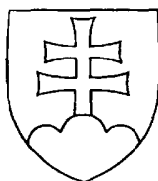


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: **19. 3. 2001**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **60/267 198**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **7. 4. 2000**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **8. 1. 2004**
Vestník ÚPV SR č.: **1/2004**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/IB01/00427**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/77093**

(11), (21) Číslo dokumentu:

1409-2002

(13) Druh dokumentu: **A3**

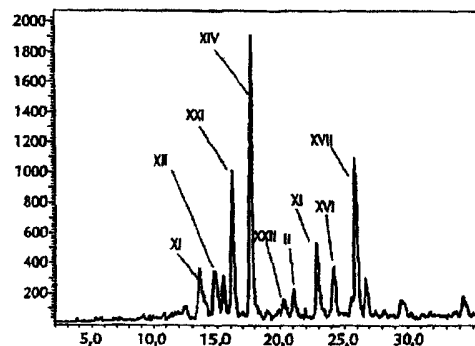
(51) Int. Cl.⁷:

**C07D295/08,
C07D207/26,
C07C229/12,
A61K 31/40,
A61K 31/195**

- (71) Prihlasovateľ: **Pfizer Products Inc., Groton, CT, US;**
(72) Pôvodca: **Day Wesley Warren, Groton, CT, US;
Johnson Kim Anne, Groton, CT, US;
Prakash Chandra Aggarwal, Groton, CT, US;
Egler James Frederick, Groton, CT, US;**
(74) Zástupca: **Bušová Eva, JUDr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Metabolity agonisty/antagonisty estrogénu**

- (57) Anotácia:
Opisujú sa cicavčie metabolity (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1 yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu. Tieto zlúčeniny sú užitočné ako štandardy pri analytických stanoveniach a ako terapeutické činidlá. Ďalej sú opísané aj farmaceutické kompozície na báze týchto metabolitov a použitie týchto metabolitov na liečenie chorôb a stavov.



SK 1409-2002 A3

Metabolity agonisti/antagonisti estrogénu

Oblasť techniky

Vynález sa týka zlúčenín, ktoré sú cicavčími metabolitmi (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu. Zlúčeniny podľa vynálezu tú užitočné ako štandardy pri analytických stanoveniach a ako terapeutické činidlá.

Doterajší stav techniky

Farmakologicky je (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol (PPTN) agonistom/antagonistom estrogénu, ktorý je popísaný v US patente č. 5 552 412. "Agonista / antagonist estrogénu" je zlúčenina, ktorá ovplyvňuje niektoré z receptorov, ktoré ovplyvňujú estrogén, avšak nezbytné nie všetky, a v niektorých prípadoch antagonizuje alebo blokuje estrogén. Také látky sú tiež známe ako "selektívne modulátory receptora estrogénu" (SERM). Agonisti/antagonisti estrogénu môžu byť tiež označovaní ako antiestrogény, hoci u niektorých receptorov estrogénu vykazujú rovnakú estrogénnu aktivitu. Agonisti/antagonisti estrogénu teda nie sú látkami, ktoré sú zvyčajne označované ako "čisté antiestrogény". Antiestrogény, ktoré môžu pôsobiť tiež ako agonisti, sú označované ako antiestrogény typu I. Antiestrogény typu I aktivujú receptor estrogénu, aby sa po predĺženú dobu pevne viazal v jadre,

pričom však dochádza k porušeniu dopĺňovania receptorov (Clark et al., Steroids 1973, 22: 707; Capony et al., Mol. Cell. Endocrinol. 1975, 3, 233).

Zlúčeniny podľa vynálezu sú metabolity PPTN a má sa za to, že vykazujú významnú farmakologickú účinnosť, ktorá sa podobá účinnosti rodičovskej zlúčeniny, PPTN, alebo je zhodná.

Podstata vynálezu

Predmetom vynálezu sú cicavčie metabolity agonisti/antagonisti estrogénu, PPTN.

Predmetom vynálezu sú ďalej farmaceutické kompozície, ktorých podstata spočíva v tom, že obsahujú metabolit PPTN alebo jeho optický alebo geometrický izomér alebo farmaceuticky vhodnú soľ, N-oxid, ester, kvartérnu amóniovú soľ ktoréhokoľvek z týchto entít a farmaceuticky vhodný nosič, vehikulum alebo riedidlo.

Predmetom vynálezu je ďalej spôsob liečenia choroby, ktorého podstata spočíva v tom, že sa podáva účinné množstvo metabolitu PPTN, ktorý vykazuje farmakologickú účinnosť, alebo jeho farmaceuticky vhodnej soli, N-oxidu, esteru alebo kvartérnej amóniovej soli. Metabolity PPTN sú účinné, pričom podstatne znižujú sprievodné riziko nežiadúcich účinkov spojených s podávaním estrogénu.

Predmetom vynálezu sú ďalej kity pre použitie užívateľom pri liečení choroby. Kit obsahuje a) cicavčí metabolit PPTN a popri prípade b) inštrukcie popisujúce spôsob používania metabolitu PPTN za účelom liečenia choroby. Inštrukcie môžu tiež uvádzať, že kit je určený pre liečenie choroby za

podstatne zníženého sprievodného rizika nežiadúcich účinkov spojených s podávaním estrogénu.

Ďalej sú predmetom vynálezu kity pre použitie ako analytické štandardy pri meraní metabolitov PPTN alebo jeho farmaceuticky vhodných solí, N-oxidov, esterov a kvartérnych amóniových solí. Tieto kity obsahujú v podstate čistú formu metabolitu PPTN a kontejner pre tento metabolit.

Predmetom vynálezu je ďalej použitie cicavčích metabolitov PPTN alebo ich farmaceuticky vhodných solí, N-oxidov, esterov a kvartérnych amóniových solí pre výrobu liečiva.

Prehľad obr. na výkresoch

Na obr. 1 je znázornený reprezentatívny HPLC rádiochromatogram metabolitov PPTN v moči myši po perorálnom podaní. Na vertikálnej osi je vynesená rádioaktivita (počet impulzov/min, cpm). Na horizontálnej osi je vynesená retenčná doba (min).

Na obr. 2 je znázornený reprezentatívny HPLC rádiochromatogram metabolitov PPTN vo výkaloch myši po perorálnom podaní. Na vertikálnej osi je vynesená rádioaktivita (počet impulzov/min, cpm). Na horizontálnej osi je vynesená retenčná doba (min).

Na obr. 3 je znázornený reprezentatívny HPLC rádiochromatogram cirkulujúcich metabolitov PPTN u myši po perorálnom podaní. Na vertikálnej osi je vynesená rádioaktivita (počet impulzov/min, cpm). Na horizontálnej osi je vynesená retenčná doba (min).

Na obr. 4A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XI. Na obr. 4B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XI; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 5A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XII. Na obr. 5B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XII; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 6A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XXI. Na obr. 6B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XXI; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 7A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XIV. Na obr. 7B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XIV; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 8A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca VI. Na obr. 8B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu VI; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 9A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca II. Na obr. 9B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta

metabolitu II; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 10A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XVI. Na obr. 10B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XVI; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 11A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca X. Na obr. 11B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu X; na vertikálnej ose je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 12A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XVII. Na obr. 12B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XVII; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 13A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca IV. Na obr. 13B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu IV; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 14A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XV. Na obr. 14B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XV; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 15A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca V. Na obr. 15B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu V; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

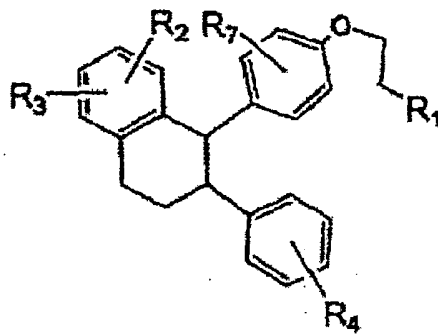
Na obr. 16A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca XIII. Na obr. 16B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu XIII; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 17A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca IX. Na obr. 17B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu IX; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

Na obr. 18A je znázornená fragmentačná schéma metabolitu vzorca VIII. Na obr. 18B sú znázornené hmotnostné spektrálne dáta metabolitu VIII; na vertikálnej osi je vyneseny relatívny podiel a na horizontálnej osi je vyneseny podiel hmotnosť/náboj (m/z).

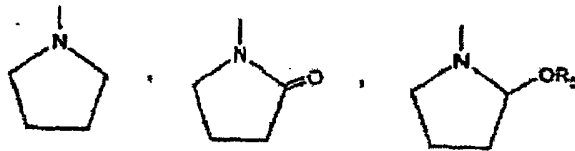
Nasleduje podrobnejší popis vynálezu.

Predmetom vynálezu sú metabolity PPTN. Tieto metabolity odpovedajú zlúčeninám obecného vzorca I



(I)

R₁ predstavuje skupinu vzorca



alebo $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{COR}_6$;

R₅ predstavuje vodík, CH₃, glukurónovú kyselinu alebo SO₃H;

R₂, R₃, R₄ a R₇, ktoré sú rovnaké alebo rôzne, sú zvolené zo súboru zostávajúceho z vodíka a OR₅; a

R₆ predstavuje skupinu $-\text{OH}$, $-\text{NHCH}_2\text{COOH}$, glukurónovú kyselinu alebo skupinu $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$,

pričom:

a) pokiaľ R₁ predstavuje skupinu vzorca



alebo $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ a

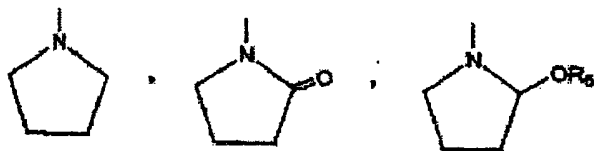
b) R_2 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 a R_3 a R_7 predstavujú vodík, alebo pokiaľ R_1 má význam uvedený v odseku a) a

c) R_2 a R_7 predstavujú vodík a R_3 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 ,

potom R_4 nepredstavuje vodík.

Ako prednostné zlúčeniny je možno uviesť zlúčeniny obecného vzorca I, kde

R_1 predstavuje skupinu vzorca



alebo $-NH(CH_2)_3COR_6$;

R_5 predstavuje vodík alebo skupinu CH_3 ;

R_2 , R_3 , R_4 a R_7 , ktoré sú rovnaké alebo rôzne, sú zvolené zo súboru zostávajúceho z vodíka a OR_5 ; a

R_6 predstavuje skupinu $-OH$ alebo $-NHCH_2COOH$;

pričom:

a) pokiaľ R_1 predstavuje skupinu vzorca



alebo $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ a

b) R_2 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 a R_3 a R_7 predstavujú vodík, alebo pokiaľ R_1 má význam uvedený v odseku a) a

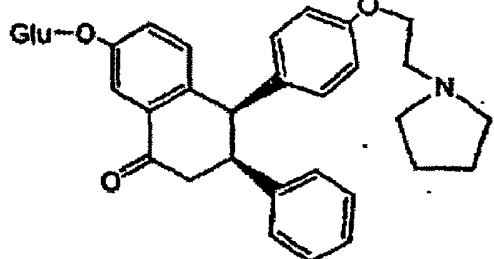
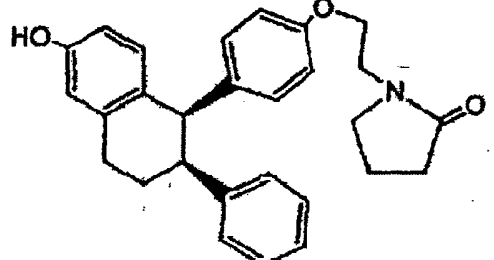
c) R_2 a R_7 predstavujú vodík a R_3 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 ,

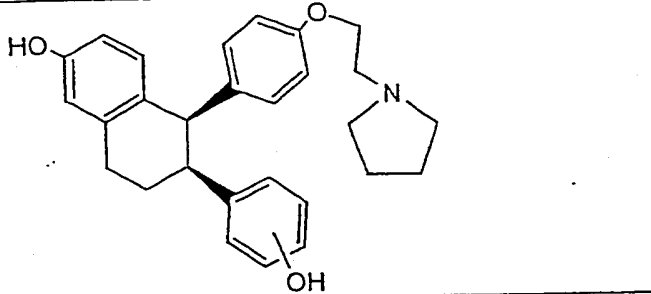
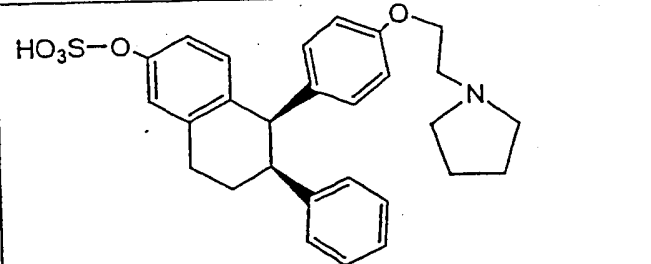
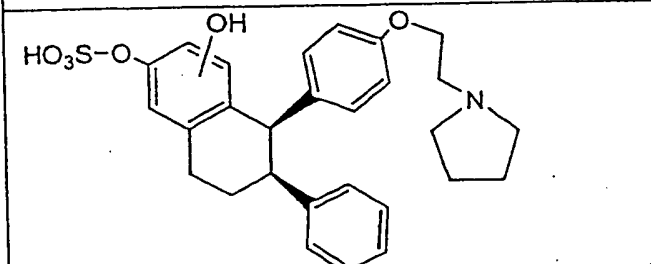
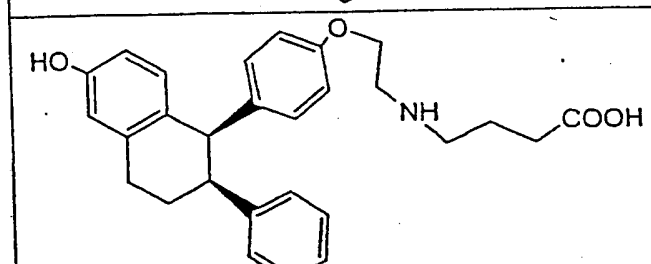
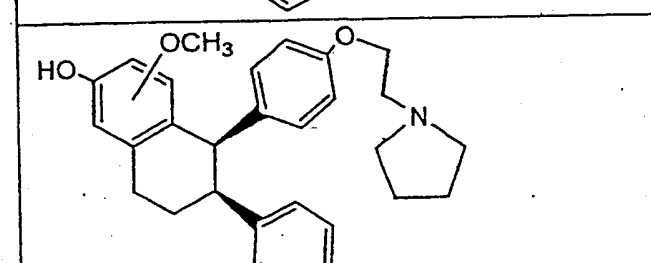
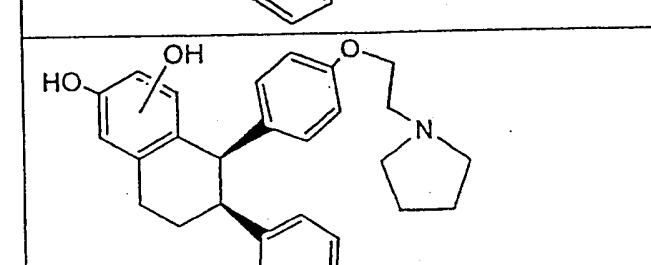
potom R_4 nepredstavuje vodík.

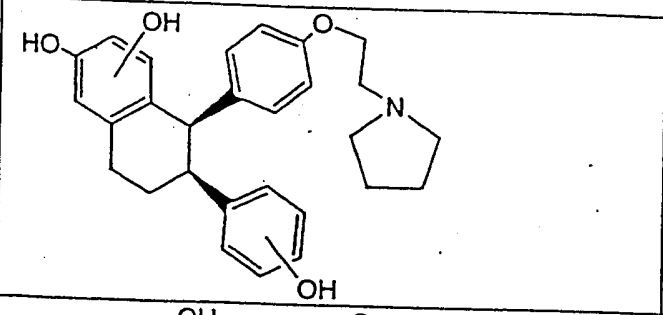
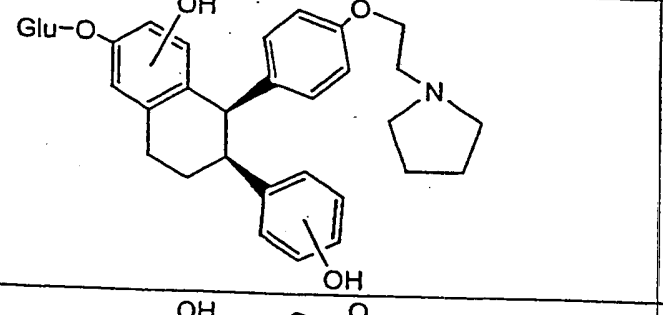
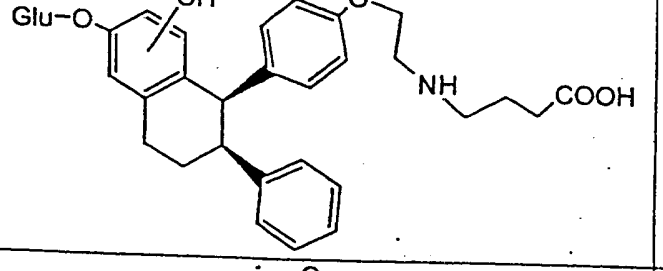
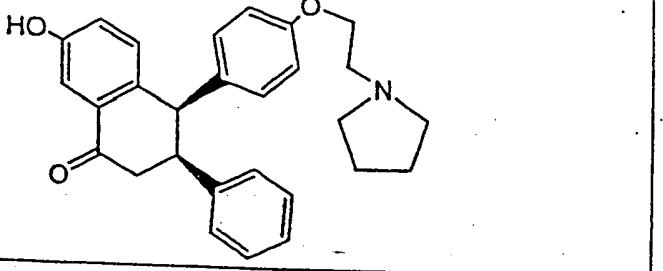
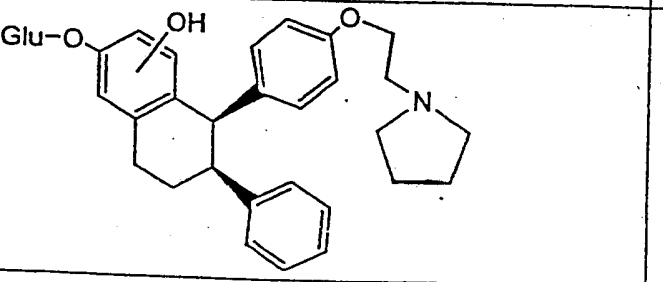
Ako prednostné metabolity PPTN možno napríklad uviesť zlúčeniny uvedené v tabuľke I.

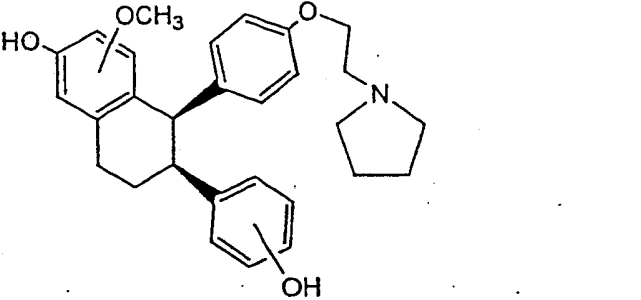
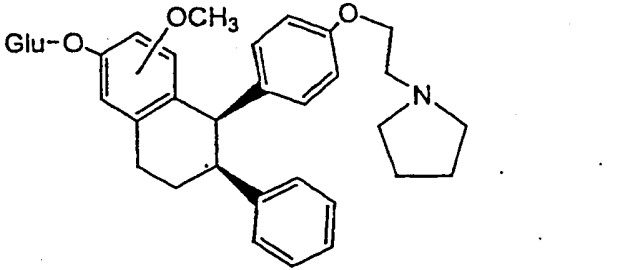
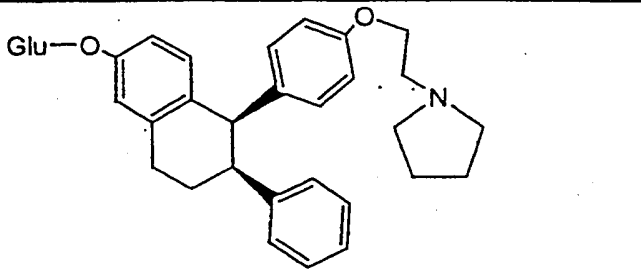
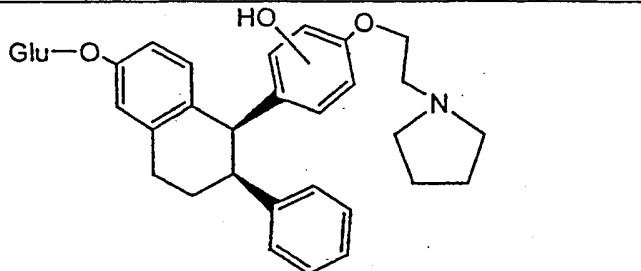
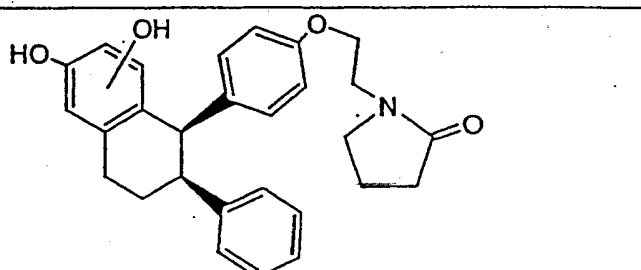
T a b u l k a I

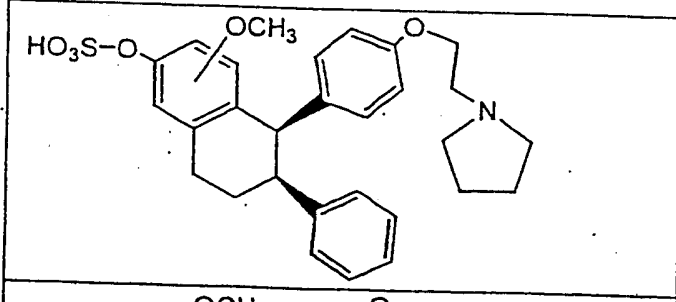
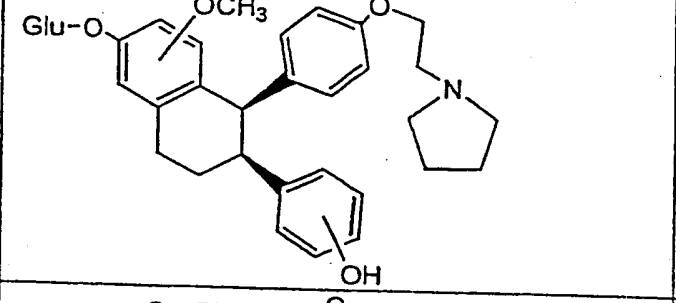
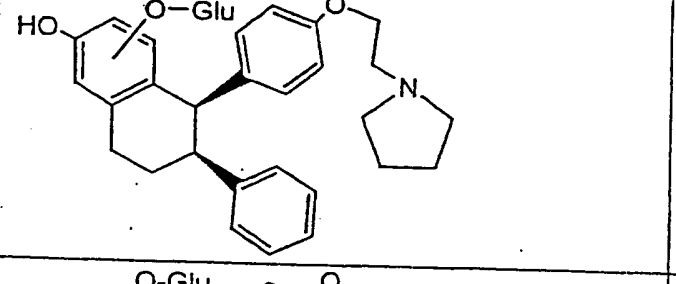
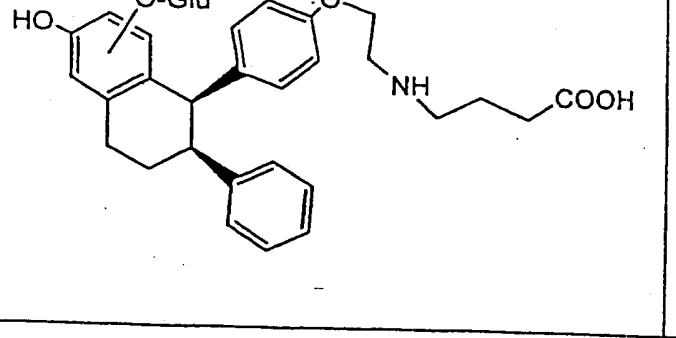
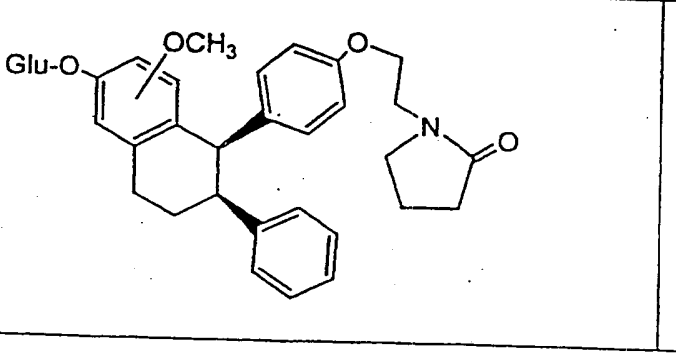
Prednostné metabolity PPTN

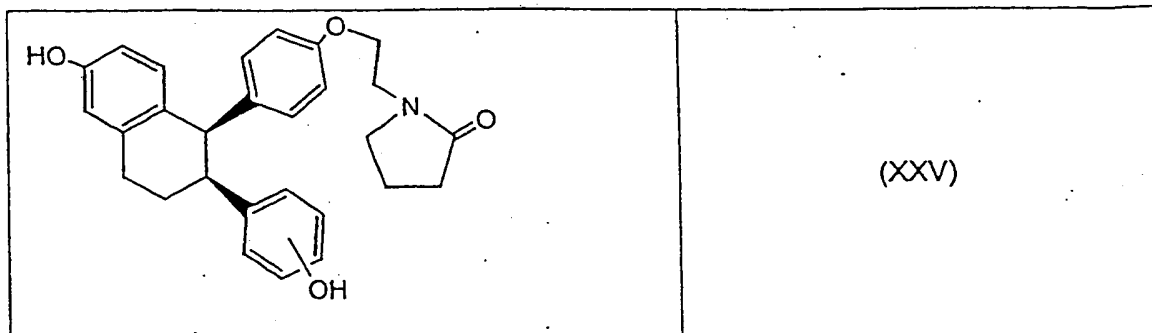
	(II)
	(III)

	(IV)
	(V)
	(VI)
	(VII)
	(VIII)
	(IX)

	(X)
	(XI)
	(XII)
	(XIII)
	(XIV)

	(XV)
	(XVI)
	(XVII)
	(XVIII)
	(XIX)

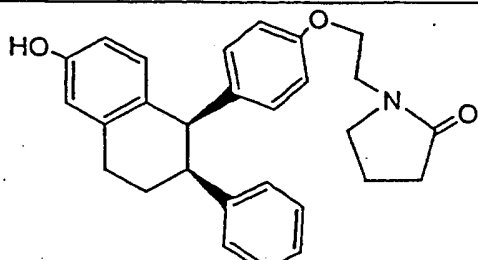
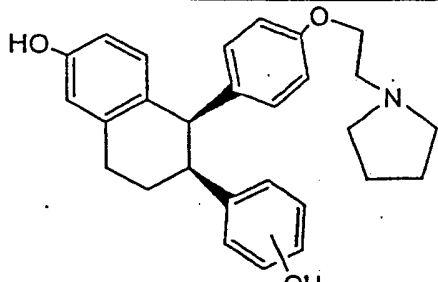
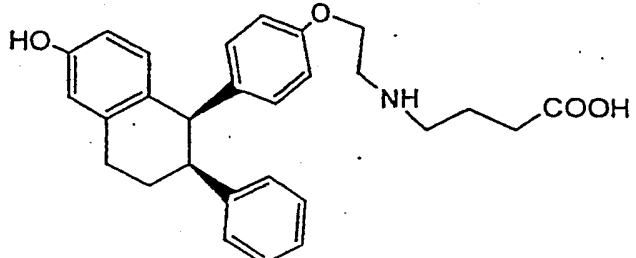
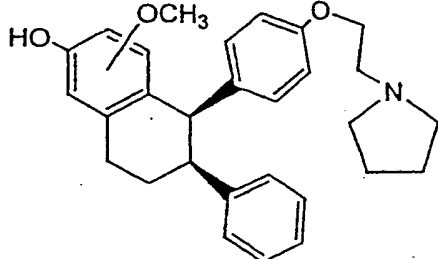
	(XX)
	(XXI)
	(XXII)
	(XXIII)
	(XXIV)

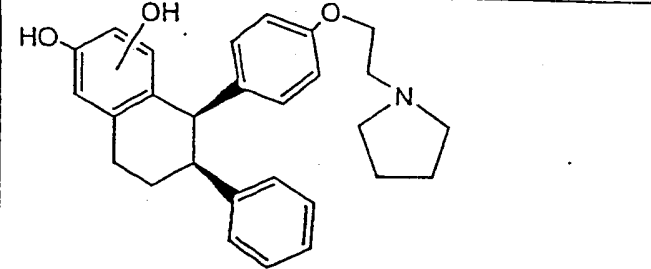
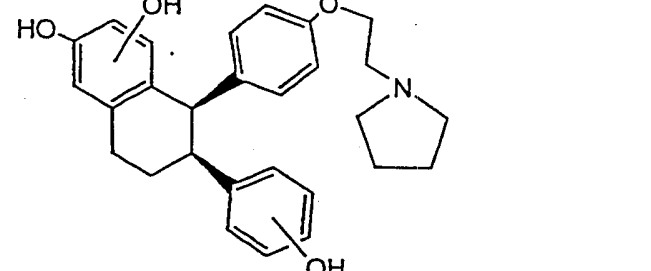
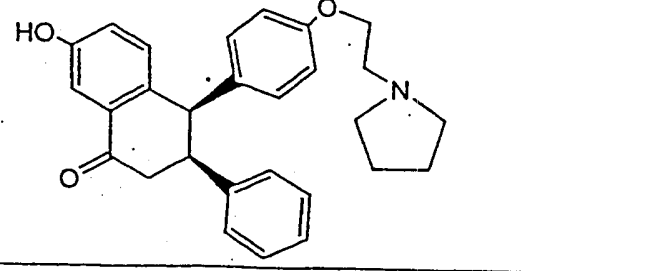
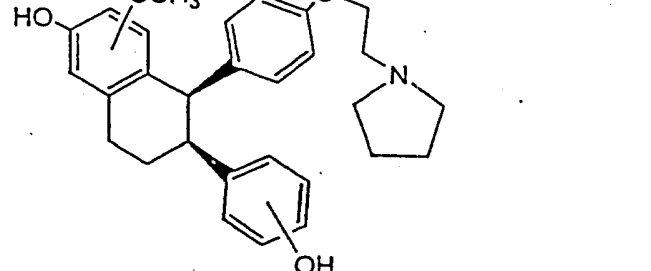
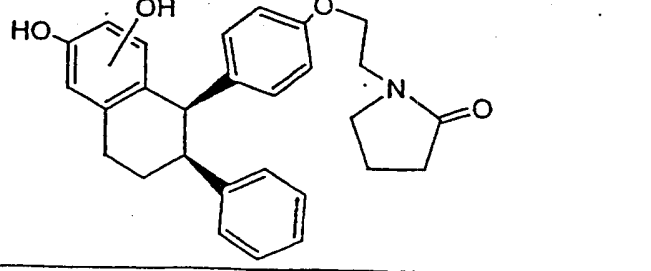


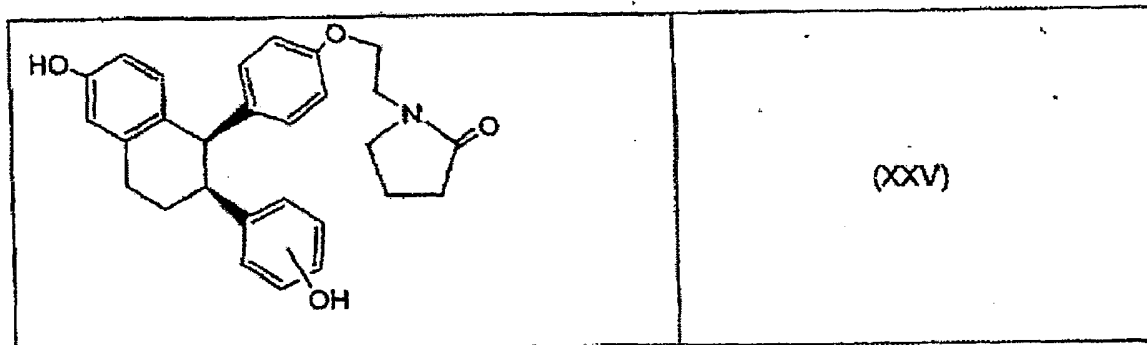
Ako ešte výhodnejšie metabolity PPTN možno napríklad uviesť zlúčeniny uvedené v tabuľke II.

T a b u l k a I I

Prednostné metabolity PPTN

	(III)
	(IV)
	(VII)
	(VIII)

	(IX)
	(X)
	(XIII)
	(XV)
	(XIX)



Predmetom vynálezu sú v podstate čisté metabolity PPTN popísané vyššie.

Nasledujúce pojmy, ktorých sa v texte používa, sú definované ďalej uvedeným spôsobom, pokiaľ nie je uvedené inak.

Do rozsahu pojmu "liečenie" patrí tiež preventívne (napríklad profylaktické) a paliatívne liečenie.

Pod pojmom "subjekt" sa rozumie živočích, ako človek, ktorého možno liečiť za použitia zlúčenín, kompozícií, spôsobov a kitov podľa tohoto vynálezu. Pokiaľ nie je konkrétne uvedené pohlavie, do rozsahu tohoto pojmu patria subjekty mužského aj ženského pohlavia. Prednostnými subjektami sú postmenopauzálne ženy.

Ako "nežiadúce účinky spojené s estrogénom" je možno uviesť citlivosť prsníka, rakovinu prsníka, meteorizmus, bolesť hlavy, zvýšenú hemokoaguláciu a menštruačné krvácanie u žien. Nevyvažovaná estrogénová terapia zvyšuje riziko karcinómu endometria. Ženy dlhodobo liečené estrogénmi môžu byť ohrozené vo zvýšenej miere, ktorú konkurenčné progestíny neznižujú (N. Engl. J. Med. 1995: 332, 1589). Ako nežiadúce

účinky estrogénu u mužov možno uviesť zvýšenú hemokoaguláciu krvi, gynekomastiu, feminizáciu a znížené libido.

Pod pojmom "postmenopauzálna žena" sa rozumejú nielen ženy v pokročilom veku po menopauze, ale tiež ženy, ktorým bola vykonaná hysterektómia alebo u ktorých bola z určitého iného dôvodu potlačená tvorba estrogénu, ako ženy dlhodobo liečené kortikosteroidmi, ženy trpiace Cushingovým syndrómom alebo dysgenézou pohlavných žliaz.

Pod pojmom "rakovina prsníka" sa rozumie malígna proliferácia buniek duktálneho alebo lobulárneho epitelu prsníka.

Pod pojmom "glukurónová kyselina" sa rozumie substituent, ktorý je realizovaný na metabolit alebo na rodičovskú zlúčeninu za vzniku metabolitu z fázy II konjugačnej reakcie glukuronidácie. Glukurónová kyselina reaguje so zvyškom kyseliny alebo alkoholu alebo fenolu na metabolitu alebo rodičovskej zlúčenine za vzniku "glukuronidu". Tento glukurodinový substituent je vo vzorcoch uvádzaný pod skratkou "Glu" alebo "Glukuronid".

"Kyselina sírová" je substituent, ktorý je realizovaný na metabolit alebo realizovaný na rodičovskú zlúčeninu za vzniku metabolitu z fázy II konjugačnej reakcie sulfatácie. Kyselina sírová reaguje so zvyškom alkoholu alebo fenolu na metabolite alebo rodičovskej zlúčenine za vzniku "sulfátu".

Pod pojmom "spoločné podávanie" sa v súvislosti s kombináciou metabolitu PPTN a ďalšej zlúčeniny alebo ďalších zlúčenín rozumie, že tieto zložky je možno podávať spoločne ako kompozíciu alebo ako časť rovnakej jednotkovej dávkovacej formy. Do rozsahu pojmu "spoločné podávanie" tiež patrí

oddelené podávanie metabolitu PPTN a ďalšej zlúčeniny alebo ďalších zlúčenín v rámci rovnakého terapeutického programu alebo režimu. Uvedené zložky kombinácie nemusia byť nutne podávané v rovnakú dobu, ale v prípade potreby môžu. Do rozsahu pojmu "spoločné podávanie" teda napríklad patrí podávanie metabolitu PPTN a ďalšej zlúčeniny vo forme oddelených dávok alebo dávkovacích foriem, uskutočňované v rovnakú dobu. Do rozsahu pojmu "spoločné podávanie" tiež patrí oddelené podávanie uskutočňované v rôznu dobu, a to v akomkoľvek poradí. Pokiaľ je to vhodné, pacientovi môže byť podaná jedna alebo viacej zložiek terapie ráno a jedna alebo viacej ostávajúcich zložiek večer.

Odborníkovi v tomto odbore bude zrejmé, že niektoré zlúčeniny podľa vynálezu obsahujú jeden alebo viacej atómov, ktoré môžu byť v konkrétnych stereochemických, tautomérnych alebo geometrických konfiguráciách, čo dáva vznik stereoizomérom, tautomérom, regioizomérom a konfiguračným izomérom. Do rozsahu tohoto vynálezu patria všetky také izoméry a ich zmesi. Do rozsahu vynálezu taktiež patria hydráty a solváty zlúčenín podľa vynálezu.

Do rozsahu vynálezu medzi inými tiež patria zlúčeniny označené izotopmi, ktoré sú identické so zlúčeninami obecného vzorca I až XXV až na to, že v nich je jeden atóm alebo viacej atómov nahradené atómom s atómovou hmotnosťou alebo hmotnostným číslom odlišným od atómovej hmotnosti alebo hmotnostného čísla s akým sa zvyčajne nachádzajú v prírode. Ako príklady izotopov, ktoré je možno začleniť do zlúčenín podľa tohoto vynálezu je možno uviesť izotopy vodíka, uhlíka, dusíka, kyslíka, fosforu, síry, fluóru a chlóru, ako je ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{35}S , ^{18}F a ^{36}Cl . Do rozsahu tohoto vynálezu patria zlúčeniny podľa vynálezu a ich farmaceuticky vhodné soli alebo ich proliečiva, ktoré obsahujú vyššie

uvedené izotopy a/alebo iné izotopy iných atómov. Zlúčeniny podľa vynálezu označené určitými izotopmi, napríklad zlúčeniny označené rádioaktívnymi izotopmi, ako ^3H alebo ^{14}C , sú užitočné pri skúškach distribúcie liečiva alebo substrátu v tkanivách. Zvláštna prednosť sa dáva tritiovým izotopom tzn. ^3H , a ^{14}C izotopom, keďže je ich možno ľahko pripravovať a detekovať. Nahradením ťažšími izotopmi, ako deutériom, tzn. ^2H , je možno dosiahnuť určitých terapeutických výhod vyplývajúcich z vyššej metabolické stability, napríklad predĺženie polčasu *in vivo* alebo zníženie potrebných dávok, čomu sa za určitých okolností dáva prednosť. Zlúčeniny obecného vzorca I až XXV podľa tohoto vynálezu a ich proliečiva označené izotopmi možno zvyčajne pripravovať spôsobmi popísanými v príkladoch uskutočnenia alebo o sebe známymi spôsobmi. ^{14}C -PPTN možno pripravovať spôsobmi, ktoré sú popísané a doložené príkladmi v US patente 5 552 412, pri ktorých sa reagenty neoznačené izotopmi nahradia ľahko dostupnými reagentmi označenými izotopmi.

Metabolitov PPTN v podstate čistej forme alebo vo zmesiach o známom zložení je možno používať ako analytických štandardov pre metabolické štúdie *in vitro* alebo *in vivo* alebo ako medziproduktov pri chemickej syntéze alebo biosyntéze nových chemických entít. Tieto metabolity môžu byť izolované ako pevné látky alebo v roztokoch.

Má sa za to, že zlúčeniny podľa vynálezu sú užitočné pri liečení chorôb. Ako príklady chorôb alebo stavov, pri ich liečení môžu byť zlúčeniny podľa vynálezu užitočné, je možno uviesť osteoporózu, rakovinu prsníka, hyperlipidémiu, aterosklerózu, Alzheimerovu chorobu, kataraktu, stratu libida, sexuálne dysfunkcie u samcov, rakovinu hrubého čreva, kožné vrásky, autoimunitné choroby, alopeciu, akné, kardiovaskulárne choroby, kataraktu, diabetes, endometriózu, sexuálne dysfunkcie u samíc, hyperglykémiu, obezitu, obsedantne

kompulzívnu poruchu, premenstruačný syndróm, karcinóm prostaty, benígnu hyperpláziu prostaty, pulmonárnu hypertenziu, reperfúzne poškodenie, reumatoidnú artritídu, osteoartritídu, seboreu, senilnú gynekomastiu, deficienciu testosterónu a stavy responzívne na zvýšenie testosterónu, Turnerov syndróm, fibrózu maternice, atrofickú vaginitídu, inkontinenciu, rakovinu maternice, hirsutizmus, bulímiu, anorexiu, hypoaktívnu sexuálnu túžbu, poruchu sexuálnej excitácie, dyspareuniu a vaginizmus a ďalej podporu hojenia rán. Tieto zlúčeniny tiež môžu byť užitočné pri zvyšovaní frekvencie orgazmu, liečení prolapsu, znižovaní vaginálneho pH, liečení infekcií močových ciest, liečení alebo prevencii mŕtvice, infarktu myokardu, akútneho alebo chronického zlyhania obličiek, oklúzne choroby periférnych artérií a Raynaudovho fenoménu a liečení rakoviny vaječníkov, pečene, podžalúdkovej žľazy a desmoidnej rakoviny, gliómu a karcinómu renálnych buniek. Spôsoby liečenia jednej alebo viacej z vyššie uvedených chorôb alebo stavov zostávajú v podávaní účinného množstva metabolitu PPTN.

Pri spôsoboch liečenia podľa vynálezu je metabolit subjektu možno podávať priamo, alebo metabolit môže v organizme vzniknúť prostredníctvom metabolizmu. Napríklad je metabolit podľa vynálezu možno efektívne podať za účelom liečenia choroby alebo stavu tak, že sa danému subjektu podá množstvo PPTN, a po tomto podaní prostredníctvom metabolizmu v organizme subjektu vznikne požadovaný metabolit. Okrem toho sa spôsoby podávania a dávkovania PPTN môžu podľa potreby meniť tak, aby sa dosiahlo požadovanej *in vivo* koncentrácie a rýchlosti produkcie metabolitu.

Metabolity PPTN je pri liečení jedného alebo viacej vyššie uvedených stavov možno používať v kombinácii (pri spoločnom podávaní oddelene alebo v rovnakej farmaceutickej

kompozícii) s PPTN a statínmi, ako je simvastatín, popísaný v US patente 4 444 784; pravastatín, popísaný v US patente 4 346 227; cerivastatín, popísaný v US patente 5 502 199; mevastatín, popísaný v US patente 3 983 140; velostatín, popísaný v US patente 4 448 784 a 4 4540 171; fluvastatín, popísaný v US patente 4 739 073; kompaktín, popísaný v US patente 4 804 770; lovastatín, popísaný v US patente 4 231 938; dalvastatín, popísaný vo zverejnenej európskej patentovej prihláške 738 510 A1; fluindostatín, popísaný vo zverejnenej európskej patentovej prihláške 363 934 A1; atorvastatín, popísaný v US patente 4 681 893; atorvastatín kalcium, popísaný v US patente 5 273 995; dihydrokompaktín, popísaný v US 4 450 171; ZD-4522, popísaný v US patente 5 260 440; bervastatín, popísaný v US patente 5 082 859 a NK-104, popísaný v US patente 5 102 888. Metabolity PPTN je tiež možno používať v kombinácii s bisfosfonátovými zlúčeninami, ako alendronovou kyselinou, alendronátom, cimadronátom, klodronovou kyselinou, klodronátom, 1-hydroxy-3-(1-pyrrolidinyl)propylidén-1,1-bisfosfónovou kyselinou, etidronovou kyselinou, ibandronátom, neridronátom, olpadronátom, pamidronátom, piridronátom, risedronátom, tiludronátom a zolendronátom. Okrem toho je metabolity PPTN možno používať v kombinácii s látkami zvyšujúcimi cyklický guanozín 3',5'-monofosfát, ako je sildenafil (citrátová soľ 1-[[3-(6,7-dihydro-1-metyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-5-yl)-4-etoxyfenyl]sulfonyl]-4-metylpiperazínu).

Farmaceuticky vhodné adičné soli s kyselinami zlúčenín podľa vynálezu je možno získať zo samotných zlúčenín alebo z akýchkoľvek ich esterov. Takýmito soľami sú farmaceuticky vhodné soli, ktorých sa často používa vo farmaceutickej chémii. Je možno pripravovať napríklad soli s anorganickými alebo organickými kyselinami, ako sú kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková, sulfónové

kyseliny, ako je napríklad kyselina naftalénsulfónová, kyselina metánsulfónová a kyselina toluénsulfónová, ďalej kyselina sírová, kyselina dusičná, kyselina fosforečná, kyselina vínna, kyselina disírová, kyselina metafosforečná, kyselina jantárová, kyselina mravčia, kyselina ftalová, kyselina mliečna apod., najvýhodnejšie s kyselinou chlorovodíkovou, kyselinou citrónovou, kyselinou benzoovou, kyselinou maleínovou, kyselinou octovou a kyselinou propiónovou.

Zlúčeniny podľa vynálezu popísané vyššie je možno podávať vo forme farmaceuticky vhodných solí. Tieto soli sa účelne pripravujú spôsobmi, ktoré sú zvyčajné v organickej chémii, napríklad reakciou zlúčenín podľa vynálezu s vhodnými kyselinami, ako sú kyseliny popísané vyššie. Soli vznikajú rýchlo a vo vysokých výťažkoch pri nízkych teplotách a často sa pripravujú iba tak, že sa zlúčenina izoluje z vhodnej kyslej kvapaliny na premývanie, ktorá sa použije v záverečnom stupni syntézy. Kyselina tvoriaca soľ sa rozpustí vo vhodnom organickom rozpúšťadle alebo vodne -organickom rozpúšťadle, ako napríklad alkanole, ketóne alebo esteri. Keď sa naproti tomu má zlúčenina podľa vynálezu získať vo forme voľnej bázy, izoluje sa táto voľná báza zo záverečného stupňa premývania bázičkou kvapalinou, tak ako je to v praxi bežné. Pri prednostnej príprave hydrochloridov sa postupuje tak, že sa voľná báza rozpustí v vhodnom rozpúšťadle a vzniklý roztok sa dôkladne vysuší, napríklad molekulárnym sítom, a potom sa ním preklokoce plynný chlorovodík.

Dávka zlúčeniny podľa vynálezu, ktorá sa má podať človeku, sa mení v pomerne širokom rozsahu a jej posúdenie je v právomoci ošetrojúceho lekára. Je treba poznamenať, že môže byť nutné prispôbiť dávku zlúčeniny, pokiaľ sa zlúčenina podáva vo forme soli, ako je laurát, tzn. v tom prípade, keď

má skupina, ktorá tvorí soľ, značnú molekulovú hmotnosť. Zvyčajné rozmedzia účinnej dávky zlúčenín podľa vynálezu je od asi 0,001 do asi 200 mg/deň. Prednostné rozmedzie účinnej dávky leží od asi 0,01 do 100 mg/deň. Často je samozrejme praktické rozdeliť dennú dávku podávanej zlúčeniny do niekoľkých dielčích dávok, ktoré sa podávajú v rôznych hodinách počas dňa. V každom danom prípade však bude množstvo podávanej zlúčeniny závislé od takých faktorov, ako je rozpustnosť účinnej zložky, použitý prostriedok a cesta podávania.

Spôsob podávania zlúčenín podľa vynálezu nemá rozhodujúci význam. Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť absorbované v zažívacom trakte, ale v prípade potreby je možno je podávať perkutánne alebo perrektálne vo forme čapíkov. Ako zvyčajné typy kompozícií je možno uviesť tablety, žuvacie tablety, tobolky, roztoky, parenterálne roztoky, pastilky, čapíky a suspenzie. Kompozície sa zvyčajne spracovávajú tak, aby obsahovali dennú dávku, alebo účelne zlomky dennej dávky, tzn. na jednotkové dávkovacie formy. Takou jednotkovou formou môže byť tableta, tobolka alebo vhodný objem kvapaliny.

Obecne sa všetky kompozície vyrábajú spôsobmi zvyčajnými vo farmaceutickej chémii a/alebo sa izolujú pri *in vivo* alebo *in vitro* metabolických reakciách, ako sú spôsoby popísané ďalej. Rodičovská zlúčenina, PPTN, sa pripravuje spôsobmi, ktoré sú popísané a/alebo ilustrované príkladmi v US patente č. 5 552 412. Metabolity je možno syntetizovať priamo alebo je vytvoriť *in vitro* alebo *in vivo* enzymatickými alebo metabolickými reakciami, ako sú spôsoby popísané v príkladoch uskutočnenia.

Formulačné postupy sú o sebe známe a sú napríklad popísané v Remington: The Science and Practice of Pharmacy,

Mack Publishing Company, Easton, PA., 19. vydanie, 1995. Farmaceutické kompozície, ktorých je možno používať podľa tohoto vynálezu, môžu mať formu sterilných roztokov alebo suspenzií v apyrogénnych kvapalinách, poťahovaných toboliek, čapíkov, lyofilizovaných práškov, transdermálnych náplastí alebo iných známych foriem.

Tobolky sa pripravujú tak, že sa zlúčenina zmieša s vhodným riedidlom, a vhodným množstvom vzniklej zmesi sa naplní tobolka. Ako zvyčajné riedidlá je možno uviesť inertné práškovité látky, ako je škrob najrozličnejších druhov, prášková celulóza, najmä kryštalická a mikrokryštalická celulóza, cukry, ako je fruktóza, mannitol a sacharóza, obilninová múka a podobné jedlé prášky.

Tablety sa vyrábajú priamym lisovaním, granuláciou vo vlhkom prostredí alebo suchou granuláciou. Také prostriedky zvyčajne okrem účinnej zlúčeniny obsahujú riedidlá, spojivá, mazadlá a látky umožňujúce uvoľňovanie. Ako typické riedidlá je napríklad možno uviesť rôzne typy škrobu, laktózu, mannitol, kaolín, fosforečnan vápenatý, síran vápenatý, anorganické soli, ako je chlorid sodný a práškový cukor. Tiež sa môže použiť práškovitých derivátov celulózy. Ako spojiv sa v tabletách môže použiť takých látok, ako je škrob, želatína a cukry, ako je laktóza, fruktóza, glukóza apod. Účelné sú tiež prírodné a syntetické živice, ako napríklad glejovina, algináty, metylcelulóza, polyvinylpyrrolidín apod. Ako spojivá môžu tiež slúžiť polyetylénglykol, etylcelulóza a vosky.

Hmoty na tabletovanie môžu obsahovať mazadlá zabraňujúce prilipnutiu tablety alebo razidla v prístroji na lisovanie. Mazadlá sa volia zo súboru klzných pevných látok, ako je mastenec, stearan horečnatý a stearan vápenatý, kyselina stearová a hydrogenované rastlinné oleje.

Uvoľňovacie látky pôsobia ako látky, ktoré po navlhčení uľahčujú rozpad tablety, pričom dôjde k uvoľneniu účinnej zlúčeniny. Takéto látky zahrnujú škroby, íly, celulózy, algíny a živice. Môže sa napríklad používať najmä kukuričného a zemiakového škrobu, metylcelulózy, agaru, bentonitu, drevnej celulózy, práškovité prírodné huby, katexových živíc, kyseliny algínovej, guarovej gummy, citrusovej vlákniny a karboxymetylcelulózy, ako aj natriumlaurylsulfátu.

Tablety sa často obaľujú cukrami, ktoré pôsobia ako látky na ochutenie a tesniace látky, alebo sa poťahujú ochrannými činidlami tvoriacimi film za účelom modifikácie rozpúšťacieho profilu tablety. Zlúčeniny podľa vynálezu je tiež možno spracovávať na žuvacie tablety. Pri tom sa, ako je to bežne zavedené v praxi, používa veľkých množstiev látok s príjemnou chuťou, ako je mannitol.

Keď sa má zlúčenina podľa vynálezu podávať ako čapík, používa sa pri výrobe vhodných farmaceutických prostriedkov zvyčajných základov. Tradičným základom pre čapíky je kakaové maslo, ktoré je možno modifikovať prídavkom voskov tak, aby sa jeho teplota topenia nepatrne zvýšila. V širokom rozsahu sa k tomuto účelu používa s vodou miešateľných základov pre čapíky, ktoré obsahujú najmä polyetylén glykoly o rôznej molekulovej hmotnosti.

Účinok zlúčenín podľa vynálezu je možno odložiť alebo predĺžiť vhodnou formuláciou. Tak napríklad je možno vyrobiť pomaly sa rozpúšťajúce pelety s obsahom zlúčenín podľa vynálezu, ktoré sa začlenia do tabliet alebo toboliek. Túto techniku je možno zlepšiť tak, že sa vyrobia pelety s niekoľkými rôznymi rýchlosťami rozpúšťania a tobolky sa plnia

zmesou takých peliet. Tablety alebo tobolky je možno poťahovať filmom, ktorý odoláva rozpúšťaniu po vopred určenú dobu. Aj parenterálne prostriedky je možno modifikovať tak, aby pôsobili dlhšiu dobu, keď sa zlúčenina rozpustí alebo suspenduje v olejovitom alebo emulgovanom vehikule, ktoré umožňuje iba pomalú dispergáciu v sére.

Pod označením "proliečiva" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré sú *in vivo* transformované na zlúčeniny podľa vynálezu. K tejto transformácii môže dôjsť prostredníctvom rôznych mechanizmov, ako je hydrolýza v krvi. Podrobné pojednanie o použití proliečiv možno nájsť v publikácii T. Hibuchi a W. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", zv. 14 A. C. S. Symposium Series a Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

Napríklad pokiaľ zlúčeniny podľa vynálezu obsahujú funkčnú skupinu karboxylovej kyseliny, proliečivá môžu obsahovať skupinu esteru vytvorenú nahradením vodíkového atómu v skupine kyseliny skupinou, ako alkylskupinou s 1 až 8 atómami uhlíka, alkanoyloxymetylskupinou s 2 až 12 atómami uhlíka, 1-(alkanoyloxy)etylskupinou s 4 až 9 atómami uhlíka, 1-metyl-1-(alkanoyloxy)etylskupinou s 5 až 10 atómami uhlíka, alkoxykarbonyloxymetylskupinou s 3 až 6 atómami uhlíka, 1-(alkoxykarbonyloxy)etylskupinou s 4 až 7 atómami uhlíka, 1-metyl-1-(alkoxykarbonyloxy)etylskupinou s 5 až 8 atómami uhlíka, N-(alkoxykarbonyl)aminometylskupinou s 3 až 9 atómami uhlíka, 1-(N-(alkoxykarbonyl)amino)etylskupinou s 4 až 10 atómami uhlíka, 3-ftalidylskupinou, 4-krotonolaktonylskupinou, gamma-butyrolakton-4-ylskupinou, di-N,N-alkylaminoalkylskupinou s 1 až 2 atómami uhlíka v každej z prvých dvoch alkylových častí a 2 až 3 atómami uhlíka v ostávajúcej alkylovej časti (ako je β -

dimetylaminoetyl skupina), karbamoylalkyl skupinou s 1 až 2 atómami uhlíka v alkylovej časti, N,N-dialkylkarbamoylalkyl skupinou s 1 až 2 atómami uhlíka v každej z alkylových častí, piperidino-, pyrrolidino- alebo morfolinoalkyl skupinou s 2 až 3 atómami uhlíka v alkylovej časti.

Podobne, pokiaľ zlúčeniny podľa vynálezu obsahujú funkčnú skupinu alkoholu, je možno proliečivá pripravovať tak, že sa atóm vodíka skupiny alkoholu nahradí skupinou, ako alkanoyloxymetyl skupinou s 1 až 6 atómami uhlíka v alkanoylovej časti, 1-(alkanoyloxy)etyl skupinou s 1 až 6 atómami uhlíka v alkanoylovej časti, 1-metyl-1-(alkanoyloxy)etyl skupinou s 1 až 6 atómami uhlíka v alkanoylovej časti, alkoxykarbonyloxymetyl skupinou s 1 až 6 atómami uhlíka v alkoxylovej časti, N-alkoxykarbonylaminometyl skupinou s 1 až 6 atómami uhlíka v alkoxylovej časti, sukcinoyl skupinou, alkanoyl skupinou s 1 až 6 atómami uhlíka, α -aminoalkanoyl skupinou s 1 až 4 atómami uhlíka, arylacyl skupinou a α -aminoacyl skupinou alebo α -aminoacyl- α -aminoacyl skupinou, kde každý α -aminoacylový zvyšok je nezávisle zvolený zo súboru zahrnujúceho zvyšky prírodných L-aminokyselín, $P(O)(OH)_2$, $-P(O)(Oalkyl)_2$ s 1 až 6 atómami uhlíka v každej z alkylových častí a glykosyl skupinu (tzn. zvyšok vzniklý odstránením hydroxyskupiny z hemiacetálu sacharidu).

Pokiaľ zlúčeniny podľa vynálezu obsahujú funkčnú skupinu amínu, je proliečivá možno pripravovať tak, že sa atóm vodíka skupiny amínu nahradí skupinou, ako skupinou R^X -karbonyl, R^XO -karbonyl, $NR^X R^{X'}$ -karbonyl, kde R^X a $R^{X'}$ predstavuje každý nezávisle alkyl skupinu s 1 až 10 atómami uhlíka, cykloalkyl skupinu s 3 až 7 atómami uhlíka, benzyl skupinu, alebo R^X -karbonyl predstavuje prírodnú α -aminoacyl skupinu

alebo prírodnú α -aminoacyl-prírodnú α -aminoacylskupinu, $-C(OH)C(O)OY^X$, kde Y^X predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka alebo benzylskupinu; $-C(OY^{XO})Y^{X1}$, kde Y^{XO} predstavuje alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka a Y^{X1} predstavuje alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, karboxyalkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka v alkylovej časti, aminoalkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka alebo mono-N- alebo di-N,N-alkylaminoalkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka v každej z alkylových častí, $-C(Y^{X2})Y^{X3}$, kde Y^{X2} predstavuje vodík alebo metylskupinu a Y^{X3} predstavuje mono-N- alebo di-N,N-alkylaminoskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka v každej z alkylových častí, morfolinoskupinu, piperidin-1-ylskupinu alebo pyrrolidin-1-ylskupinu.

Pod pojmom "účinné množstvo" sa rozumie množstvo zlúčeniny, ktoré je schopné liečiť konkrétne choroby a patologické stavy. Konkrétna dávka zlúčeniny podávaná podľa vynálezu sa samozrejme stanoví na základe okolností daného prípadu, ako je napríklad podávaná zlúčenina, spôsob podávania, stav subjektu a závažnosť liečeného patologického stavu.

Predmetom vynálezu sú také výhodné kity určené pre použitie užívateľom za účelom liečenia choroby. Takýto kit obsahuje a) farmaceutickú kompozíciu, ktorá obsahuje agonistu/antagonistu estrogénu a farmaceuticky vhodný nosič, vehikulum alebo riedidlo; a popri prípade b) inštrukcie, ktoré popisujú spôsob použitia farmaceutickej kompozície pri liečení konkrétnej choroby. Inštrukcie tiež môžu obsahovať informáciu, že kit je určený pre liečenie choroby za podstatne zníženého sprievodného rizika nežiadúcich účinkov spojených s podávaním estrogénu.

Kit, ktorého sa používa pre účely tohoto vynálezu, zahrnuje obalový prostriedok pre oddelené dávkovacie formy, ako rozdelenú fľaštičku alebo rozdelené fóliové balenie. Obalový prostriedok (kontejner) môže mať akýkoľvek zvyčajný tvar alebo formu a vyrába sa z farmaceuticky vhodných materiálov, a môže ním byť napríklad papierová alebo kartónová škatuľka, sklenená alebo plastová fľaštička alebo nádobka, vrecko s uzáverom (napríklad pre udržiavanie "zásoby" tabliet, ktoré sa umiestňujú do iného kontejnera) alebo blistrové balenie jednotlivých dávok, ktoré sa z blistra vytlačajú podľa terapeutickkej schémy. Voľba kontejneru závisí od formy danej dávkovacej formy (napríklad kvapalnú suspenziu sa zvyčajne nebalia do konvenčných kartónových škatuliek). Je pravdepodobné, že dávkovacie formy na trhu budú balené vo viacej ako jednom kontejneri. Napríklad tablety môžu byť balené vo fľaštičke, ktorá je uložená v škatuľke.

Ako príklad takéhoto kitu je možno uviesť tzv. blistrové (pretlačacie) balenia. V obalovom priemysle sú blistre dobre známe a vo veľkej miere s ich používa pre balenie farmaceutických jednotkových dávkovacích foriem (tabliet, toboliek apod.). Blistre sa zvyčajne zostávajú z listu relatívne tuhého materiálu potiahnutého fóliou z prednostne transparentného plastického materiálu. Počas baliaceho procesu sa v plastickú fóliu vytvarujú dvorce. Dvorce majú veľkosť a tvar balených tabliet alebo toboliek. Potom sa do dvorcov umiestnia tablety alebo tobolky a na opačnú stranu (vzhľadom na smer v ktorom boli vytvorené dvorce) plastickej fólie sa pripevní list relatívne tuhého materiálu. Výsledkom je, že tablety alebo tobolky sú uzatvorené v dvorcoch medzi plastickou fóliou a listom. Pevnosť listu je prednostne taká, že tablety alebo tobolky je možno z blistra vyberať tak, že sa rukou zatlačí na dvorec, pričom otvor v listu vznikne v mieste

dvorca. Tablety alebo tobolky je možno vyňímať vyššie popísaným postupom.

Do blízkosti tabliet alebo toboliek je vhodné umiestniť pomôcku uľahčujúcu kontrolu odoberania dávkových foriem z balenia. Táto pomôcka môže mať podobu čísel, ktoré odpovedajú dňom režimu, v ktorom majú byť tablety užívané. Ako ďalší príklad je možno uviesť kalendár, ako "Prvý týždeň, pondelok, utorok ... atď., Druhý týždeň, pondelok, utorok ..." atď. Ďalšie varianty takých pomôcok sú celkom zrejmé. "Dennú dávku" je možno podávať vo forme jedinej tablety alebo tobolky alebo vo forme niekoľkých pilúl alebo toboliek, ktoré sa užívajú v daný deň.

Podľa iného konkrétneho uskutočnenia sa používa dávkovača liekov (dispenzéru) uspôsobeného pre dávkovanie denných dávok v určitú dobu v zamýšľanom poradí. Dávkovač je prednostne vybavený pomôckou uľahčujúcou odoberanie dávkových foriem, pokiaľ to napomáha zvyšovaniu kompliance s režimom. Ako príklad pomôcky uľahčujúcej kontrolu odoberania dávkových foriem je možné uviesť mechanické počítadlo oddelených denných dávok. Iným príkladom takejto pomôcky je mikročipová pamäť napájaná z batérie spojená s displejom s tekutými kryštálmi alebo zvukovým signálom pre upomienku, ktorý napríklad ukazuje dátum, kedy bola odobratá posledná dávka a/alebo pripomína kedy sa má užiť ďalšia dávka.

Vo svetle tohoto popisu a pripojených patentových nárokov budú odborníkmi v tomto odbore zrejmé určité modifikácie. Také modifikácie patria do rozsahu tohoto vynálezu.

Všetky citované publikácie a patenty sú uvedené náhradou za prenos ich obsahu do tohoto textu.

Vynález je bližšie objasnený v nasledujúcich príkladoch uskutočnenia. Tieto príklady majú výhradne ilustratívny charakter a rozsah vynálezu v žiadnom ohľade neobmedzujú.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Používané skratky majú nasledujúce významy:

HOAc	kyselina octová
Ph	fenyl
BuLi	n-butyllítium
Et ₂ O	dietyléter
NBS	N-brómsukcinamid
DMF	dimetylformamid
AIBN	azodiizobutyronitril
Me	metyl
EtOH	etanol
THN	tetrahydronaftalén

P r í k l a d 1

Väzba k receptoru estrogénu

Väzobná afinita estrogénu a metabolitu PPTN sa meria za použitia nasledujúceho protokolu:

cDNA klonovanie ľudského ER α

Kódujúci región ľudského ER α sa klonuje RT-PCR z mRNA ľudských buniek nádoru prsníka za použitia PCR systému Expand^(R) High Fidelity PCR System podľa pokynov výrobcu (Boehringer-Mannheim, Indianapolis, IN, USA). PCR produkty sa klonujú do pCR2.1 TA Cloning Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) a sekvenujú. Každý región kódujúci receptor sa subklonuje do cicavčieho expresného vektora pcDNA3 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

Expresia cicavčích buniek

Receptorové proteíny sú nadexprimované v bunkách 293T. Tieto bunky odvodené od buniek HEK293 (ATCC, Manassas, VA, USA) sa modifikujú, aby stabilne exprimovali veľký T antigén, a teda mohli replikovať plazmidy, ktoré obsahujú SV40 počiatok replikácie, na vysoký počet kópií. Bunky 293T sa transfekujú buď hER α -pcDNA3 alebo hER β -pcDNA3 za použitia lipofektamínu podľa pokynov výrobcu (Gibco/BRL, Bethesda, MD, USA). Bunky sa pozbierajú vo fosfátom pufrovanom soľnom roztoku (PBS) obsahujúcom 0,5mM EDTA 48 hodín po transfekcii. Bunkové pelety sa premyjú jeden raz PBS/EDTA. Lyzáty celých buniek sa pripravujú homogenizáciou v TEG pufri (50mM Tris, pH 7,4, 1,5mM

EDTA, 50mM chlorid sodný, 10% glycerol, 5mM DTT, 5 µg/ml aprotinín, 10 µg/ml leupeptín, 0,1 mg/ml Pefabloc (Pentapharm, AG, Basilej, Švajčiarsko) za použitia homogenzátora Dounce. Extrakty sa 2 hodiny pri 4°C centrifugujú pri 100 000 x g a supernatanty sa zhromaždia. Celková koncentrácia proteínu sa stanoví za použitia reakčného činidla BioRad (BioRad, Hercules, CA, USA).

Skúška kompetície o väzobné miesta

Schopnosť PPTN metabolitov inhibovať väzbu [3H]-estradiolu sa meria skúškou kompetície o väzobné miesta za použitia aktívneho uhlia potiahnutého dextránom (viď Leake, R. E., Habib, F., 1987, Steroid hormone receptors: assay and characterization, editori B. Green a R. E. Leake, Steroid Hormones a Practical Approach, IRL Press Ltd., Oxford, 67 až 92). Extrakty buniek 293T exprimujúcich buď hER α alebo hER β sa inkubujú za prítomnosti rastúcich koncentrácií metabolitu PPTN a stálej koncentrácie [3H]-estradiolu (141 µCi/mmol, New England Nuclear, Boston, MA, USA) v 50mM TrisHCl, pH 7,4, 1,5mM EDTA, 50mM NaCl, 10% glycerolu, 5mM DTT, 0,5 mg/ml β -laktoglobulínu v konečnom objeme 0,2 ml. Všetky metabolity PPTN sa rozpustia v dimetylsulfoxide alebo vodnom rozpúšťadle. Konečná koncentrácia receptora je 50pM s 0,5nM [3H]-estradiolom. Po 16 hodinách pri 4°C sa pridá aktívne uhlie potiahnuté dextránom (20 µl). Po 15 minútach pri izbovej teplote sa aktívne uhlie odstráni centrifugáciou. Rádioaktívny ligand v supernatante sa meria vo scintilačnom čítači. Pokiaľ nie je uvedené inak, pochádzajú všetky reakčné činidlá od firmy Sigma (St. Louis, MO, USA).

P r í k l a d 2

Inhibícia rastu ľudských buniek nádoru prsníka *in vitro*

Antiproliferačné účinky metabolitu PPTN *in vitro* sa skúšajú za použitia dvoch línií ľudských buniek nádoru prsníka: prvou líniou sú bunky MCF-7, ktoré obsahujú ER aj receptory progesterónu (PgR) a druhou líniou sú bunky MDA-MB-231, ktorým chýba ER a PgR a umožňujú stanovenie účinku, ktorý je nezávislý od ER mechanizmu. Účinok metabolitov PPTN na rast týchto rôznych bunkových línií sa stanoví tak, že sa bunky 6 dní inkubujú s rôznymi koncentráciami agonistu/antagonistu estrogénu. Antiproliferačné účinky sa potom zistia priamym spočítaním buniek.

P r í k l a d 3

Biosyntéza metabolitov PPTN u myší

Pripraví sa dávka 14C-PPTN ako suspenzia v 0,5% (hmotn.) metylcelulóze o koncentrácii asi 0,898 mg/g. Aplikčný roztok sa skúša dvojmo pred a po aplikácii. Metabolity PPTN sa stanovujú vysokouúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) s detekciou rádioaktivity a identifikujú kvapalinovou chromatografiou s hmotnostnou spektrometriou/hmotnostnou spektrometriou (LC/MS/MS).

Pri tejto skúške na skupine myší CD-1 (N = 9/pohlavie, 25 až 30 g) sa podávanie uskutočňuje perorálnou sondou. Zvieratá sa chovajú v skupinách po troch (3/pohlavie) v klietkach pre metabolické skúšky Nalgene^(R) (Nalge Nunc International,

Rochester, NY, USA) umožňujúcich oddelené zhromažďovanie moču a výkalov. Trubice sondy sa pred podaním a po podaní zvažia, aby sa stanovila skutočná dávka podaná každému zvieraťu. Moč, výkaly a oplachy z klieťok sa 7 dní kvantitatívne zhromažďujú do vzorkových kontajnerov určených pre jednotlivé klieťky 0-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144 a 144-168 hodín po podaní. V rôznych okamihoch sa zaznamenáva hmotnosť moču, výkalov a oplachov. Vzorky moču a výkalov sa rozdelia a až do analýzy skladujú v tme pri -20°C . Druhej skupine zvierat ($N = 6/\text{pohlavie}$, 25 až 30 g) sa perorálnou sondou podá zlúčenina, aby bolo možno identifikovať cirkulujúce metabolity. Z tejto skupiny sa vždy 1 a 4 hodiny po podaní 3 zvieratá každého pohlavia usmrtia a krv sa zhromaždí do heparinizovaných skúmaviek.

Moč (asi 3 ml z poolu 0-48 hodín) od každej skupiny sa centrifuguje a supernatant sa premiestni do čistej skúmavky a pod atmosférou dusíka za použitia odparovávka skoncentruje. Zvyšok sa rozpustí v asi 1 ml mobilnej fázy pre HPLC. Podiel (80 až 100 μl) sa bez ďalšieho čistenia nastriekne na stípec pre HPLC. Fekálne homogenáty (asi 2 g) z obdobia 0 až 72 hodín po podaní sa zhromaždia na báze hmotností zhromažďovaných v každom časovom intervale a vzorky sa zriedia acetonitrilom (6 ml). Výsledná suspenzia sa cez noc mieša magnetickým miešadlom a centrifuguje. Supernatant sa oddelí a extrakcia sa opakuje za použitia metanolu (6 ml) a zmesi metanolu a vody (50 : 50, 6 ml). Všetky supernatanty sa spoja a malé podiely sa zrátajú. Organické rozpúšťadlo sa odparí za použitia zariadenia Turbo Vap. Zvyšok sa rozpustí v asi 1 ml zmesi metanolu a octanu amónneho (1 : 1). Podiel (20 až 50 μl) sa nastriekne na HPLC. Zhromaždená plazma (2 ml, 1 a 4 hodiny) sa zriedi 4 ml acetonitrilu a vyzrážaný proteín sa oddelí centrifugáciou. Peleta sa premyje ďalšími 2 ml acetonitrilu a oba supernatanty sa spoja a skoncentrujú v odparovávku. Zvyšok sa rekonštituuje

v 500 μ l zmesi metanolu a octanu amónneho (1 : 1). Alikvot (100 μ l) sa nastriekne na HPLC.

HPLC sa uskutočňuje za použitia kvartérneho čerpadla Hewlett Packard HP1100 a autosamplera (Hewlett Packard, Palo alto, Kalifornia, USA) vybaveného detektorom rádioaktivity (β -RAM, In/US Systems, Inc., Tampa, FL, USA) na stĺpci Beckman Ultrasphere^(R) C-18 (4,6 mm x 250 mm, 5 μ m) (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) za použitia binárnej zmesi 10mM octanu amónneho (rozpúšťadlo A) a metanolu (rozpúšťadlo B). Mobilnú fázu najskôr tvorí zmes rozpúšťadla A a rozpúšťadla B v pomere 80 : 20, ktorá sa naprogramuje tak, aby sa pomer A : B lineárne počas 30 minút zmenil na pomer 20 : 80, ktorý sa potom počas 5 minút zmení na pomer 5 : 95, ktorý sa ďalších päť minút udržiava. Zloženie mobilnej fázy sa počas 5 minút vráti na východzie. Systém sa pred ďalším nastrieknutím nechá asi 15 minút ekvilibrovať. Všetky analýzy sa uskutočňujú pri prietoku 1,0 ml/min.

Metabolity sa kvantifikujú tak, že sa odmeria rádioaktivita v jednotlivých píkoch, ktoré sa oddelia pomocou HPLC za použitia detektora rádioaktivity. Detektor rádioaktivity poskytne súhrnný výpis v počtoch impulzov za minútu (CPM) a percentách rádioaktívne označenej látky a tiež prehľad píkov. Detektor rádioaktivity pracuje v čítacom režime homogénnej kvapalinovej scintilácie a k výtokovému prúdu sa po UV detekcii rýchlosťou 3 ml/min pridáva scintilačný koktail kompatibilný s mobilnou fázou.

Metabolity sa identifikujú na zariadení Finnigan TSQ 7000 LC/MS/MS (Thermo Quest, San Jose, CA, USA). Výtokový prúd z HPLC kolóny sa rozdelí a asi 50 μ l/min sa cez pneumaticky asistované elektrosprejové rozhranie zavádza do iónového zdroja hmotnostného spektrometra pre ionizáciu za

atmosferického tlaku. Ostávajúci výtokový prúd sa zavádza do prietokovej cely detektora rádioaktivity. Odozva detektora je priebežne zaznamenaná v reálnom čase dátovým systémom hmotnostného spektrometra, ktorý súčasne poskytuje dáta o detekcii rádioaktivity a hmotnostné spektrometrické dáta. Meškanie pri odozve medzi dvomi detektormi je asi 0,2 min, pričom hmotnostná spektrometrická odozva je zaznamenaná skoršie. Elektrosprejové rozhranie funguje pri asi 4000 V a hmotnostný spektrometer pracuje v pozitívnom móde. Uskutočnia sa skúšky kolízne indukovanej disociácie (CID) za použitia plynného argónu pri zrážkovej energii asi 30 až asi 40 eV a tlaku kolízneho plynu asi 306,6 mtorr.

P r í k l a d 4

Biosyntéza metabolitov PPTN u ľudí

Pripraví sa ^{14}C -PPTN (tartrátová soľ) so špecifickou aktivitou asi 1,93 mCi/mmol.

Pre štúdiu sa vyberú normálni zdraví muži vo veku 18 až 45 let. Subjekty sa do zariadenia dostavia asi 12 hodín pred aplikáciou a za nepretržitého lekárskeho dozoru v ňom zotrývajú aspoň 576 hodín po aplikácii. Subjekty zostanú nalačno aspoň 12 hodín a podá sa im jediná dávka ^{14}C -PPTN ekvivalentná asi 20 mg volnej bázy (asi 80 μCi /subjekt). Dávka sa podá otvorene v ranných hodinách. O 4 hodiny neskôršie sa subjektom poskytne štandardné jedlo. Aplikáčnā formulácia sa pripraví tak, že sa rádioaktívne označený PPTN suspenduje vo vode. Počas prvých štyroch hodín po podaní liečiva sa pacienti zdržia ležania, jedla alebo pitia nápojov obsahujúcich kofeín alebo sýtených oxidom uhličitým.

Pre účely identifikácie metabolitu sa 24 a 48 hodín po aplikácii odoberú vzorky krvi v množstve, ktoré je dostatočné pre získanie 20 ml plazmy. Všetky vzorky sa označia a ihneď zmrazia.

Vzorky plazmy (20 ml) od každého subjektu odoberaté 24 a 48 hodín po podaní sa zmiešajú s 40 ml acetonitrilu, vortexujú a sonikujú. Výsledná zmes sa centrifuguje a supernatanty sa odstráni. Pelety sa zmiešajú s 5 ml acetonitrilu a vzniklá zmes sa centrifuguje. Oba supernatanty sa spoja a pod atmosférou dusíka skoncentrujú do sucha. Zvyšky sa rekonštituuju v 300 μ l zmesi metanolu a vody v pomere 1 : 1 a centrifugujú, aby sa odstránili nerozpustné látky. 100 μ l podiely sa nastrieknu do kolóny pre HPLC. Metabolity PPTN extrahované zo vzoriek plazmy sa identifikujú HPLC s detekciou rádioaktivity a LS/MS/MS postupom popísaným vyššie v príklade 3.

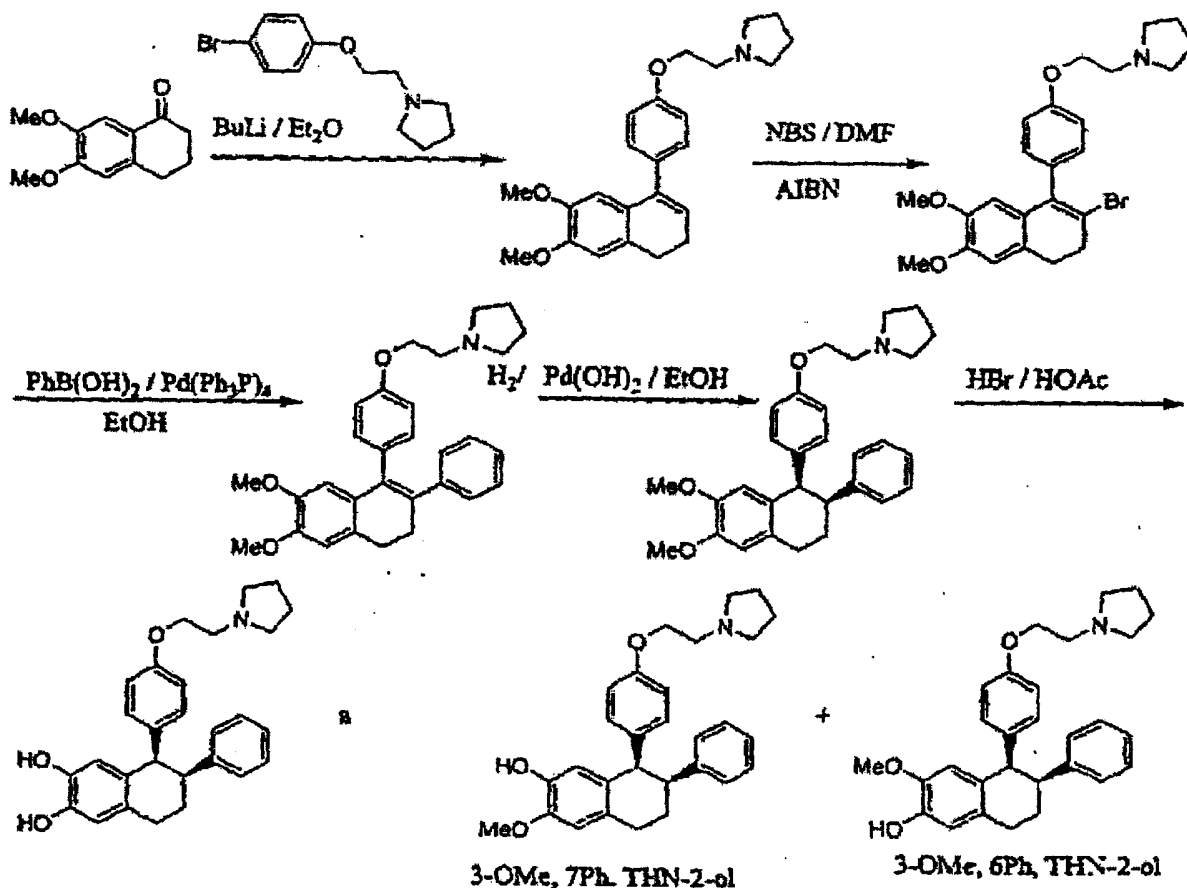
P r í k l a d 5

Izolácia a identifikácia myšacích metabolitov PPTN

Biosyntéza metabolitov PPTN sa uskutočňuje spôsobom popísaným v príklade 3. Myšiam sa podá dávka 20 mg/kg. Zhromažďuje sa moč a výkaly od jednej skupiny myší. U druhej skupiny sa uskutoční aplikácia, zhromaždia sa krvné vzorky a izolujú sa a identifikujú cirkulujúce metabolity. Výsledky tejto skúšky sú znázornené na obr. 1 až 18. Na obr. 1 až 3 sú znázornené reprezentatívne rádiochromatogramy metabolitov v moči, výkaloch a cirkulujúcich metabolitov. Reprezentatívne hmotnostné spektrálne dáta sú spolu so štruktúrou, ktoré boli

metabolitom izolovaným pomocou HPLC priradené, sú uvedené na obr. 4 až 18.

S c h é m a 1



P r í k l a d 1

1-{2-[4-(6,7-Dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl) fenoxyl)etyl}pyrrolidín

Roztok 6,75 g (0,025 mol) 1-(2-(4-brómfenoxy)etyl)pyrrolidínu v 250 ml dietyléteru sa pod atmosférou dusíka ochladí na -78°C a pridá sa k nemu niekoľko mililitrov tetrahydrofuránu, aby sa udržal číry roztok. K tomuto roztoku sa prekvapká 16,7 ml 1,6M n-butyllítia, pričom

sa teplota udržiava pod -70°C . Vzniklá zmes sa 1 hodinu mieša pri -78°C , načo sa k nej počas 1 hodiny, kedy sa teplota udržiava pod -70°C , prekvapká roztok 5 g (0,024 mol) 6,7-dimetoxy-1-tetralónu v 25 ml tetrahydrofuránu. Výsledná zmes sa 2,5 hodiny mieša pri -78°C a potom rozloží prídavkom 100 ml 2M kyseliny chlorovodíkovej. Zmes sa nechá zohriať na izbovú teplotu a jej pH sa prídavkom 5M hydroxidu sodného upraví na 7. Dietyléterová vrstva sa oddelí a vodná vrstva sa extrahuje 4 x etylacetátom. Dietyléterová vrstva a etylacetátové vrstvy sa spoja, vysušia síranom sodným a odparia na 9 g surového produktu, ktorý sa prečistí na 400 g silikagélu za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu v pomere 95 : 5 ako elučného činidla, aby sa odstránil tetralón a potom zmesi dichlórmetánu a metanolu v pomere 85 : 15, ako elučného činidla. Získa sa 3,3 g produktu.

NMR (CDCl_3) ppm: (1,97, bs, 4H), (2,55, m, 2H), (2,84, t, 2H), (2,98, bs, 4H), (3,19, s, 2H), (3,68 s, 3H), (3,84, s, 3H), (4,31, s, 2H), (5,93, t, 1H), (6,59, s, 1H), (6,73, s, 1H), (6,90 d, 2H), (7,25 d, 2H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 379,8

Východzie látky:

6,7-dimetoxy-1-tetralón (Aldrich, Milwaukee, WI, USA) 1-[2-(4-brómfenoxy)etyl]pyrrolidín (Aldrich, Milwaukee, WI, USA)

P r í k l a d 2

1-(2-[4-(2-Bróm-6,7-dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxi]etyl)pyrrolidín

K roztoku 6 g (0,016 mol) (2-[4-(6,7-dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxi]etyl)pyrrolidínu v 200 ml

dimetylformamidu sa pod atmosférou dusíka pri izbovej teplote prekvapká roztok 2,8 g (0,016 mol) N-brómsukcínimidu v 20 ml dimetylformamidu. K vzniklej zmesi sa pridá azodiizobutyronitril (100 mg). Reakčná zmes sa 1 hodinu mieša, potom zriedi vodou a extrahuje etylacetátom. Etylacetátová vrstva sa vysuší síranom sodným a odparí. Získa sa 7 g produktu, ktorého sa použije v nasledujúcom stupni bez ďalšieho prečistenia.

NMR (acetón- d_6) ppm: (1,73, m, 4H), (2,55, m, 4H), (2,80, m, 4H), (3,48, s, 3H), (3,80, s, 3H), (4,15, s, 3H), (6,24, s, 1H), (6,84, s, 1H), (7,00, d, 2H), (7,13, d, 2H)

Hmotnostné spektrum (rodičovský+1): 458

P r í k l a d 3

1-{2-[4-(6,7-Dimetoxy-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxyletyl]pyrrolidín

Zmes 7 g (0,015 mol) 1-{2-[4-(2-bróm-6,7-dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxyletyl]pyrrolidínu, 5,6 g (0,047 mol) fenylborónovej kyseliny, 620 mg (0,00054 mol) tetrakis(trifenylfosfín)paládia a 7,6 g (0,072 mol) uhličitanu sodného v 500 ml etanolu sa 10 hodín pod atmosférou dusíka ohrieva k spätnému toku. Etanol sa odparí a ku zvyšku sa pridá voda a etylacetát. Etylacetátová vrstva sa oddelí, vysuší síranom sodným a odparí na 9 g surového produktu vo forme oleja. Tento olej sa prečistí na 600 g silikagélu za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu v pomere 9 : 1 ako elučného činidla. Získa sa 3,6 g produktu.

NMR (acetón-d₆) ppm: (1,74, m, 4H), (2,60, bs, 2H), (2,71, m, 2H), (2,85, m, 6H), (3,48, s, 3H), (3,82, s, 3H), (4,10, t, 2H), (6,35 s, 1H), (6,80 - 7,16, m, 10H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 456

P r í k l a d 4

1-{2-[4-(6,7-Dimetoxy-2-fenyl-1,2,3,4-tetrahydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Roztok 3,6 g (0,0079 mol) 1-{2-[4-(6,7-dimetoxy-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 10 ml 2M kyseliny chlorovodíkovej, 30 ml vody a 100 ml etanolu obsahujúci 1,9 g hydroxidu paládnateho na uhlíku sa 15 hodín trepe v Parrovom zariadení za tlaku vodíka 206 843 Pa. Reakčná zmes sa prefiltruje, aby sa odstránil katalyzátor a z filtrátu sa odparí etanol. K zvyšku sa pridá 5M hydroxid sodný, ktorým sa pH vodnej vrstvy upraví na 8. Vodná vrstva sa extrahuje etylacetátom. Etylacetátová vrstva sa vysuší a odparí. Získa sa 3,0 g produktu vo forme žltého oleja.

NMR (acetón-d₆) ppm: (1,65, m, 4H), (1,74, m, 1H), (1,90, d, 1H), (2,20, m, 1H), (2,53, bs, 4H), (2,63, t, 2H), (3,00, m, 2H), (2,53, d, 1H), (3,60, s, 3H), (3,80, s, 3H), (3,93, t, 2H), (4,20, d, 1H), (6,35, d, 2H), (6,45, s, 1H), (6,53, d, 2H), (6,68, s, 1H), (7,10, m, 3H).

34

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 458

P r í k l a d 5

6-Fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2,3-diol a zmes 3-metoxy-7-fenyl-8-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu a 3-metoxy-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu

Roztok 2 g (0,0044 mol) 1-{2-[4-(6,7-dimetoxy-2-fenyl-1,2,3,4-tetrahydronaftalen-1-yl) fenoxyl]etyl}pyrrolidínu, 80 ml kyseliny octovej a 80 ml 48% vodnej kyseliny bromovodíkovej sa pod atmosférou dusíka 2 hodiny zohrieva na 90°C. Reakčná zmes sa v ľadovom kúpeli ochladí na 0°C, načo sa jej pH prídavkom 30% vodného hydroxidu amónneho upraví na 10. Vodná vrstva sa extrahuje etylacetátom. Spojené etylacetátové vrstvy sa vysušia a odparia na 1,6 g surového produktu. Tento produkt sa prečistí na 120 g silikagélu za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu v pomere 99 : 1, potom 99 : 5, potom 90 : 10 a potom 85 : 15. Získa sa 520 mg zmesi 3-metoxy-7-fenyl-8-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu a 3-metoxy-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu.

NMR (acetón-d₆) ppm: (1,05, m, 1H), (1,24, d, 1H), (1,76, bs, 5H), (2,20, m, 1H), (3,00, m, 4H), (3,31, d, 1H), (3,82, s, 3H), (4,05, t, 2H), (4,18, d, 1H), (6,34, m, 3H), (6,53, d, 2H), (6,78, s, 1H), (7,85, d, 2H), (7,15, m, 3H), (8,20, bs, 1H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 444

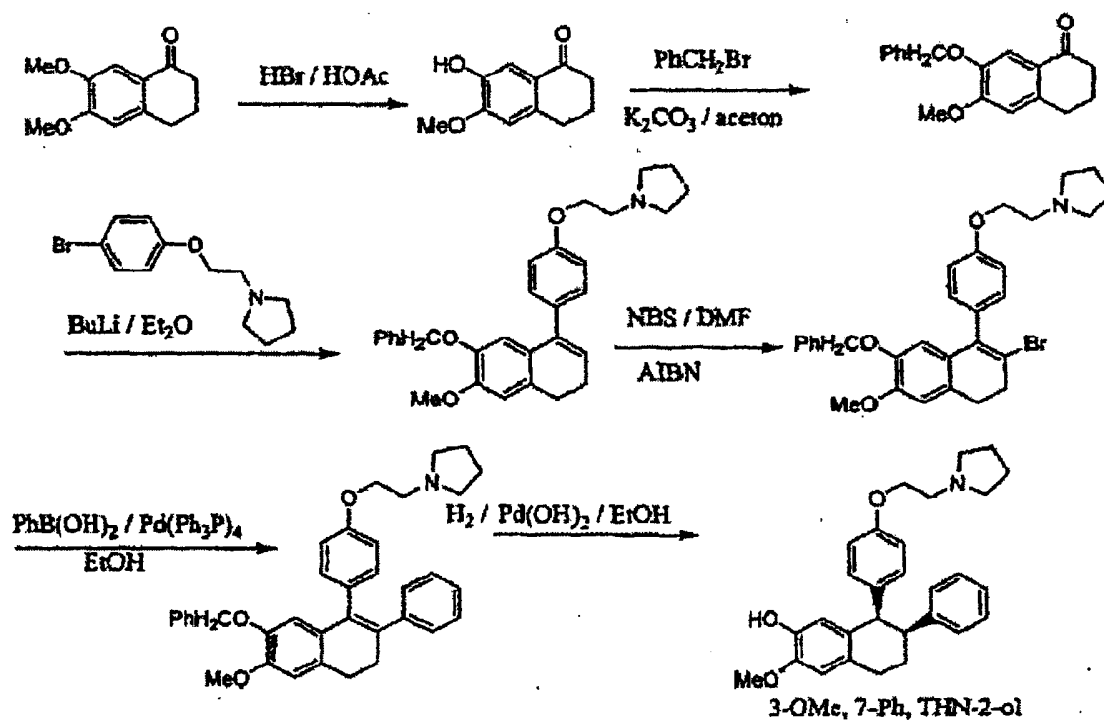
a potom 180 mg 6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2,3-diolu.

NMR (acetón- d_6) ppm: (1,65, m, 4H), (2,20, m, 1H), (2,50, m, 4H), (2,80, m, 4H), (2,95, m, 1H), (3,50, d, 1H), (3,95, t, 2H), (4,05, d, 1H), (6,33, m, 2H), (6,60, d, 2H), (6,66, s, 1H), (6,84, d, 2H), (7,10, m, 3H), (7,55, s, 2H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 430

Teplota topenia 132 až 134°C

Schéma 2



Príklad 6

7-Hydroxy-6-metoxi-1-tetralón

Roztok 10 g (0,048 mol) 6,7-dimetoxi-1-tetralónu v 100 ml kyseliny octovej a 100 ml 48% vodnej kyseliny bromovodíkovej

sa 7 hodín zohrieva na 95°C. Reakčná zmes sa ochladí na izbovú teplotu a naleje do vody. Vodná zmes sa extrahuje etylacetátom. Etylacetátová vrstva sa vysuší a odparí na 12 g surového produktu, ktorý sa prečistí na 1200 g silikagélu za použitia 10% dietyléteru v dichlórmetáne ako elučného činidla. Získa sa 7,5 g produktu o teplote topenia 147 až 148°C (v literatúre uvádzaná teplota topenia 148 až 152°C, Journal of Organic Chemistry, 33, 1968, str. 508).

NMR (CDCl₃) ppm: (2,09, m, 2H), (2,58, m, 2H), (2,85, m, 2H), (3,90, s, 3H), (5,50, bs, 1H), (6,64, s, 1H), (7,55, s, 1H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 193

Východzia látka: 6,7-dimetoxy-1-tetralón (Aldrich, Milwaukee, WI, USA)

P r í k l a d 7

7-Benzyloxy-6-metoxy-3,4-dihydro-2H-naftalen-1-ón

Zmes 4,5 g (0,0233 mol) 7-hydroxy-6-metoxy-1-tetralónu, 5,4 g (0,032 mol) benzylbromidu a 10 g (0,072 mol) uhličitanu draselného v 150 ml acetónu sa cez noc zohrieva k spätnému toku, potom ochladí a naleje do vody. Vodná zmes sa extrahuje etylacetátom. Etylacetátová vrstva sa vysuší síranom sodným a odparí. Získa sa 7 g surového produktu. Po kryštalizácii z dietyléteru sa získa 4,13 g produktu vo forme bielej pevnej látky o teplote topenia 110 až 111°C.

NMR (CDCl₃) ppm: (2,09, m, 2H), (2,55, t, 2H), (2,87, t, 2H), (3,90, s, 3H), (5,14, s, 2H), (6,65, s, 1H), (7,25 7,45, m, 5H), (7,58, s, 1H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 283

P r í k l a d 8

1-{2-[4-(7-Benzyloxy-6-metoxo-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 1 sa z 5,13 g (0,0182 mol) 7-benzyloxy-6-metoxo-3,4-dihydro-2H-naftalen-1-ónu, 13,63 ml 1,6M n-butyllítia v hexáne a 5,16 g (0,019 mol) 1-(2-(4-brómfenoxy)etyl)pyrrolidínu získa 3,5 g titulného produktu.

NMR (CDCl₃) ppm: (2,05, bs, 4H), (2,30, m, 2H), (2,74, t, 2H), (3,10 - 3,40, m, 6H), (3,90, s, 3H), (4,45, bs, 2H), (4,95, s, 2H), (5,90, t, 1H), (6,58, s, 1H), (6,74, s, 1H), (6,80, d, 2H), (7,10, d, 2H), (7,25, m, 5H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 456

P r í k l a d 9

1-{2-[4-(7-Benzyloxy-2-bróm-6-metoxo-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 2 sa z 2,47 g (0,0054 mol) 1-{2-[4-(7-benzyloxy-6-metoxo-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 965 mg (0,0054 mol) N-brómsukcínamidu a 90 mg azodiizobutyronitrilu v 50 ml dimetylformamidu získa 2,37 g titulného produktu.

NMR (CDCl₃) ppm: (1,90, bs, 4H), (2,69, s, 4H), (2,88, bs, 4H), (3,10, t, 2H), (3,83, t, 2H), (4,83, s, 2H), (6,20, s, 1H), (6,65, s, 1H), (6,90, d, 2H), (7,00, d, 2H), (7,21, m, 5H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 536

P r í k l a d 1 0

1-{2-[4-(7-Benzyloxy-6-metoxy-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 3 sa z 2,37 g (0,0044 mol) 1-{2-[4-(7-benzyloxy-2-bróm-6-metoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 1,35 g (0,011 mol) fenylborónovej kyseliny, 153 mg (0,13 mol) tetrakis(trifenylfosfín)paládia a 1,88 g (0,017 mol) uhličitanu sodného v 50 ml etanolu získa 1,38 g titulného produktu

NMR (CDCl₃) ppm: (1,83, bs, 4H), (2,70, m, 6H), (2,86, m, 2H), (2,96, m, 2H), (3,90, s, 3H), (4,14, t, 2H), (6,37, s, 1H), (6,65 - 7,30, m, 15H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 532

-P r í k l a d 1 1

3-Metoxy-7-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol

Zmes 1,38 g (0,0026 mol) 1-{2-[4-(7-benzyl-6-metoxy-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 1,46 g hydroxidu paládnateho na uhľiku, 4 ml 2M kyseliny chlorovodíkovej, 15 ml vody a 100 ml etanolu sa 36 hodín pri

50°C trepe v Parrovom zariadení za tlaku vodíka 206 843 Pa. Reakčná zmes sa prefiltruje, aby sa odstránil katalyzátor a z filtrátu sa odparí etanol. Hodnota pH sa 1M hydroxidom sodným upraví na 8 a vodná vrstva sa extrahuje etylacetátom. Etylacetátová vrstva sa vysuší a odparí. Získa sa 640 mg titulného produktu.

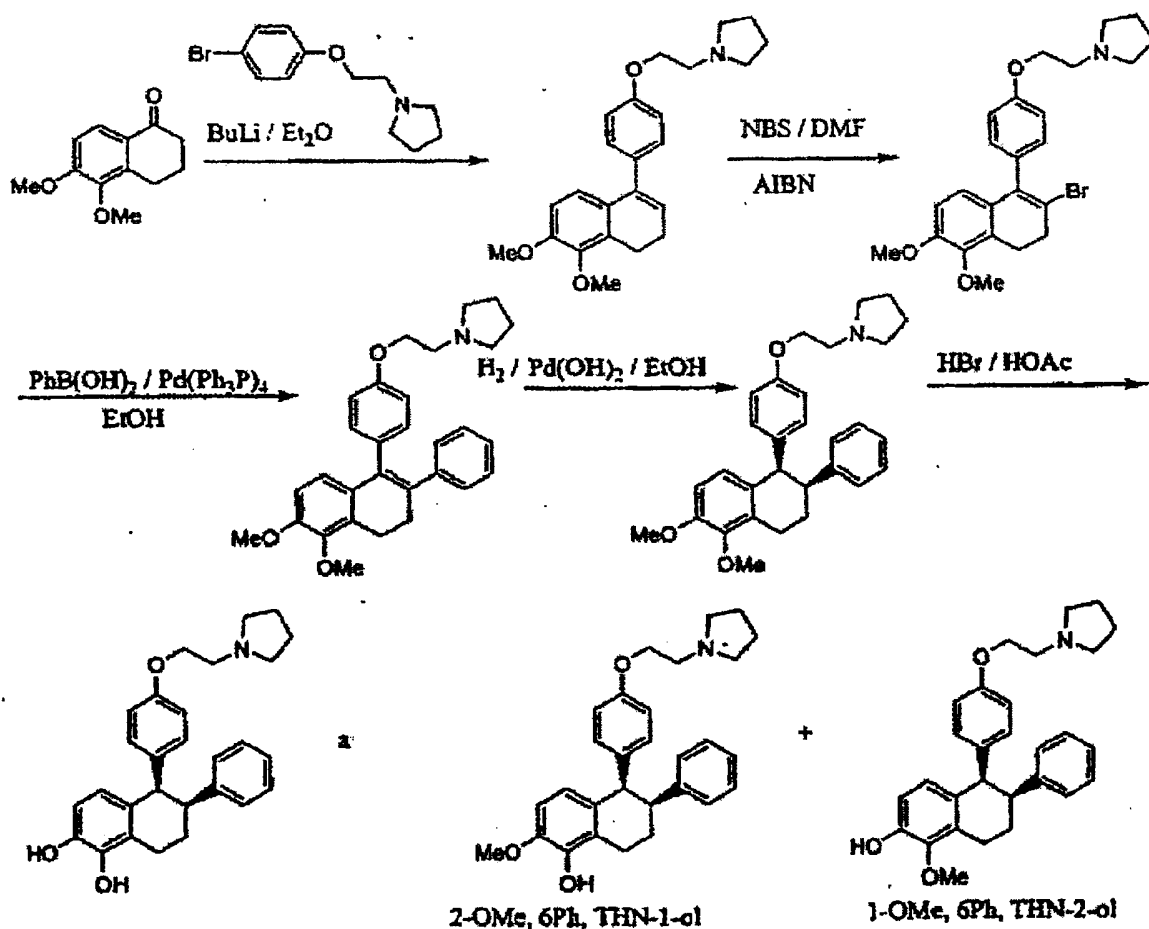
NMR (CDCl₃) ppm: (1,80, d, 1H), (1,95, bs, 4H), (2,10, m, 1H), (2,85 - 3,20, m, 7H), (3,30, d, 1H), (3,88, s, 3H), (4,14, t, 2H), (6,30, d, 2H), (6,43, s, 1H), (6,50, d, 2H), (6,68, s, 1H), (6,80, m, 2H), (7,18, m, 3H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 444

2-OMe, 1-OH metabolit a 3-OH, 2-OMe metabolit je možno syntetizovať spôsobom znázorneným v schémach 4 a 5.

3-Metoxy-6-fenyltetrahydronaftalen-2-olový metabolit je možno syntetizovať spôsobom znázorneným v schéme 5.

S c h é m a 3



P r í k l a d 1 2

1-{2-[4-(5,6-Dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 1 sa z 10 g (0,048 mol) 5,6-dimetoxytetralónu, 33,4 ml 1,6M n-butyllítia v hexáne a 13,5 g 1-(2-(4-brómfenoxy)etyl)pyrrolidínu získa 6,5 g titulného produktu.

NMR (CDCl₃) ppm: (1,90, bs, 4H), (2,31, m, 2H), (2,87, t, 2H), (2,90, bs, 4H), (3,10, bs, 2H), (3,78, s, 3H), (3,82, s, 3H), (4,28, brs, 2H), (5,90, s, 1H), (6,63, d, 1H), (6,70, d, 1H), (6,90, d, 2H), (7,22, d, 2H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 379,8

Východzia látka: 5,6-dimetoxytetralón (vid' Organic Process Research & Development, 1999, 3, 71 až 72)

P r í k l a d 1 3

1-{2-[4-(2-Bróm-5,6-dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 2 sa z 5,33 g (0,14 mol) 1-{2-[4-(5,6-dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 2,5 g (0,014 mol) N-brómsukcínamidu a 230 mg azodiizobutyronitrilu v 50 ml dimetylformamidu získa 6,25 g titulného produktu.

NMR (CDCl₃) ppm: (1,96, bs, 4H), (2,90, m, 6H), (3,05, t, 2H), (3,15, t, 2H), (3,80, s, 6H), (4,30, t, 2H), (6,35, d, 1H), (6,53, d, 1H), (6,95, d, 2H), (7,10, d, 2H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 5458

P r í k l a d 1 4

1-{2-[4-(5,6-Dimetoxy-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 3 sa z 6,25 g (0,0136 mol) 1-{2-[4-(2-bróm-5,6-dimetoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 4,16 g (0,034 mol) fenylborónovej kyseliny, 472 mg (0,41 mmol) tetrakis(trifenylfosfín)paládia a

5,78 g (0,054 mol) uhličitanu sodného v 200 ml etanolu získa 6,3 g titulného produktu

NMR (CDCl₃) ppm: (1,80, bs, 4H), (2,65, bs, 4H), (2,73, t, 2H), (2,90, t, 2H), (3,00, t, 2H), (3,83, s, 6H), (4,08, t, 2H), (6,53, d, 1H), (6,60, d, 1H), (6,74, d, 2H), (6,95, d, 2H), (7,05, m, 5H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 456

P r í k l a d 1 5

1-{2-[4-(5,6-Dimetoxy-2-fenyl-1,2,3,4-tetrahydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 4 sa z 6,3 g (0,0138 mol) 1-{2-[4-(5,6-dimetoxy-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 7,7 g (0,055 mol) hydroxidu paládnatého na uhľiku, 5 ml 2M kyseliny chlorovodíkovej a 10 ml vody v 100 ml etanolu získa 5,06 g titulného produktu.

NMR (acetón-d₆) ppm: (1,95, bs, 4H), (2,70, m, 1H), 2,85, bs, 4H), (2,95, m, 1H), (3,20, bs, 2H), (3,38, bs, 2H), (3,78, s, 3H), (3,82 (s, 3H), (4,40, bs, 2H), (6,43, d, 1H), (6,74, d, 1H), (6,85 - 7,15, m, - 7H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 458

P r í k l a d 1 6

6-Fenyl-5-[4-(2-Pyrrolidin-1-yletoxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-1,2-diol a zmes 2-metoxy-6-fenyl-5-[4-(2-

pyrrolidin-1-yloxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-1-olu a
1-metoxy-6-metyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)
fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu

Spôsobom popísaným v príklade 5 sa z 2,3 g (0,005 mol)
1-{2-[4-(5,6-dimetoxi-2-fenyl-1,2,3,4-tetrahydronaftalen-1-
yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 80 ml kyseliny octovej a 80 ml 48%
vodnej kyseliny bromovodíkovej získa 650 mg zmesi 2-metoxy-6-
fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy) fenyl]-5,6,7,8-
tetrahydronaftalen-1-olu a 1-metoxy-6-metyl-5[4-(2-pyrrolidin-
1-yloxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu

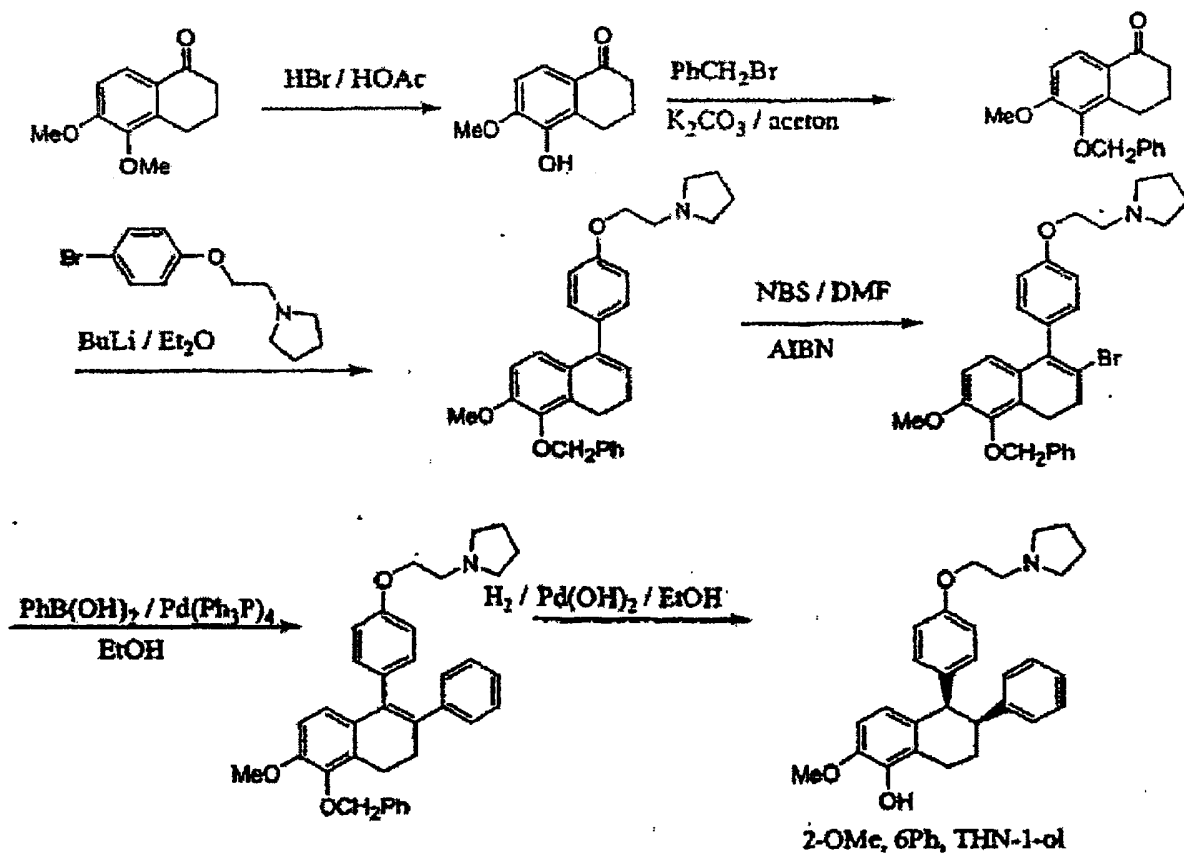
NMR (CDCl₃) ppm: (1,88, bs, 6H), (2,10, m, 1H), (2,84, bs, 1H),
(3,00, bs, 2H), (3,25, dt, 1H), (3,35, d, 2H), 3,85 (s, 3H),
(4,10, bs, 2H), (4,25, d, 1H), (6,25 - 6,88, m, 8H), (7,15, m,
3H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 444

a 140 mg 6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy) fenyl]-5,6,7,8-
tetrahydronaftalen-1,2-diolu.

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 430

S c h é m a 4



P r í k l a d 17

5-hydroxy-6-metoxy-1-tetralón

Spôsobom popísaným v príklade 6 sa z 10 g (0,048 mol) 5,6-dimetoxy-1-tetralónu, 100 ml kyseliny octovej a 100 ml 48% vodnej kyseliny bromovodíkovej získa 7 g titulného produktu o teplote topenia 163°C .

NMR (CDCl_3) ppm: (2,09, m, 2H), (2,67, t, 2H), (2,90, t, 2H), (3,92, s, 3H), (5,70, bs, 1H), (6,80, d, 1H), (7,68, d, 1H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 193

Východzia látka: 5,6-dimetoxytetralón (viď Organic Process Research & Development, 1999, 3, 71 až 72)

P r í k l a d 1 8

5-Benzyloxy-6-metoxy-3,4-dihydro-2H-naftalen-1-ón

Spôsobom popísaným v príklade 7 sa z 4,5 g (0,024 mol) 5-hydroxy-6-metoxy-1-tetralónu, 5,4 g (0,031 mol) benzylbromidu a 10 g (0,072 mol) uhličitanu draselného v 100 ml acetónu získa titulný produkt (5,13 g) vo forme bielej pevnej látky o teplote topenia 90°C (po kryštalizácii z dietyléteru).

NMR (CDCl₃) ppm: (2,10, m, 2H), (2,55, t, 2H), (2,88, t, 2H), (3,88, s, 3H), (5,11, s, 2H), (6,63, s, 1H), (7,20-7,45, m, 5H), (7,60 s, 1H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 283

P r í k l a d 1 9

1-{2-[4-(5-Benzyloxy-6-metoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxi]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 1 sa z 10 g (0,3555 mol) 5-benzyloxy-6-metoxy-3,4-dihydro-2H-naftalen-1-ónu, 9,88 g (0,366 mol) 1-(2-(4-brómfenoxi)etyl)pyrrolidínu a 13,63 ml 1,6M n-butyllítia v hexáne získa 4,3 g titulného produktu.

NMR (CDCl₃) ppm: (1,90, bs, 4H), (2,20, m, 2H), (2,78, t, 2H), (2,90, bs, 2H), (3,10, bs, 1H), (3,84, s, 3H), (4,26, t, 2H), (4,98, s, 2H), (5,86, t, 1H), (6,65, d, 1H), (6,74, d, H), (6,88, d, 2H), (7,25, d, 2H), (7,28 - 7,50, m, 5H)

P r í k l a d 2 0

1-{2-[4-(5-Benzyloxy-2-bróm-6-metoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 2 sa z 4,3 g (0,0094 mol) 1-{2-[4-(5-benzyloxy-6-metoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 1,68 g (0,0094 mol) N-brómsukcínamidu a 156 mg azodiizobutyronitrilu v 50 ml dimetylformamidu získajú 4 g titulného produktu.

NMR (CDCl₃) ppm: (1,95, bs, 4H), (2,75, t, 2H), (2,90, t, 2H), (3,00, bs, 4H), (3,10, bs, 2H), (3,80, s, 3H), (4,33, s, 2H), (6,35, d, 1H), (6,57, d, 1H), (6,93, d, 2H), (7,15 -7,30 (m, 5H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 536

P r í k l a d 2 1

1-{2-[4-(5-Benzyloxy-6-metoxy-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidín

Spôsobom popísaným v príklade 3 sa zo 4,0 g (0,0075 mol) 1-{2-[4-(5-benzyloxy-2-bróm-6-metoxy-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl}pyrrolidínu, 2,28 g (0,186 mol) fenylborónovej kyseliny, 259 mg (0,224 mmol) tetrakis(trifenylfosfín)paládia, 3,7 g (0,03 mol) uhličitanu sodného v 150 ml etanolu získa 3,2 g titulného produktu.

NMR (CDCl₃) ppm: (1,84, bs, 4H), 2,83 (m, 2H), (2,74, m, 4H), (2,95, m, 4H), (3,84, s, 3H), (4,10, t, 2H), (5,03, s, 2H),

(6,55, d, 1H), (6,65, d, 1H), (6,75, d, 2H), (6,90- 7,50, m, 12H)

Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 532

P r í k l a d 2 2

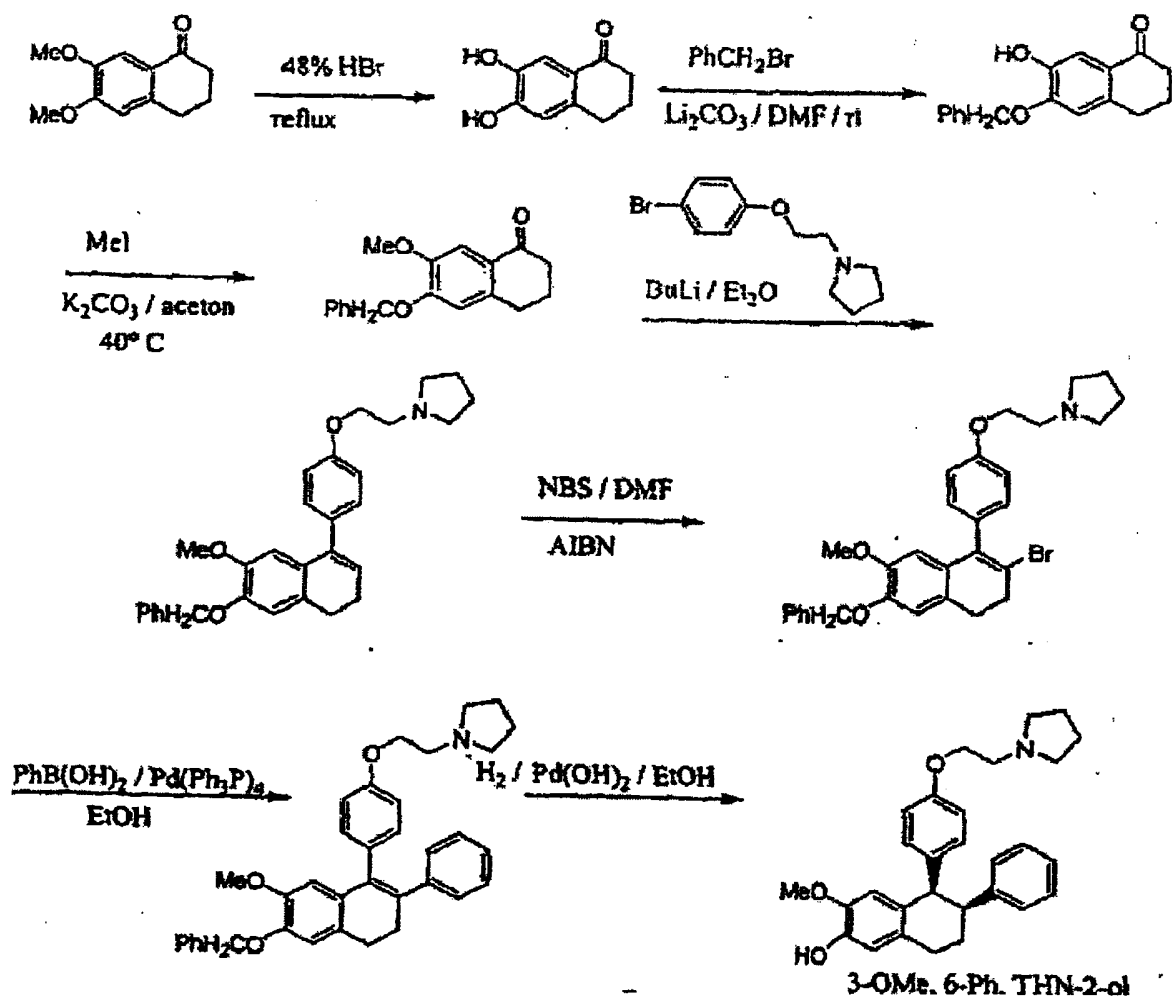
2-Metoxý-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidín-1-yletoxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-1-ol

Spôsobom popísaným v príklade 11 sa z 3,2 g (0,007 mol) 1-(2-[4-(5-benzyloxy-6-metoxý-2-fenyl-3,4-dihydronaftalen-1-yl)fenoxy]etyl)pyrrolidínu, 3,4 g hydroxidu paládnatého na uhlíku, 10 ml 2M kyseliny chlorovodíkovej, 30 ml vody a 100 ml etanolu získa 2,2 g produktu.

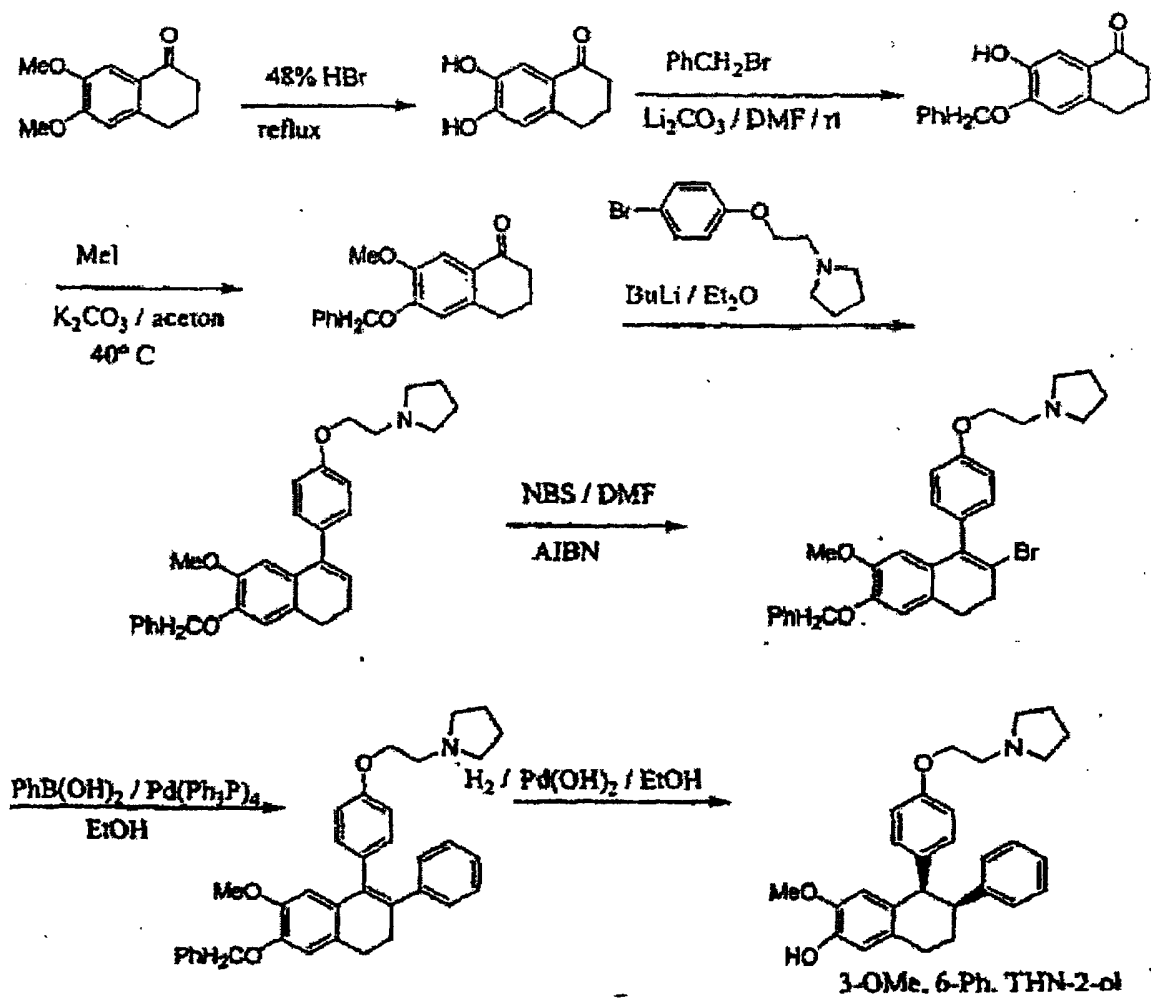
Hmotnostné spektrum: (rodičovský+1): 444

1-Metoxý-6-fenyltetrahydronaftalen-2-olový metabolit je možno syntetizovať spôsobom znázorneným v schéme 6.

S c h é m a 5

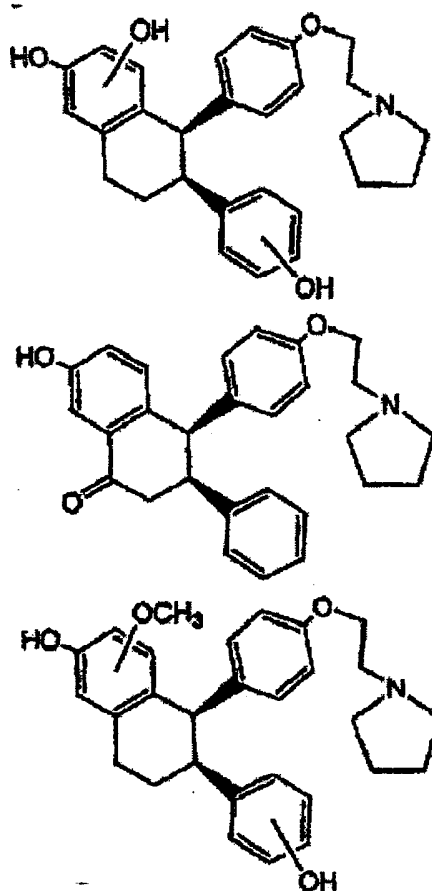


S c h é m a 6



P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Metabolit (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu zvolený zo súboru zostávajúceho zo zlúčenín vzorca

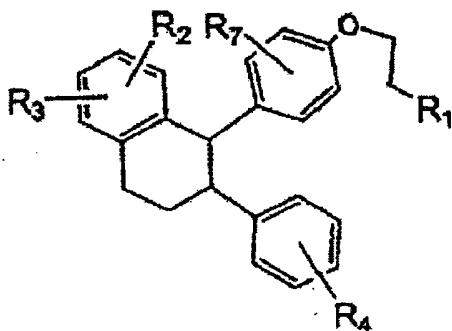


a ich stereoizomérov, tautomérov, regioizomérov a konfiguračných izomérov; a ich farmaceuticky vhodných solí.

2. Zlúčeniny podľa nároku 1 pre použitie pre liečenie choroby zvolenej zo súboru zostávajúceho z osteoporózy, rakoviny prsníka, hyperlipidémie, aterosklerózy, Alzheimerovej choroby, katarakty, straty libida, sexuálnych dysfunkcií u samcov, rakoviny hrubého čreva, kožných vrások, autoimunitných

chorôb, alopécie, akné, kardiovaskulárnych chorôb, katarakty, diabetes, endometriózy, sexuálnych dysfunkcií u samíc, hyperglykémie, obezity, obsedantnej kompulzívnej poruchy, premenstruačného syndrómu, karcinómu prostaty, benígnej hyperplázie prostaty, pulmonárnej hypertenzie, reperfúzneho poškodenia, reumatoidnej artritídy, osteoartritídy, seborey, senilnej gynekomastie, deficiencie testosterónu a stavov rezpozívnych na zvýšenie testosterónu, Turnerovho syndrómu, fibrózy maternice, atrofickej vaginitídy, inkontinencie, rakoviny maternice, hirsutizmu, bulímie, anorexie, hypoaktívnej sexuálnej túžby, poruchy sexuálnej excitácie, dyspareunie, prolapsu, infekcií močových ciest, mŕtvice, infarktu myokardu, akútneho alebo chronického zlyhania obličiek, oklúzne choroby periférnych artérií Raynaudovho fenoménu, rakoviny vaječníkov, pečene, požalúdkovej žlazy a desmoidnej rakoviny, gliómu a karcinómu renálnych buniek alebo pre podporu hojenia rán, zvyšovanie frekvencie orgazmu alebo znižovanie vaginálneho pH.

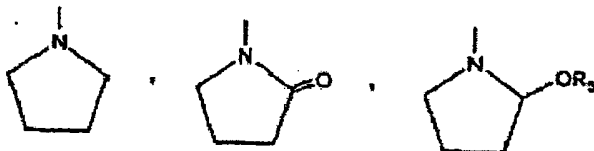
3. Použitie metabolitov (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu obecného vzorca I



(I)

kde

R_1 predstavuje skupinu vzorca



alebo $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{COR}_6$;

R_5 predstavuje vodík alebo CH_3 ;

R_2 , R_3 , R_4 a R_7 , ktoré sú rovnaké alebo rôzne, sú zvolené zo súboru zostávajúceho z vodíka a OR_5 ; a

R_6 predstavuje skupinu $-\text{OH}$ alebo skupinu $-\text{NHCH}_2\text{COOH}$,

pričom:

a) pokiaľ R_1 predstavuje skupinu vzorca



alebo $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ a

b) R_2 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 a R_3 a R_7 predstavujú vodík, alebo pokiaľ R_1 má význam uvedený v odseku a) a

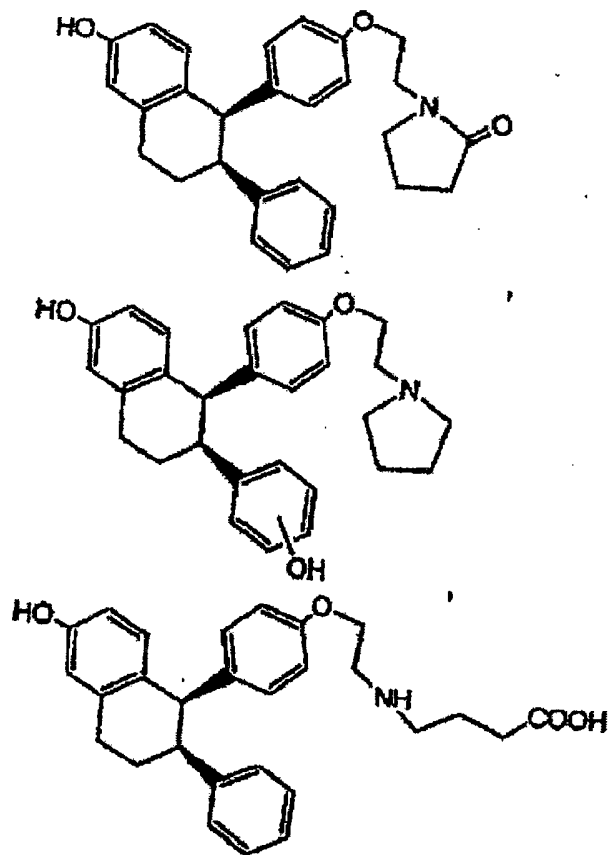
c) R_2 a R_7 predstavujú vodík a R_3 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 ,

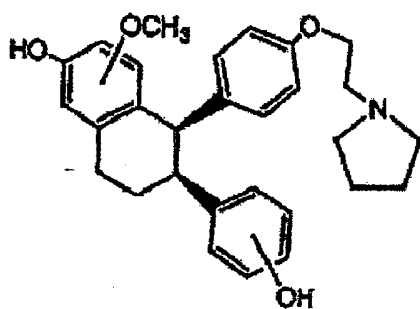
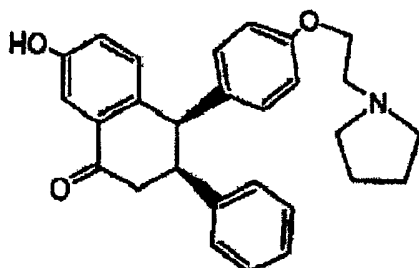
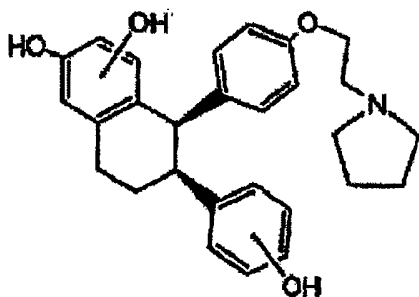
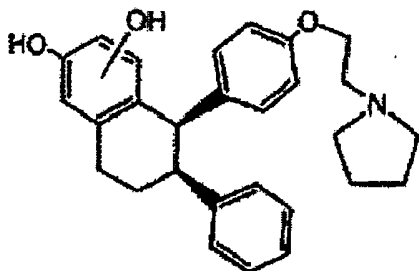
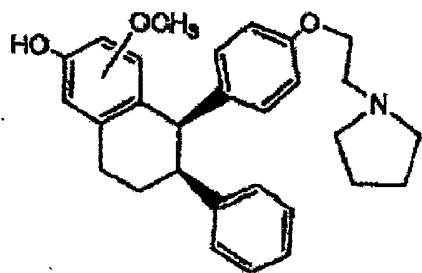
potom R_4 nepredstavuje vodík;

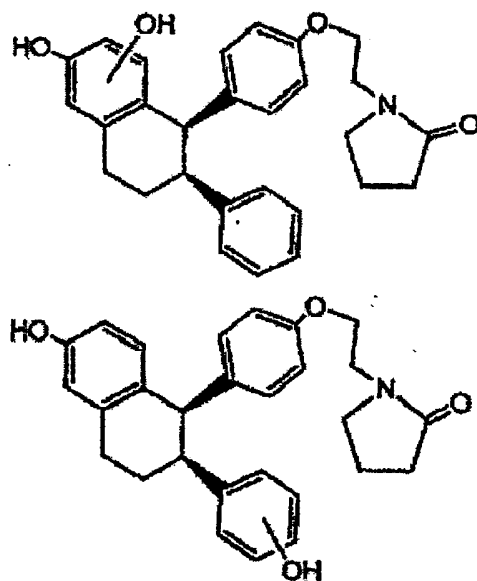
a ich optických izomérov, stereoizomérov, regioizomérov alebo konfiguračných alebo geometrických izomérov alebo tautomérov, alebo ich farmaceuticky vhodných solí

pre výrobu liečiva pre liečenie chorôb zvolených zo súboru zostávajúceho z osteoporózy, rakoviny prsníka, hyperlipidémie, aterosklerózy, Alzheimerovej choroby, katarakty, straty libida, sexuálnych dysfunkcií u samcov, rakoviny hrubého čreva, kožných vrások, autoimunitných chorôb, alopecie, akné, kardiovaskulárnych chorôb, katarakty, diabetes, endometriózy, sexuálnych dysfunkcií u samíc, hyperglykémie, obezity, obsedantnej kompulzívnej poruchy, premenstruačného syndrómu, karcinómu prostaty, benígnej hyperplázie prostaty, pulmonárnej hypertenzie, reperfúzneho poškodenia, reumatoidnej artritídy, osteoartritídy, seborey, senilnej gynekomastie, deficiencie testosterónu a stavov responzívnych na zvýšenie testosterónu, Turnerovho syndrómu, fibrózy maternice, atrofickej vaginitídy, inkontinencie, rakoviny maternice, hirsutizmu, bulímie, anorexie, hypoaktívnej sexuálnej túžby, poruchy sexuálnej excitácie, dyspareunie, prolapsu, infekcií močových ciest, mŕtvice, infarktu myokardu, akútneho alebo chronického zlyhania obličiek, oklúzne choroby periférnych artérií Raynaudovho fenoménu, rakoviny vaječníkov, pečene, požalúdkovej žlazy a desmoidnej rakoviny, gliómu a karcinómu renálnych buniek alebo pre podporu hojenia rán, zvyšovanie frekvencie orgazmu alebo znižovanie vaginálneho pH.

4. Použitie podľa nároku 2, kde metabolitom je zlúčenina zvolená zo súboru zostávajúceho zo zlúčenín vzorca

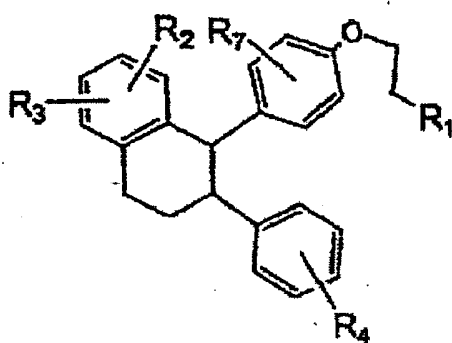






a ich stereoizomérov, tautomérov, regioizomérov a konfiguračných izomérov, a ich farmaceuticky vhodných solí.

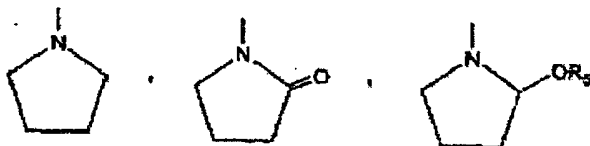
5. Farmaceutická kompozícia, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje metabolit (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu obecného vzorca I



(I)

kde

R₁ predstavuje skupinu vzorca



alebo $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{COR}_6$;

R_5 predstavuje vodík alebo CH_3 ;

R_2 , R_3 , R_4 a R_7 , ktoré sú rovnaké alebo rôzne, sú zvolené zo súboru zostávajúceho z vodíka a OR_5 ; a

R_6 predstavuje skupinu $-\text{OH}$ alebo skupinu $-\text{NHCH}_2\text{COOH}$,

pričom:

a) pokiaľ R_1 predstavuje skupinu vzorca



alebo $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ a

b) R_2 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 a R_3 a R_7 predstavujú vodík, alebo pokiaľ R_1 má význam uvedený v odseku

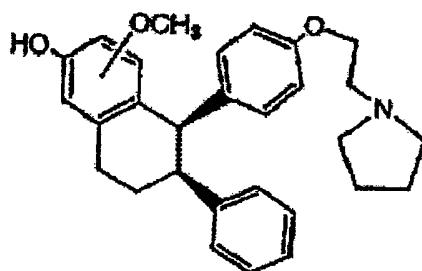
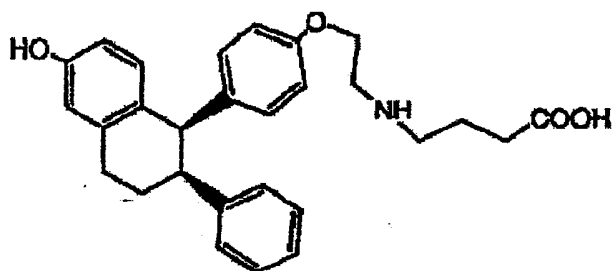
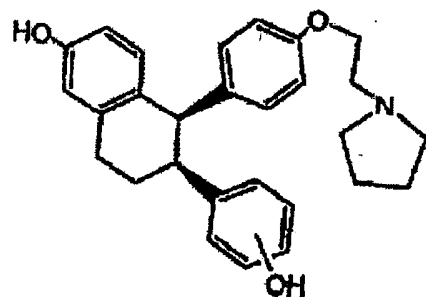
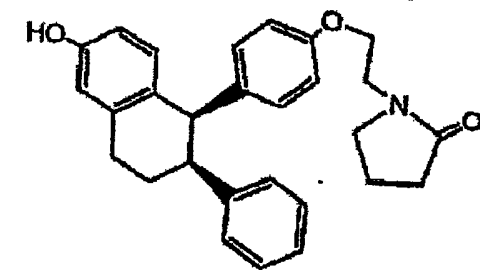
a) a

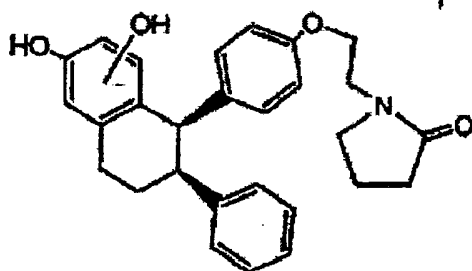
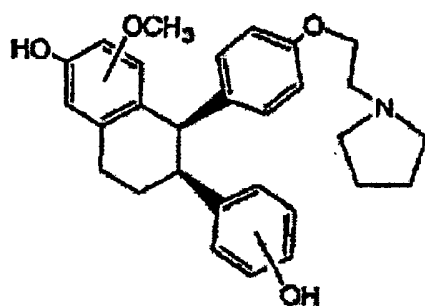
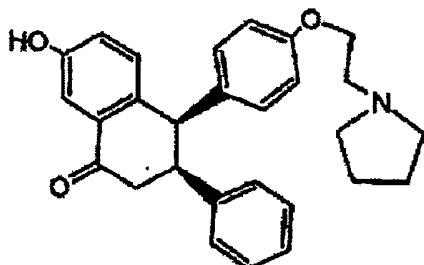
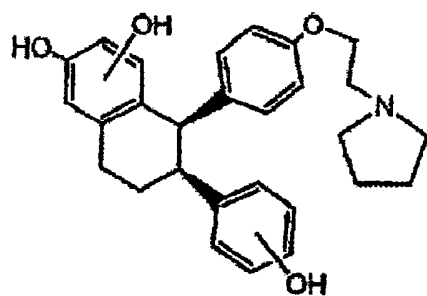
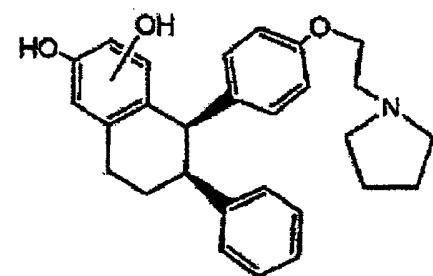
c) R_2 a R_7 predstavujú vodík a R_3 predstavuje skupinu OH alebo OCH_3 ,

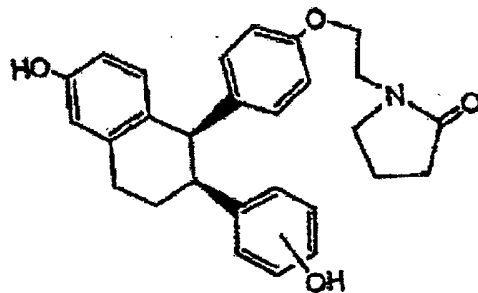
potom R_4 nepredstavuje vodík;

alebo jeho optický izomér, stereoizomér, regioizomér alebo konfiguračný alebo geometrický izomér alebo tautomér, alebo jeho farmaceuticky vhodnú soľ a farmaceuticky vhodný nosič, vehikulum alebo riedidlo.

6. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 4, v y z n a -
č u j ú c a s a t ý m , že obsahuje metabolit (-)-cis-6-
fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy) fenyl]-5,6,7,8-
tetrahydronaftalen-2-olu zvolený zo súboru zostávajúceho zo
zlúčenín vzorca

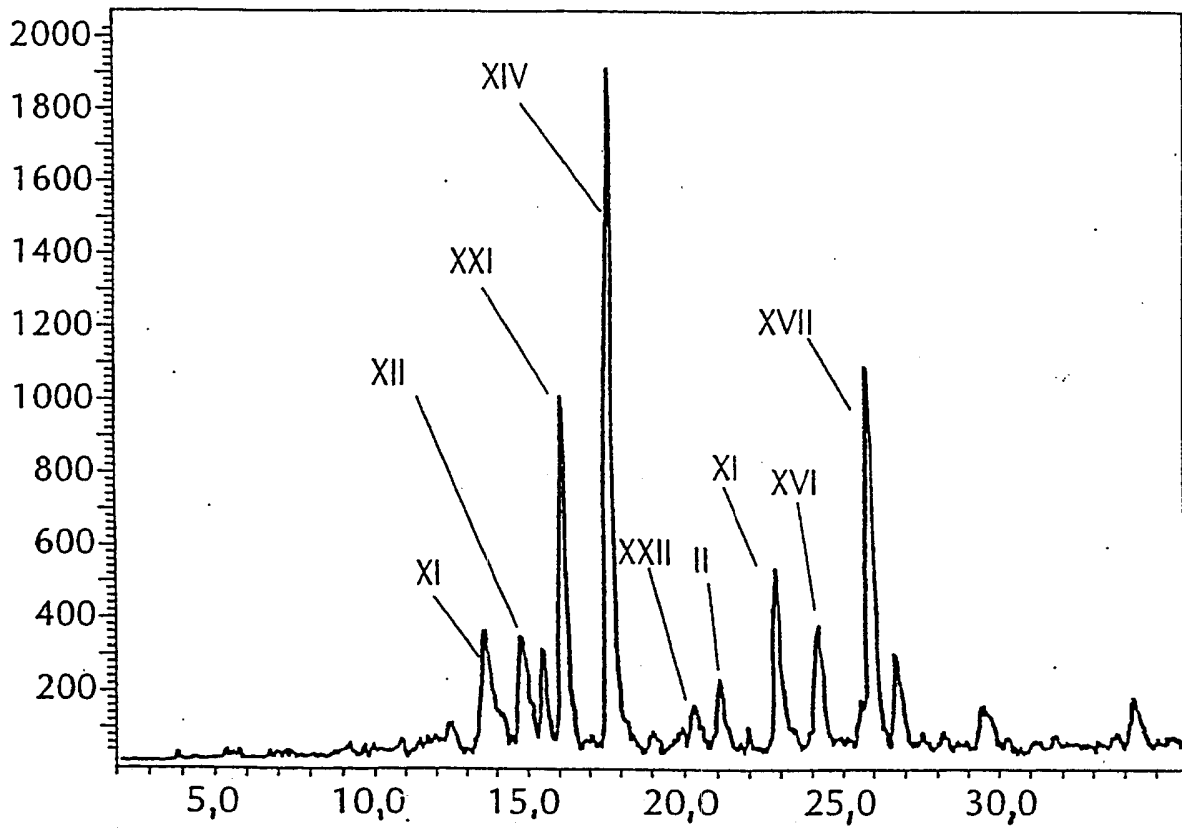




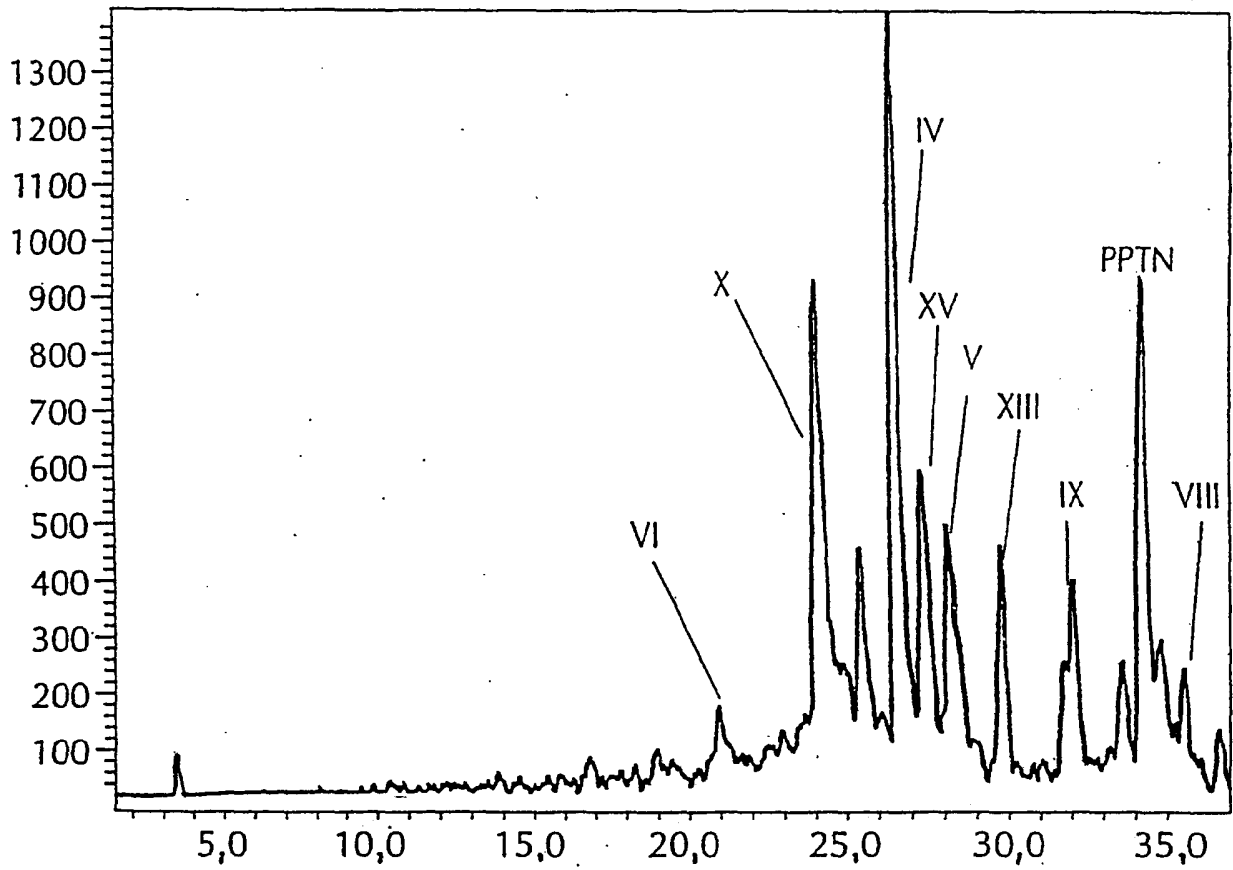


a ich stereoizomérov, tautomérov, regioizomérov a konfiguračných izomérov, a ich farmaceuticky vhodných solí.

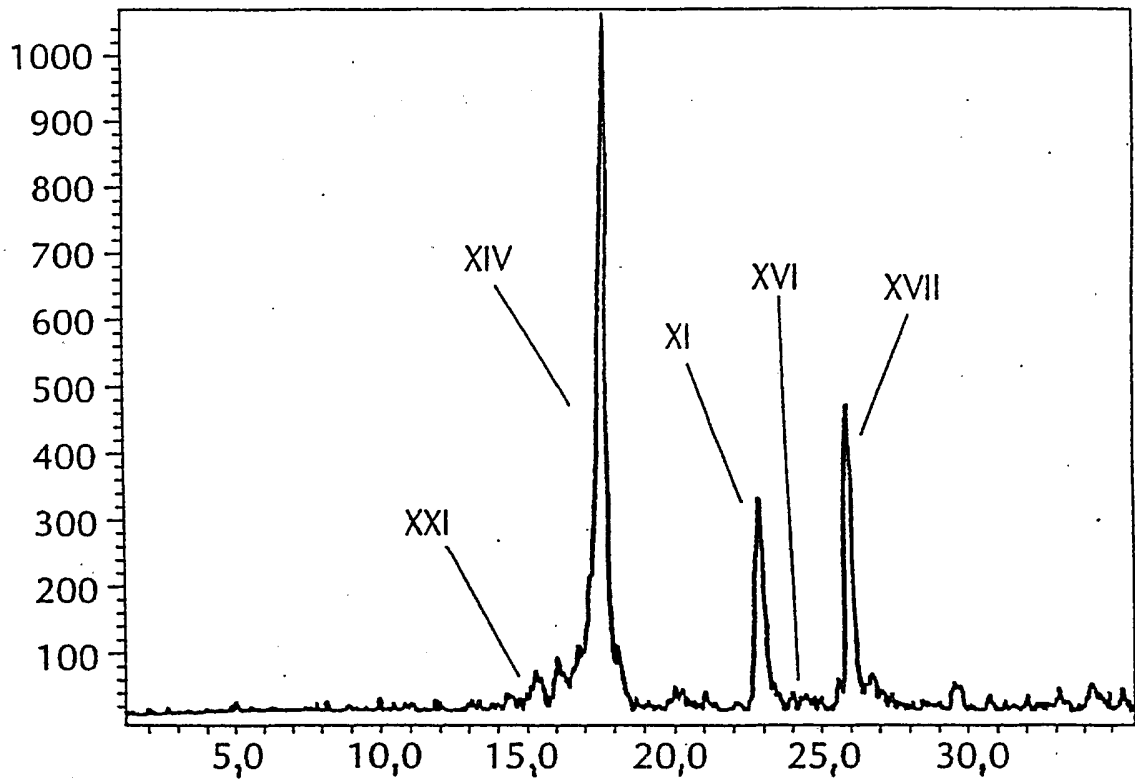
01-2657-02-Ma



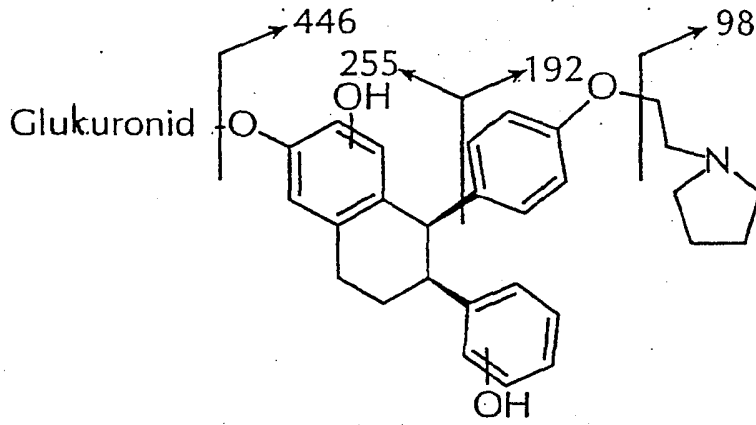
Obr. 1



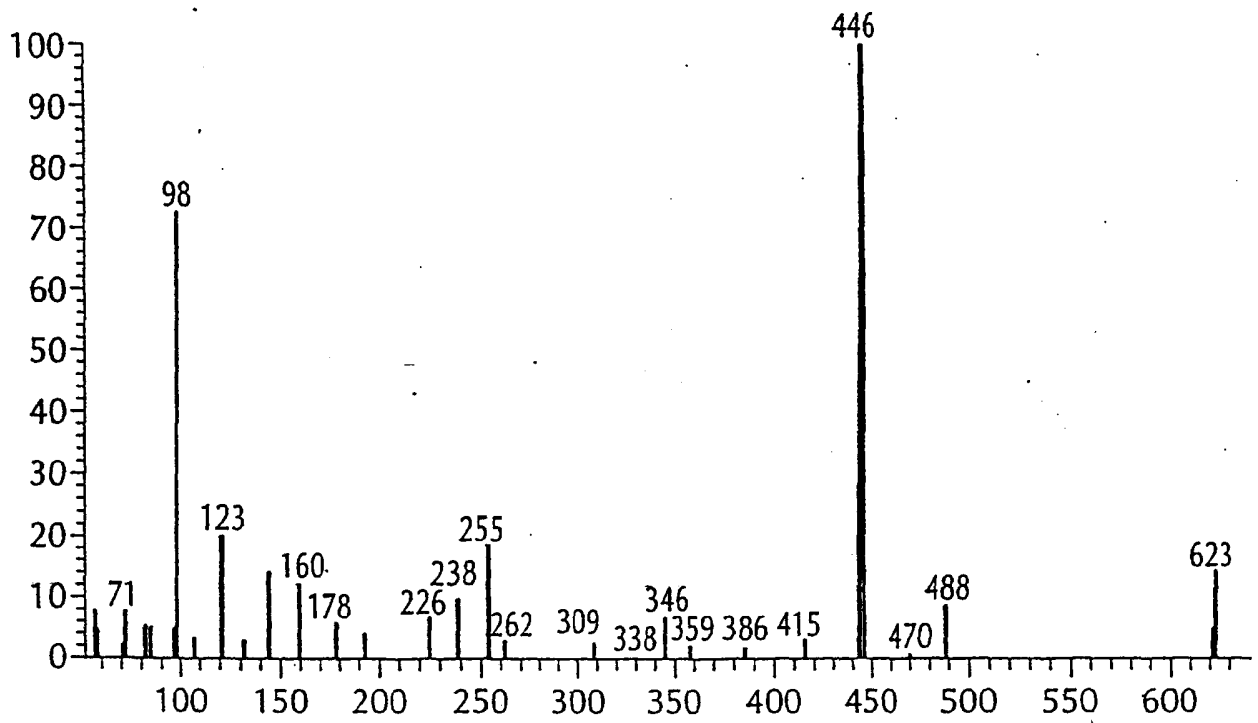
Obr. 2



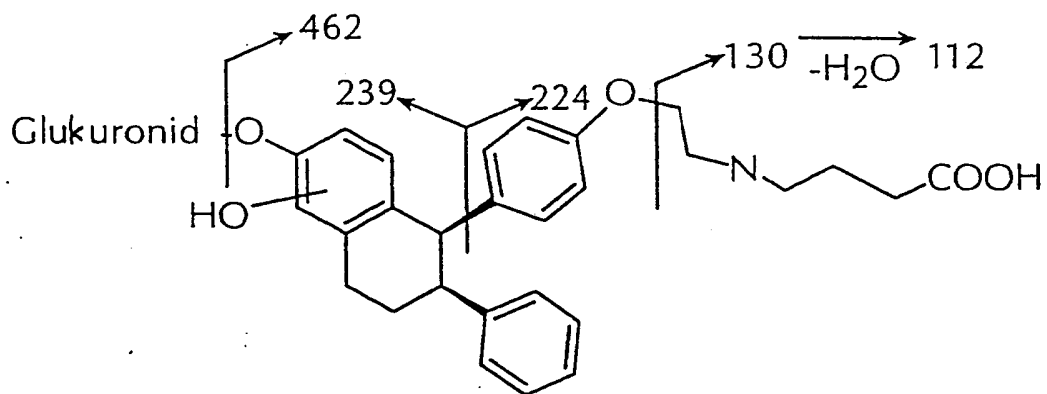
Obr. 3



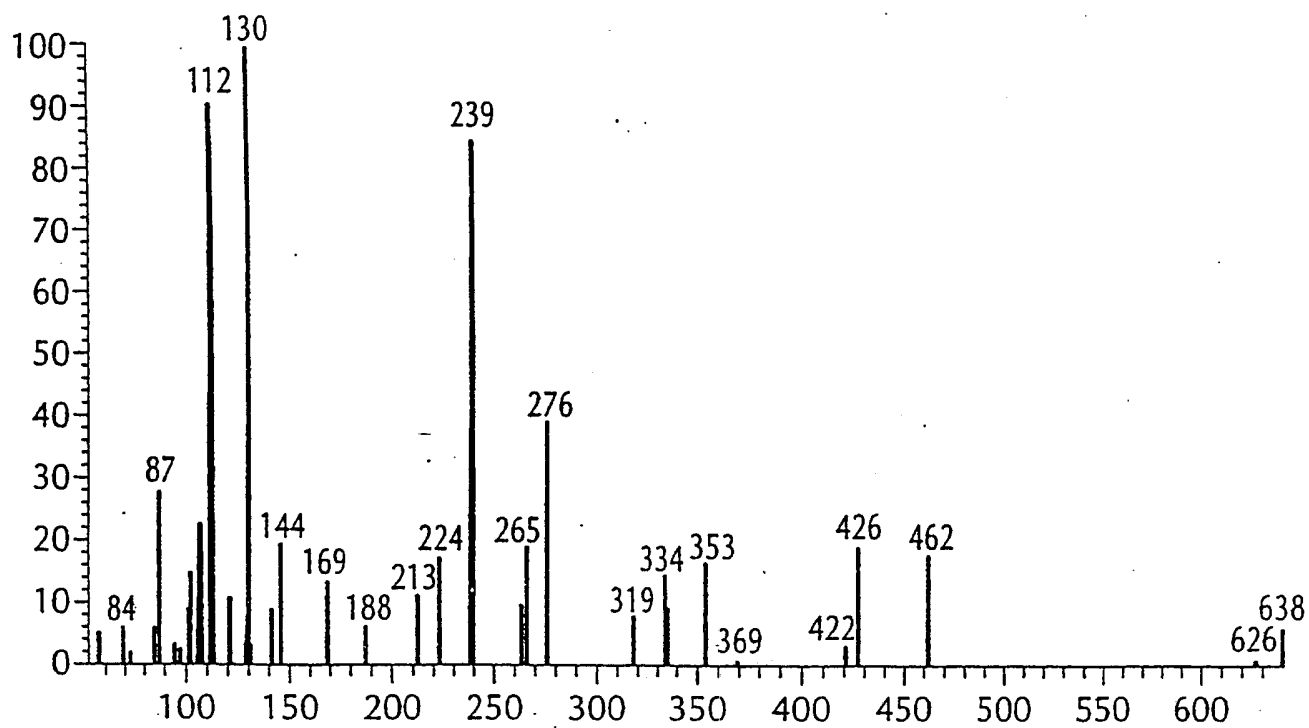
Obr. 4A



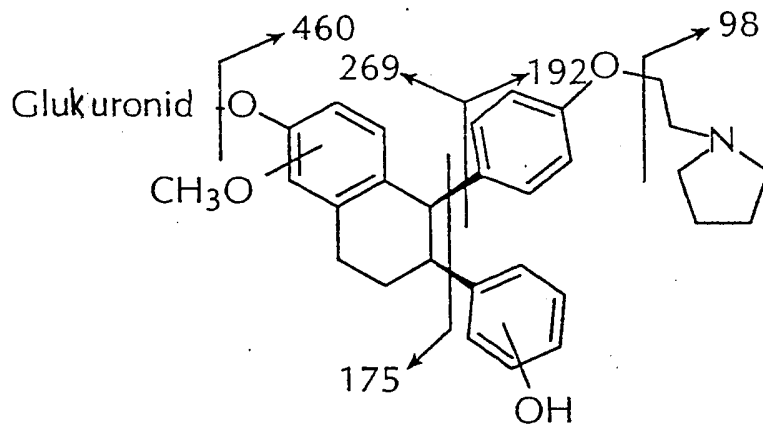
Obr. 4B



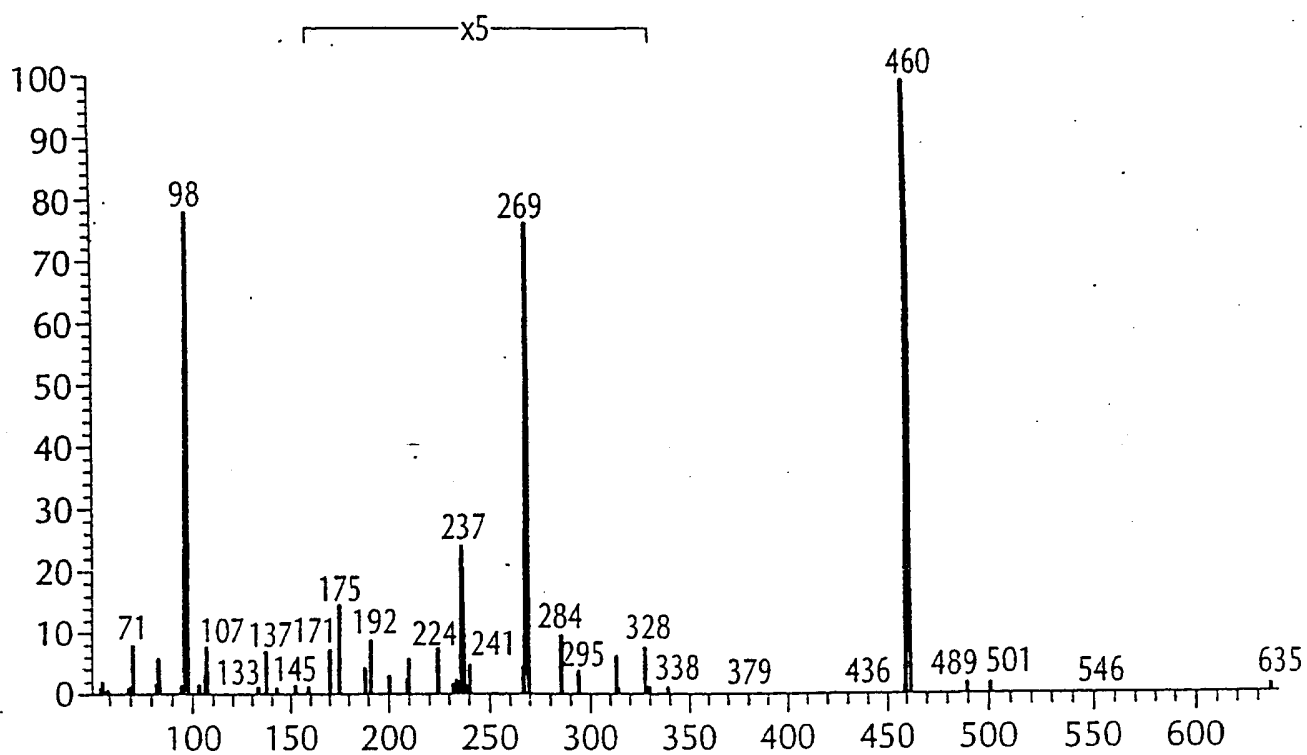
obr. 5A



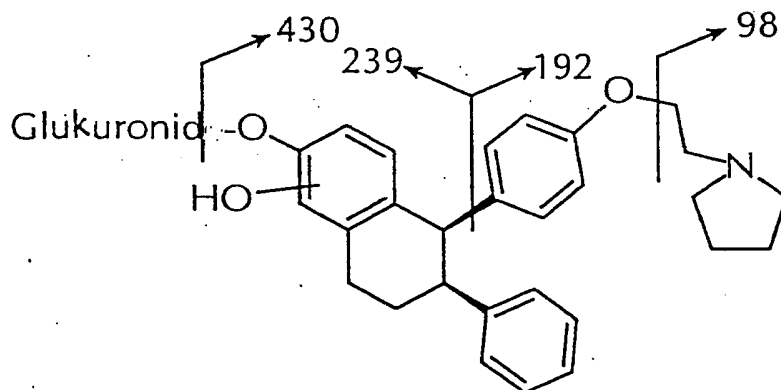
obr. 5B



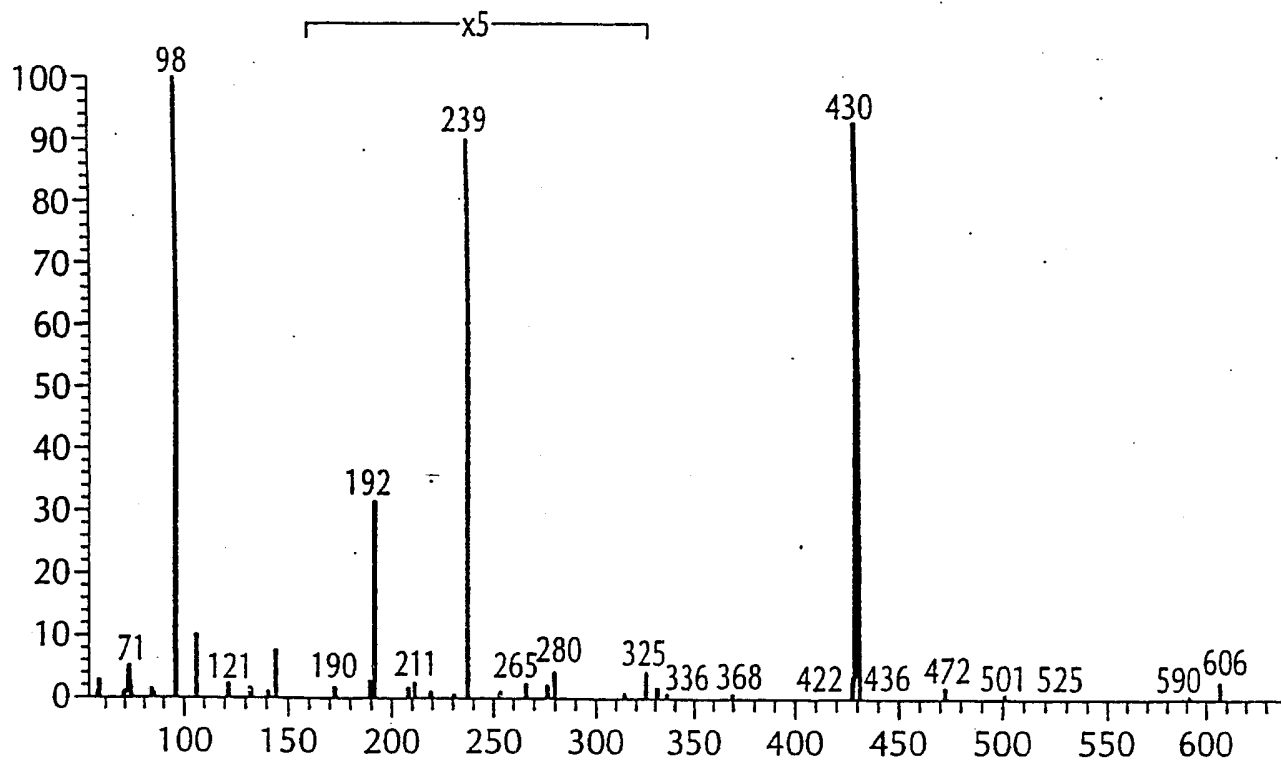
Obr. 6A



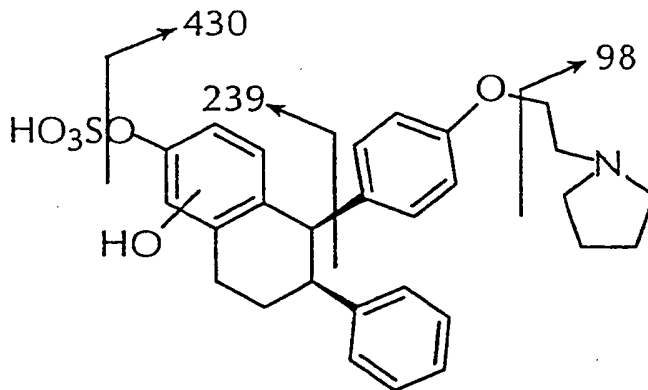
Obr. 6B



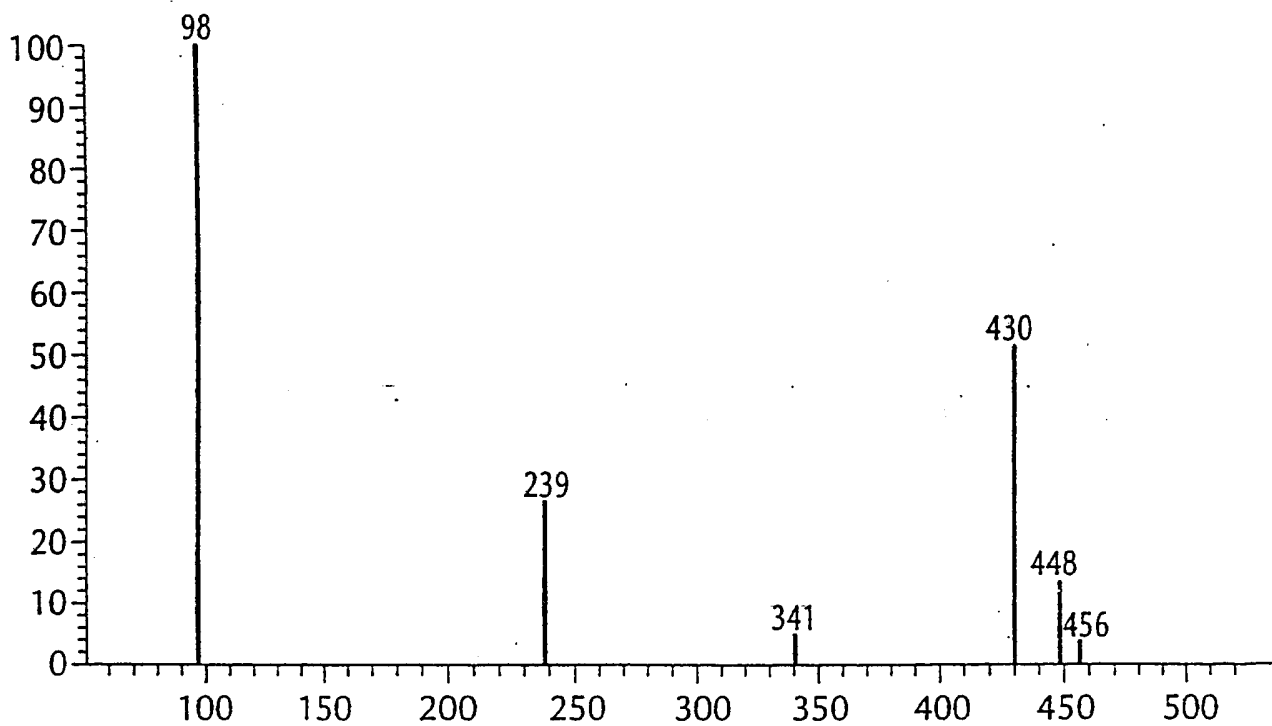
Obr. 7A



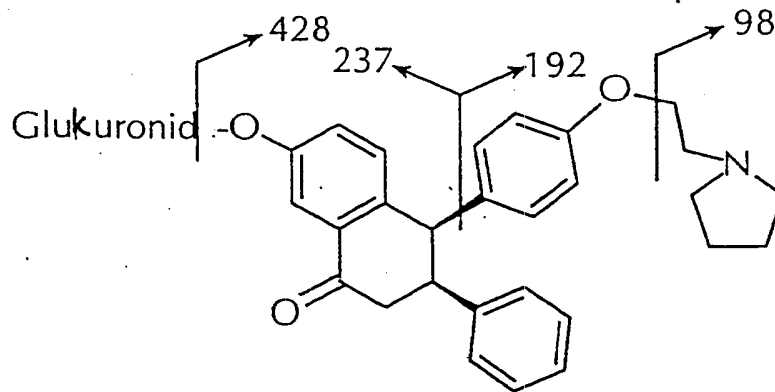
Obr. 7B



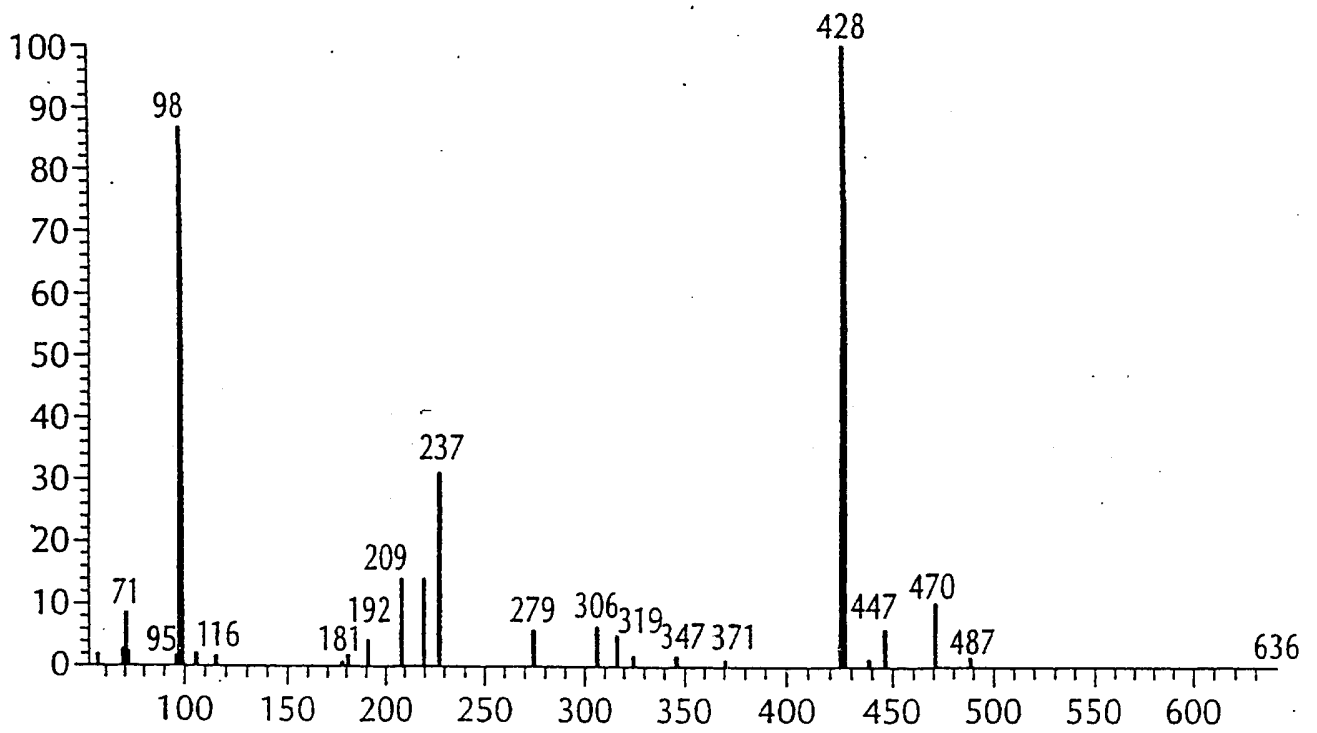
Obr. 8A



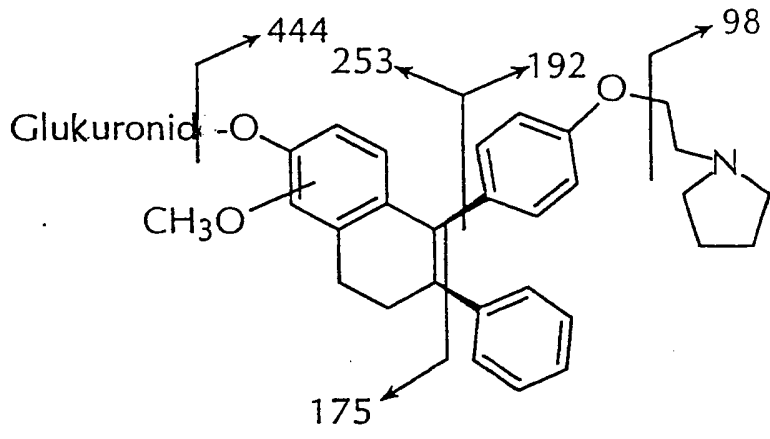
Obr. 8B



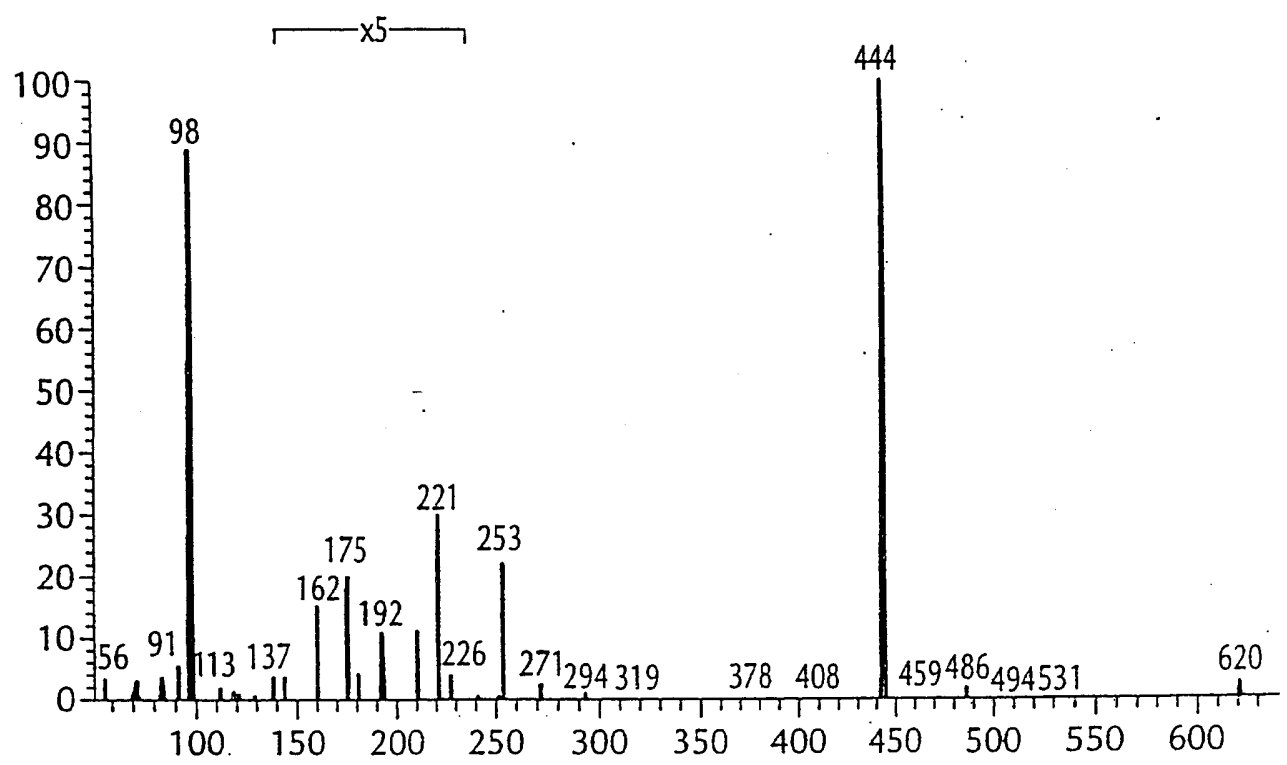
obr. 9A



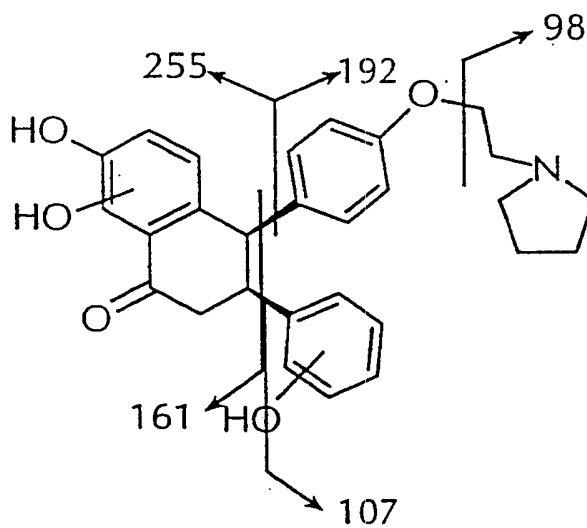
obr. 9B



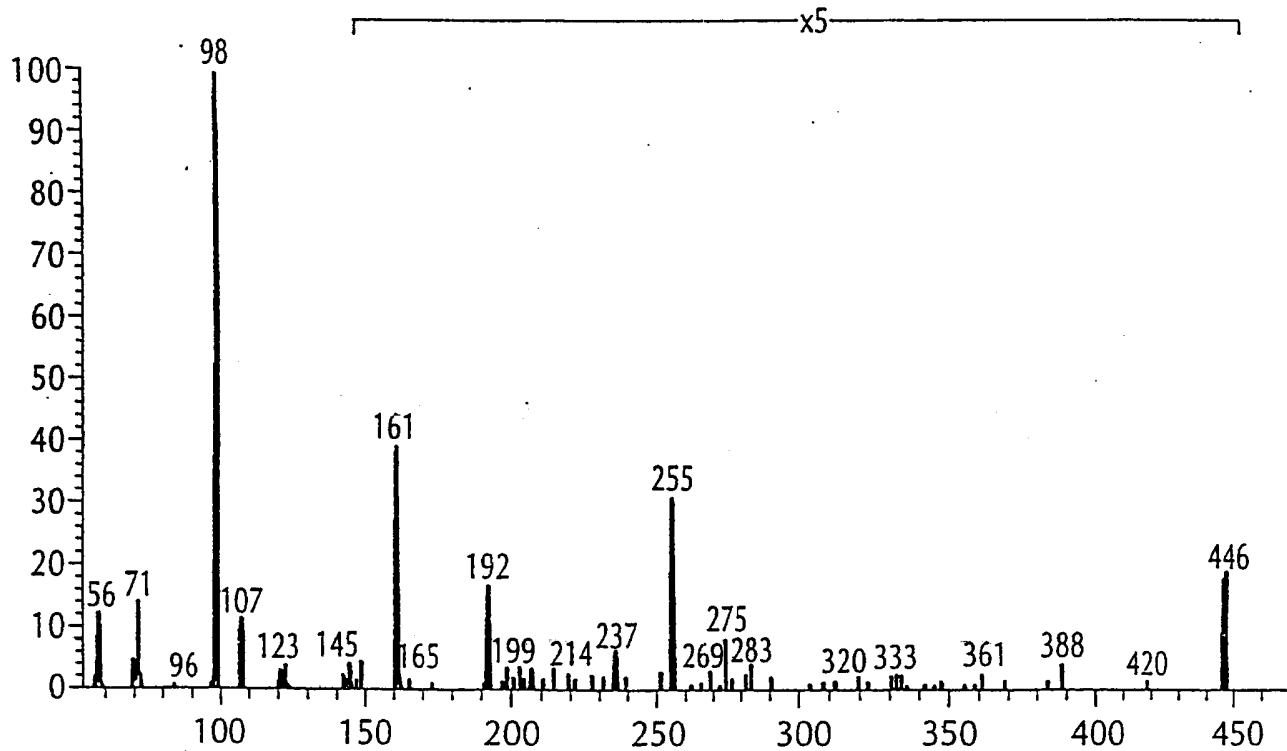
Obr. 10A



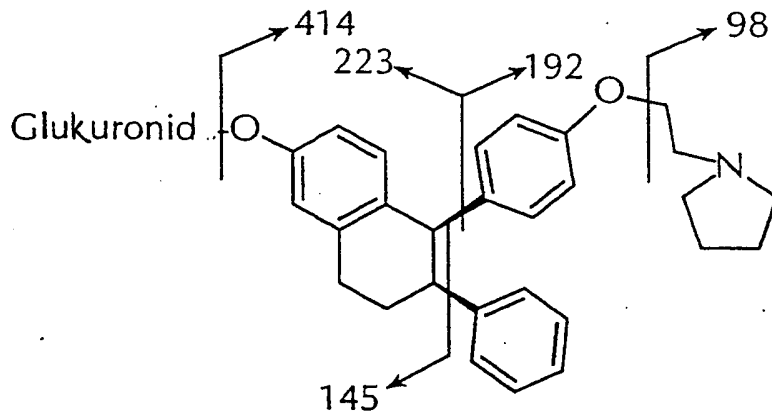
Obr. 10B



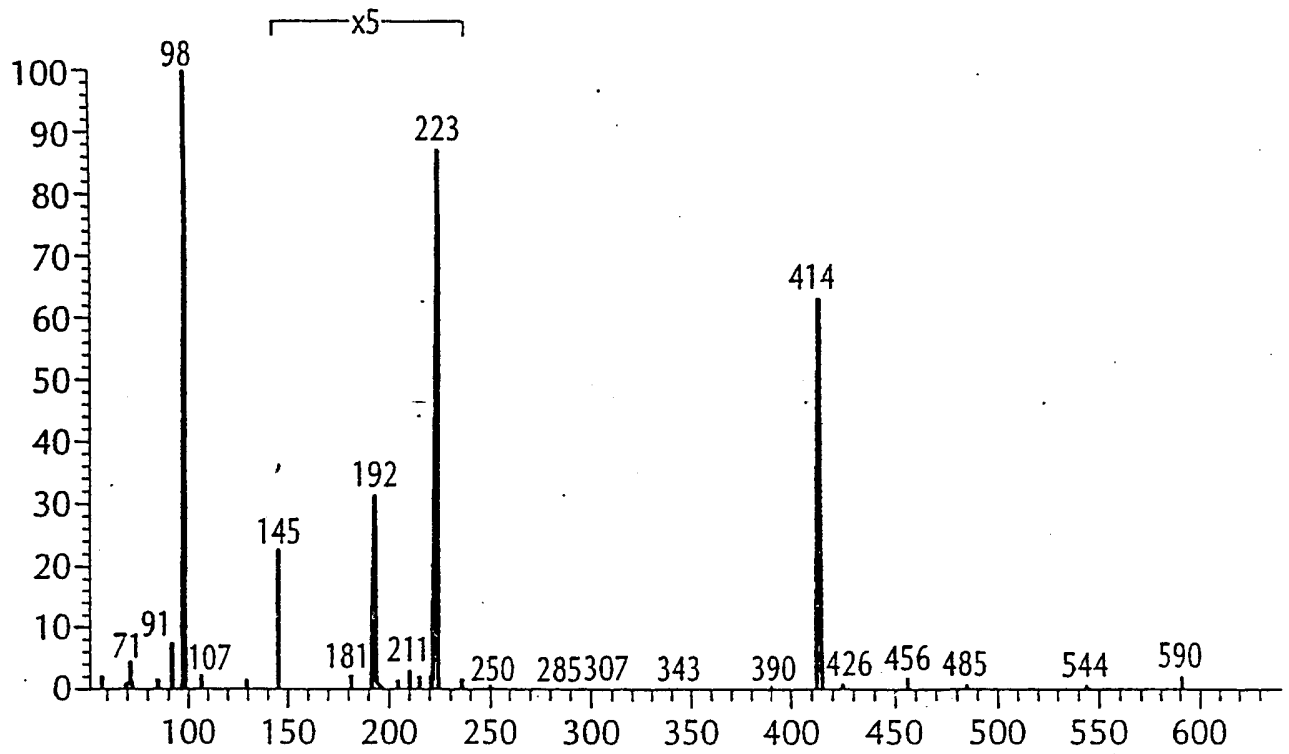
Obr. 11A



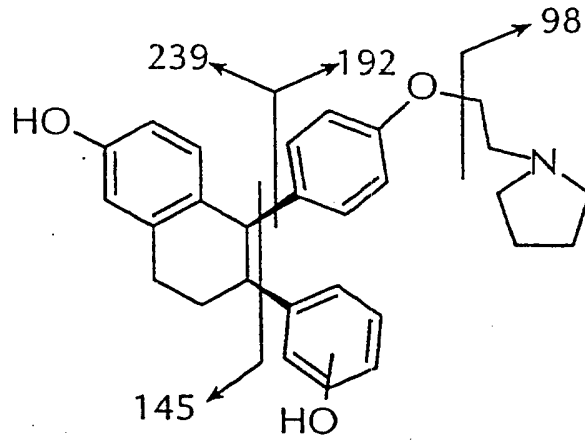
Obr. 11B



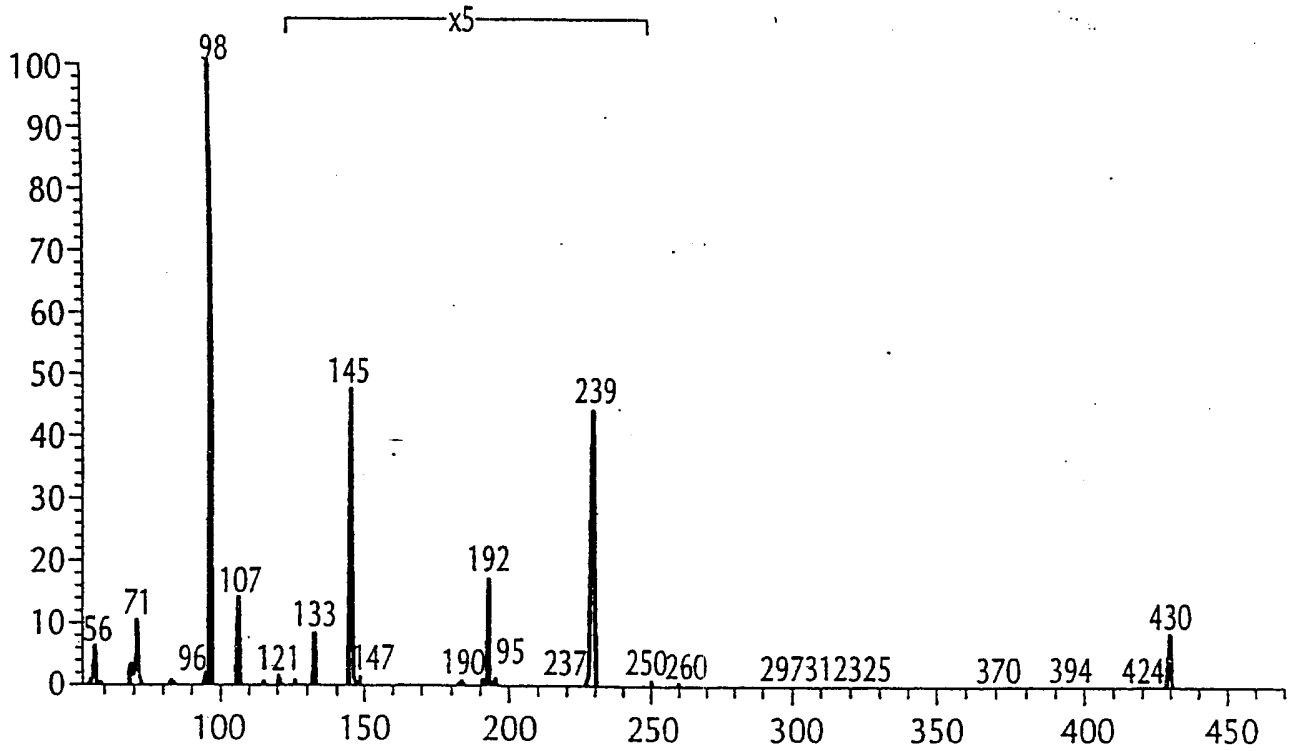
Obr. 12A



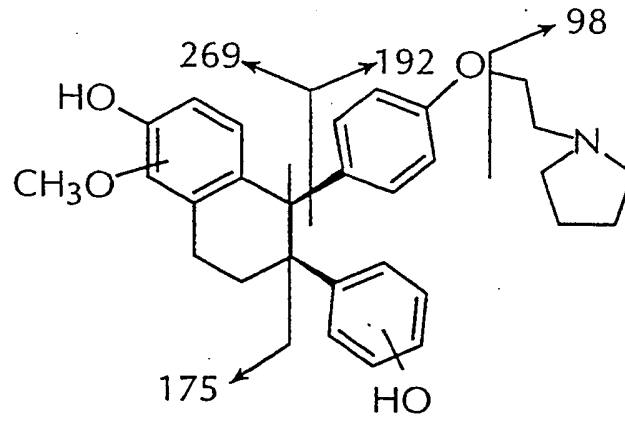
Obr. 12B



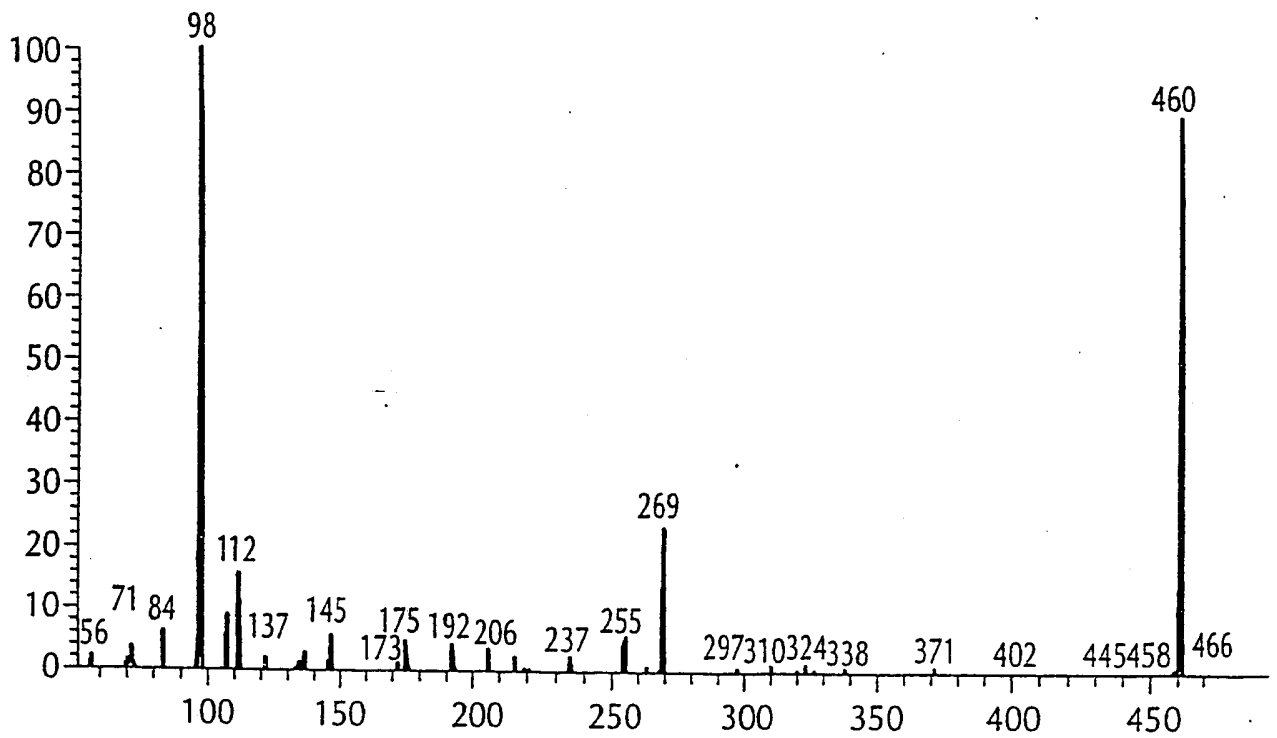
Obr. 13A



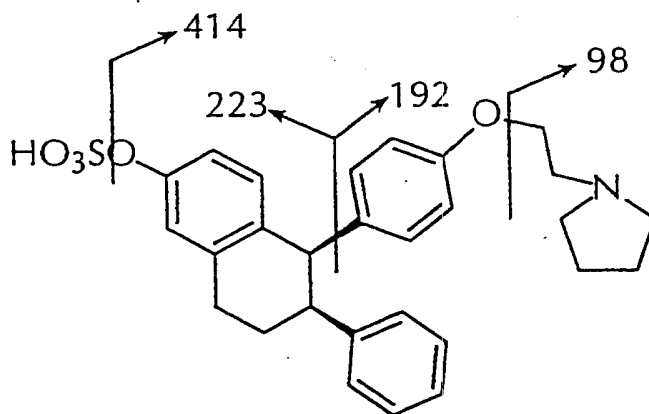
Obr. 13B



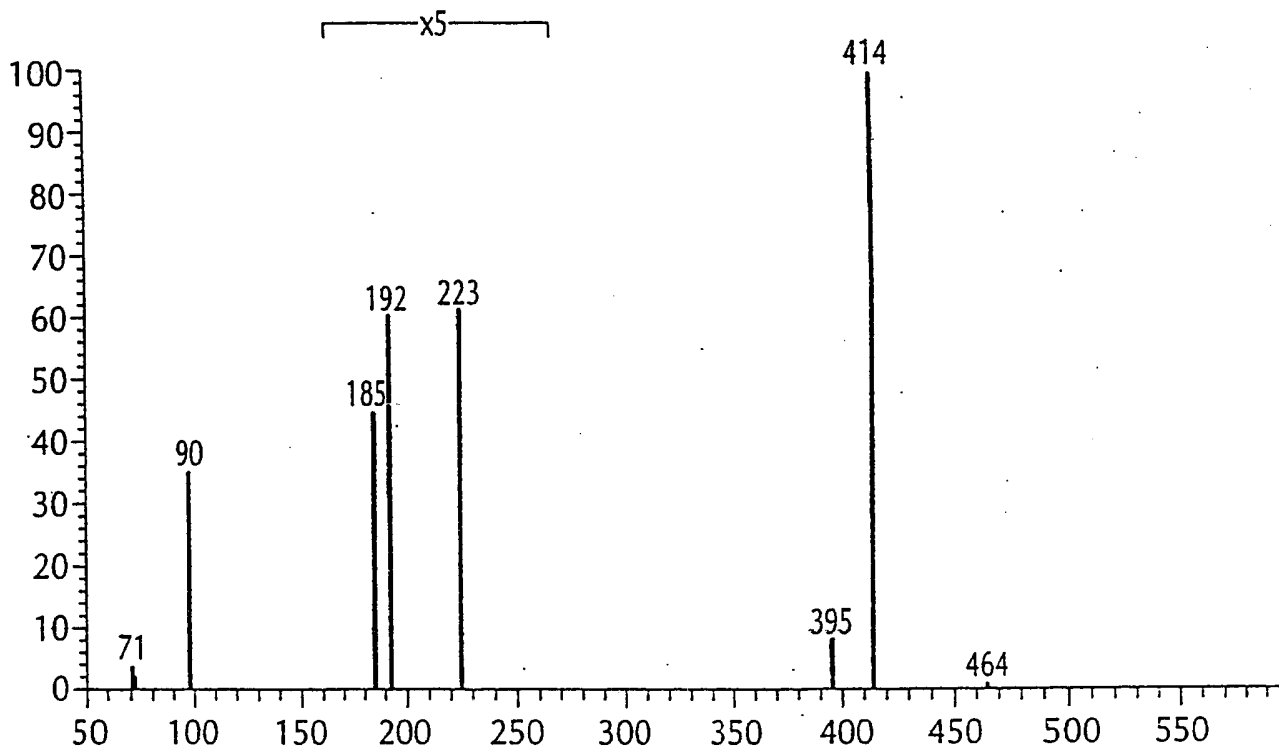
Obr. 14A



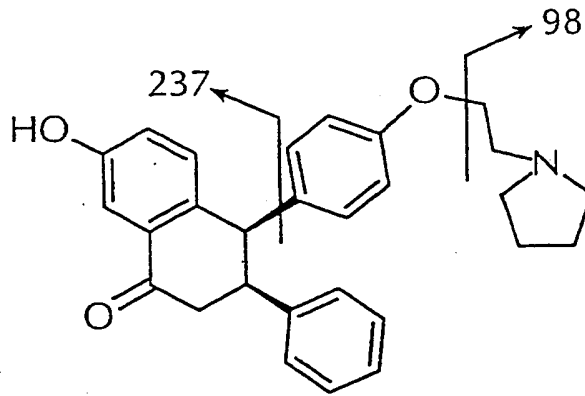
Obr. 14B



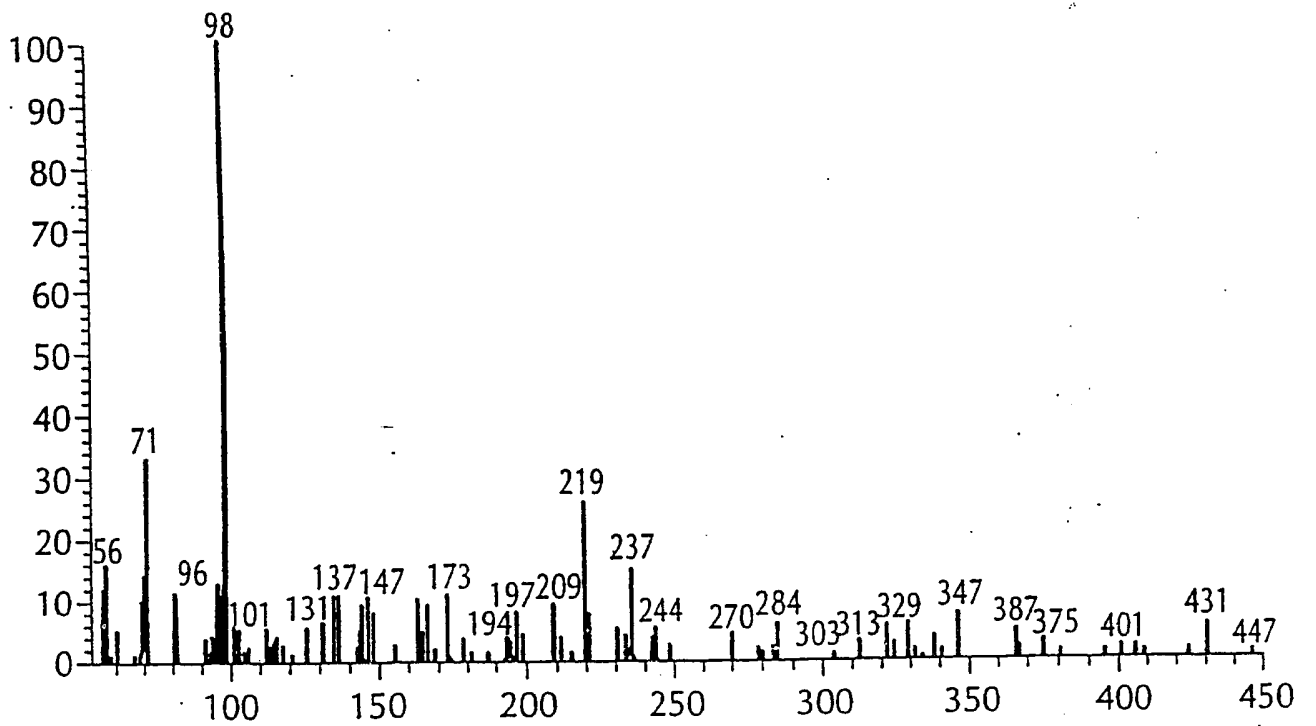
Obr. 15A



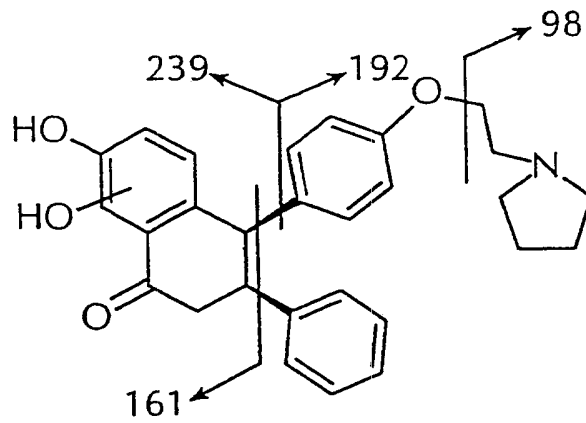
Obr. 15B



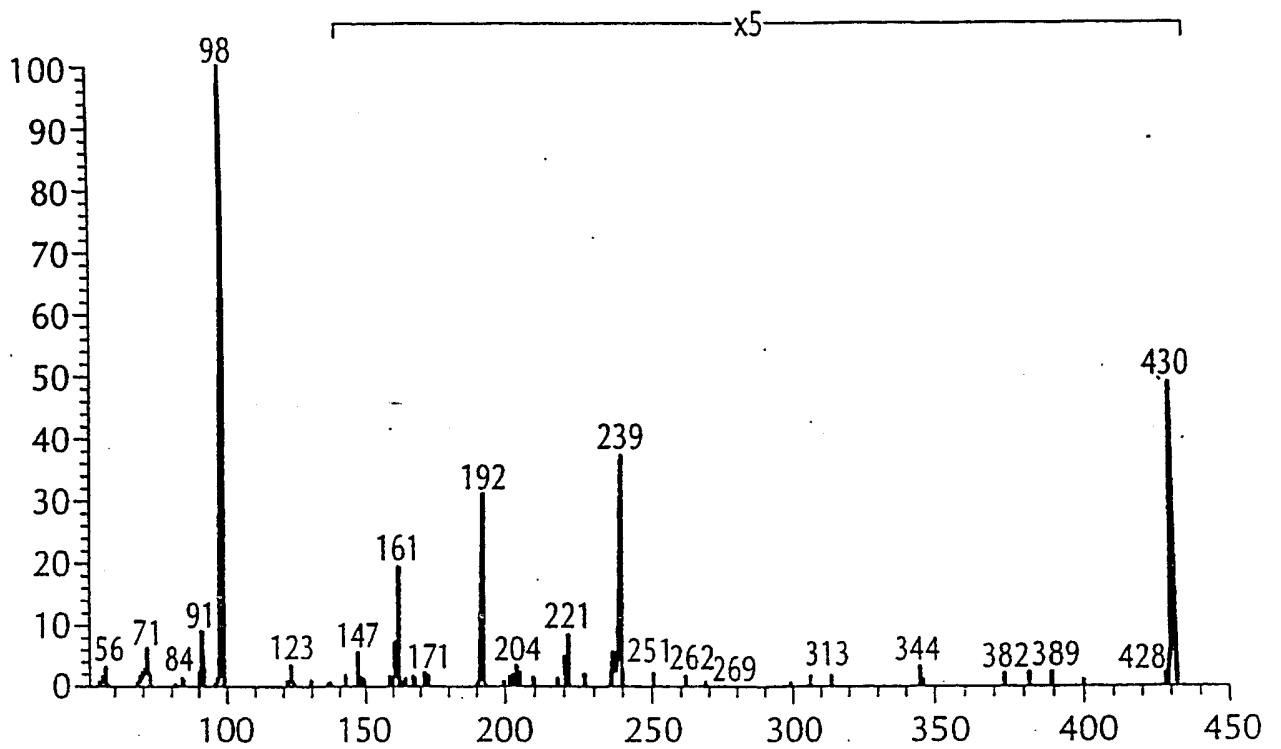
Obr. 16A



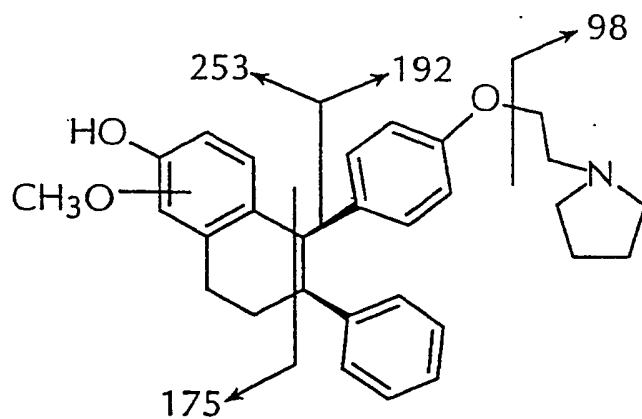
Obr. 16B



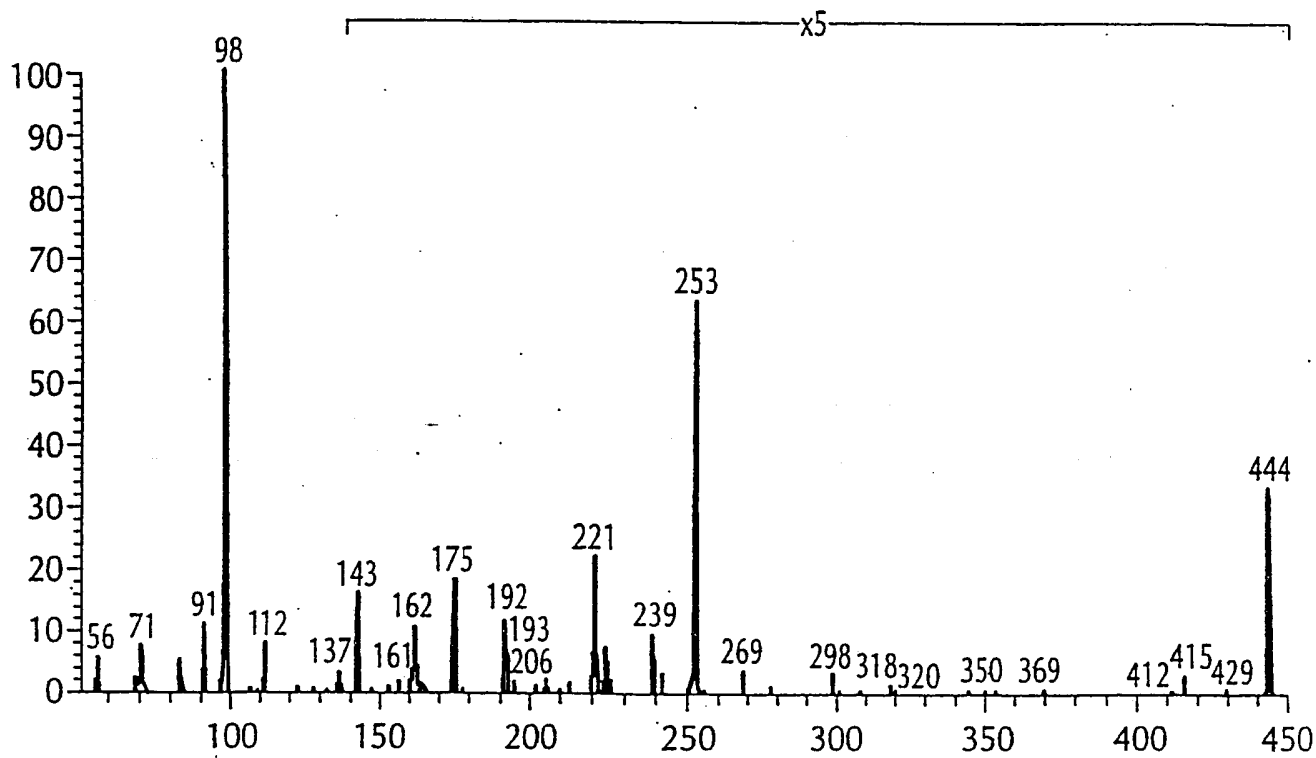
Obr. 17A



Obr. 17B



Obr. 18A



Obr. 18B