R_{17} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế;

R_{10} được chọn từ hydro, OR_b , $OCOR_a$, $OCOOR_a$, và $=O$, với điều kiện là khi nhóm $=O$ có mặt thì hydro của nguyên tử C mà $=O$ được gắn vào đó không có mặt;

R_{13} được chọn từ hydro, COR_a , C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, và C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế;

mỗi R_a độc lập được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, và nhóm dị vòng được thế hoặc không được thế;

mỗi R_b độc lập được chọn từ hydro, C_1 - C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkenyl được thế hoặc không được thế, C_2 - C_{12} alkynyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, nhóm dị vòng được thế hoặc không được thế, và đường được thế hoặc không được thế; và

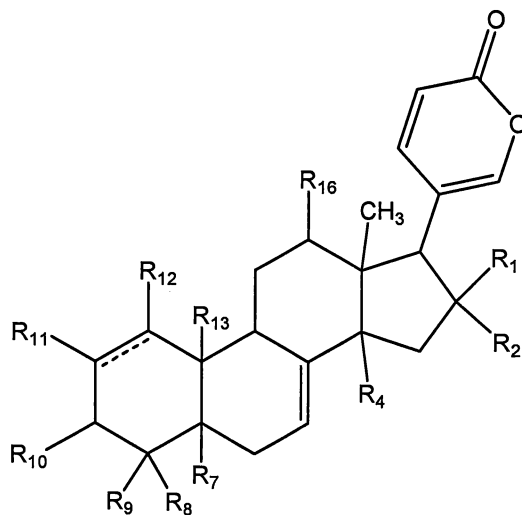
đường nét đứt ----- là liên kết khác, nhóm epoxy, hoặc là không có mặt;

hoặc muối được dụng hoặc chất đồng phân lập thể của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó mỗi R_3 , R_5 , R_6 , R_{14} , và R_{15} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

3. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_{17} là C_1 - C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

4. Hợp chất theo điểm 1, hợp chất này có công thức II dưới đây:



(II)

trong đó $R_1, R_2, R_4, R_7, R_8-R_{13}, R_{16}$, và đường nét đứt ----- là như được xác định trong điểm 1, hoặc muối được dụng hoặc chất đồng phân lập thể của nó.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_1 được chọn từ hydro và Cl, và trong đó R_2 là Cl.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_4 được chọn từ hydro và OR_a , và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_7 được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó mỗi R_8 và R_9 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, OR_a , và $OCOR_a$, và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_{10} được chọn từ OR_b , $OCOR_a$, và $=O$, và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế và R_b được chọn từ hydro, C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế, monosacarit, disacarit, và trisacarit, với điều kiện là khi R_{10} là $=O$ thì hydro của nguyên tử C mà R_{10} được gắn vào không có mặt.

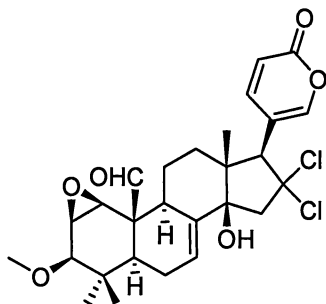
10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_{13} được chọn từ hydro, C_1-C_{12} alkyl được thế hoặc không được thế, và COR_a , và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

11. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_{16} được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, và trong đó R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

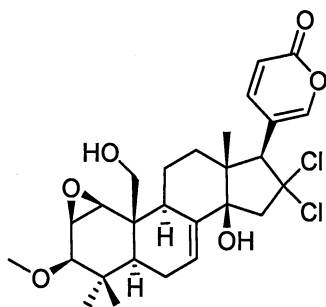
12. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó đường nét đứt -----không có mặt, mỗi R_{11} và R_{12} độc lập được chọn từ hydro, OR_a , và $OCOR_a$, và R_a được chọn từ hydro và C_1-C_6 alkyl được thế hoặc không được thế.

13. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó đường nét đứt ----- là liên kết khác hoặc nhóm epoxy, và R_{11} và R_{12} là hydro.

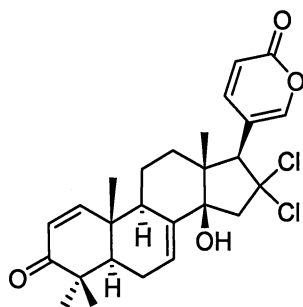
14. Hợp chất theo điểm 1, hợp chất này có công thức sau đây:



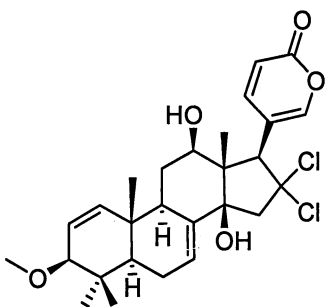
Aegomyxin A,



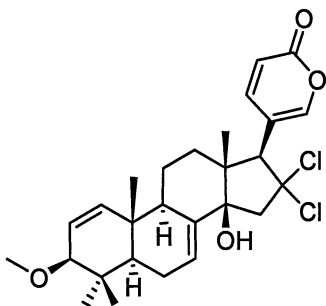
Aegomyxin B,



Aegomyxin C,

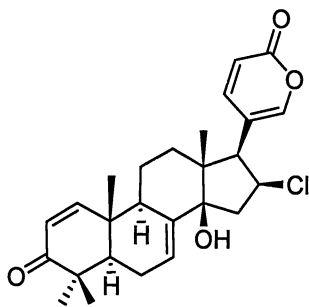


Aegomyxin D,

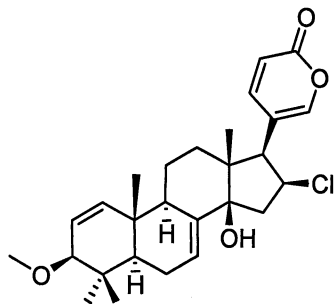


Aegomyxin E,

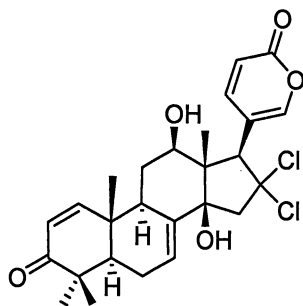
21030



Aegomyxin F,



Aegomyxin G, hoặc



Aegomyxin H;

hoặc muối được dụng của nó.

15. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, hoặc muối được dụng hoặc chất đồng phân lập thể của nó, và chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.