

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

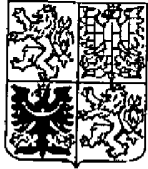
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

**742-97**

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **11. 03. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **12.03.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/96103866**

(33) Země priority: **EP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17. 09. 97**  
(Věstník č. 9/97)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

**A 61 K 47/48**

(71) Přihlášovatel:

HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT,  
Frankfurt am Main, DE;

(72) Původce:

Bossler Klaus Dr., Marburg, DE;  
Czech Jörg Dr., Marburg, DE;  
Gerken Manfred Dr., Marburg, DE;  
Straub Rainer Dipl. Ing., Marburg, DE;  
Monneret Claude Dr., Paris, FR;  
Florent Jean Claude Dr., Les Ulis, FR;  
Schmidt Frederic Dr., Vincennes, FR;

(74) Zástupce:

Všetečka Miloš JUDr., Hálkova 2, Praha 2,  
12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Nová proforma léčiv k terapii tumorů a zá-  
nětlivých onemocnění**

(57) Anotace:

Popisují se sloučeniny vzorce I Glykosyl-Y|-  
C(=Y)-X-1<sub>p</sub>-W(R<sub>n</sub>)-Z-C(=Y)-účinná látka (I), ve  
kterém mají obecné symboly významy uvede-  
né v popisné části, které jsou vhodné k ošetřo-  
vání rakovinných onemocnění, onemocnění  
autoimunity a chronických zánětlivých one-  
mocnění jako reumatická artritida.

CZ 742-97 A3

746-1

K.J.	0190000
DOŠLO	11. III. 97
URAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ	PŘÍL.

## Nová proforma léčiv k terapii tumorů a zánětlivých onemocnění

### Oblast techniky

Účinek léčiv spočívá velmi často v tom, že při určitých onemocněních potlačují patologicky přeexprimované enzymy, cytokiny nebo jiné faktory z hlediska jejich aktivit podporujících nemoc. Potlačující účinek léčiva se ovšem nemezuje na cílové farmakologické struktury (enzymy, cytokiny, faktory) v nemocné tkáni, nýbrž potlačují i aktivity, vyskytující se ve zdravých tkáních. Z toho pak vyplývají u mnoha léčiv pozorované nežádoucí vedlejší účinky. Aby se zmírnily nežádoucí vedlejší účinky léčiv, byly vyvinuty experimentální systémy, které umožňují selektivní uvolňování léčiva v nemocné tkáni. Takové systémy jsou krátce popsány v dalším textu.

### Dosavadní stav techniky

Systém ADEPT (Antibody directed enzyme prodrug therapy, Bagshawe 1987, Br.J.Cancer.56; 531-532) je systém o dvou krocích, kdy se v prvním kroku intravenózně injikuje konjugát protilátky a enzymu (AEK). AEK se na základě jeho tumorové selektivity udržuje v tumoru, ale v průběhu 2 - 7 dnů se vylučuje ze zdravých tkání. Ve druhém kroku intravenózně injikovaná proforma léčiva (nejedovatý předstupeň léčiva) se v tumoru aktivuje v důsledku enzymatické aktivity AEK na jedovaté léčivo. Jako důsledek této pro tumor specifické aktivace proformy léčiva se pozorují zvýšené koncent-

race léčiva v tumoru (5 - 50-násobek) a nižší koncentrace léčiva ve zdravých tkáních ve srovnání se standardní terapií.

Podobně jako systém ADEPT pracuje koncepce FMPA (Fusion protein mediated prodrug activation), při které se místo xenogenní a v důsledku toho imunogenní AEK použije k aktivaci pro tumor selektivní proformy léčiva neimunogenní lidský fusion protein (Bosslet et al, Cancer Res.54; 2151-2159).

Také v systému VDEPT (Vector dependent enzyme prodrug therapy, Trinh et al Cancer Res.55; 4808-4812), dvoufázovém, genově terapeutickém procesu se proforma léčiv selektivně pro tumor aktivuje po injekci vektoru a expresi strukturového genu, který koduje enzym:

Endogenní aktivaci proformy léčiva (Glucuronyl-Spacer-Anthracyclin, Jacquessy et al, WO 92/19639) v nekrotických tumorech a zánětlivých procesech ve spojení se silnými anti-tumorálními a protizánětlivými farmakologickými efekty popisuje Bosslet et al 1994, Cancer Res.54, 2151-2159 a 1995, Tumot targeting 1. 45-50 po prvé jako PMT (Prodrug Monotherapie). Při farmakologickém zpracování systémů PMT se ukazuje, že jak chemismus samostatně se eliminujícího spaceru, tak i hydrofilie a molární cytotoxicita složky léčiva v proformě léčiva má rozhodující význam pro účinnost in vivo.

Další zvýšení účinnosti PMT se pozoruje v kombinaci s látkami, které indukují nekrozy (EP 0696456 A2). Především používání konjugátů protilátek, se specifickou pro receptorový komplex VEGF/VEGF, kovalentně spojených s koagulačními

proteiny, jako příkladně zkráceným faktorem Tissue, vykazují ve farmakologických modelech in vivo v kombinaci s vhodnými proformami léčiv obzvláště dobrou účinnost.

### Podstata vynálezu

Překvapivě se nyní podařilo syntetizovat proformy léčiv, které in vivo, po odpovídající endogenní enzymatické aktivaci jsou ještě účinnější než proformy léčiv uvedené v EP 0511917 A11 a EP 0595133 A2. Tato zvýšená účinnost je na jedné straně podmíněna novým a výhodnějším chemismem spaceru, na druhé straně ale také vysokou molární cytotoxicitou použité složky léčiva. Nový, výhodný chemismus spaceru se vyznačuje tím, že obzvláště u účinných látek, které se na spacer váží přes hydroxylovou skupinu, dochází k uvolnění účinné látky po enzymatickém štěpení glykosylového zbytku cyklizací a odštěpením spaceru. Tak se dosáhne zlepšené stability proformy léčiva při současné dobré enzymatické štěpitelnosti. Proformy léčiv podle vynálezu jsou dále stabilnější za fyziologických podmínek než známé proformy léčiv, protože neuvolňují účinnou látku tak rychle.

Vynález se týká proformy léčiva vzorce I

Glykosyl-Y[-C(=Y)-X-]<sub>p</sub>-V(R<sub>n</sub>)-Z-C(=Y)-účinná látka  
a/nebo fyziologicky přijatelných solí sloučenin vzorce I,  
přičemž glykosyl znamená enzymaticky odštěpitelný poly-  
oligo- nebo monosacharid,

- V znamená
- 1) 5- až 14-členný aromatický zbytek,
  - 2) naftyl,
  - 3) indenyl,
  - 4) anthryl,
  - 5) phenanthryl,

- 6) 5- až 14-členný heterocyklický zbytek s 1, 2, 3 nebo 4 heteroatomy ze skupiny kyslíku, dusíku a síry,
- 7) alkyl ( $C_1 - C_6$ ),
- 8) alkenyl ( $C_2 - C_6$ ),
- 9) cykloalkyl ( $C_3 - C_6$ ) nebo
- 10) fenyl,

- R znamená
- 1) vodík,
  - 2) alkyl ( $C_1 - C_4$ ),
  - 3) fenyl,
  - 4) methoxy,
  - 5) karboxy,
  - 6) methyloxykarbonyl,
  - 7) -CN,
  - 8) -OH,
  - 9) -NO<sub>2</sub>
  - 10) halogeny jako fluor, chlor nebo brom
  - 11) sulfonyl
  - 12) sulfonamid nebo
  - 13) sulfon-( $C_1 - C_4$ )-alkylamid,

p znamená 0 nebo 1,

n znamená 0, 1, 2 nebo 3,

- X znamená
- 1) kyslík
  - 2) -NH-,
  - 3) methylenoxy,
  - 4) methylenamino,
  - 5) methylen-( $C_1 - C_4$ )-alkylamino
  - 6) ( $C_1 - C_4$ )-alkylamino nebo
  - 7) ( $C_3 - C_6$ )-cykolalkylamino

Y znamená kyslík nebo -NH-

- Z znamená
- 1) ( $C_1 - C_4$ )-alkylamino,
  - 2) -N(CH<sub>3</sub>)-,

- 3)  $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{NH}-$ ,
- 4)  $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{NH}-$ ,
- 5)  $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{N}(\text{R}^2)-$ , kde  $\text{R}^2$  znamená alkyl ( $\text{C}_1-\text{C}_4$ ) nebo
- 6)  $-\text{NH}-$ , jestliže  $\text{V}$  znamená ( $\text{C}_1-\text{C}_6$ ) a

účinná látka znamená sloučeninu s biologickým účinkem, která se váže přes kyslíkový zbytek, primární nebo sekundární aminový zbytek nebo iminový zbytek.

Pokud  $n$  znamená celé číslo 2 nebo 3, potom mají zbytky  $\text{R}$  nezávisle na sobě význam uvedený pod  $\text{R}$  1) až  $\text{R}$  13). Pod pojmem alkyl nebo alkenyl se rozumí zbytky, jejichž uhlíkový řetězec může být přímý, rozvětvený nebo cyklický; dvojně vazby se mohou vyskytovat opakovaně. Cyklické alkylové zbytky jsou příkladně 3- až 6-ti členné monocyklické zbytky jako cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl nebo cyklohexyl. K pojmu "5- až 14-ti členný heterocyklický s 1, 2, 3 nebo 4 heteroatomy ze skupiny kyslík, dusík a síra" patří příkladně zbytky, které se odvozují od sloučenin pyrrol, azepin, pyrrolin, pyridin, imidazol, pyrimidin, triazin, furan, 1,2-diazepin, oxazol, pyrazin, isoxazol, isoxazolin, thiazol, isothiazol, isothiazolidin, indol, chinolin, isochinolin, benzimidazol, indazol, purin, pteridin, thiopyran nebo thiofen.

Vhodné fyziologicky přijatelné soli sloučenin vzorce I jsou příkladně alkalické a amonné soli a soli kovů alkalických zemin včetně solí organických amonných bází.

Pod pojmem monosacharid se rozumí zbytky jako D-glukuronyl, L-iduronyl, D-glukopyranosyl-, D-galaktopyranosyl-, N-acetyl-D-glukosaminy, N-acetyl-D-galaktosaminyl,

D-mannopyranosyl- nebo L-fukopyranosyl. Oligo- nebo polysacharidy sestávají ze 2 až 20 výše jmenovaných monosacharidů, které jsou spolu vázány alfa- nebo beta-O-glykosidickou vazbou. Vazba mezi monosacharidem a zbytkem Y je alfa- nebo beta-glykosidická. Vhodné enzymy, které způsobují štěpení glykosylového zbytku od zbytku Y jsou induronidáza, glukozidáza, galaktozidáza, N-acetyl-D-glukosaminidáza, N-acetyl-D-galaktosaminidáza, mannosidáza, fukosidáza nebo glukuronidáza, s výhodou  $\beta$ -glukuronidáza.

Jako účinné látky jsou vhodné sloučeniny jako antracyklin, s výhodou doxorubicin, 4-epi-doxorubicin, 4- nebo 4-desoxy-doxorubicin nebo sloučenina s výhodou vybraná ze skupiny etoposid, N-bis(2-chlorethyl)-4-hydroxyanilin, 4-hydroxycyklofosfamid, vindesin, vinblastin, vincristin, terfenadin, terbutalin, fenoterol, salbutamol, muscarin, oxyfenbutazon, kyselina salicylová, kyselina p-aminosalicylová, 5-fluorouracil, 5-fluorocytidin, 5-fluorouridin, methotrexat, diclofenac, kyselina flufenaminová, 4-methylaminofenazon, theofylin, nifedipin, mitomycin C, mytoxantron, camptothecin, m-AMSA, taxol, nocodazol, colchicin, cyklofosfamid, rachelmycin, cisplatin, melphalan, belomycin, dusíkatý hořčičný plyn, fosforamid hořčičného plynu, quercetin, genistein, erbstatin, tyrphostin, derivát rohitukinu ((-)-cis-5,7-dihydroxy-2-(2-chlorfenyl)-8-[4-(3-hydroxy-1-methyl)-piperidinyl]-4H-1-benzopyran-4-on; EP 0 366 061), kyselina retinolová, kyselina máselná, phorbolster, alacynomycin, progesteron, buserelin, tamoxifen, mifepriston, onapriston, N-(4-aminobutyl)-5-chloro-2-naftalen-sulfonamid, pyridinyloxazol-2-on, quinolyloxazol-2-on, isoquinolyloxazol-2-on, staurosporin, verapamil, forskolin, 1,9-dideoxyforskolin, quinin, quinidin, reserpin, 18-O-(3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoyl)-

reserpát, lonidamin, buthioninsulfoximin, diethyldithio-  
karbamát, cyklosporin A, azathioprin, chlorambucil, amin  
kyseliny N-(4-trifluormethyl)-fenyl-2-cyano-3-hydroxy-  
krotonové, (WO 91 17748), 15-deoxyspergualin, FK 506,  
ibuprofen, indometacin, aspirin, sulfasalazin, penicilin-  
amin, chloroquin, dexamethazon, prednisolon, lidocain,  
propafenon, procain, kyselina mefenaminová, paracetamol,  
4-aminofenazon, muskosin, orciprenalin, isoprenalin,  
amilorid, p-nitrofenylguanidinbenzoát nebo nebo jejich  
deriváty substituované jednou nebo několika skupinami  
hydroxy-, amino- nebo imino-.

Výhodné jsou proformy léčiva, kde účinná látka je cy-  
tostatikum, antimetabolit, kde účinnou látkou je 5-fluoro-  
uracil, 5-fluorocytidin, 5-fluorouridin, cytosinarabinosid  
nebo methotrexat, kde účinná látka je látka ovlivňující DNA,  
kde účinná látka je doxorubicin, daunomycin, idarubicin,  
epirubicin nebo mitoxantron, kde účinná látka inhibuje  
topoisomerázu I a II, kde účinná látka je camptothecin,  
etoposid nebo m-AMSA, kde účinná látka je inhibitor tubuli-  
nu, kde účinná látka je vincristin, vinblastin, vindesin,  
taxol, nocodazol nebo colchicin, kde účinná látka je  
alkylanz, kde účinná látka je cyklofosfamid, mytomycin C,  
rachelmycin, cisplatin, fosforamid hořčičného plynu,  
melphalan, bleomycin, dusíkatý hořčičný plyn nebo N-bis-(2-  
chlorethyl)-4-hydroxyanilin, kde účinná látka je neocarzino-  
statin, calicheamycin, dynemicin nebo espeřarmycin A, kde  
účinná látka je některá ze sloučenin inaktivující ribosomy,  
kde účinná látka je verrucarín A, kde účinná látka je inhi-  
bitor tyrosinfosfokinázy, kde účinná látka je quercetin,  
genistein, erbstatin, tyrphostin nebo derivát rohitukinu,  
kde účinná látka je diferenciační induktor, kde účinná látka  
je kyselina retinolová, kyselina máselná, phorbolový ester



nebo aclacinomycin, kde účinná látka je hormon, hormonový agonista nebo hormonový antagonist, kde účinná látka je progesteron, buserelin, tamoxifen, mifepriston nebo onapriston, kde účinná látka je látka, která mění pleiotropní rezistenci proti cytostatikům, kde účinná látka je inhibitor calmodulinu, kde účinná látka je C-inhibitor protein-kinázy, kde účinná látka je inhibitor P-glykoproteinu, kde účinná látka je modulátor mitochondriálně vázané hexokinázy, kde účinná látka je inhibitor *gamma*-glutamylcysteinsynthetázy nebo glutathion-S-transferázy, kde účinná látka je inhibitor superoxiddismutázy, kde účinná látka představuje inhibitor proliferačně asociovaného proteinu definovaného M<sub>Ak</sub> Ki67 v buněčném jádře dělící se buňky, kde účinná látka je substance vyvolávající imunosupresivní efekt, kde účinná látka je standardní imunosupresivum, kde účinná látka je makrolid, kde účinná látka je cyklosporin A, rapamycin, FK 506, kde účinná látka je azathioprin, methotrexat, cyklofosfamid nebo chlorambucil, kde účinná látka je substance s protizánětlivým účinkem, kde účinná látka je nesteroidní substance s protizánětlivým účinkem, kde účinná látka je "slow acting antirheumatic drug", kde účinná látka představuje steroid, kde účinná látka je substance s antiflogistickým, analgetickým nebo antipyretickým účinkem, kde účinná látka je derivát organické kyseliny, kde účinná látka představuje nekyselý analgetikum/antiflogistikum, kde účinná látka je oxyfenbutazon, kde účinná látka je lokální anestetikum, kde účinná látka je antiarytmikum, kde účinná látka je antagonist Ca<sup>++</sup>, kde účinná látka je antihistaminikum, kde účinná látka je sympatomimetikum nebo kde účinná látka je substance s inhibičním účinkem na lidskou urokinázu; deriváty výše uvedených účinných látek, přičemž se účinná látka váže přes kyslíkový zbytek, zbytek NH- nebo iminový zbytek na zbytek Y sloučeniny vzorce I.

Účinná látka je také s výhodou sloučenina dusíku uvedená v příkladech, quinín nebo dipyridamol.

Výhodná je proforma léčiv, kde

glykosyl znamená enzymaticky odštěpitelnou kyselinu glukuronovou,

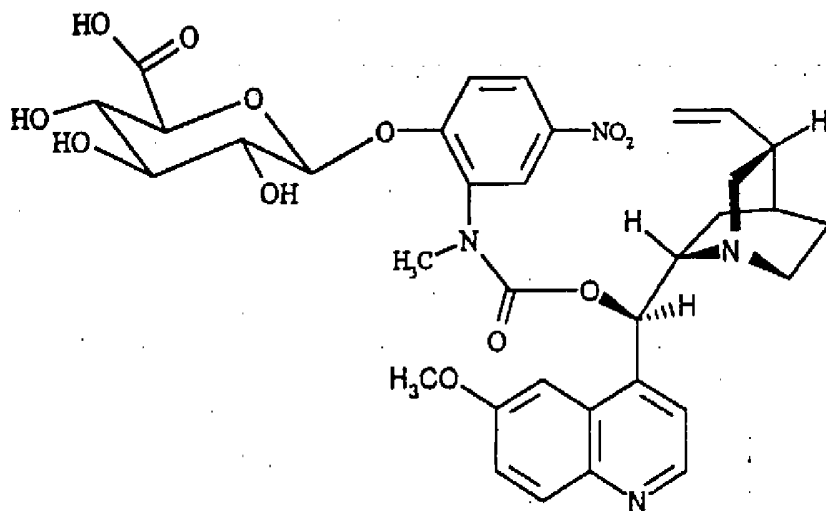
V	znamená	fenyl,
R	znamená	vodík, CN, nitro, fluor, chlor, brom,
P	je	nula
n	znamená	celé číslo nulu, 1 nebo 2,
Y	znamená	kyslík
Z	znamená	-N(CH <sub>3</sub> )-, -C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -NH-, -CH(CH <sub>3</sub> )-NH-, -C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -N(C <sub>1</sub> -C <sub>4</sub> )alkyl)-, -CH(CH <sub>3</sub> )-N(C <sub>1</sub> - C <sub>4</sub> )alkyl)

a účinná látka je sloučenina s biologickým účinkem vázaná přes kyslíkovou skupinu, aminoskupinu nebo iminoskupinu.

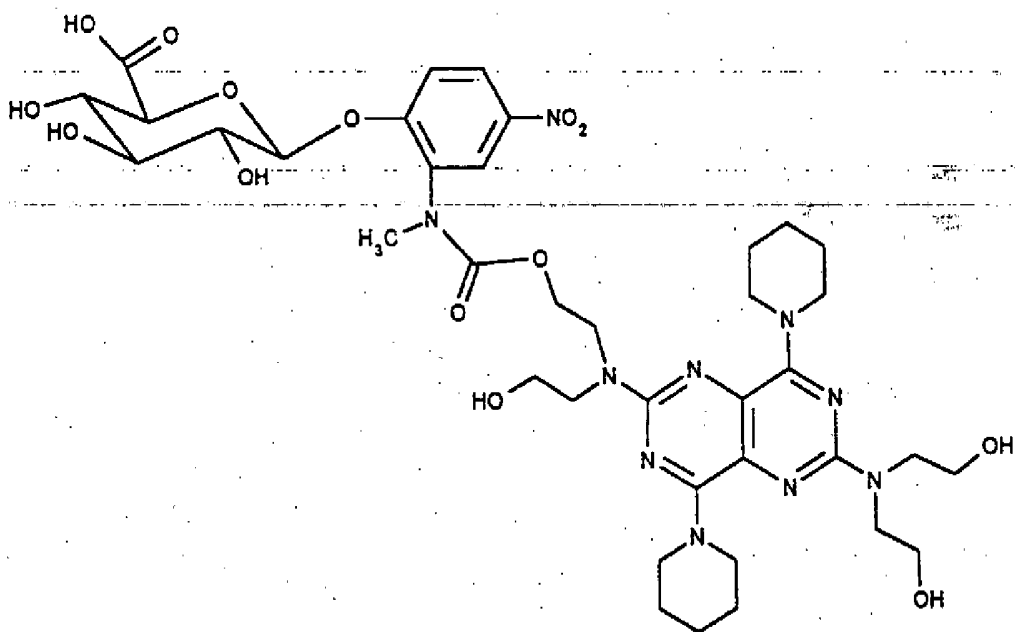
Zvláště výhodné jsou sloučeniny

kyselina 2-[N-methyl-N-[4-(N,N -bis-(2-chloroethyl)amino)-fenyloxykarbonyl]amino]-4-nitrofenyl-β-D-glucuronová,

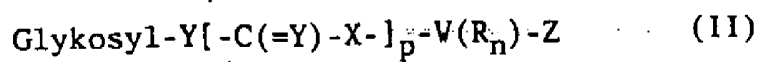
kyselina 2-[N-methyl-N-[(4-(N,N -bis-(2-jodoethyl)amino)-fenyloxykarbonyl]amino]-4-nitrofenyl-β-D-glucuronová,



nebo



Vynález se týká také způsobu výroby proformy léčiv vzorce I, který se vyznačuje tím, že se k reakci použije sloučenina vzorce II



příčemž zbytky glykosyl, Y, X, p, V, R, n a Z mají význam uvedený pro vzorec I, která se nechá reagovat s účinnou látkou, která obsahuje aktivovaný karboxylový, aminový nebo iminový zbytek, přičemž se reakce provádí v přítomnosti rozpouštědla ze skupiny acetonitril, dioxan, tetrahydrofuran, dichlormethan, dimethylformamid, aceton a následně se hydrolyticky odštěpí chránicí skupiny.

Aktivace účinné látky se provádí příkladně podle H.J.Marley, Chem.Soc.Chem.Communication (1987) strany 112-113 nebo podle H.Hagemann Angew.Chem.,93, (1981) strany 813-814. Odštěpení chránicích skupin se provádí příkladně alkalickým louhem, alkalickým uhličitánem, alkalickým kyani- dem, oxidem barnatým, piperidinem nebo morfolinem v přítom- nosti methanolu, ethanolu nebo vody.

Vynález se týká také léčiv, vyznačujících se účinným obsahem nejméně jedné sloučeniny vzorce I a/nebo fyziolo- gicky přijatelné soli sloučeniny vzorce I, přičemž zbytky glykosyl, Y, X, p, V, R, n, Z a účinná látka jsou definovány jak je uvedeno výše, spolu s farmaceuticky vhodnou a fyziolo- gicky přijatelnou nosnou látkou, přísadou a/nebo jinou účinnou a pomocnou látkou.

Na základě farmakologických vlastností se sloučeniny podle vynálezu vynikajícím způsobem hodí k profylaxi a tera- pii všech takových onemocnění nebo poruch, na jejichž průběh mají vliv intracelulární enzymy, které mohou štěpit glykosy- lový zbytek, jsou přeexprimované a/nebo se uvolňují nebo jsou přístupné po rozpadu buňky. To jsou především onemoc- nění jako rakovina, onemocnění autoimunity nebo zánětlivé, artritidy a artopatie, podmíněné imunologicky nebo látkovou výměnou, akutní a chronické, obzvláště tumorová onemocnění

a reumatická artritida.

Vynález se dále týká použití sloučenin vzorce I k výrobě léčiv k profylaxi a terapii rakovinných onemocnění, onemocnění autoimunity a chronických zánětlivých onemocnění jako reumatická artritida.

Vynález se týká způsobu výroby léčiva, který se vyznačuje tím, že se nejméně jedna sloučenina vzorce I připraví do vhodné aplikační formy s farmaceuticky vhodnou a fyziologicky přijatelnou nosnou látkou a případně dalšími vhodnými účinnými nebo pomocnými látkami nebo přísadami.

Vhodnými formami přípravků jsou příkladně injikovatelné roztoky, při jejichž výrobě se použijí obvyklé pomocné prostředky, jako nosné látky, pojící, šumivé nebo mazné prostředky a látky zprostředkující rozpouštění. Jako často používané pomocné látky lze jmenovat uhličitan hořečnatý, oxid titaničitý, laktozu, mannit a další cukry, talek, mléčnou bílkovinu, želatinu, škrob, celulozu a její deriváty, živočišné a rostlinné oleje jako rybí tuk, slunečnicový olej, olej z burských oříšků a sezamový olej, polyethylen-glykol a rozpouštědla jako sterilní voda a jednosytné nebo vícesytné alkoholy jako glycerin. Jako nosné látky se mohou použít také liposomy nebo lidské proteiny.

S výhodou se farmaceutické preparáty vyrábějí a podávají v dávkovacích jednotkách, přičemž každá jednotka obsahuje jako aktivní složku sloučeninu podle vynálezu vzorce I. V případě injekčních roztoků může tato dávka činit pro dospělého pacienta o hmotnosti asi 70 kg až asi 10 g, s výhodou však asi 3 až 5 g. Podle okolností se však mohou používat také vyšší nebo nižší denní dávky. Podávání denní

dávky se může provádět jak formou jedné dávky v podobě jednotlivých dávkovacích jednotek tak i opakovaným podáním nižších dávek v určitých intervalech.

Proformy léčiva podle vynálezu se mohou použít také při všech neonkologických onemocněních, při nichž se vyskytují makrofágy, granulocyty a trombocyty, obzvláště v aktivovaném stavu. V aktivovaném stavu vylučují výše zmíněné buňky přednostně intracelulární enzymy, které umožňují místně specifickou aktivaci proformy léčiv podle vynálezu.

Při onkologických indikacích se aktivace proformy léčiv podle vynálezu provádí intracelulárními enzymy, uvolňovanými odumírajícími tumorovými buňkami. K tomuto jevu dochází především u větších tumorů (průměr více jak 0,3 cm), ale také po poškození tumoru oštrovaním imunotoxiny, cytostatiky, ozařováním, fusními proteiny nebo konjugáty protilátka-enzym.

Protože glykosylový podíl proformy léčiva podle vynálezu se volí tak, že se odštěpuje pouze za patofyziologických podmínek lokálně uvolňovaných enzymů, může se lipofilní léčivo uvolňovat pouze v cílové tkáni a tam rozvinout svůj cytotoxický účinek.

Požadovaný účinek proformy léčiva podle vynálezu s cytotoxickou složkou léčiva je možné zvýšit tím, že se proforma léčiva podle vynálezu kombinuje s jinou cytotoxickou komponentou léčiva. Při tom jsou výhodné kombinace proforem léčiv, u nichž se používají cytotoxické složky s různými mechanismy účinku, odpovídající poly-chemoterapii. Obzvláště vhodné se ukazuje použití účinných látek, které mohou velmi účinně vyvolávat destrukce jednoduchých

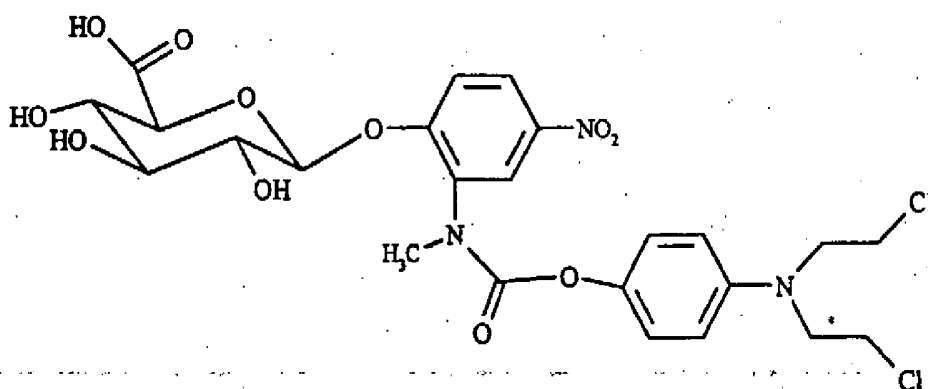
i dvojitých řetězců v DNA jako calicheamycin. Obzvláště výhodné jsou ovšem kombinace proforem léčiv podle vynálezu, u nichž má jedno léčivo cytotoxický potenciál a druhé blokuje rezistenci multi-léčiva.

Dále se vynález týká farmaceutických přípravků, obsahujících sloučeninu vzorce I a konjugáty protilátka-enzym. Jako konjugáty protilátka-enzym se rozumí sloučeniny, které se pomocí části protilátky váží specificky na tumorovou tkáň nebo na zanícenou tkáň a které mají enzymovou část, která může štěpit glykosylový zbytek sloučeniny vzorce I. Příklady takových sloučenin popisují EP 0 501 215, EP 0 390 530 nebo EP 0 623 352.

#### Příklady provedení vynálezu

#### P ř í k l a d 1

Proforma léčiva - dusíkatý derivát. (F 373; sloučenina 11)

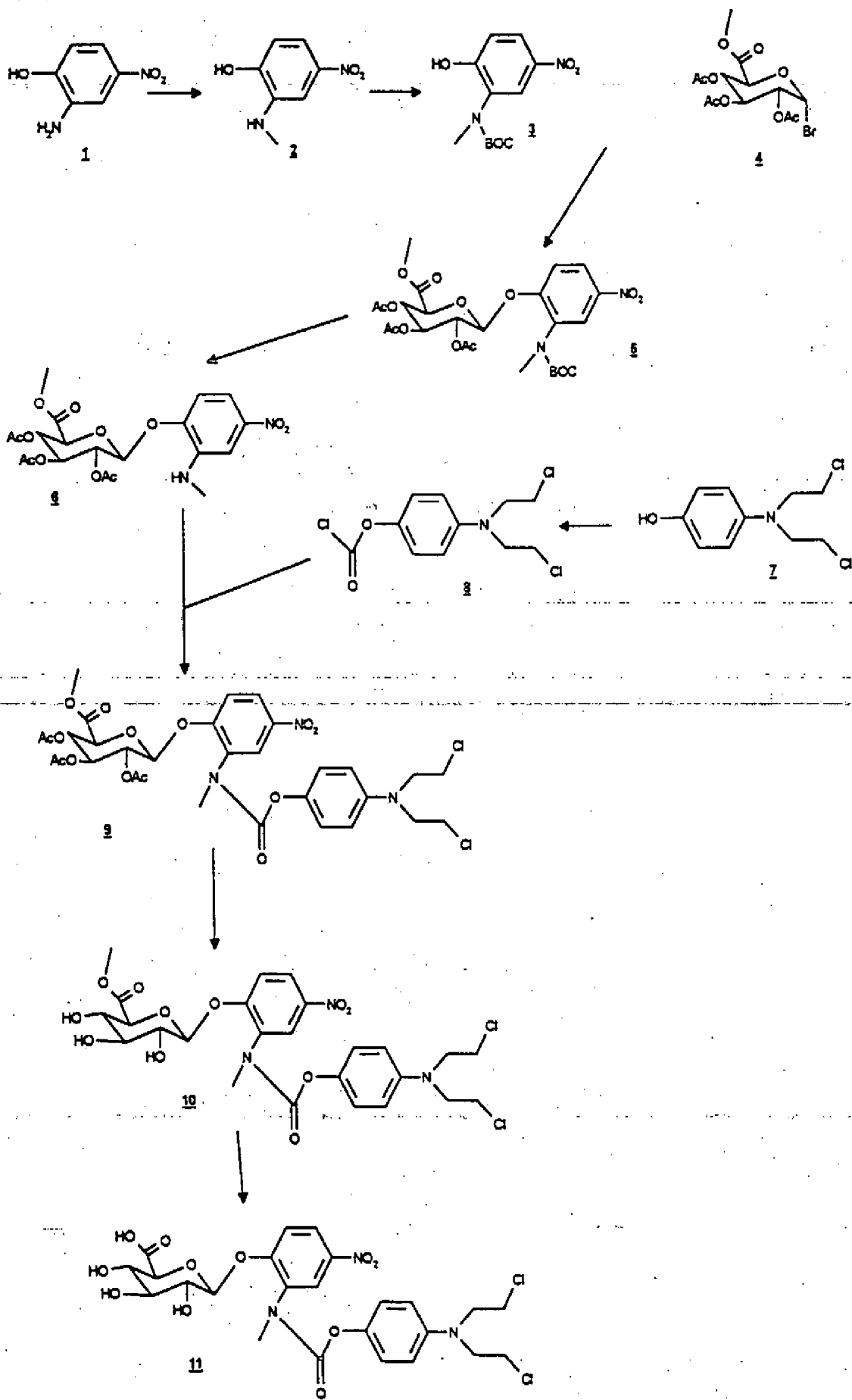


se syntetizuje následovně :

Výchozí materiál k syntéze je 2-amino-4-nitrofenol (sloučenina 1). Sloučenina 1 se nejprve monomethyluje

s pomocí methyljodidu (sloučenina 2) a aminofunkce se chrání jako derivát BOC (sloučenina 3). Chráněná kyselina glukuronová se zavede pomocí vazby oxidu stříbrného sloučeniny 3 a bromidu (sloučenina 4) za vzniku sloučeniny 5. Po odštěpení chránicí skupiny BOC pomocí HCl se získá amin (sloučenina 6). Sloučenina 7 se nechá zreagovat na chloroformát (sloučenina 8) a se sloučeninou 6 kondenzuje na sloučeninu 9. Po štěpení esteru části glukuronové kyseliny sloučeniny 3 ve dvou krocích (MeONa/MeOH, potom vodný NaOH) se přes sloučeninu 10 získá proforma léčiva (sloučenina 11).





Sloučenina 2 :

2-(N-methylamino)-4-nitrofenol (2)

K roztoku 2-amino-4-nitrofenolu (1) (1,54 g, 10 mmol) a methyljodidu (1 ml, 16 mmol) v methanolu (10 ml) se přidá triethylamin (2 ml, 14,4 mmol). Po jedné hodině při teplotě 40 °C se přidá další methyljodid (1 ml) a triethylamin (1 ml) a míchá se další 2 hodiny při teplotě 40 °C. Reakční směs se potom odpaří ve vakuu do sucha, dá se do vodného 2N roztoku octanu sodného a extrahuje se esterem kyseliny octové. Organická fáze se vysuší síranem sodným a chromatografuje se na silikagelu (eluent dichlormethan/methanol 95/5). Výtěžek 880 g (52 %).

$C_7H_8N_2O_3$  :

Vypočteno :	C: 50,02	H: 4,76	N: 16,73
Nalezeno :	C: 50,00	H: 4,80	N: 16,66

Teplota tání : 148 °C (toluen)

$^1H$  NMR (250 MHz, DMSO):

$\delta$	7,44 (dd, $J_{ortho}=9$ Hz, $J_{meta}=3,0$ Hz, 1 H),
	7,13 (d, $J=3$ Hz, 1 H),
	6,77 (d, $J=9$ Hz, 1 H),
	2,76 (s, 3H).

IR (KBr) :  $\nu(cm^{-1})$  3363 (OH), 1538, 1338 ( $NO_2$ ).

MS (DCI,  $NH_3$ ) :  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup>: 169.

Sloučenina 3 :

2-(N-BOC,N-methylamino)-4-nitrofenol (3)

K roztoku 2-N-methylamino-4-nitrofenolu (2) (4,18 g, 24,9 mmol) v tetrahydrofuranu (50 ml) se přidá di-terc.-butyldiuhličitan (14 g, 64,15 mmol), uhličitan draselný (17 g, 123 mmol) a voda (50 ml) a míchá se přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se okyselí nasyceným vodným roztokem chloridu amonného, extrahuje se esterem kyseliny octové, vysuší se síranem sodným a odpaří se ve vakuu. Surový produkt se míchá 2 hodiny v methanolu (100 ml) s uhličitanem draselným (17 g, 123 mmol), okyselí se nasyceným vodným roztokem chloridu amonného, extrahuje se esterem kyseliny octové, vysuší se síranem sodným a odpaří se ve vakuu. Produkt se chromatografuje na silikagelu (eluent dichlormethan/methanol 97,5/2,5). Výtěžek 6,2 g (93 %).

$C_{12}H_{16}N_2O_5$  :

Vypočteno : C: 53,72 H: 6,01 N: 10,44

Nalezeno : C: 53,64 H: 6,20 N: 10,36

Teplota tání : 197 °C (toluen/petrolether)

$^1H$  NMR (250 MHz, DMSO):

$\delta$  8,10-8,00 (2 H),  
7,03 (d, J=8,5 Hz, 1 H),  
3,04 (s, 3H),  
1,40-1,30 (9H).

IR (KBr)  $\nu$ ( $cm^{-1}$ ) 3129 (OH), 1672 (CO), 1529, 1339 ( $NO_2$ ).

MS (DCI, NH<sub>3</sub>) : m/z [M+H]<sup>+</sup>: 269,  
[M+H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>]<sup>+</sup>: 213,  
[M+H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>OCO]<sup>+</sup>: 169

Sloučenina 5 :

Methylester kyseliny 2-(N-BOC,N-methylamino)-4-nitrofenyl-  
2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glukuronové (5)

K roztoku methylesterbromidu kyseliny 2,3,4-tri-O-acetyl-α-D-glukuronové (4) (126 mg, 0,317 mmol) v acetonitrilu (5 ml) se přidá oxid stříbrný (0,23 g, 0,992 mmol) a 2-(N-BOC, N-methylamino)-4-nitrofenolu (3). Reakční směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti, filtruje se přes celit a odpaří se ve vakuu. Produkt se chromatografuje na silikagelu (eluent dichlormethan/methanol 97,5/2,5). Výtěžek 165 mg (89 %).

C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub> :

Vypočteno	C: 51,37	H: 5,52	N: 4,79
Nalezeno	C: 51,79	H: 5,72	N: 4,66

Teplota tání : 80 °C (toluen/petrolether)

[α]<sub>D</sub> = -39° (c=1,02 v CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ	8,14 (dd, J <sub>ortho</sub> =9 Hz, J <sub>meta</sub> =2,5 Hz, 1 H),
	8,15-8,05 (1 H),
	7,30-7,20 (1 H),
	5,45-5,30 (4 H),
	4,25 (d, J=9 Hz, 1 H),
	3,73 (s, 3 H),

3,13 (s, 3 H),  
2,15-2,05 (9 H),  
1,65-1,40 (9 H).

IR (CDCl<sub>3</sub>) :  $\nu(\text{cm}^{-1})$  1760 (CO, ester), 1699 (CO, karbamát),  
1529, 1349 (NO<sub>2</sub>).

MS (DCI, NH<sub>3</sub>) : m/z [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>: 602.

Sloučenina 6 :

Methylester kyseliny 2-(N-methylamino)-4-nitrofenyl-2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glukuronové (6)

Roztoku methylesteru kyseliny 2-(N-BOC, N-methylamino)-4-nitrofenyl-2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glukuronové (5) (3 g; 5,13 mmol) v 2,12 M kyseliny chlorovodíkové v esteru kyseliny octové (60 ml) se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti. Roztok se dá do přebytečného, vodného, nasyceného roztoku kyselého uhličitanu sodného a extrahuje se esterem kyseliny octové. Organická fáze se vysuší síranem sodným a odpaří. Produkt se chromatografuje na silikagelu (eluent dichlormethan/methanol 97,5/2,5). Výtěžek 2,14 g (86 %), žlutá pevná látka.

C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub> :

Vypočteno	C: 49,59	H: 4,99	N: 5,78
Nalezeno	C: 49,81	H: 5,12	N: 4,80

Teplota tání : 120 °C (toluen)

$[\alpha]_D^{20} = -58^\circ$  (c=1,04 v CHCl<sub>3</sub>).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  7,53 (dd,  $J_{\text{ortho}}=8,5$  Hz,  $J_{\text{meta}}=2,5$  Hz, 1 H),  
7,37 (d,  $J=2,5$  Hz, 1 H),  
6,91 (d,  $J=8,5$  Hz, 1 H),  
5,45-5,30 (1 H),  
5,16 (d,  $J=7$  Hz, b, 1 H),  
4,50 (d,  $J=5$  Hz, 1 H),  
4,24 (d,  $J=9$  Hz, 1 H),  
3,75 (s, 3 H),  
2,90 (d,  $J=5$  Hz, 1H),  
2,10-2,05 (9 H).

IR ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\nu(\text{cm}^{-1})$  3443 (NH), 1758 (CO), 1553, 1346 ( $\text{NO}_2$ ).

MS ( $\text{DCI}$ ,  $\text{NH}_3$ ) :  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 485.

Sloučenina 8 :

Chloroformát 4-[N,N-bis(2-chlorethyl)amino]fenylu (8)

Fosgen v toluenu (1,93 M) (8 ml, 15,4 mmol) se přidá k suspenzi hydrochloridu 4-[N,N-bis(2-chlorethyl)amino]fenolu (7) (1,85 mmol) v tetrahydrofuranu (30 ml) a míchá se 30 minut při teplotě 0 °C. Po přidavku triethylaminu (1 ml, 7,17 mmol) se míchá další hodinu při teplotě 0 °C. Následně se suspenze filtruje a ve vakuu se odpaří při teplotě místnosti. Chromatografie typu flash na silikagelu s dichlormethanem jako eluentem poskytne produkt jako bezbarvou kapalinu, která se přímo použije pro další reakci. Výtěžek 70 %

$^1\text{H}$  NMR (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  7,10 (d,  $J=9$  Hz, 2 H),  
6,66 (d,  $J=9$  Hz, 2 H),

3,73 (t, J= 6,5Hz, 4 H),

3,63 (t, J= 6,5 Hz, 4H).

MS (DCI, NH<sub>3</sub>) : m/z [M+H]<sup>+</sup>: 296,  
[M+2+H]<sup>+</sup>: 298.

Sloučenina 9 :

Methylester kyseliny 2-[N-methyl-N-[4-(N,N -bis-(2-chlor-ethyl)-amino)fenyloxykarbonylamino]-4-nitrofenyl-2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glukuronové (9)

K roztoku chloroformátu 4-[N,N-bis(2-chlorethyl)-amino]fenylu (8) (0,31 g, 1,04 mmol) v tetrahydrofuranu (15 ml), diisopropylethylamin (0,25 ml, 1,44 mmol) se přidá methylester kyseliny 2-(N-methylamino)-4-nitrofenyl-2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glukuronové (6) (0,50 g, 1,03 mmol) a 2 hodiny se vaří pod zpětným chladičem. Po ochlazení na teplotu místnosti se odpaří. Produkt se chromatografuje na silikagelu (eluent dichlormethan/methanol 97,5/2,5). Výtěžek 487 mg (64 %).

C<sub>31</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>:

Vypočteno C: 50,00 H: 4,74 N: 5,64 Cl: 9,52

Nalezeno C: 49,60 H: 4,82 N: 5,62 Cl: 9,78

Teplota tání : 101 °C (methanol)

$[\alpha]_D^{20} = -47^\circ$  (c=1,10 v CHCl<sub>3</sub>):

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ 8,25-8,15 (2 H),

7,45-7,35 (1 H),

7,25-7,05 (1 H),  
6,95-6,85 (1 H),  
6,70-6,55 (2 H),  
5,45-5,25 (4 H),  
4,28 (d, J= 9 Hz, 1 H),  
3,80-3,55 (11 H),  
3,38 (s) 2 diastereomerní karbamát (40/60) 3 H,  
3,27 (s),  
2,20-2,00 (9 H).

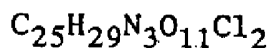
IR (CDCl<sub>3</sub>) :  $\nu(\text{cm}^{-1})$  1760 (CO, estery), 1722 (CO, karbamát),  
1530, 1350 (NO<sub>2</sub>).

MS (DCI, NH<sub>3</sub>) : m/z [M+H]<sup>+</sup>: 744; [M+2+H]<sup>+</sup>: 746,  
[M+Na]<sup>+</sup>: 766, [M+2+Na]<sup>+</sup>: 768.

Sloučenina 10 :

Methylester kyseliny 2-[N-methyl-N-[4-(N,N -bis-(2-chlor-ethyl)-amino)fenyloxykarbonyl]amino]-4-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukuronové (10)

K suspenzi methylesteru kyseliny 2-[N-methyl-N-[4-(N,N -bis-(2-chlorethyl)-amino)fenyloxykarbonyl]amino]-4-nitrofenyl-2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glukuronové (9) (68 mg, 0.0915 mmol) v methanolu (5 ml) se při teplotě -15 °C přidá natriumethylát (2 mg, 0,037 mmol) a míchá se 6 hodin při teplotě -15 °C. Po neutralizaci iontoměničem (Amberlite IRC-50 S) a filtraci se roztok odpaří a chromatografuje se na silikagelu s esterem kyseliny octové jako eluentem. Výtěžek 50 mg (89 %).





$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta$  8,22 (s1, 1 H),  
8,16 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1 H),  
7,25 (d, 1 H),  
7,15-6,90 (2 H),  
6,80-6,45 (2 H),  
5,06 (1 H),  
4,20-3,15 (17 H).

IR ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\nu(\text{cm}^{-1})$  3601 , 3448 (OH), 1714 (CO), 1528,  
1349 ( $\text{NO}_2$ ).

MS (ES) :  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 640,  $[\text{M}+2+\text{Na}]^+$ : 642.

Sloučenina 11 :

Kyselina 2-[N-methyl-N-[4-(N,N-bis-(2-chlorethyl)amino)-  
fenyloxykarbonylamino]-4-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukuronová (11)

K roztoku sloučeniny 10 (50 mg, 0,0809 mmol) v acetonu (4 ml) se při teplotě  $-15$  °C přidá 0,3 ml vodného roztoku 1 N hydroxidu sodného. Směs se míchá 2 hodiny při teplotě  $-15$  °C, neutralizuje se 1 N vodnou kyselinou chlorovodíkovou a odpaří se ve vakuu ( $T < 40$  °C). Produkt se chromatografuje na silikagelu acetonitrilem/voda (9/1). Výtěžek činí 45 mg (89 %).

$\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{Cl}_2$

$^1\text{H}$  NMR (250 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):

$\delta$  8,30 (s1, 1 H),  
8,24 (dd,  $J_{\text{ortho}}=9$  Hz,  $J_{\text{meta}}=2,5$  Hz, 1 H),  
7,52 (d,  $J=9$  Hz, 1 H),

6,99 (d, J= 9 Hz, 2 H),  
6,69 (d, J= 9 Hz, 2 H),  
5,23 (1 H),  
3,89 (d, J= 9 Hz, 1 H),  
3,80-3,33 (1 H).

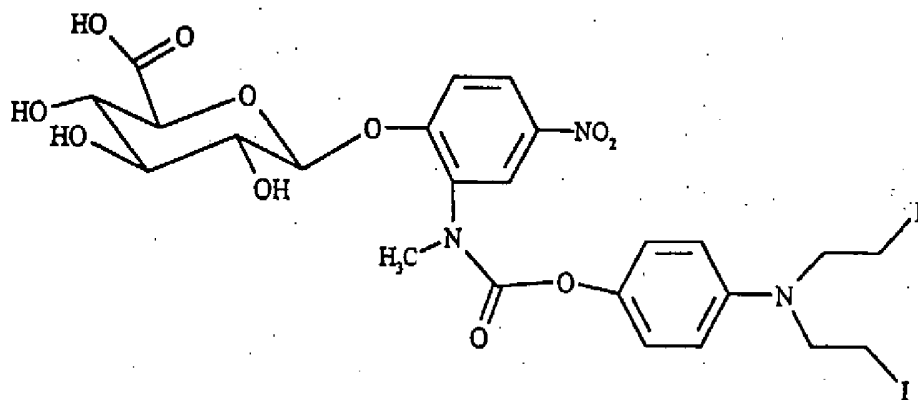
IR (Kr) :  $\nu(\text{cm}^{-1})$  3418 (OH), 1705 (CO), 1516, 1349 ( $\text{NO}_2$ ).

MS (ES) : m/z [M-H]<sup>+</sup>: 603  
[M+2-H]<sup>+</sup>: 605.

### P ř í k l a d 2

Kyselina 2-[N-methyl-N-[4-(N,N -bis-(2-jodethyl)amino)-  
fenyloxykarbonyl]amino]-4-nitrofenyl- $\beta$ -D-glukuronová (12)

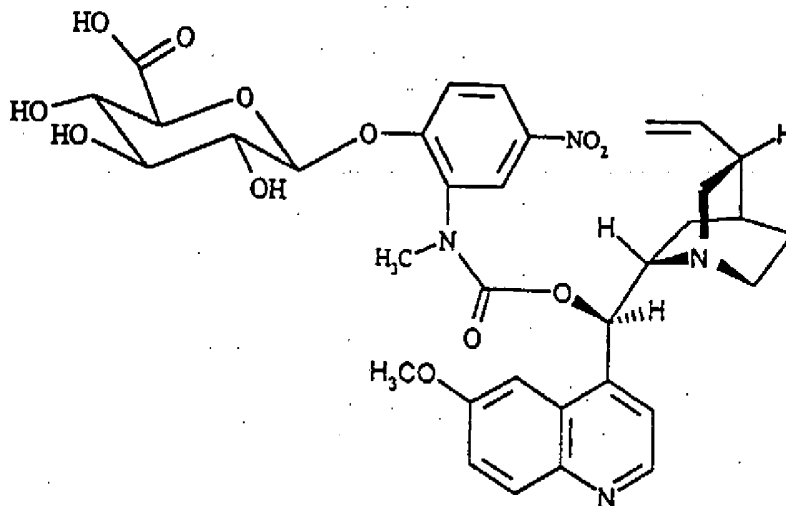
(Sloučenina 12) :



Syntéza se provádí analogicky jako v příkladu 1.

### P ř í k l a d 3

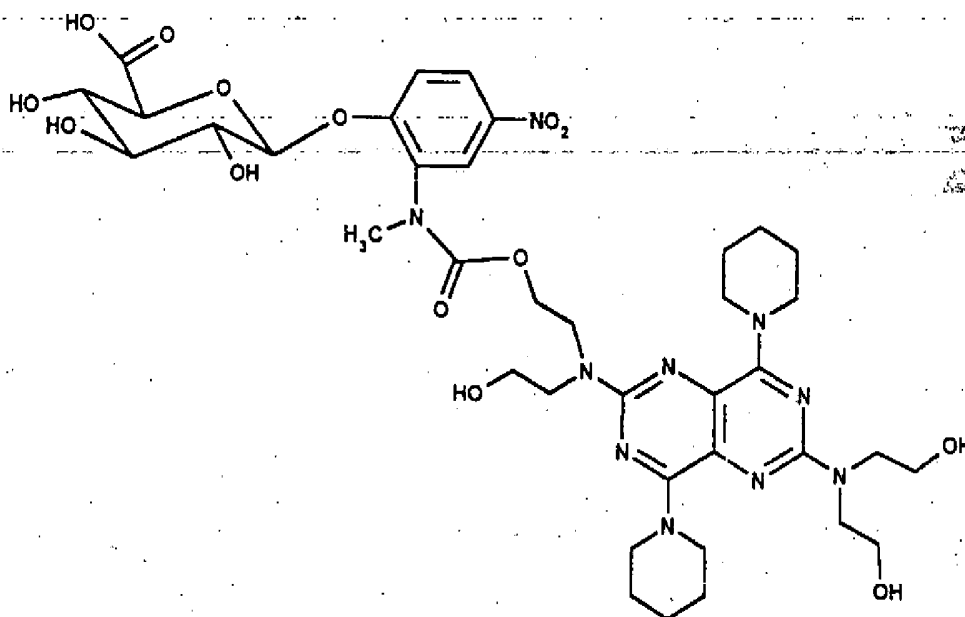
(Sloučenina 13) : proforma léčiva quinín (F 391)



Syntéza se provádí analogicky jako v příkladu 1.

P ř í k l a d 4

(Sloučenina 14) : proforma léčiva dipyridamol (F 392)



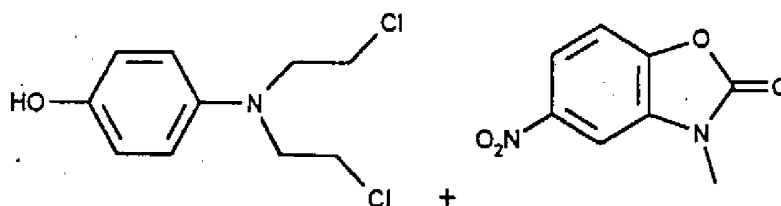
Syntéza se provádí analogicky jako v příkladu 1.

P ř í k l a d 5

Enzymatické štěpení F 373

Proforma léčiva F 373 (sloučenina 11) se při inkubaci s  $\beta$ -glukoronidázou enzymaticky štěpí na aromatický derivát dusíku 4-[N,N-bis(2-chlorethyl)amino]fenyl (sloučenina 7), kyselinu glukuronovou a spacer.

F 373 - kyselina glukuronová +



Sloučenina 7

Spacer (sloučenina 15)

Proforma F 373 je v roztoku v bezvodém DMSO stabilní. K vyšetření štěpitelnosti se smíchá 10  $\mu$ l roztoku F 373 (5 mg/ml v DMSO) se 180  $\mu$ l 0,02 M fosfátového pufru o pH 7,2 a 10  $\mu$ l E.coli  $\alpha$ -glukoronidázy (Sigma) (330  $\mu$ g/ml) a inkubuje se při teplotě 37 °C. Podíl 25  $\mu$ l se zředí 225  $\mu$ l 0,1 M fosfátového pufru o pH 3,0 (85 %) a acetonitrilu (15 %) a okamžitě se analyzuje s pomocí následujícího systému HPLC.

HPLC systém :

Použitý systém HPLC sestává z gradientového čerpadla (Gynkotek; model 480), autosampleru (Abimed, model 231/401), UV-detektoru (Beckman, model 166, detekční vlnová délka 212 nm) a vyhodnocovací jednotky (Beckman, systém Gold). Dělení se provádí na RP-sloupci (Zorbax SB-C 18, 5  $\mu$ m, 124\*4,6 mm). Mobilní fáze se vytvoří ze dvou složek podle následujícího schématu :

A - Acetonitril

B - 0,02 M fosfátový pufr pH 3,0

0 min.	15 % A, 85 % B
15 min.	75 % A, 25 % B
25 min.	75 % A, 25 % B
27 min.	15 % A, 85 % B
35 min.	15 % A, 85 % B

Byly nalezeny následující plochy piků :

Doba min.	F 373 Sloučenina 7 RT=12,6	Spacer Sloučenina 7 RT=10,7	Spacer Sloučenina 15 RT=14,1
0	19,41	0	0
1	10,46	3,32	1,92
5	0,35	7,43	4,75
7	0	7,33	5,37
10	0	6,79	5,43
15	0	5,58	5,43
25	0	4,00	5,70
60	0	0,88	6,53

#### P ř í k l a d 6

Cytotoxicita F 373, 391, 392 na tumorových buňkách v přítomnosti a v nepřítomnosti  $\beta$ -glukuronidázy

Na mikrodestičce 96-Well se vyseje  $2 \times 10^3$  LoVo buněk na Well v 10  $\mu$ l MEM + 10 % FKS. Po 24 hodinách se testované látky přidají do 100  $\mu$ l media v požadované koncentraci

a případně navíc  $\beta$ -glukoronidázy (50  $\mu\text{g/ml}$  konečná koncentrace; Sigma G 7896). Každá skupina sestává ze 4 well, kontrola se inkubuje pouze v mediu. Po 65 hodinách se přidá 50  $\mu\text{l}$  MTT (2,5 mg/ml v PBS) a po 3 hodinách se odstraní přebytek. Barvivo vytvořené žijícími buňkami se rozpustí přidavkem 100  $\mu\text{l}$  DMSO/well. Pro každý well se měří extinkce pomocí fotometru Multiscan 340 CC (fa Flow) při 492 nm. Hodnoty 4 Well ve skupině se zprůměrují a z nich se vypočte křivka účinnosti dávky a  $\text{IC}_{50}$  s pomocí software GraFit 3.0.

Substance (proforma léčiva)	bez $\beta$ -gluk. $\text{IC}_{50}$ v $\mu\text{mol}$	s $\beta$ -gluk $\text{IC}_{50}$ v $\mu\text{mol}$
F 373	> 500	6,3
F 391	> 400	113
F 392	> 400	49,5

Toxická sloučenina v proformě léčiva F 373 je sloučenina 7 (příklad 1, str.15) a sama při testu vykazala  $\text{IC}_{50}$  5  $\mu\text{mol}$ . Toxická sloučenina v proformě léčiva F 391 je quinín a samotný jeho test vykazal  $\text{IC}_{50}$  103  $\mu\text{mol}$ . Toxická sloučenina v proformě léčiva F 393 je dipyridamol a její samotný test vykazal  $\text{IC}_{50}$  43  $\mu\text{mol}$ .

~~arabská~~  
180 20 25 30 35 40 45

P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1.      Sloučenina vzorce I

Glykosyl-Y[-C(=Y)-X-]<sub>p</sub>-W(R<sub>n</sub>)-Z-C(=Y)-účinná látka (I)

a/nebo fyziologicky přijatelných solí sloučenin vzorce I,

příčemž

glykosyl znamená enzymaticky odštěpitelný poly-, oligo- nebo monosacharid,

- W znamená
- 1) 5- až 14-členný aromatický zbytek,
  - 2) naftyl,
  - 3) indenyl,
  - 4) anthryl,
  - 5) phenanthryl,
  - 6) 5- až 14-členný heterocyklický zbytek s 1, 2, 3 nebo 4 heteroatomy ze skupiny kyslíku, dusíku a síry,
  - 7) alkyl (C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>),
  - 8) alkenyl (C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>),
  - 9) cykloalkyl (C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub>) nebo
  - 10) fenyl,
- R znamená
- 1) vodík,
  - 2) alkyl (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>),
  - 3) fenyl,
  - 4) methoxy,
  - 5) karboxy,
  - 6) methyloxykarbonyl,
  - 7) -CN,

- 8) -OH,
- 9) -NO<sub>2</sub>
- 10) halogeny jako fluor, chlor nebo brom
- 11) sulfonyl
- 12) sulfonamid nebo
- 13) sulfon-(C<sub>1</sub>- C<sub>4</sub>)-alkylamid,

p znamená 0 nebo 1,

n znamená 0, 1, 2 nebo 3,

- X znamená
- 1) kyslík
  - 2) -NH-,
  - 3) methylenoxy,
  - 4) methylenamino,
  - 5) methylen-(C<sub>1</sub>- C<sub>4</sub>)-alkylamino
  - 6) (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>)-alkylamino nebo
  - 7) (C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub>)-cykolalkylamino

Y znamená kyslík nebo -NH-

- Z znamená
- 1) (C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>)-alkylamino,
  - 2) -N(CH<sub>3</sub>)-,
  - 3) -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-NH-,
  - 4) -CH(CH<sub>3</sub>)-NH-,
  - 5) -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sup>2</sup>)-, kde R<sup>2</sup> znamená alkyl (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) nebo
  - 6) -NH-, jestliže V znamená (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) a

účinná látka znamená sloučeninu s biologickým účinkem, která se váže přes kyslíkový zbytek, primární nebo sekundární aminový zbytek nebo iminový zbytek.

2. Sloučenina vzorce I podle nároku 1, kde glykosyl znamená enzymaticky odštěpitelnou kyselinu glukuronovou,

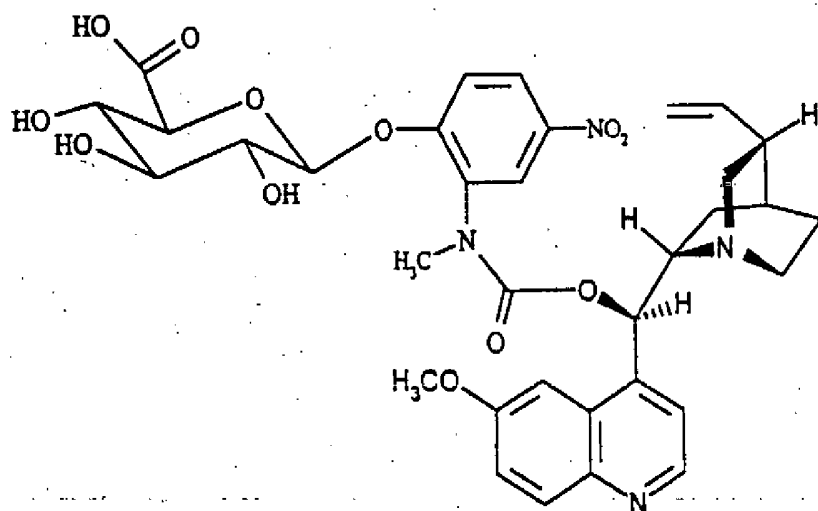


V	znamená	fenyl,
R	znamená	vodík, CN, nitro, fluor, chlor, brom,
P	je	nula
n	znamená	celé číslo nulu, 1 nebo 2,
Y	znamená	kyslík
Z	znamená	-N(CH <sub>3</sub> )-, -C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -NH-, -CH(CH <sub>3</sub> )-NH-, -C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -N(C <sub>1</sub> -C <sub>4</sub> )alkyl)-, -CH(CH <sub>3</sub> )-N(C <sub>1</sub> - C <sub>4</sub> )alkyl).

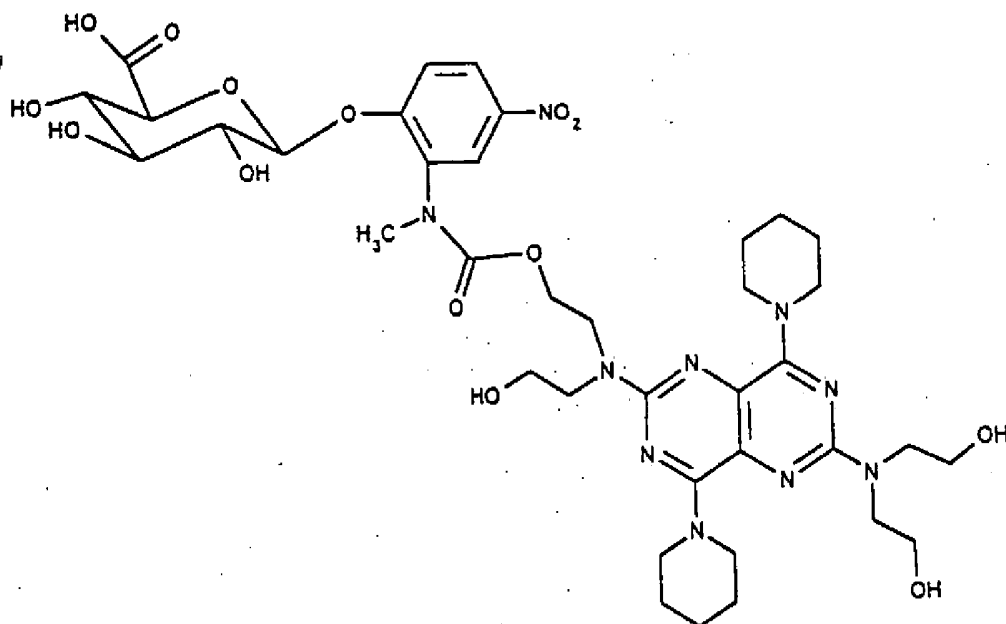
3. Sloučenina vzorce I podle nároku 1 nebo 2 , kterou je

kyselina 2-[N-methyl-N-[4-(N,N -bis-(2-chloroethyl)amino)-  
fenyloxykarbonyl]amino]-4-nitrofenyl-β-D-glucuronová,

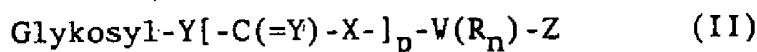
kyselina 2-[N-methyl-N-[(4-(N,N -bis-(2-jodoethyl)amino)-  
fenyloxykarbonyl]amino]-4-nitrofenyl-β-D-glucuronová,



nebo



4. Způsob výroby sloučenin vzorce I,  
v y z n a č u j í c í s e t í m, že sloučenina vzorce II



příčemž zbytky glykosyl, Y, X, p, W, R, n a Z mají význam  
uvedený pro vzorec I podle nároku 1,

reaguje s účinnou látkou, která obsahuje aktivovaný  
karboxylový, aminový nebo iminový zbytek, přičemž se reakce  
provádí v přítomnosti rozpouštědla ze skupiny acetonitril,  
dioxan, tetrahydro- furan, dichlormethan, dimethylformamid,  
aceton a následně se hydrolyticky odštěpí chránicí skupiny.

5. Léčiva, v y z n a č u j í c í s e účinným obsahem  
nejméně jedné sloučeniny vzorce I podle jednoho nebo  
několika nároků 1 až 3, a/nebo fyziologicky přijatelné soli  
sloučeniny vzorce I, přičemž zbytky glykosyl, Y, X, p, W, R,

n, Z a účinná látka jsou definovány jako ve vzorci I podle nároku 1, spolu s farmaceuticky vhodnou a fyziologicky přijatelnou nosnou látkou, přísadou a/nebo jinou účinnou a pomocnou látkou.

6. Použití sloučenin vzorce I podle nároku 1 k výrobě léčiv k profylaxi a terapii rakovinných onemocnění, onemocnění autoimunity a chronických zánětlivých onemocnění jako reumatická artritida.

7. Způsob výroby léčiva, vyznačující se tím, že se nejméně jedna sloučenina vzorce I podle nároku 1 připraví do vhodné aplikační formy s farmaceuticky vhodnou a fyziologicky přijatelnou nosnou látkou a případně dalšími vhodnými účinnými nebo pomocnými látkami nebo přísadami.

8. Farmaceutické přípravky, obsahující sloučeninu vzorce I podle jednoho nebo několika nároků 1 až 3 a konjugát protilátka-enzym, který může enzymaticky štěpit glykosylový zbytek sloučeniny vzorce I.