

Область техники, к которой относится изобретение

Объектом настоящего изобретения является соединение.

В частности, объектами настоящего изобретения являются соединение и фармацевтическая композиция, включающая соединение. Объектом настоящего изобретения также является применение соединения или композиции в лечебных целях.

Предпосылки создания изобретения

Имеются свидетельства, указывающие на то, что эстрогены являются главными митогенами, участвующими в промотировании роста опухолей в эндокринзависимых тканях, таких как молочная железа и слизистая оболочка матки. Хотя концентрации эстрогена в плазме одинаковы у женщин как страдающих, так и не страдающих раком молочной железы, уровни эстрогена и эстрадиола в опухоли молочной железы существенно выше, чем в нормальной ткани молочной железы и в крови. Считается, что синтез эстрогена *in situ* дает существенный вклад в высокий уровень эстрогенов в опухолях, поэтому ингибиторы, в особенности специфичные ингибиторы, биосинтеза эстрогена имеют потенциальное значение для лечения эндокринзависимых опухолей. В течение двух последних десятилетий присутствовал существенный интерес к разработке ингибиторов ароматазного метаболического пути, по которому предшественник мужского полового гормона андростендион преобразуется в эстрон. Теперь, однако, имеются свидетельства того, что за производство эстрогенов в опухолях молочной железы отвечают эстронсульфатазный (E1-STS) метаболический путь, т.е. гидролиз эстрон-сульфата до эстрогена (E1S до E1), и ароматазный метаболический путь (т.е. преобразование андростендиона в эстрон).

Фиг. 1 и 2 представляют схематические диаграммы, демонстрирующие некоторые из ферментов, участвующих в синтезе эстрогена *in situ* из эстрон-сульфата, эстрадиола и андростендиона.

На фиг. 2, схематически демонстрирующей происхождение эстрогенных стероидов у женщин в постклимактерический период, "ER" обозначает рецептор эстрогена, "DHA-S" обозначает дегидроэпиандростерон-сульфат, "Adiol" обозначает андростендиол, "E1-STS" обозначает эстронсульфатазу, "DHA-STS" обозначает дегидроэпиандростеронсульфатазу, "Adiol-STS" обозначает андростендиолсульфатазу, а "17B-HSD" обозначает эстрадиол-17B-гидроксистероиддегидрогеназу.

Как можно заметить, двумя главными ферментами, участвующими в периферийном синтезе эстрогенов являются ароматаза и эстронсульфатаза.

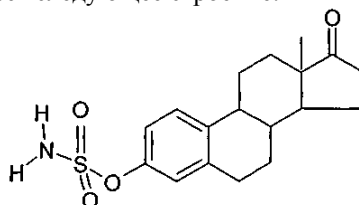
Вкратце, фермент ароматаза преобразует андростендион, выделяемый в больших количествах корой надпочечников, в эстрон. Недавние исследования указывают на то, что активность ароматазы могут ингибировать некоторые флавоны.

Существенное количество из образующегося таким образом эстрогена преобразуется, однако, в эстрон-сульфат (E1S), и в настоящее время имеется большой объем свидетельств, показывающих, что E1S действует в плазме и ткани как резервуар для образования эстрогена под действием эстронсульфатазы.

В связи с этим, в настоящее время считается, что эстронсульфатазный (E1-STS) механизм, т.е. гидролиз эстрон-сульфата до эстрогена (E1S до E1) является главным источником эстрогена в опухолях молочной железы. В пользу этой теории свидетельствует умеренное снижение концентрации эстрогена в плазме у больных раком молочной железы женщин в постклимактерический период, при лечении ингибиторами ароматазы, такими как 3-(п-аминофенил)-3-этилпиперидин-2,6-дион и 4-гидроксиандростендион, а также тот факт, что концентрация E1S в плазме у подобных пациентов, подвергаемых лечению ингибиторами ароматазы, остается сравнительно высокой. Большой период полураспада E1S в крови (10-12 ч) по сравнению с несопряженными эстрогенами (20 мин) и высокие уровни активности стероидной сульфатазы в печени и нормальных и злокачественных тканях молочной железы также выступают в поддержку данной теории.

Таким образом, образование эстрогенов в злокачественных тканях молочной железы и слизистой оболочки матки по сульфатазному механизму вносит главный вклад в высокие концентрации эстрогенов, присутствующих в данных опухолях.

PCT/GB 92/01587 описывает новые ингибиторы стероидной сульфатазы и содержащие их фармацевтические композиции для применения в лечении эстронзависимых опухолей, в особенности рака молочной железы. Этими ингибиторами стероидной сульфатазы являются сложные эфиры сульфаминовой кислоты, такие как N,N-диметилэстрон-3-сульфамат и предпочтительно эстрон-3-сульфамат (также известный как "EMATE"). EMATE имеет следующее строение:



Известно, что EMATE является эффективным ингибитором E1-STS и демонстрирует более чем 99% ингибирование активности E1-STS в интактных клетках рака молочной железы MCF-7, при концентрации 0,1 нМ. EMATE также ингибирует фермент E1-STS зависящим от времени и концентрации образом,

что указывает на его действие как инактиватора, направленного на активный центр. Хотя EMATE изначально предназначался для ингибирования E1-STS, он также ингибирует дегидроэпиандростеронсульфатазу (DHA-STS), которая, как считают, является ферментом, играющим центральную роль в регулировании биосинтеза эстрогенного стероида андростендиола. Кроме того, в настоящее время имеются свидетельства, позволяющие предположить, что андростендиол может иметь даже более важное значение в качестве промотора роста опухоли молочной железы. EMATE также активен *in vivo*, на что указывает почти полное ингибирование активности E1-STS (99%) и DHA-STS (99%) в печени крыс при как пероральном, так и подкожном введении. Кроме того, было показано, что EMATE приводит к улучшению памяти у крыс. Исследования на мышах указывают на связь между активностью DHA-STS и регуляцией части иммунного ответа. Полагают, что это может иметь место и у человека. Мостиковый атом кислорода сульфаматного остатка в EMATE важен с точки зрения ингибирующей активности. Таким образом, когда атом кислорода в положении 3 замещается другими гетероатомами, как это происходит в эстрон-3-N-сульфамате и эстрон-3-S-сульфамате, подобные аналоги оказываются более слабыми, не зависящими от времени инактиваторами.

Помимо эстрогена другим основным стероидом с эстрогенными свойствами, образующимся в организме женщин в постклимактерический период, является андростендиол (см. фиг. 2).

Несмотря на то, что андростендиол является мужским половым гормоном, он может связываться с рецептором эстрогена (ER) и может стимулировать рост ER-положительных клеток рака молочной железы и рост вызываемых канцерогенами опухолей груди у крыс. Важно отметить, что у женщин в постклимактерический период 90% образующегося андростендиола происходит из мужского полового гормона дегидроэпиандростерон-сульфата (DHA-S), выделяемого в больших количествах корой надпочечников. DHA-S преобразуется в DHA под действием DHA-сульфатазы, которая может быть аналогичной или отличной от фермента эстронсульфатазы, ответственного за гидролиз E1S.

В течение последних 10-15 лет были проведены обширные исследования, имеющие целью разработку эффективных ингибиторов ароматазы, некоторые из которых в настоящее время коммерчески доступны. Однако в трех недавних наблюдениях за больными раком молочной железы женщинами в постклимактерический период, проходившими курс лечения ингибиторами ароматазы, концентрации E1S в плазме оставались на уровне 400-1000 пг/мл.

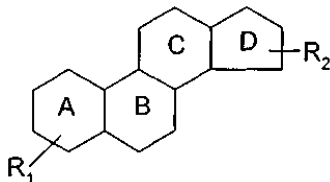
Подводя итоги, синтез эстрогена *in situ* дает, как полагают, важный вклад в высокие уровни эстрогенов в опухолях, поэтому специфичные ингибиторы биосинтеза эстрогена имеют потенциальное значение для лечения эндокринзависимых опухолей.

Более того, хотя образование эстрогена в злокачественных тканях молочной железы и слизистой оболочки матки по сульфатазному механизму вносит основной вклад в высокие концентрации эстрогенов, имеются и другие ферментативные механизмы, вносящие вклад в синтез эстрогена *in vivo*.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение основано на неожиданном открытии того факта, что стероидные соединения, содержащие в цикле D группу, выбранную среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, могут применяться в качестве эффективных ингибиторов стероидной сульфатазы (STS); модуляторов клеточного цикла; модуляторов апоптоза; модуляторов роста клеток; средств, предотвращающих и/или подавляющих поглощение глюкозы; средств, предотвращающих ангиогенез опухоли, или его ингибиторов; разрушителей микротрубочек; и/или средств, вызывающих апоптоз.

Таким образом, в настоящем изобретении предлагаются соединения, включающие стероидную циклическую систему



и необязательно группу R^1 , выбранную из гидроксигруппы и сульфаматной группы;

где цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, в которой L является необязательной мостиковой группой, представляющей собой (C_1-C_{10}) алкиленовую группу, а R^3 выбран из группы, включающей

нитрильную группу,

спирт $C_0-C_{40}-OH$,

сложный эфир $-C(O)OR^{17}$,

простой эфир, выбранный из группы, состоящей из $-OR^{10}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-OR^{10}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-OR^{16}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-S-R^{16}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_pNR^{11}R^{12}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_pC=N$, $-O-CH-CH_2$, $-OSO_2R^9$, $-(CH_2)_qO-R^{16}$, $-(CH_2)_qS-R^{16}$, $=CH-OR^{10}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pOR^{10}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qO-R^{16}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-S-R^{16}$, $-NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pOR^{10}$, $-NR^{13}(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qO-R^{16}$, $-NR^{13}(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-S-R^{16}$,

амин, выбранный из группы, состоящей из $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{SO}_2\text{R}^9$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{OR}^{10}$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{C}(\text{O})\text{OR}^{17}$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{C}\equiv\text{N}$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p(\text{CH}_2)_q\text{O}-\text{R}^{16}$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p(\text{CH}_2)_q\text{S}-\text{R}^{16}$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{C}\equiv\text{CH}$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{CH}=\text{CH}_2$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, $-\text{O}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$ и $-\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, и

алкен, выбранный из группы, состоящей из $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{SO}_2\text{R}^9$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{OR}^{10}$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{C}(\text{O})\text{OR}^{17}$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p(\text{CH}_2)_q\text{O}-\text{R}^{16}$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p(\text{CH}_2)_q\text{S}-\text{R}^{16}$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{C}\equiv\text{N}$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{C}\equiv\text{CH}$, $=\text{CH}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{CH}=\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{NR}^{13}(\text{CR}^{14}\text{R}^{15})_p\text{CH}=\text{CH}_2$,

где R^{10} выбирают из атома водорода и $(\text{C}_1-\text{C}_{20})$ алкила; R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбирают из $(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин;

где R^{13} выбирают из атома водорода и $(\text{C}_1-\text{C}_{20})$ алкила; R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбирают из атома водорода и $(\text{C}_1-\text{C}_{20})$ алкила; R^{16} выбирают из атома водорода и $(\text{C}_1-\text{C}_{20})$ алкила и R^{17} представляет собой $(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ алкил,

q является целым числом от 0 до 20;

p является целым числом от 0 до 20;

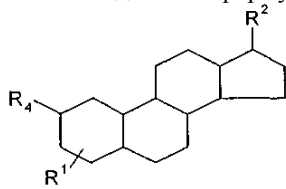
при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L наличествует; и

цикл А, принадлежащий к стероидной циклической системе, замещен по положению 2 группой R^4 ,

где R^4 выбирают из атома водорода, (C_1-C_6) алкила и (C_1-C_6) алкокси.

Предпочтительными являются соединения формулы II

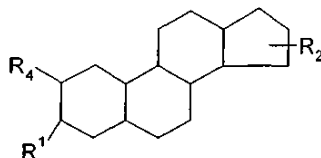
формула II



где R^1 представляет собой необязательную группу, выбранную из $-\text{OH}$ и сульфатной группы.

Более предпочтительными являются соединения формулы III

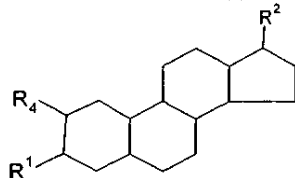
формула III



где R^1 представляет собой необязательную группу, выбранную из $-\text{OH}$ и сульфатной группы.

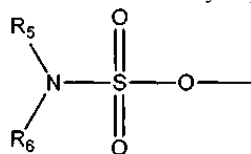
Наиболее предпочтительными являются соединения формулы IV

формула IV



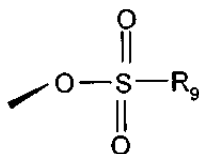
где R^1 представляет собой необязательную группу, выбранную из $-\text{OH}$ и сульфатной группы.

Предпочтительными соединениями являются такие, в которых R^4 представляет собой метоксигруппу, например этил; цикл А, замещенный группами R^1 и R^4 , R^4 находится в орто-положении по отношению к R^1 ; R^1 присутствует и представляет собой $-\text{OH}$ или сульфатную группу формулы



в которой R^5 и R^6 независимо выбирают из атома водорода, $(\text{C}_1-\text{C}_{20})$ алкильной, (C_3-C_6) циклоалкильной, $(\text{C}_2-\text{C}_{10})$ алкенильной, и арильных, таких как фенильная или толильная группы или их комбинаций, причем алкильная, или циклоалкильная, или алкенильная, или арильная группы, или каждая из этих групп необязательно содержат один или более гетероатом или группу, выбранную из $-\text{O}-$ или $-\text{NH}-$. Предпочтительно, если по меньшей мере одна из групп R^5 и R^6 представляет собой атом водорода. Более предпочтительно, если каждая из групп R^5 и R^6 представляет собой атом водорода.

Предпочтительными соединениями являются такие, в которых R^3 представляет собой нитрильную группу или включает ее; или R^3 представляет собой группу формулы



где R^9 выбирают из H и (C_1-C_{20}) алкила;
 или R^3 является группой формулы $-(R^7)_n(CR^{14}R^{15})_pR^8$, в которой
 n принимает значения 0 или 1, а p обозначает целое число от 0 до 20;
 R^7 выбирают из $=CH-$, $-O-$ и NR^{13} ;
 R^8 выбирают из $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$ и $-CH=CH_2$,
 R^9 представляет собой замещенный или незамещенный амин,
 R^{10} выбирают из H и (C_1-C_{20}) алкила;
 R^{11} и R^{12} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин;
 R^{13} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила;
 R^{14} и R^{15} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила;
 q является целым числом от 0 до 20;
 X обозначает O или S;
 R^{16} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила и
 R^{17} выбирают из атома водорода и (C_1-C_2) алкила;
 или R^3 является группой формулы $-(CR^{14}R^{15})_pR^8$, где p обозначает число от 0 до 20; R^8 выбирают из $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$ и $-CH=CH_2$; R^9 представляет собой замещенный или незамещенный амин, R^{10} выбирают из H и (C_1-C_{20}) алкила; R^{11} и R^{12} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин; R^{14} и R^{15} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; q является целым числом от 0 до 20; X обозначает O или S; R^{16} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; и R^{17} выбирают из атома водорода и (C_1-C_2) алкила;
 или R^3 является группой формулы $-(CH_2)_pR^8$, где p обозначает число от 0 до 20; R^8 выбирают из $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$ и $-CH=CH_2$; R^9 представляет собой замещенный или незамещенный амин, R^{10} выбирают из H и (C_1-C_{20}) алкила; R^{11} и R^{12} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин; q является целым числом от 0 до 20; X обозначает O или S; R^{16} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; и R^{17} выбирают из атома водорода и (C_1-C_2) алкила;
 или R^3 является группой формулы $-(R^7)_nR^8$, где n принимает значения 0 или 1, R^7 выбирают из $=CH-$, $-O-$ и NR^{13} , R^8 выбирают из $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$, $-C\equiv CH$ и $-CH=CH_2$; R^9 представляет собой замещенный или незамещенный амин, R^{10} выбирают из H и (C_1-C_{20}) алкила; R^{11} и R^{12} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин; R^{13} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; q является целым числом от 0 до 20; X обозначает O или S; R^{16} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; и R^{17} выбирают из атома водорода и (C_1-C_2) алкила.

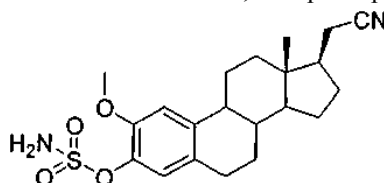
Предпочтительными соединениями являются такие, в которых p принимает значения от 0 до 5, более предпочтительно, когда p принимает значение 0, 1 или 2.

Предпочтительными соединениями являются такие, в которых R^8 представляет собой $-SO_2-R^9$; R^{10} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила, предпочтительно из атома водорода или $-CH_3$; R^{11} и R^{12} независимо выбирают из атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила, предпочтительно из атома водорода и $-CH_3$; R^{13} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила, предпочтительно из атома водорода.

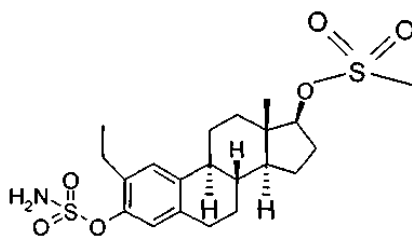
Предпочтительными соединениями являются такие, в которых R^3 представляет собой группу, выбранную из $=CHC(O)OEt$, $-CH_2C(O)OEt$, $=CHCH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2C\equiv N$, $=CHC\equiv N$, $-NHCH_2CH_2N(Me)_2$, $-OCH_2CH_2-OMe$; L представляет собой (C_1-C_5) алкилен, предпочтительно L представляет собой C_1 или C_2 алкилен; R^2 представляет собой группу формулы $-R^3$.

Предпочтительными соединениями являются такие, в которых группа R^2 находится в α -конформации, особенно предпочтительными являются соединения, в которых группа R^2 находится в α -конформации в положении 17 цикла D.

Предпочтительными соединениями являются такие, которые представляют собой



или



Далее настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, включающей: i) соединение, как оно определено выше; и ii) модификатор биологической ответной реакции, причем модификатор биологической ответной реакции является цитокином, который предпочтительно представляет собой фактор некроза опухолей (TNF), особо предпочтительно TNF α .

Также настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, включающей: (а) (i) соединение, как оно определено выше или (ii) композицию, как она определена выше; и (б) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, наполнитель или адъювант.

Настоящее изобретение относится к применению соединения, как оно определено выше, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для профилактики и/или ингибирования роста опухолей.

Настоящее изобретение относится к применению соединения, как оно определено выше, для приготовления лекарственного средства предназначенного для применения в лечении состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: активностью стероидной сульфатазы (STS), особенно ее неблагоприятной активностью; протеканием клеточного цикла; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек; и апоптозом.

Настоящее изобретение относится к применению соединения, как оно определено выше, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для ингибирования активности стероидной сульфатазы (STS); модуляции протекания клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек; и стимуляции апоптоза.

Настоящее изобретение относится к применению соединения, как оно определено выше, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для ингибирования активности стероидной сульфатазы (STS).

Настоящее изобретение относится к применению соединения, как оно определено выше, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для модуляции клеточного роста.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: активностью стероидной сульфатазы (STS); модуляцией протекания клеточного цикла; модуляцией апоптоза; модуляцией роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек; и/или стимуляцией апоптоза, включающий введение нуждающемуся в лечении субъекту соединения, как оно определено выше.

Подробное изложение сущности изобретения

В перспективе соединения могут предоставлять следующие возможности: включать стероидную циклическую систему и необязательную группу R¹, выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфо группы или сульфонамидной группы. При этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R² формулы -L-R³, где L является необязательной мостиковой группой, а R³ выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R³ является спиртом или включает его, L присутствует. Кроме того, в котором цикл A, принадлежащий к стероидной циклической системе, замещен по положению 2 или 4 группой R⁴, где R⁴ является гидрокарбильной группой.

Одним из вариантов осуществления является композиция, включающая: 1) соединение, как оно определено в контексте; и 2) модификатор биологической ответной реакции.

Одним из вариантов осуществления является фармацевтическая композиция, включающая: (а) (1) соединение, как оно определено в контексте, или (2) композицию, как она определена в контексте, и (б) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, наполнитель или вспомогательное средство.

Одним из вариантов осуществления является: (1) соединение, как оно определено в контексте, или (2) композиция, как она определена в контексте для применения в медицине.

Одним из вариантов осуществления является применение: (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте, в производстве лекарственного средства для предотвращения и/или ингибирования роста опухоли.

Одним из вариантов осуществления является применение: (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте, в производстве лекарственного средства для применения в целях лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следую-

щих факторов: активностью стероидной сульфатазы (STS); клеточным циклом; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек; и апоптозом.

Одним из вариантов осуществления является применение (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте, в производстве лекарственного средства для применения в целях лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: неблагоприятной активностью стероидной сульфатазы (STS); клеточным циклом; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек; и апоптозом.

Одним из вариантов осуществления является применение (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте, в производстве лекарственного средства для достижения одной или более из следующих целей: ингибирования активности стероидной сульфатазы (STS); модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек; стимуляции апоптоза.

Одним из вариантов осуществления является применение: (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте, в производстве лекарственного средства для ингибирования активности стероидной сульфатазы (STS).

Одним из вариантов осуществления является применение: (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте, в производстве лекарственного средства для модуляции роста клеток.

Одним из вариантов осуществления является способ лечения, включающий введение нуждающемуся в лечении субъекту (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте.

Одним из вариантов осуществления является способ лечения, включающий введение нуждающемуся в лечении субъекту (1) соединения, как оно определено в контексте, или (2) композиции, как она определена в контексте, с целью ингибирования активности стероидной сульфатазы (STS); модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек; и/или стимуляции апоптоза.

Одним из вариантов осуществления является способ, включающий: (а) осуществление анализа на один или более из следующих процессов: ингибирование активности стероидной сульфатазы (STS); модуляцию клеточного цикла; модуляцию апоптоза; модуляцию роста клеток; предотвращение и/или подавление поглощения опухолью глюкозы; предотвращение и/или ингибирование ангиогенеза опухоли; разрушение микротрубочек и стимуляцию апоптоза с одним или более из испытуемых соединений, определенных в контексте; (б) установление того, способны ли одно или более из упомянутых испытуемых соединений приводить к какому-либо одному или нескольким из следующих результатов: ингибированию активности стероидной сульфатазы (STS); модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращению и/или подавлению поглощения опухолью глюкозы; предотвращению и/или ингибированию ангиогенеза опухоли; разрушению микротрубочек; и стимуляции апоптоза; и (в) выбор одного или более из упомянутых испытуемых соединений, способных приводить к какому-либо одному или нескольким из следующих результатов: ингибированию активности стероидной сульфатазы (STS); модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращению и/или подавлению поглощения опухолью глюкозы; предотвращению и/или ингибированию ангиогенеза опухоли; разрушению микротрубочек и стимуляции апоптоза.

Во всяком из способов может присутствовать одна или более дополнительная стадия. Например, способ может также включать стадию модифицирования идентифицированного испытуемого соединения (с помощью, например, химических и/или ферментативных методов) и необязательную дополнительную стадию тестирования подобного модифицированного соединения на обладание одним или более из следующих эффектов: ингибирование активности стероидной сульфатазы (STS); модуляция клеточного цикла; модуляция апоптоза; модуляция роста клеток; предотвращение и/или подавление поглощения опухолью глюкозы; предотвращение и/или ингибирование ангиогенеза опухоли; разрушение микротрубочек и стимуляция апоптоза. В качестве дальнейших примеров способ может также включать стадию определения строения (с помощью, например, кристаллографических методов) идентифицированного испытуемого соединения с последующим осуществлением исследований методами компьютерного моделирования, имеющих целью, например, дальнейшее усиление его действия. Таким образом, настоящее изобретение также включает компьютер, снабженный набором данных (таких как кристаллографические координаты) для упомянутого идентифицированного испытуемого соединения. Настоящее изобретение также включает подобное идентифицированное испытуемое соединение, показанное на мониторе компьютера для его анализа, такого как исследование связывания с ферментами и/или белками.

Одним из вариантов осуществления является соединение, идентифицированное способом по настоящему изобретению.

Также раскрываются новые соединения (такие как представленные в контексте), равно как и методики их получения (такие как методики, представленные в контексте), равно как и новые интермедиаты (такие как представленные в контексте) для применения в данных методиках.

Одним из расширенных вариантов является применение соединения в производстве лекарственного средства для применения в целях лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: клеточным циклом; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек и апоптозом. При этом упомянутое соединение включает стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

Одним из расширенных вариантов осуществления является применение композиции в производстве лекарственного средства для применения в целях лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: клеточным циклом; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек и апоптозом. При этом упомянутая композиция включает:

1) соединение, включающее стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует; и

2) модификатор биологической ответной реакции.

Одним из расширенных вариантов является применение соединения в производстве лекарственного средства для применения в целях лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: неблагоприятным протеканием клеточного цикла; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек и апоптозом. При этом упомянутое соединение включает стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

Одним из расширенных вариантов осуществления является применение композиции в производстве лекарственного средства для применения в целях лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: неблагоприятным протеканием клеточного цикла; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек; и апоптозом. При этом упомянутая композиция включает:

1) соединение, включающее стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует; и

2) модификатор биологической ответной реакции.

Еще одним из расширенных вариантов осуществления является применение соединения в производстве лекарственного средства для достижения одной или более из следующих целей: модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек и стимуляции апоптоза. При этом упомянутое соединение включает стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

Еще одним из расширенных вариантов осуществления настоящего изобретения, его объектом является применение композиции в производстве лекарственного средства для достижения одной или более из следующих целей: модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек и стимуляции апоптоза. При этом упомянутая композиция включает:

1) соединение, включающее стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует; и

2) модификатор биологической ответной реакции.

Согласно расширенному варианту осуществления является применение соединения в производстве лекарственного средства для модуляции роста клеток. При этом упомянутое соединение включает стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

Согласно расширенному варианту осуществления является применение композиции в производстве лекарственного средства для модуляции роста клеток. При этом упомянутая композиция включает:

1) соединение, включающее стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует; и

2) модификатор биологической ответной реакции.

Согласно расширенному варианту осуществления является способ лечения, включающий введение нуждающемуся в лечении субъекту соединения с целью модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек и/или стимуляции апоптоза. При этом упомянутое соединение включает стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

Согласно расширенному варианту осуществления является способ лечения, включающий введение нуждающемуся в лечении субъекту композиции с целью модуляции клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек и/или стимуляции апоптоза. При этом упомянутая композиция включает:

1) соединение, включающее стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует; и

2) модификатор биологической ответной реакции.

Одним из расширенных вариантов осуществления является применение соединения в производстве лекарственного средства для применения в лечении состояния или заболевания, связанного с карбоангидразой. При этом упомянутое соединение включает стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

Согласно расширенному варианту осуществления является способ лечения, включающий введение нуждающемуся в лечении субъекту композиции с целью модуляции активности карбоангидразы. При этом упомянутая композиция включает:

1) соединение, включающее стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы; при этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует; и

2) модификатор биологической ответной реакции.

Для удобства рассмотрения материала, эти и дальнейшие аспекты обсуждаются ниже в разделах с соответствующими названиями. Однако представленные в каждом из разделов идеи не обязательно ограничиваются каждым отдельным разделом.

Некоторые преимущества изобретения

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению могут ингибировать активность стероидной сульфатазы (STS).

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению могут осуществлять модуляцию клеточного цикла.

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению могут модулировать апоптоз.

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению могут модулировать рост клеток.

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению могут предотвращать и/или подавлять поглощение глюкозы опухолью.

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению могут предотвращать и/или ингибировать ангиогенез опухоли.

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению могут разрушать микротрубочки.

По этому поводу следует заметить, что микротрубочки, совместно с микрофиламентами и промежуточными филаментами, образуют часть цитоскелетной системы клетки. Микротрубочки отвечают за многие из клеточных движений; примеры включают пульсацию ресничек и жгутиков и транспорт мембранных везикул в цитоплазме. Все эти движения являются результатом полимеризации и деполимеризации микротрубочек или действий моторных белков микротрубочек динеина и кинезинов. Некоторые другие клеточные движения, такие как выстраивание и разделение хромосом в процессе мейоза и митоза, являются результатами действия обоих механизмов. Микротрубочки также направляют клеточные движения, но в некоторых случаях микротрубочки несут чисто структурные функции.

Микротрубочка построена из субъединиц, в качестве которых выступают гетеродимеры мономеров α -тубулина и β -тубулина. Существуют две популяции микротрубочек: стабильные долгоживущие микротрубочки и динамичные короткоживущие микротрубочки. Динамичные микротрубочки находят тогда, когда структурам из микротрубочек необходимо быстро соединяться и разъединяться. Например, во время митоза цитозольная сеть микротрубочек, характерная для клеток в интерфазе, исчезает, а происходящий из нее тубулин используется для формирования веретена, распределяющего хромосомы поровну по дочерним клеткам. По завершении митоза веретено распадается, а интерфазная сеть микротрубочек образуется снова.

Лекарственные средства, ингибирующие митоз, предоставляют удобные способы манипуляции микротрубочками в клетке. Три лекарственных средства, колхицин, розевин и таксол, все выделенные из растений, являются, как оказалось, весьма мощными средствами зондирования деятельности микротрубочек, отчасти потому, что они связываются только с тубулином или микротрубочками и не связываются с другими белками, а также потому, что их концентрации в клетках можно легко контролировать.

Вследствие их влияния на митоз, ингибиторы микротрубочек широко используются для лечения заболеваний и в последнее время в качестве противораковых средств, поскольку блокада образования веретена будет предпочтительно ингибировать быстро делящиеся клетки, такие как раковые клетки. Высокоэффективным средством против рака яичников является таксол. В клетках рака яичников, которые подвержены процессу быстроклеточного деления, при воздействии таксола митоз блокируется, тогда как остальные функции, осуществляемые неповрежденными микротрубочками, не затрагиваются. Подробный обзор, посвященный микротрубочкам, можно найти в книге "Молекулярная клеточная биология" (под ред. Lodish и др., 1995 WH Freeman and Co., New York, стр. 1051-1122).

Одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что соединения по настоящему изобретению

бретению могут стимулировать апоптоз. Апоптоз вызывают действующие на микротрубочки лекарственные средства, причем этот процесс может включать фосфорилирование (и инактивацию) регулятора апоптоза, белка bcl-2 (Haider, Cancer Res. 57: 229, 1997).

Настоящее изобретение основывается на неожиданном открытии того факта, что соединение обеспечивает эффективное лечение рака.

Другое преимущество соединений по настоящему изобретению состоит в том, что они могут быть действенны *in vivo*.

Некоторые из соединений по настоящему изобретению могут быть неэстрогенными соединениями. Термин «неэстрогенный» означает в контексте не проявляющий или почти не проявляющий никакой эстрогенной активности. Термин «неэстрогенный» означает в контексте не проявляющий или почти не проявляющий никакой системной эстрогенной активности, такой как определяемая по методике 4.

Для некоторых применений соединения обладают эстрогенным эффектом. Другое преимущество состоит в том, что некоторые из соединений не могут быть преобразованы в ходе обмена веществ в соединения, обладающие гормональной активностью или вызывающие ее.

Для некоторых применений соединения предпочтительно обладают обратимым действием.

Для некоторых применений соединения предпочтительно обладают необратимым действием.

Некоторые из соединений по настоящему изобретению обладают также тем преимуществом, что могут быть активны при пероральном введении.

Некоторые из соединений по настоящему изобретению могут быть применимы для профилактики и/или лечения рака, такого как рак молочной железы, равно как (или альтернативно) и незлокачественные состояния, как то профилактика и/или лечение воспалительных состояний, таких как состояния, связанные с одним или более из следующих заболеваний: аутоиммунитет, включая, например, ревматоидный артрит, диабет типа I и II, системную красную волчанку, рассеянный склероз, злокачественную миастению, тиреоидит, васкулит, язвенный колит и болезнь Крона, кожные расстройства, например угри, псориаз, контактный дерматит; реакция «трансплантат против хозяина»; экзема, астма и отторжение органов после трансплантации. Соединения по настоящему изобретению применимы, в частности, в тех случаях, когда введение медикамента необходимо осуществлять с раннего возраста.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения соединения по настоящему изобретению применимы для лечения рака молочной железы.

Таким образом, некоторые из соединений по настоящему изобретению, как также полагают, обладают иными лечебными применениями помимо лечения эндокринзависимых видов рака, такими как лечение аутоиммунных заболеваний.

Для удобства рассмотрения материала, эти и дальнейшие аспекты настоящего изобретения обсуждаются ниже в разделах с соответствующими названиями. Однако представленные в каждом из разделов идеи изобретения не обязательно ограничиваются каждым отдельным разделом.

Предпочтительные аспекты

Соединение.

Прежде всего, соединение, включающее стероидную циклическую систему и необязательную группу R^1 , в выбранную среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы. При этом цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп, при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L присутствует.

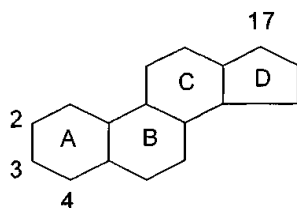
Кроме того, цикл A, принадлежащий к стероидной циклической системе, замещен по положению 2 или 4 группой R^4 , где R^4 является гидрокарбильной группой.

В одном из предпочтительных вариантов соединения обладает одним или более из следующих эффектов: ингибирование активности стероидной сульфатазы (STS); модуляция клеточного цикла; модуляция апоптоза; модуляция роста клеток; предотвращение и/или подавление поглощения опухолью глюкозы; предотвращение и/или ингибирование ангиогенеза опухоли; разрушение микротрубочек; и стимуляция апоптоза.

Стероидная циклическая система.

Соединение содержит стероидную циклическую составляющую, а именно циклопентанофенантrenoновый скелет или его биоизостереомеры.

Как хорошо известно специалистам в соответствующей области, классическая стероидная циклическая структура имеет следующую общую формулу:



В вышеприведенной формуле циклы обозначены и пронумерованы общепринятым способом.

В одном из вариантов осуществления стероидная циклическая структура может содержать какой-либо один или более из следующих атомов: углерода, водорода, кислорода, азота, фосфора, галогена (включая хлор, бром и йод), серы и фосфора.

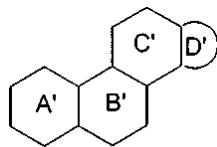
По крайней мере одна из циклических групп стероидной циклической структуры может быть гетероциклической группой (гетероциклом) или негетероциклической группой.

По крайней мере одна из циклических групп стероидной циклической структуры может быть насыщенной циклической структурой или ненасыщенной циклической структурой (такой как арильная группа).

Предпочтительно по крайней мере одна из циклических групп стероидной циклической структуры является ароматическим циклом.

Примером биоизостереомера является тот случай, когда какой-либо один или более из циклов A, B, C и D является гетероциклом и/или когда какой-либо один или более из циклов A, B, C и D замещен и/или когда какой-либо один или более из циклов A, B, C и D модифицирован; но при этом биоизостереомер обладает стероидными свойствами.

Учитывая вышесказанное, структура предпочтительной стероидной циклической системы может быть представлена в следующем виде:



где A', B', C' и D' независимо друг от друга являются гетероциклами или негетероциклическими кольцами, каковые циклы могут быть независимо друг от друга замещенными или незамещенными, насыщенными или ненасыщенными.

В качестве примера какой-либо один или более из циклов A', B', C' и D' может быть независимо замещен подходящими группами, такими как алкильная группа, аллильная группа, гидроксигруппа, галоид, гидрокарбильная группа, оксигидрокарбильная группа и т.д.

Термин «гидрокарбильная группа», как он используется в контексте, означает группу, которая включает, по крайней мере, атом углерода и атом водорода и может необязательно включать один или более из иных подходящих заместителей. Примеры таких заместителей могут включать галоид, алкоксигруппу, нитрогруппу, углеводородную группу, N-ацильную группу, циклическую группу и т.д. В дополнение к той возможности, что заместитель является циклической группой, комбинация заместителей может образовывать циклическую группу. Если гидрокарбильная группа включает более одного атома углерода, такие атомы углерода не должны быть обязательно связаны друг с другом. Например, по крайней мере два из атомов углерода могут быть связаны посредством подходящего элемента или группы. Таким образом, гидрокарбильная группа может содержать гетероатомы. Подходящие гетероатомы должны быть очевидны специалистам в соответствующей области и включают, например, серу, азот и кислород.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления гидрокарбильная группа является углеводородной группой.

Термин «углеводород» означает в контексте какую-либо из алкильной группы, алкенильной группы, алкинильной группы, ацильной группы, каковые группы могут быть неразветвленными, разветвленными или циклическими, или арильной группы. Термин «углеводород» также включает эти группы в тех случаях, когда они необязательно замещены. Если углеводород является разветвленной структурой, содержащей заместитель или заместители, то замещение может иметь место или по основной углеводородной цепи, или по побочной; альтернативно, может иметь место замещение и по основной, и по побочной углеводородной цепи.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления гидрокарбильная группа является оксигидрокарбильной группой.

Термин «оксигидрокарбильная группа», как он используется в контексте, означает группу, которая включает, по крайней мере, атом углерода, атом водорода и атом кислорода и может необязательно включать один или более из иных подходящих заместителей. Примеры таких заместителей могут включать галоид, алкоксигруппу, нитрогруппу, алкильную группу, циклическую группу, и т.д. В дополнение к той возможности, что заместитель является циклической группой, комбинация заместителей может образовывать циклическую группу. Если оксигидрокарбильная группа включает более одного атома уг-

лерода, такие атомы углерода не должны быть обязательно связаны друг с другом. Например, по крайней мере два из атомов углерода могут быть связаны посредством подходящего элемента или группы. Таким образом, оксигидрокарбильная группа может содержать гетероатомы. Подходящие гетероатомы должны быть очевидны специалистам в соответствующей области и включают, например, серу и азот.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления оксигидрокарбильная группа является оксиглеводородной группой. Термин «оксиглеводород» означает в контексте какую-либо из алкокси-группы, оксиалкенильной группы, оксиалкинильной группы, каковые группы могут быть неразветвленными, разветвленными или циклическими, или оксиарильной группы. Термин «оксиглеводород» также включает эти группы в тех случаях, когда они необязательно замещены. Если оксиглеводород является разветвленной структурой, содержащей заместитель или заместители, то замещение может иметь место или по основной углеводородной цепи, или по побочной; альтернативно, может иметь место замещение и по основной, и по побочной углеводородной цепи.

Предпочтительно оксигидрокарбильная группа является алкоксигруппой. Предпочтительно оксигидрокарбильная группа имеет формулу $C_{1-6}O$ (как, например, $C_{1-3}O$).

Примером D' служит 5- или 6-членное негетероциклическое кольцо, содержащее по крайней мере один заместитель.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления цикл D' замещен этинильной группой.

Если какой-либо из циклов A', B', C' и D' является гетероциклом, то этот гетероцикл предпочтительно включает комбинацию атомов углерода по крайней мере с одним атомом азота и/или по крайней мере одним атомом кислорода. В цикле могут присутствовать и другие гетероциклические атомы.

Примеры подходящих предпочтительных циклов A'-D' стероидного ядра в соединениях по настоящему изобретению включают циклы A-D эстрогена и дегидроэпиандростерона.

Примеры подходящих предпочтительных циклов A'-D' стероидного ядра в соединениях включают циклы A-D следующих соединений:

эстронов и замещенных эстронов, а именно:

эстрогена,

2-ОН-эстрогена,

2-алкоксиэстрогена (как, например, (C_1-C_6) алкоксиэстроген, такой как 2-метоксиэстроген),

4-ОН-эстрогена,

6 α -ОН-эстрогена,

7 α -ОН-эстрогена,

16 α -ОН-эстрогена,

16 β -ОН-эстрогена;

эстрадиолов и замещенных эстрадиолов, а именно

2-ОН-17 β -эстрадиола,

2-алкокси-17 β -эстрадиола (как, например, (C_1-C_6) алкокси-17 β -эстрадиол, такой как 2-метокси-17 β -эстрадиол),

4-ОН-17 β -эстрадиола,

6 α -ОН-17 β -эстрадиола,

7 α -ОН-17 β -эстрадиола,

2-ОН-17 α -эстрадиола,

2-алкокси-17 α -эстрадиола (как, например, (C_1-C_6) алкокси-17 α -эстрадиол, такой как 2-метокси-17 α -эстрадиол),

4-ОН-17 α -эстрадиола,

6 α -ОН-17 α -эстрадиола,

7 α -ОН-17 α -эстрадиола,

16 α -ОН-17 α -эстрадиола,

16 α -ОН-17 β -эстрадиола,

16 β -ОН-17 α -эстрадиола,

16 β -ОН-17 β -эстрадиола,

17 α -эстрадиола,

17 β -эстрадиола,

17 α -этинил-17 β -эстрадиола,

17 β -этинил-17 α -эстрадиола; эстриолов и замещенных эстриолов, а именно: эстриола, 2-ОН-эстриола,

2-алкоксиэстриола (как, например, (C_1-C_6) эстриол, такой как 2-метоксиэстриол),

4-ОН-эстриола, 6 α -ОН-эстриола, 7 α -ОН-эстриола;

дегидроэпиандростеронов и замещенных дегидроэпиандростеронов, а именно

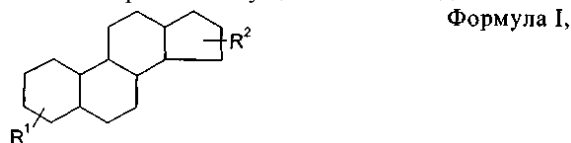
дегидроэпиандростеронов, 6 α -ОН-дегидроэпиандростерона, 7 α -ОН-дегидроэпиандростерона, 16 α -ОН-дегидроэпиандростерона, 16 β -ОН-дегидроэпиандростерона.

В целом, циклическая система A'B'C'D' может содержать множество разнообразных не создающих друг другу помех заместителей. В частности, циклическая система A'B'C'D' может содержать какой-либо один или более из следующих заместителей: гидроксигруппу, алкильную группу, в особенности, низш.(C₁-C₆)алкил, например, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил и другие изомеры пентила, а также н-гексил и другие изомеры гексила, алкоксигруппу, в особенности, низш.(C₁-C₆)алкоксигруппу, например, метоксигруппу, этоксигруппу, пропоксигруппу и т.д., алкинильную группу, например, этинил, или галоид, например фтор.

В альтернативном варианте осуществления полициклическое соединение может не содержать стероидного ядра или не иметь его в основе. Подобное полициклическое соединение может содержать или иметь в основе нестероидную циклическую систему, такую как диэтилстильбэстрол, стильбэстрол, кумарины и другие циклические системы. Другие подходящие нестероидные соединения для применения в композиции или в качестве композиции по настоящему изобретению могут быть найдены в патенте США № 5567831.

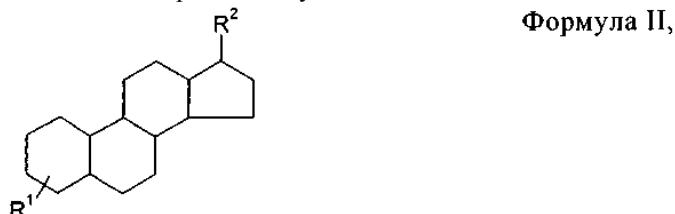
R¹ и R².

В одном из предпочтительных вариантов осуществления соединение отвечает формуле I



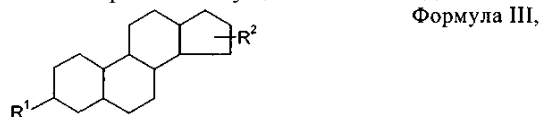
в которой R¹ является необязательной группой, выбранной среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления соединения отвечает формуле II



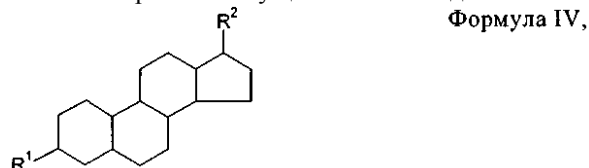
в которой R¹ является необязательной группой, выбранной среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления соединения отвечает формуле III



в которой R¹ является необязательной группой, выбранной среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления соединения отвечает формуле IV



в которой R¹ является необязательной группой, выбранной среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы.

Понятно, что цикл A циклической стероидной системы в формулах I-IV дополнительно замещен по положению 2 или 4 группой R⁴.

R¹.

Специалисты в данной области должны понимать, что R¹ является необязательной группой, которая может как присутствовать, так и не присутствовать. В одном из предпочтительных вариантов осуществления присутствует. В этом случае R¹ является группой, выбранной среди гидроксигруппы, сульфаматной группы, фосфонатной группы, тиофосфонатной группы, сульфогруппы или сульфонамидной группы.

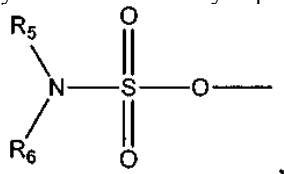
Сульфаматная группа.

В одном из вариантов осуществления R¹ является необязательной сульфаматной группой.

Термин «сульфамат» включает сложный эфир сульфаминовой кислоты, или сложный эфир N-замещенного производного сульфаминовой кислоты, или их соль.

В одном из вариантов осуществления R¹ является сульфаматной группой. В этом случае соединение может именоваться сульфаматным соединением.

Предпочтительно сульфаматная группа R^1 является сульфаматной группой формулы



в которой R^5 и R^6 независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы.

Предпочтительно R^5 и R^6 независимо выбраны среди атома водорода, алкильной, циклоалкильной, алкенильной, ацильной и арильной групп, или их комбинаций, или совместно являются алкиленовой группой, причем алкильная, или циклоалкильная, или алкенильная, или арильная группы, или каждая из этих групп необязательно содержат один или более гетероатом или группу.

В случае замещенных соединений N-замещенные соединения по настоящему изобретению могут содержать один или два N-алкильных, N-алкенильных, N-циклоалкильных, N-ацильных или N-арильных заместителей, предпочтительно содержащих совместно или по отдельности не более 10 атомов углерода. В тех случаях, когда R^5 и/или R^6 является алкилом, предпочтительными вариантами являются такие, когда R^5 и R^6 независимо друг от друга выбраны среди низш.алкильных групп, содержащих от 1 до 5 атомов углерода, т.е. метильной, этильной, пропильной и т.д. Предпочтительно и R^5 , и R^6 являются метильными группами. В тех случаях, когда R^5 и/или R^6 являются арильными группами, типичными вариантами являются фенильная и толильная группы ($-\text{PhCH}_3$; o-, m- или p-). В тех случаях, когда R^5 и R^6 представляют собой циклоалкильную группу, типичными вариантами являются циклопропил, циклопентил, циклогексил и т.д. В тех случаях, когда R^5 и R^6 объединены, они, как правило, представляют собой алкиленовую группу с цепочкой из от 4 до 6 атомов углерода, необязательно прерываемой одним или более гетероатомом или группой, например -O- или -NH-, что приводит к 5-, 6- или 7-членному гетероциклу, например морфолину, пирролидину или пиперидину.

В круг возможных вариантов алкильных, циклоалкильных, алкенильных, ацильных и арильных групп мы включаем замещенные группы, содержащие в качестве заместителей одну или более групп, не влияющих на активность рассматриваемого соединения в ингибировании стероидной сульфатазы. Примеры не влияющих на активность заместителей включают гидроксигруппу, аминогруппу, галоид, алкоксигруппу, алкильную группу и арильную группу. Примером гидрокарбильной группы, не ограничивающим круг возможных вариантов, является ацильная группа.

В некоторых вариантах осуществления сульфаматная группа может образовывать циклическую структуру путем замыкания (или связывания с) одним или более атомами в или на стероидной циклической системе.

В некоторых вариантах осуществления может наличествовать более одной сульфаматной группы. В качестве примера может присутствовать два сульфамата (т.е. бис-сульфаматные соединения).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления по крайней мере одна из групп R^5 и R^6 является атомом водорода.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления каждая из групп R^5 и R^6 являются атомом водорода.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^1 является сульфаматной группой, а соединение пригодно для применения в качестве ингибитора эстронсульфатазы (Е.С. 3.1.6.2).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления в тех случаях, когда сульфаматная группа в сульфаматном соединении должна быть заменена сульфатной группой с образованием сульфатного соединения, такое сульфатное соединение подвержено гидролизу ферментом стероидной сульфатазой (Е.С. 3.1.6.2).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, если бы сульфаматная группа в сульфаматном соединении была заменена сульфатной группой с образованием сульфатного соединения, а последнее было бы инкубировано с ферментом стероидной сульфатазой (Е.С. 3.1.6.2) при pH 7,4 и температуре 37°C, такое соединение характеризовалось бы величиной K_m менее 50 мМ.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, если бы сульфаматная группа в сульфаматном соединении была заменена сульфатной группой с образованием сульфатного соединения, а последнее было бы инкубировано с ферментом стероидной сульфатазой (Е.С. 3.1.6.2) при pH 7,4 и температуре 37°C, такое соединение характеризовалось бы величиной K_m менее 50 мкМ.

Фосфонатная группа.

Если соединение включает фосфонатную группу, то соединение именуется фосфонатным соединением.

В типичном случае, фосфонатная группа имеет формулу $(R^{18})\text{-P(O)(OH)-O-}$, где R^{18} предпочтительно является атомом водорода, алкильной, циклоалкильной, алкенильной, ацильной или арильной группой или их комбинациями, причем каждая алкильная, или циклоалкильная, или алкенильная, или арильная группа необязательно содержит один или более гетероатом или группу.

В тех случаях, когда R^{18} является алкильной группой, R^{18} может быть низш.алкильными группами,

содержащими от 1 до 6 атомов углерода, т.е. метильной, этильной, пропильной и т.д. В качестве примера R^{18} может быть метилом. В тех случаях, когда R^{18} является арильной группой, типичными вариантами являются фенильная и толильная группы ($-\text{PhCH}_3$; о-, м- или п-). В тех случаях, когда R^{18} представляет собой циклоалкильную группу, типичными вариантами являются циклопропил, циклопентил, циклогексил и т.д. R^{18} может даже включать алкиленовую группу с цепочкой из от 4 до 6 атомов углерода, необязательно прерываемой одним или более гетероатомом или группой, являясь, например, 5-членным гетероциклом, например морфолином, пирролидином или пиперидином.

В круг возможных вариантов алкильных, циклоалкильных, алкенильных, ацильных и арильных групп мы включаем замещенные группы, содержащие в качестве заместителей одну или более групп, не влияющих на активность рассматриваемого соединения в ингибировании стероидной сульфатазы. Примеры не влияющих на активность заместителей включают гидроксигруппу, аминогруппу, галоид, алкоксигруппу, алкильную группу и арильную группу.

В некоторых вариантах осуществления фосфонатная группа может образовывать циклическую структуру путем замыкания (или связывания с) одним или более атомами в или на стероидной циклической системе.

В некоторых вариантах осуществления может наличествовать более одной фосфонатной группы. В качестве примера может присутствовать два фосфоната (т.е. бис-фосфонатные соединения). Если такие соединения имеют в своей основе стероидное ядро, вторая (или по крайней мере одна из дополнительных) фосфонатная группа предпочтительно присоединена по 17 положению стероидного ядра. Такие группы не должны быть обязательно одинаковы.

Теофосфонатная группа.

Если соединение включает теофосфонатную группу, то соединение именуется теофосфонатным соединением.

В типичном случае, фосфонатная группа имеет формулу $(R^{18})-\text{P}(\text{S})(\text{OH})-\text{O}-$, где R^{18} предпочтительно является атомом водорода, алкильной, циклоалкильной, алкенильной, ацильной или арильной группой или их комбинациями, причем каждая алкильная, или циклоалкильная, или алкенильная, или арильная группа необязательно содержит один или более гетероатом или группу.

В тех случаях, когда R^{18} является алкильной группой, R^{18} может быть низш.алкильными группами, содержащими от 1 до 6 атомов углерода, т.е. метильной, этильной, пропильной и т.д. В качестве примера R^{18} может быть метилом. В тех случаях, когда R^{18} является арильной группой, типичными вариантами являются фенильная и толильная группы ($-\text{PhCH}_3$; о-, м- или п-). В тех случаях, когда R^{18} представляет собой циклоалкильную группу, типичными вариантами являются циклопропил, циклопентил, циклогексил и т.д. R^{18} может даже включать алкиленовую группу с цепочкой из от 4 до 6 атомов углерода, необязательно разрываемой одним или более гетероатомом или группой, являясь, например, 5-членным гетероциклом, например морфолином, пирролидином или пиперидином.

В круг возможных вариантов алкильных, циклоалкильных, алкенильных, ацильных и арильных групп мы включаем замещенные группы, содержащие в качестве заместителей одну или более групп, не влияющих на активность рассматриваемого соединения в ингибировании стероидной сульфатазы. Примеры не влияющих на активность заместителей включают гидроксигруппу, аминогруппу, галоид, алкоксигруппу, алкильную группу и арильную группу.

В некоторых вариантах осуществления теофосфонатная группа может образовывать циклическую структуру путем замыкания (или связывания с) одним или более атомам в или на стероидной циклической системе.

В некоторых вариантах осуществления может наличествовать более одной теофосфонатной группы. В качестве примера может присутствовать два теофосфоната (т.е. бис-теофосфонатные соединения). Если такие соединения имеют в своей основе стероидное ядро, вторая (или по крайней мере одна из дополнительных) теофосфонатная группа предпочтительно присоединена по 17 положению стероидного ядра. Такие группы не должны быть обязательно одинаковы.

Сульфогруппа.

Если соединение включает сульфогруппу, то соединение именуется сульфонатным соединением.

В типичном случае сульфогруппа имеет формулу $(R^{20})-\text{S}(\text{O})(\text{O})-\text{O}-$, где R^{20} предпочтительно является атомом водорода, алкильной, циклоалкильной, алкенильной, ацильной или арильной группой или их комбинациями, причем каждая алкильная, или циклоалкильная, или алкенильная, или арильная группа необязательно содержит один или более гетероатом или группу.

В тех случаях, когда R^{20} является алкильной группой, R^{20} может быть низш.алкильными группами, содержащими от 1 до 6 атомов углерода, т.е. метильной, этильной, пропильной и т.д. В качестве примера R^{20} может быть метилом. В тех случаях, когда R^{20} является арильной группой, типичными вариантами являются фенильная и толильная группы ($-\text{PhCH}_3$; о-, м- или п-). В тех случаях, когда R^{20} представляет собой циклоалкильную группу, типичными вариантами являются циклопропил, циклопентил, циклогексил и т.д. R^{20} может даже включать алкиленовую группу с цепочкой из от 4 до 6 атомов углерода, необязательно прерываемой одним или более гетероатомом или группой, являясь, например, 5-членным гетероциклом, например морфолином, пирролидином или пиперидином.

В круг возможных вариантов алкильных, циклоалкильных, алкенильных, ацильных и арильных групп мы включаем замещенные группы, содержащие в качестве заместителей одну или более групп, не влияющих на активность рассматриваемого соединения в ингибировании стероидной сульфатазы. Примеры не влияющих на активность заместителей включают гидроксигруппу, аминогруппу, галоид, алкоксигруппу, алкильную группу и арильную группу.

В некоторых вариантах осуществления сульфогруппа может образовывать циклическую структуру путем замыкания (или связывания с) одним или более атомами в или на стероидной циклической системе.

В некоторых вариантах осуществления может находиться более одной сульфогруппы. В качестве примера, может присутствовать два сульфоната (т.е. бис-сульфонатные соединения). Если такие соединения имеют в своей основе стероидное ядро, вторая (или по крайней мере одна из дополнительных) сульфогруппа предпочтительно присоединена по 17 положению стероидного ядра. Такие группы не должны быть обязательно одинаковы.

Другие заместители.

Соединение может иметь иные заместители, нежели включенные в формулу I. В качестве примера подобные иные заместители могут быть каким-либо одним или более среди следующих: одна или более сульфаматная группа(группы), одна или более фосфонатная группа(группы), одна или более тиофосфонатная группа(группы), одна или более сульфогруппа(группы), одна или более сульфонамидная группа(группы), одна или более галоидная группа, одна или более группа в виде атома кислорода, одна или более гидроксигруппа, одна или более аминогруппа, одна или более серосодержащая группа(группы), одна или более гидрокарбильная группа(группы), такая как оксигидрокарбильная группа.

Цикл D стероидной циклической системы соединения замещен группой R^2 формулы -L-R, где L является необязательной мостиковой группой, а R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^2 имеет формулу - R^3 ; иными словами, группа L отсутствует.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления группа R^2 имеет α -конформацию. Предпочтительно группа R^2 находится в α -конформации и присоединена по 17 положению в цикле D.

L.

В некоторых вариантах осуществления L является гидрокарбильной группой. В некоторых вариантах осуществления L является углеводородной группой, такой как алкиленовая группа.

В типичных случаях, L может быть (C_1-C_{10}) алкиленом, (C_1-C_5) алкиленом, C_1 - или C_2 -алкиленом.

R^3 .

Как обсуждалось выше, R^3 выбрана среди групп, являющихся нитрильной группой, спиртом, сложным эфиром, простым эфиром, амином и алкеном или включающих одну из перечисленных групп. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^3 выбрано среди следующих групп: нитрила, спирта, сложного эфира, простого эфира, амина или алкена. Предпочтительно R^3 является нитрильной группой или включает ее. Предпочтительно R^3 является нитрильной группой.

R^3 может быть циклической группой или нециклической группой. В тех случаях, когда R^3 является циклической группой, она может образовывать цикл, конденсированный с циклом D стероида или не конденсированный с циклом D стероида. В тех случаях, когда R^3 является циклической группой, конденсированной с циклом D стероида, R^3 предпочтительно образует цикл, присоединенный по соседним положениям в цикле D; более предпочтительно, R^3 образует цикл, присоединенный к циклу D по положениям 16 и 17.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^3 выбрана из групп формулы $=CH_2$, $=CH-CH_3$, $=C(CN)_2$, $=C(CH_3)(CN)$ и $-(R^7)_n(CR^{14}R^{15})_pR^8$, где n принимает значения 0 или 1, p является целым числом, R^7 выбрана среди $=CH-$, $-O-$ и NR^{13} , R^8 выбрана среди $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}-C\equiv CH$ и $-CH=CH_2$; R^9 выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{10} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{13} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы, q является целым числом, X является кислородом или серой, R^{16} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы и R^{17} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^3 является группой формулы $-(R^7)_n(CR^{14}R^{15})_pR^8$, где n принимает значения 0 или 1, p является целым числом, R^7 выбрана среди $=CH-$, $-O-$ и NR^{13} , R^8 выбрана среди SO_2-R^9 , $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}-C\equiv CH$ и $-CH=CH_2$; R^9 выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{10} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{13} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы, q является целым числом, X

является кислородом или серой, R^{16} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы и R^{17} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^3 является группой формулы $-(CR^{14}R^{15})_pR^8$, p является целым числом; R^8 выбрана среди $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$, $-C\equiv CH$ и $-CH=CH_2$; R^9 выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{10} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы, q является целым числом, X является кислородом или серой, R^{16} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы и R^{17} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^3 является группой формулы $-(CH_2)_pR^8$, p является целым числом; R^8 выбрана среди $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$, $-C\equiv CH$ и $-CH=CH_2$; R^9 выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{10} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы, q является целым числом, X является кислородом или серой, R^{16} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы и R^{17} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления R^3 является группой формулы $-(R^7)_nR^8$, где n принимает значения 0 или 1, R^7 выбрана среди $=CH-$, $-O-$ и NR^{13} ; R^8 выбрана среди $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$, $-C\equiv CH$ и $-CH=CH_2$; R^9 выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, R^{10} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы; R^{13} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы, q является целым числом, X является кислородом или серой, R^{16} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы и R^{17} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы.

Число p может принимать любое целое значение. Число p может лежать в пределах от 0 до 20. Число p может лежать в пределах от 0 до 10. В типичных случаях, p находится в пределах от 0 до 5. В одном из вариантов осуществления p принимает значения 0, 1 или 2.

Число q может принимать любое целое значение. Число q может лежать в пределах от 0 до 20. Число q может лежать в пределах от 0 до 10. В типичных случаях q находится в пределах от 0 до 5. В одном из вариантов осуществления q принимает значения 0, 1 или 2.

R^8 выбрана среди $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$, $-C\equiv CH$ и $-CH=CH_2$. В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^8 является $-SO_2-R^9$. В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^8 является $-SO_2-R^9$, где R^9 является гидрокарбильной группой.

Предпочтительно в данном варианте осуществления R^7 является $-O-$, n принимает значение 1 и p принимает значение 0, таким образом, что R^3 является $-O-SO_2R^9$.

R^9 выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы. В одном из вариантов осуществления R^9 является гидрокарбильной группой. В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^9 выбрана среди какой-либо из следующих групп: атома водорода, (C_1-C_{20}) гидрокарбильной, (C_1-C_{10}) гидрокарбильной, (C_1-C_5) гидрокарбильной, (C_1-C_3) гидрокарбильной групп, углеводородных групп, (C_1-C_{20}) углеводородной, (C_1-C_{10}) углеводородной, (C_1-C_5) углеводородной, (C_1-C_3) углеводородной групп, алкильных групп, (C_1-C_{20}) алкильной, (C_1-C_{10}) алкильной, (C_1-C_5) алкильной и (C_1-C_3) алкильной групп.

В одном из вариантов осуществления R^9 выбрана среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения R^9 является (C_1-C_{10}) алкилом. В одном из вариантов осуществления R^9 выбрана среди атома водорода и (C_1-C_5) алкила. В одном из вариантов осуществления R^9 является (C_1-C_5) алкилом. В одном из вариантов осуществления R^9 выбрана среди атома водорода и (C_1-C_3) алкила. В одном из вариантов осуществления R^9 является (C_1-C_3) алкилом. Предпочтительно R^9 является этилом.

В одном из вариантов осуществления R^9 является замещенным или незамещенным амином. В случае наличия замещения N-замещенные соединения могут содержать один или два N-алкильных, N-алкенильных, N-циклоалкильных, N-ацильных или N-арильных заместителей, предпочтительно содержащих вместе или по отдельности не более 10 атомов углерода. В предпочтительном варианте осуществления R^9 является незамещенным амином, т.е. R^9 является NH_2 .

R^{10} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы. В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^{10} выбрана среди какой-либо из следующих групп: атома водорода, (C_1-C_{20}) гидрокарбильной, (C_1-C_{10}) гидрокарбильной, (C_1-C_5) гидрокарбильной, (C_1-C_3) гидрокарбильной групп, углеводородных групп, (C_1-C_{20}) углеводородной, (C_1-C_{10}) углеводородной, (C_1-C_5) углеводородной, (C_1-C_3) углеводородной групп, алкильных групп, (C_1-C_{20}) алкильной, (C_1-C_{10}) алкильной, (C_1-C_5) алкильной и (C_1-C_3) алкильной групп.

В одном из вариантов осуществления R^{10} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{10} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_5) алкила. В одном из вариантов

осуществления R^{10} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_3) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{10} является (C_1-C_3) алкилом. Предпочтительно R^{10} является водородом или метилом.

Как было упомянуто выше, R^{11} и R^{12} , принадлежащие $NR^{11}R^{12}$, независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы. В случае наличия замещения N-замещенные соединения по настоящему изобретению могут содержать один или два N-алкильных, N-алкенильных, N-циклоалкильных, N-ацильных или N-арильных заместителя, предпочтительно содержащих вместе или по отдельности не более 10 атомов углерода. В тех случаях, когда R^{11} и/или R^{12} являются ацильными группами, предпочтительными вариантами являются такие, когда R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди низш.алкильных групп, содержащих от 1 до 5 атомов углерода, т.е. метильной, этильной, пропильной и т.д. Предпочтительно R^{11} и R^{12} являются метильными группами. В тех случаях, когда R^{11} и/или R^{12} являются арильными группами, типичными вариантами являются фенольная и толильная группы ($-\text{PhCH}_3$; о-, м- или п-). В тех случаях, когда R^{11} и R^{12} представляют собой циклоалкильную группу, типичными вариантами являются циклопропил, циклопентил, циклогексил и т.д. В тех случаях, когда R^{11} и R^{12} объединены, они, как правило, представляют собой алкиленовую группу с цепочкой из от 4 до 6 атомов углерода, необязательно прерываемой одним или более гетероатомом или группой, например, -O- или -NH-, что приводит к 5-, 6- или 7-членному гетероциклу, например, морфолину, пирролидину или пиперидину.

В одном из вариантов осуществления R^{11} и R^{12} независимо друг от друга являются гидрокарбильными группами. В одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди какой-либо из следующих групп: атома водорода, (C_1-C_{20}) гидрокарбильной, (C_1-C_{10}) гидрокарбильной, (C_1-C_5) гидрокарбильной, (C_1-C_3) гидрокарбильной групп, углеводородных групп, (C_1-C_{20}) углеводородной, (C_1-C_{10}) углеводородной, (C_1-C_5) углеводородной, (C_1-C_3) углеводородной групп, алкильных групп, (C_1-C_{20}) алкильной, (C_1-C_{10}) алкильной, (C_1-C_5) алкильной и (C_1-C_3) алкильной групп.

В одном из вариантов осуществления R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{11} и R^{12} независимо друг от друга являются (C_1-C_{10}) алкильными группами. В одном из вариантов осуществления R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и (C_1-C_5) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{11} и R^{12} независимо друг от друга являются (C_1-C_5) алкильными группами. В одном из вариантов осуществления R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и (C_1-C_3) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{11} и R^{12} независимо друг от друга являются (C_1-C_3) алкильными группами. Предпочтительно R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и метильной группы.

R^{13} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы. В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^{13} выбрана среди какой-либо из следующих групп: атома водорода, (C_1-C_{20}) гидрокарбильной, (C_1-C_{10}) гидрокарбильной, (C_1-C_5) гидрокарбильной, (C_1-C_3) гидрокарбильной групп, углеводородных групп, (C_1-C_{20}) углеводородной, (C_1-C_{10}) углеводородной, (C_1-C_5) углеводородной, (C_1-C_3) углеводородной групп, алкильных групп, (C_1-C_{20}) алкильной, (C_1-C_{10}) алкильной, (C_1-C_5) алкильной и (C_1-C_3) алкильной групп.

В одном из вариантов осуществления R^{13} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{13} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_5) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{13} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_3) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{13} является (C_1-C_3) алкилом. Предпочтительно R^{13} является атомом водорода.

R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы. В одном из вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга являются гидрокарбильными группами. В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди какой-либо из следующих групп: атома водорода, (C_1-C_{20}) гидрокарбильной, (C_1-C_{10}) гидрокарбильной, (C_1-C_5) гидрокарбильной, (C_1-C_3) гидрокарбильной групп, углеводородных групп, (C_1-C_{20}) углеводородной, (C_1-C_{10}) углеводородной, (C_1-C_5) углеводородной, (C_1-C_3) углеводородной групп, алкильных групп, (C_1-C_{20}) алкильной, (C_1-C_{10}) алкильной, (C_1-C_5) алкильной и (C_1-C_3) алкильной групп.

В одном из вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга являются (C_1-C_{10}) алкильными группами. В одном из вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга являются (C_1-C_5) алкильными группами. В одном из вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и (C_1-C_3) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга являются (C_1-C_3) алкильными группами. В одном из вариантов осуществления R^{14} и R^{15} независимо друг от друга являются выбрана среди атома водорода и (C_1-C_3) алкильными группами. Предпочтительно R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и метильной группы.

X выбрана среди атомов кислорода или серы. В одном из вариантов осуществления X является атомом серы. В одном из вариантов осуществления X является атомом кислорода.

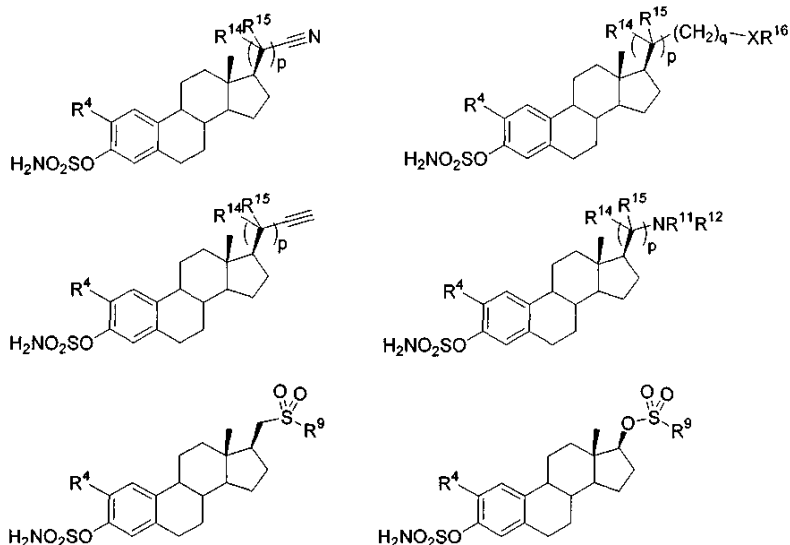
R^{16} выбрана среди атома водорода и гидрокарбильной группы. В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^{16} выбрана среди какой-либо из следующих групп: атома водорода, $(C_1-$

C_{20})гидрокарбильной, (C_1-C_{10}) гидрокарбильной, (C_1-C_5) гидрокарбильной, (C_1-C_3) гидрокарбильной групп, углеводородных групп, (C_1-C_{20}) углеводородной, (C_1-C_{10}) углеводородной, (C_1-C_5) углеводородной, (C_1-C_3) углеводородной групп, алкильных групп, (C_1-C_{20}) алкильной, (C_1-C_{10}) алкильной, (C_1-C_5) алкильной и (C_1-C_3) алкильной групп.

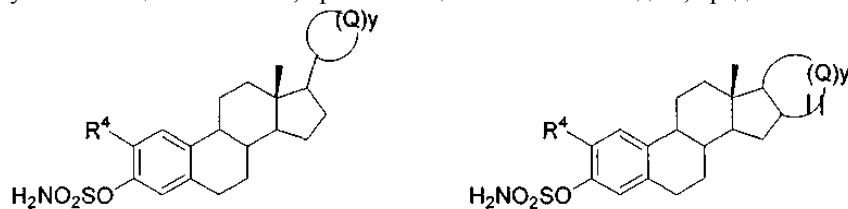
В одном из вариантов осуществления R^{16} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{16} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_5) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{16} выбрана среди атома водорода и (C_1-C_3) алкила. В одном из вариантов осуществления R^{16} является (C_1-C_3) алкилом. Предпочтительно R^{16} является атомом водорода.

В одном из особенно предпочтительных вариантов осуществления R^3 является группой, выбранной среди $=CHC(O)OEt$, $-CH_2C(O)OEt$, $=CHCH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2C\equiv N$, $=CHC\equiv N$, $-NHCH_2CH_2N(Me)_2$, $-OCH_2CH_2-OMe$.

Наиболее предпочтительные группы R^3 выбраны среди представленных ниже вариантов замещения в цикле D



В одном из вариантов осуществления R^3 может быть выбрана среди показанных ниже вариантов замещения в цикле D, причем каждая Q независимо друг от друга выбрана среди атома кислорода, атома серы, NH и CH_2 , а y является целым числом, принимающим значения от 3 до 8, предпочтительно 5, 6, 7 и 8.



Как было упомянуто выше, цикл A стероидной циклической системы замещен группой R^4 , где R^4 является гидрокарбильной группой.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^4 является оксигидрокарбильной группой.

Как это обсуждалось выше, термин «оксигидрокарбильная группа», как он используется в контексте в отношении R^4 , означает группу, которая включает, по крайней мере, атомы углерода, водорода и кислорода и может необязательно включать один или более из иных подходящих заместителей. Примеры таких заместителей могут включать галоид, алкоксигруппу, нитрогруппу, алкильную группу, циклическую группу и т.д. В дополнение к той возможности, что заместитель является циклической группой, комбинация заместителей может образовывать циклическую группу. Если оксигидрокарбильная группа включает более одного атома углерода, такие атомы углерода не должны быть обязательно связаны друг с другом. Например, по крайней мере два из атомов углерода могут быть связаны посредством подходящего элемента или группы. Таким образом, оксигидрокарбильная группа может содержать гетероатомы. Подходящие гетероатомы должны быть очевидны специалистам в соответствующей области и включают, например, серу и азот.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^4 является оксиуглеводородной группой.

Термин «оксиуглеводород» означает в контексте (или R^4 является) какую-либо из алкоксигруппы, оксиалкенильной группы, оксиалкинильной группы, каковые группы могут быть неразветвленными, разветвленными или циклическими, или оксиарильной группы. Термин «оксиуглеводород» также включает эти группы в тех случаях, когда они необязательно замещены. Если оксиуглеводород является разветвленной структурой, содержащей заместитель или заместители, то замещение может иметь место или по

основной углеводородной цепи, или по побочной; альтернативно, может иметь место замещение и по основной, и по побочной углеводородной цепи.

Предпочтительно оксигидрокарбильная группа R^4 является алкоксигруппой. Предпочтительно оксигидрокарбильная группа R^4 отвечает формуле $C_{1-6}O$ (такой, как $C_{1-3}O$). Предпочтительно, оксигидрокарбильная группа R^4 отвечает формуле $-O(CH_2)_{1-10}CH_3$, $-O(CH_2)_{1-5}CH_3$, $-O(CH_2)_{1-2}CH_3$. В особенно предпочтительном варианте осуществления R^4 является метоксигруппой.

Предпочтительно оксигидрокарбильная группа R^4 является простой эфирной группой. Предпочтительно оксигидрокарбильная группа R^4 отвечает формуле $C_{1-6}OC_{1-6}$ (такой как $C_{1-3}OC_{1-3}$). Предпочтительно оксигидрокарбильная группа R^4 отвечает формуле $-(CH_2)_{1-10}O(CH_2)_{1-10}CH_3$, $-(CH_2)_{1-5}O(CH_2)_{1-5}CH_3$, $-(CH_2)_{1-2}O(CH_2)_{1-2}CH_3$. В особенно предпочтительном варианте осуществления R^4 является $-CH_2OCH_3$.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^4 является углеводородной группой. Предпочтительно R^4 является алкильной группой. Предпочтительно алкильная группа является (C_1-C_6) алкильной группой (такой как (C_1-C_3) алкильная группа). Предпочтительно гидрокарбильная группа R^4 отвечает формуле $-(CH_2)_{1-10}CH_3$, $-(CH_2)_{1-5}CH_3$, $-(CH_2)_{1-2}CH_3$. В особенно предпочтительном варианте осуществления R^4 является этилом.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^4 выбрана среди какой-либо из следующих групп: (C_1-C_{10}) гидрокарбильной, (C_1-C_5) гидрокарбильной, (C_1-C_3) гидрокарбильной групп, углеводородных групп, (C_1-C_{10}) углеводородной, (C_1-C_5) углеводородной, (C_1-C_3) углеводородной групп, алкильных групп, (C_1-C_{10}) алкильной, (C_1-C_5) алкильной и (C_1-C_3) алкильной групп.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^4 является гидрокарбилсульфанильной группой.

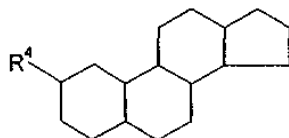
Термин «гидрокарбилсульфанил» означает группу, включающую, по крайней мере, гидрокарбильную группу (как она определена в контексте) и серу. Эта серосодержащая группа может быть необязательно окислена. Предпочтительно гидрокарбилсульфанильная группа отвечает формуле $-S$ -гидрокарбил, где гидрокарбильная группа является такой, как описано в контексте.

Термин «гидрокарбилсульфанильная группа», как он используется в контексте в отношении R^4 , означает группу, которая включает, по крайней мере, атомы углерода, водорода и серы и может необязательно включать один или более из иных подходящих заместителей. Примеры таких заместителей могут включать галоид, алкоксигруппу, нитрогруппу, алкильную группу, циклическую группу и т.д. В дополнение к той возможности, что заместитель является циклической группой, комбинация заместителей может образовывать циклическую группу. Если гидрокарбилсульфанильная группа включает более одного атома углерода, такие атомы углерода не должны быть обязательно связаны друг с другом. Например, по крайней мере два из атомов углерода могут быть связаны посредством подходящего элемента или группы. Таким образом, гидрокарбилсульфанильная группа может содержать и другие гетероатомы. Подходящие гетероатомы должны быть очевидны специалистам в соответствующей области и включают, например, азот.

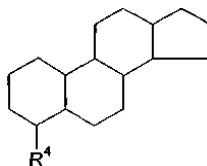
В одном из предпочтительных вариантов осуществления R^4 является гидрокарбилсульфанильной группой. Термин «гидрокарбилсульфанильная группа», как он используется в контексте в отношении R^4 , означает группу, состоящую из атомов углерода, водорода и серы. Предпочтительно гидрокарбилсульфанильная группа отвечает формуле $-S$ -углеводород, где углеводородная группа является такой, как описано в контексте.

Предпочтительно гидрокарбилсульфанильная группа R^4 отвечает формуле $C_{1-6}S$ (такой как $C_{1-3}S$). Предпочтительно гидрокарбилсульфанильная группа R^4 отвечает формуле $-S(CH_2)_{1-10}CH_3$, $-S(CH_2)_{1-5}CH_3$, $-S(CH_2)_{1-2}CH_3$. В особенно предпочтительном варианте осуществления R^4 является $-S-Me$.

Как было упомянуто выше, R^4 находится в положении 2 или 4 в цикле А. Таким образом, соединение может отвечать формуле



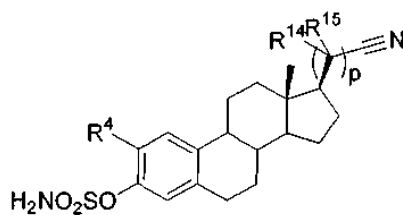
или



Предпочтительно R^4 находится в положении 2 в цикле А.

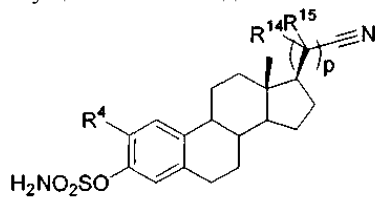
Еще в одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, в тех случаях, когда цикл А замещен группами R^1 и R^4 , R^4 находится в орто-положении по отношению к R^1 .

В предпочтительном варианте осуществления соединение отвечает формуле



где R^4 является гидрокарбильной группой, R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы, а p является целым числом.

В предпочтительном варианте осуществления соединения отвечает формуле



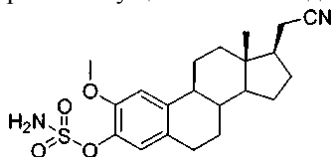
где R^4 является оксигликозидной группой или углеводородной группой, R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкильной группы, а p является целым числом, принимающим значения от 0 до 5.

В этом варианте осуществления R^4 предпочтительно является алкоксигруппой, такой как группа $C_{1-6}O$, или алкильной группой, такой как (C_1-C_6) алкильная группа. Предпочтительно R^4 является метоксигруппой или этилом.

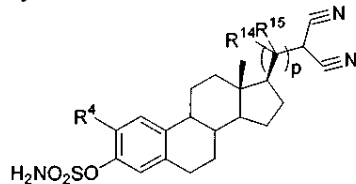
В этом варианте осуществления R^{14} и R^{15} предпочтительно выбраны независимо друг от друга среди атома водорода и метильной группы; более предпочтительно R^{14} и R^{15} являются атомами водорода.

В этом варианте осуществления p предпочтительно принимает значения 0, 1, или 2. Более предпочтительно p принимает значение 1.

В особенно предпочтительном варианте осуществления соединения отвечает формуле

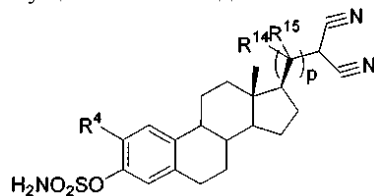


В предпочтительном варианте осуществления соединения отвечает формуле



где R^4 является гидрокарбильной группой, R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и гидрокарбильной группы, а p является целым числом.

В предпочтительном варианте осуществления соединения отвечает формуле



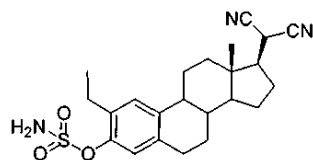
где R^4 является оксигликозидной группой или углеводородной группой, R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбраны среди атома водорода и (C_1-C_{10}) алкильной группы, а p является целым числом, принимающим значения от 0 до 5.

В этом варианте осуществления R^4 предпочтительно является алкоксигруппой, такой как группа $C_{1-6}O$, или алкильной группой, такой как (C_1-C_6) алкильная группа. Предпочтительно R^4 является метоксигруппой или этилом.

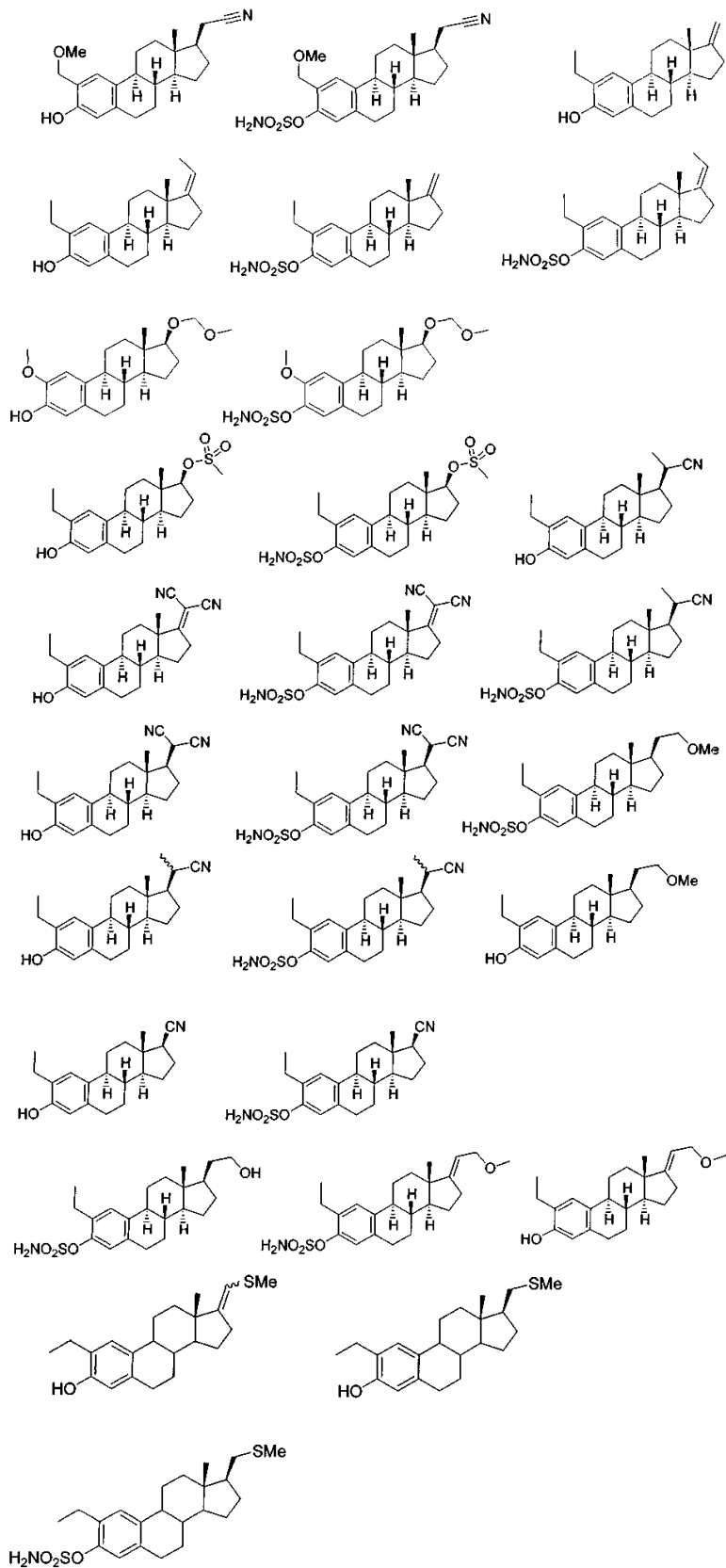
В этом варианте осуществления R^{14} и R^{15} предпочтительно выбраны независимо друг от друга среди атома водорода и метильной группы; более предпочтительно R^{14} и R^{15} являются атомами водорода.

В этом варианте осуществления p предпочтительно принимает значения 0, 1, или 2. Более предпочтительно p принимает значение 1.

В особенно предпочтительном варианте осуществления соединения отвечает формуле



Наиболее предпочтительные соединения представлены ниже и могут быть выбраны среди следующих:



Композиция.

Как это было описано выше, одним из вариантов осуществления является фармацевтическая композиция, включающая: (а) (1) соединение, как оно определено в контексте, или (2) композицию, как она определена в контексте, и (б) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, наполнитель или адъювант.

Композиция может включать более одного модификатора биологической ответной реакции.

Термин «модификатор биологической ответной реакции» включает цитокины, иммуномодуляторы, факторы роста, факторы регуляции гемопоэза, колониестимулирующий фактор, хемотаксические, гемолитические и тромболитические факторы, рецепторы клеточной поверхности, лиганды, лейкоцитарные адгезивные молекулы, моноклональные антитела, профилактические и лечебные вакцины, гормоны, компоненты внеклеточного матрикса, фибронектин и т.д.

Модификаторы биологической ответной реакции могут играть роль в модуляции иммунного и воспалительного ответа при расстройствах. Примеры модификаторов биологической ответной реакции включают фактор некроза опухолей (TNF), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, эритропоэтин, инсулиноподобный фактор роста (IGF), фактор роста эпидермиса (EGF), трансформирующий фактор роста (TGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), интерфероны (IFNs), интерлейкины, тканевые активаторы плазминогена, Р-, Е- и L-селектины, эндотелиальные межклеточные адгезивные молекулы (ICAM-1), васкулярные клеточные адгезивные молекулы (VCAM), селектины, адрессины и т.д.

Предпочтительно модификатор биологической ответной реакции является цитокином.

Цитокин является молекулой, зачастую - растворимым белком, которая позволяет иммунокомпетентным клеткам обмениваться между собой информацией. Эти молекулы осуществляют свои биологические функции через посредство специфических рецепторов, экспрессированных на поверхности клеток-мишеней. Связывание рецепторов инициирует подачу каскада биохимических сигналов, производящих глубокое воздействие на поведение несущей рецептор клетки (Poole, S 1995 TibTech 13: 81-82). Многие цитокины и их рецепторы идентифицированы на молекулярном уровне (Paul и Sedar 1994, Cell 76: 241-251) и являются подходящими молекулами, имеющими терапевтическое значение, равно как и являются сами по себе мишенями для терапевтического воздействия.

Более подробную информацию о цитокинах можно найти в Molecular Biology and Biotechnology (изд. VCH, под ред. Meyers, 1995, стр. 202, 203, 394, 390, 475, 790).

Примеры цитокинов включают интерлейкины (IL), такие как IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-19; фактор некроза опухолей (TNF), такой как TNF- α ; интерфероны α , β и γ ; трансформирующий фактор роста TGF- β .

Для настоящего изобретения цитокин предпочтительно является фактором некроза опухолей (TNF).

Более предпочтительно цитокин является TNF- α .

TNF является цитокином, вырабатываемым макрофагами и лимфоцитами, который служит посредником в воспалительных и иммунопатологических ответах. TNF вовлечен в процесс развития заболеваний, которые включают иммуномодуляторное расстройство, инфекцию, пролиферацию клеток, ангиогенез, неоваскуляризацию, метастаз опухоли, апоптоз, сепсис и эндотоксемию, но не ограничиваются перечисленным.

Омертвеваящее действие TNF *in vivo* в основном относится к повреждению капилляров. TNF вызывает некроз не только в опухолевых тканях, но и в грануляционной ткани. Он вызывает морфологические изменения в ингибировании роста культивируемых клеток сосудистого эндотелия и цитотоксичности в их отношении (Haranka и др. 1987 Ciba Found Symp 131: 140-153).

В предпочтительном варианте осуществления TNF может быть любого типа, такой как TNF- α , TNF- β , включая их производные и смеси.

Положения, имеющие отношение к TNF, могут быть найдены в документах, относящихся к данной области, таких как международные заявки на патент WO-A-98/08870 и WO-A-98/13348.

TNF может быть получен химическим путем или экстрагирован из содержащих его источников. Предпочтительно TNF получают по методикам, использующим рекомбинантные ДНК.

В этом варианте осуществления композиции более эффективны *in vivo*, чем соединения сами по себе или TNF сам по себе. Более того, комбинация соединений и TNF в некоторых отношениях более эффективны, чем можно было бы ожидать, исходя из эффективности соединения самого по себе, т.е. между соединениями и TNF существуют синергические взаимоотношения.

Кроме того, рассматривается композиция, содержащая также индуктор модификатора биологической ответной реакции, такой как индуктор модификатора биологической ответной реакции *in vivo*.

Компоненты композиции могут быть добавлены в общую смесь, одновременно или последовательно. Кроме того, согласно настоящему изобретению может оказаться возможным сформировать по крайней мере часть композиции *in situ* (как, например, *in vivo*) путем индуцирования экспрессии или увеличения экспрессии одного из компонентов. Например, может оказаться возможным индуцировать экспрессию или увеличить экспрессию модификатора биологической ответной реакции, такого как TNF. В качестве примера, может оказаться возможным индуцировать экспрессию или увеличить экспрессию

TNF путем добавления бактериального липополисахарида (LPS) и мурамилдипептида (MDP). В этом случае, бактериальный LPS и MDP в комбинации могут стимулировать производство TNF клетками селезенки мышей *in vitro* и регрессия опухоли *in vivo* (Fuks и др. Bull Exp Biol Med 1987 104: 497-499).

В способе лечения субъект предпочтительно является млекопитающим, более предпочтительно человеком. Для некоторых применений человек предпочтительно является женщиной.

Также описаны новые промежуточные вещества, применимые в получении соединений, например новые спирты - предшественники соединений. В качестве дальнейшего примера описаны бис-защищенные предшественники соединений. Примеры каждого из таких предшественников приводятся в настоящей заявке. Описаны также способ синтеза соединений, включающий любой из этих предшественников или их оба.

Стероидная сульфатаза.

Стероидная сульфатаза, именуемая иногда стероидной сульфатазой, или стерилсульфатазой, или, для краткости, «STS», гидролизует ряд сульфатированных стероидов, таких как эстрон-сульфат, дегидроэпиандростерон-сульфат и холестерин-сульфат. В классификации ферментов STS имеет номер EC 3.1.6.2.

STS была клонирована и экспрессирована. См., например, Stein и др. (J. Biol. Chem. 264:13865-13872 (1989)) и Yen и др. (Cell 49:443-454(1987)).

STS является ферментом, вовлеченным в ряд болезненных состояний.

В качестве примера исследователи обнаружили, что общий недостаток STS приводит к ихтиозу. Согласно некоторым исследователям, недостаток STS весьма широко распространена в Японии. Те же исследователи (Sakura и др., Inherit Metab Dis, ноябрь 1997; 20(6):807-10) сообщают также, что аллергические заболевания, такие как бронхиальная астма, аллергические риниты или диффузный нейродерматит, могут быть связаны с недостатком стероидной сульфатазы.

Вдобавок к болезненным состояниям, возникающим при посредстве общего недостатка активности STS, повышенный уровень активности STS может также вызывать болезненные состояния. В качестве примера, как было указано выше, существуют серьезные свидетельства в поддержку того, что STS играет роль в развитии рака молочной железы и метастаз.

STS также вовлечена в другие болезненные состояния. В качестве примера, Le Roy и др. (Behav Genet, март 1999; 29(2): 131-6) обнаружили, что может существовать генетическая корреляция между концентрацией стероидной сульфатазы и инициацией агрессивного поведения у мышей. Авторы заключают, что сульфатирование стероидов может быть первичной движущей силой сложной сети, включающей гены, связанные, как показано, с агрессией при посредстве мутагенеза.

Ингибирование STS.

Полагают, что некоторые болезненные состояния связаны с активностью STS вследствие преобразования неактивного сульфатированного эстрона в активный несulfатированный эстрон. При болезненных состояниях, связанных с активностью STS, было бы желательно осуществить ингибирование активности STS.

Термин «ингибировать» здесь включает снижение, и/или устранение, и/или маскирование, и/или предотвращение вредного действия STS.

Ингибитор STS.

Согласно настоящему изобретению соединение по настоящему изобретению способно действовать в качестве ингибитора STS.

Термин «ингибитор», как он используется в контексте в отношении соединения по настоящему изобретению, означает здесь соединение, которое может ингибировать активность STS, как то снизить, и/или устранить, и/или маскировать, и/или предотвратить вредное действие STS. Ингибитор STS может действовать в качестве антагониста.

Способность соединений ингибировать эстронсульфатазу может быть определена с использованием неповрежденных клеток трофобластической опухоли JEG3 или плацентарных микросом. Кроме того, может быть использована экспериментальная модель на животных. Подробная информация о подходящих методиках анализа представлена в нижеследующих разделах. Следует отметить, что другие анализы также могут быть использованы для определения активности STS и, таким образом, ингибирования STS. Например, можно также сослаться на положения, описанные в международной заявке на патент WO-A-99/50453.

В одном из вариантов осуществления для некоторых применений соединение дополнительно характеризуется тем свойством, что если бы сульфаматная группа была заменена сульфатной группой с образованием сульфатного производного, то такое сульфатное производное могло бы быть гидролизуемо ферментом, обладающим активностью стероидной сульфатазы (E.C. 3.1.6.2), т.е. при инкубировании со стероидной сульфатазой EC 3.1.6.2 при pH 7,4 и температуре 37°C.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления, если бы сульфаматная группа была заменена сульфатной группой с образованием сульфатного соединения, то такое сульфатное соединение могло бы быть гидролизуемо ферментом, обладающим активностью стероидной сульфатазы (E.C. 3.1.6.2), и характеризовалось бы величиной K_m менее 200 мМ, предпочтительно менее 150 мМ, предпочтительно

менее 100 мМ, предпочтительно менее 75 мМ, предпочтительно менее 50 мМ при инкубировании со стероидной сульфатазой ЕС 3.1.6.2 при pH 7.4 и температуре 37°C.

В предпочтительном варианте осуществления соединение не гидролизуемо ферментом, обладающим активностью стероидной сульфатазы (Е.С. 3.1.6.2).

Для некоторых применений соединение предпочтительно обладает по крайней мере приблизительно 100-кратной селективностью в отношении целевой мишени (т.е. STS и/или ароматазы), предпочтительно по крайней мере приблизительно 150-кратной селективностью в отношении целевой мишени, предпочтительно по крайней мере приблизительно 200-кратной селективностью в отношении целевой мишени, предпочтительно по крайней мере приблизительно 250-кратной селективностью в отношении целевой мишени, предпочтительно по крайней мере приблизительно 300-кратной селективностью в отношении целевой мишени, предпочтительно по крайней мере приблизительно 350-кратной селективностью в отношении целевой мишени.

Следует отметить, что соединение может иметь и другие полезные свойства помимо или вместо способности ингибировать активность STS и/или ароматазы.

Анализ для определения активности STS с использованием раковых клеток (методика 1)

Ингибирование активности стероидной сульфатазы в клетках JEG3.

Активность стероидной сульфатазы измеряют *in vitro* с использованием неповрежденных клеток трофобластической опухоли JEG3. Эта линия клеток может быть использована для изучения контроля роста клеток рака молочной железы человека. Она характеризуется значительной активностью стероидной сульфатазы (Boivin и др., J. Med. Chem., 2000, 43: 4465 - 4478) и может быть получена из Американской Коллекции Типовых Культур (ATCC).

Клетки содержат в минимальной эссенциальной среде (Minimal Essential Medium, MEM) (Flow Laboratories, Irvine, Scotland), содержащей 20 мМ 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфокислоты (HEPES), 5% эмбриональной бычьей сыворотки, 2 мМ глутамина, не относящиеся к незаменимым аминокислоты и 0,075% гидрокарбоната натрия. Производится параллельный посев в 25 см² колбы для тканевых культур в количестве до 30 при плотности посева около 1×10⁵ клеток на колбу и с использованием вышеописанной среды. Клетки выращивают до 80% слияния, а среду меняют каждые третьи сутки.

Неповрежденные монослои клеток JEG3 во взятых по три 25 см² колбах для тканевых культур промывают сбалансированным солевым раствором Эрла (Earle's Balanced Salt Solution, EBSS, производства компании ICN Flow, High Wycombe, Великобритания) и инкубируют в течение 3-4 ч при температуре 37°C с 5 пмоль (7×10⁵ распадов в минуту) [6,7-³H]эстрон-3-сульфата (специфическая активность 60 кюри/моль, производства компании New England Nuclear, Бостон, Массачусетс, США) в бессывороточной MEM (2,5 мл) вместе с эстрон-3-сульфаматом (5 концентраций: 1, 10, 100, 1000 нМ и 10 мкМ). После инкубирования каждую колбу охлаждают и переводят среду (1 мл) с помощью пипеток в отдельные пробирки, содержащие [¹⁴C]эстрон (7×10³ распадов в минуту) (специфическая активность 97 кюри/моль, производства компании Amersham International Radiochemical Centre, Amersham, Великобритания). Смесь тщательно встряхивают в течение 30 с с толуолом (5 мл). Эксперименты показывают, что более 90% [¹⁴C]эстрона и менее 0,1% [³H]эстрон-3-сульфата удаляется из водной фазы при такой обработке. Часть органической фазы (2 мл) удаляют, выпаривают и определяют содержание ³H и ¹⁴C в остатке с помощью сцинтилляционной спектрометрии. Массу гидролизованного эстрон-3-сульфата рассчитывают, исходя из полученного числа отсчетов для ³H (поправленного на использование объема среды и органической фазы и обратное выделение добавленного [¹⁴C]эстрона) и специфической активности субстрата. Каждая серия экспериментов включает инкубирование микросом, полученных из сульфатаза-положительной человеческой плаценты (позитивный контроль) и колбы без клеток (для определения степени видимого неферментативного гидролиза субстрата). Число клеточных ядер на колбу определяют с помощью счетчика Coulter после обработки монослоев клеток запонином. Одну колбу из каждой серии используют для определения состояния и жизнеспособности клеточной мембраны с использованием метода вытеснения трипанового синего (Phillips, H.J. (1973) в: Tissue culture and applications, [под ред. Kruse, D.F. и Patterson, M.K.]; стр. 406-408; Academic Press, New York).

Результаты для активности стероидной сульфатазы выражают в виде средней величины ± стандартное отклонение общего количества продукта (эстрон + эстрадиол), образованного в течение периода инкубации (3-4 ч), в пересчете на 10 клеток и для величин, демонстрирующих статистическую значимость, в виде процентного снижения (ингибирования) в сравнении с опытами, проведенными в отсутствие эстрон-3-сульфамата. Для оценки статистической значимости результатов используют непарный t-критерий Стьюдента.

Анализ для определения активности STS с использованием плацентарных микросом (методика 2)

Ингибирование активности стероидной сульфатазы в плацентарных микросомах.

Сульфатаза-положительную человеческую плаценту, полученную от беременностей нормального срока, тщательно измельчают ножницами и однократно промывают холодным фосфатным буферным раствором (pH 7,4, 50 мМ), после чего заново суспендируют в холодном фосфатном буферном растворе (5 мл на грамм ткани). Гомогенизацию доводят до конца с помощью гомогенизатора Ultra-Turrax тремя

10-секундными импульсами, разделенными 2-минутными периодами охлаждения во льду. Ядра и остатки клеток удаляют посредством центрифугирования (4°C) при ускорении 2000g в течение 30 мин и сохраняют надосадочную жидкость в виде порций (2 мл) при температуре 20°C. Концентрацию белка в надосадочной жидкости определяют по методу Брэдфорда (Anal. Biochem., 72, 248-254 (1976)).

Инкубирование (1 мл) осуществляют с использованием концентрации белка 100 мг/мл, концентрации субстрата 20 мМ [6,7-³H]эстрон-3-сульфата (специфическая активность 60 кюри/моль, производства компании New England Nuclear, Бостон, Массачусетс, США) при времени инкубирования 20 мин при температуре 37°C. При необходимости используют шесть концентраций соединений: 0,1, 1,0, 10, 100, 1000 нМ и 10 мкМ. После инкубирования каждый образец охлаждают и переносят среду (1 мл) с помощью пипеток в отдельные пробирки, содержащие [¹⁴C]эстрон (7×10³ распадов в минуту) (специфическая активность 97 кюри/моль, производства компании Amersham International Radiochemical Centre, Amersham, Великобритания). Смесь тщательно встряхивают в течение 30 с с толуолом (5 мл). Эксперименты показывают, что более 90% [¹⁴C]эстрона и менее 0,1% [³H]эстрон-3-сульфата удаляется из водной фазы при такой обработке. Часть органической фазы (2 мл) удаляют, выпаривают и определяют содержание ³H и ¹⁴C в остатке с помощью сцинтилляционной спектрометрии. Массу гидролизованного эстрон-3-сульфата рассчитывают, исходя из полученного числа отсчетов для ³H (поправленного на использование объема среды и органической фазы и обратное выделение добавленного [¹⁴C]эстрона) и специфической активности субстрата.

Анализ для определения активности STS с использованием экспериментальной модели на животных (методика 3)

Ингибирование активности эстронсульфатазы *in vivo*.

Соединения по настоящему изобретению могут быть исследованы с использованием экспериментальной модели на животных, в частности на крысах с удаленными яичниками. В этой модели соединения, являющиеся эстрогенными, стимулируют маточный рост.

Соединение (0,1 мг на килограмм веса в день в течение 5 дней) вводят крысам перорально, тогда как другая группа животных получает только носитель (пропиленгликоль). По завершении исследования получают образцы ткани печени и анализируют активность эстронсульфатазы с использованием [³H]эстрон-сульфата в качестве субстрата, как это описано ранее (см. PCT/GB 95/02638).

Анализ с использованием экспериментальной модели на животных для определения эстрогенной активности (методика 4)

Соединения по настоящему изобретению могут быть исследованы с использованием экспериментальной модели на животных, в частности на крысах с удаленными яичниками. В этой модели соединения, являющиеся эстрогенными, стимулируют маточный рост.

Соединение (0,1 мг на килограмм веса в день в течение 5 дней) вводят крысам перорально, тогда как другая группа животных получает только носитель (пропиленгликоль). По завершении исследования удаляют матку и взвешивают ее, выражая результаты в виде отношения массы матки к общей массе тела, умноженного на 100.

Соединения, не оказывающие существенного влияния на рост матки, не являются эстрогенными.

Биотехнологические анализы для определения активности STS (методика 5)

Способность соединений ингибировать активность эстронсульфатазы также может быть оценена с помощью последовательностей аминокислот или последовательностей нуклеотидов, кодирующих STS, или их активные фрагменты, производные, гомологи или варианты, например, с помощью высокопроизводительного скрининга.

Для идентификации агента, способного модулировать STS, с помощью любой из множества методик лекарственного скрининга может быть использована какая-либо одна или более из подходящих мишеней, таких как последовательность аминокислот и/или последовательность нуклеотидов.

Мишень, используемая в таком испытании, может находиться в свободной форме в растворе, быть прикрепленной к твердому носителю, находиться на поверхности клетки или располагаться в межклеточном пространстве. При этом может быть измерено снижение активности мишени или образование связанных комплексов между мишенью и исследуемым агентом.

Анализ по настоящему изобретению может являться скринингом, с помощью которого испытывают несколько агентов. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ анализа по настоящему изобретению является высокопроизводительным скринингом.

Методики лекарственного скрининга могут быть основаны на способе, описанном Geysen в европейской заявке на патент 84/03564, опубликованной 13 сентября 1984 г. Излагая кратко, большое количество различных небольших пептидных соединений, подвергаемых испытанию, синтезируют на твердом субстрате, таком как пластиковые стержни или какая-либо другая поверхность. Подвергаемые испытанию пептидные соединения вводят в реакцию с подходящей мишенью или ее фрагментом и промывают. После этого детектируют связанные вещества, например, с помощью подходящим образом приспособленных способов, известных в данной области. Очищенную мишень можно также нанести непосредственно на планшеты, применяемые в методиках лекарственного скрининга. Альтернативно, для захвата пептида и его иммобилизации на твердом носителе можно использовать ненейтрализующие антитела.

Настоящее изобретение также распространяется на применение анализов с конкурентным скринингом препаратов, в рамках которых способные к специфическому связыванию с мишенью нейтрализующие антитела конкурируют с исследуемым соединением за связывание с мишенью.

Другая основанная на скрининге методика предусматривает высокопроизводительный скрининг (HTS) агентов, обладающих подходящим сродством к связыванию с соединениями, и основана на способе, подробно описанном в международной заявке на патент WO 84/03564.

Ожидается, что способы анализа по настоящему изобретению окажутся пригодными как для мелкомасштабного, так и для крупномасштабного скрининга исследуемых соединений, равно как и в количественных анализах.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения объектом настоящего изобретения является способ идентификации агентов, селективно модулирующих STS, каковые агенты отвечают формуле (I).

Репортерные соединения

В способах анализа (равно как и скрининге) по настоящему изобретению может быть использовано большое разнообразие репортерных соединений, причем предпочтительными репортерными соединениями будут такие, сигналы от которых удобно детектировать (например, с помощью спектроскопии). В качестве примера репортерный ген может кодировать белок, катализирующий реакцию, под влиянием которой изменяются светопоглощающие свойства. Другие методики включают твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммунологический анализ (RIA) и активируемый флуоресценцией клеточный сортинг (FACS). Может даже быть применен двухстадийный, основанный на моноклональных антителах иммуоферментный анализ, использующий моноклональные антитела, реакционноспособные по отношению к двум не взаимодействующим антигенным детерминантам. Эти и другие анализы описаны, помимо прочих источников, в Hampton R и др. (1990, *Serological Methods, A Laboratory Manual*, APS Press, St Paul MN) и Maddox DE и др. (1983, *J Exp Med* 15 8:121 1).

Примеры репортерных молекул включают β -галактозидазу, инвертазу, белок с зеленой флуоресценцией, люциферазу, левомецитин, ацетилтрансферазу, β -глюкуронидазу, экзоглюканазу и глюкоамилазу, но не ограничиваются перечисленными. Альтернативно, можно ввести радиоактивно меченные или содержащие флуоресцентную метку нуклеотиды в возникающие транскрипты, которые впоследствии идентифицируют, когда они связаны с олигонуклеотидными зондами.

В качестве дальнейших примеров ряд компаний, таких как Pharmacia Biotech (Piscataway, NJ), Promega (Madison, WI) и US Biochemical Corp (Cleveland, OH) поставляют коммерчески доступные наборы и методики для различных способов анализа. Подходящие репортерные молекулы или метки включают радионуклиды, ферменты, флуоресцентные, хемилюминесцентные или вызывающие окраску агенты, равно как и субстраты, кофакторы, ингибиторы, магнитные частицы и прочие подобные вещества. Патенты, содержащие положения, относящиеся к применению подобных меток, включают патенты US №№ 3817837; 3850752; 3939350; 3996345; 4277437; 4275149 и 4366241.

Клетки-хозяева

Термин «клетка-хозяин», как он относится к настоящему изобретению, включает всякую клетку, которая может содержать мишень для агента по настоящему изобретению.

Таким образом, объектами дальнейших вариантов осуществления настоящего изобретения являются клетки-хозяева, подвергнутые преобразованию или трансфекции полинуклеотидом, являющимся мишенью по настоящему изобретению или экспрессирующим ее. Предпочтительно такой нуклеотид переносится в векторе для репликации и экспрессии полинуклеотидов, которые должны быть мишенью или должны экспрессировать мишень. Выбирают такие клетки, которые совместимы с данным вектором и могут, например, быть прокариотическими (например, бактериальными), грибковыми, дрожжевыми или клетками растений.

В качестве клетки-хозяина для гетерологичной экспрессии генов широко используют грамотрицательную бактерию *E.coli*. Однако большие количества гетерологичного белка имеют тенденцию накапливаться внутри клетки. Последующая очистка целевого белка от массы межклеточных белков *E.coli* иногда бывает непростой.

В противоположность *E.coli*, бактерии, относящиеся к роду бациллы (*Bacillus*), оказываются весьма пригодны в качестве гетерологичных организмов-хозяев вследствие их способности выделять белок в культуральную среду. Другие бактерии, пригодные в качестве организмов-хозяев, относятся к родам стрептомицеты (*Streptomyces*) и псевдомонады (*Pseudomonas*).

В зависимости от природы полинуклеотида, кодирующего полипептид по настоящему изобретению, и/или желательности дальнейшего процессинга экспрессируемого белка, могут оказаться предпочтительны эукариотические клетки-хозяева, такие как дрожжи или иные грибы. В целом, дрожжевые клетки являются предпочтительными по сравнению с клетками грибов, поскольку с ними проще осуществлять различные манипуляции. Однако некоторые белки либо плохо выделяются дрожжевыми клетками, либо, в некоторых случаях, не вырабатываются правильным образом (например, гипергликозилирование в дрожжах). В таких случаях необходимо выбрать другой грибковый организм-хозяин.

Примерами подходящих организмов-хозяев для экспрессии, находящихся в сфере настоящего изобретения, являются грибы, такие как грибы вида аспергиллы (*Aspergillus*) (такие как описанные в европейских патентах №№ 0184438 и 0284603) и вида триходермы (*Trichoderma*); бактерии, такие как бактерии вида бациллы (*Bacillus*) (такие как описанные в европейских патентах №№ 0134048 и 0253455), вида стрептомицеты (*Streptomyces*) и вида псевдомонады (*Pseudomonas*); а также дрожжи, такие как дрожжи вида *Kluuyveromyces* (такие как описанные в европейских патентах №№ 0096430 и 0301670) и вида *Saccharomyces*. В качестве примера типичные организмы-хозяева для экспрессии могут быть выбраны среди *Aspergillus niger*, *Aspergillus niger* var. *tubigenis*, *Aspergillus niger* var. *awamori*, *Aspergillus aculeatis*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Kluuyveromyces lactis* и *Saccharomyces cerevisiae*.

Использование подходящих клеток-хозяев, таких как клетки-хозяева дрожжей, грибов и растений может предусматривать посттрансляционные модификации (например, миристоилирование, гликозилирование, усечение, лапидацию и фосфорилирование тирозина, серина или треонина), как то может требоваться для придания оптимальной биологической активности рекомбинантным экспрессионным продуктам по настоящему изобретению.

Организм.

Термин «организм», как он относится к настоящему изобретению, включает любой организм, который может содержать мишень согласно настоящему изобретению и/или получаемые из нее продукты. Примеры организмов могут включать грибок, дрожжи или растение.

Термин «трансгенный организм», как он относится к настоящему изобретению, включает любой организм, который содержит мишень согласно настоящему изобретению и/или получаемые продукты.

Преобразование клеток-хозяев/организмов-хозяев.

Как указывалось ранее, организм-хозяин может быть прокариотическим или эукариотическим организмом. Примеры подходящих прокариотов-хозяев включают *E.coli* и *Bacillus subtilis*. Идеи, относящиеся к преобразованию прокариотов-хозяев подробно описаны специалистами в данной области, см., например, Sambrook и др. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2-е издание, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press) и Ausubel и др., *Current Protocols in Molecular Biology* (1995), John Wiley & Sons, Inc.

Если используется прокариот-хозяин, то может потребоваться подходящим образом модифицировать последовательность нуклеотидов перед преобразованием, например, путем удаления интронов.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения трансгенным организмом могут быть дрожжи. В этом отношении следует отметить, что дрожжи широко используются в качестве носителя для экспрессии гетерологичных генов. Дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae* имеют долгую историю промышленного применения, включая применение для экспрессии гетерологичных генов. Обзоры, посвященные экспрессии гетерологичных генов в *Saccharomyces cerevisiae* можно найти в Goodey и др. (1987, *Yeast Biotechnology*, под ред. D.R. Berry и др., стр. 401-429, Allen and Unwin, London) и в King и др. (1989, *Molecular and Cell Biology of Yeasts*, под ред. E.F. Walton и G.T. Yarranton, стр. 107-133, Blackie, Glasgow).

По ряду причин *Saccharomyces cerevisiae* хорошо подходит для экспрессии гетерологичных генов. Во-первых, они не патогенны для человека и неспособны вырабатывать определенные эндотоксины. Во-вторых, они имеют долгую историю безопасного применения вслед за веками коммерческой эксплуатации в различных целях. Это обусловило их широкое применение населением. В-третьих, интенсивное коммерческое применение и обширные исследования, посвященные организму, обеспечили богатый объем знаний о генетике и физиологии, равно как и о характеристиках крупномасштабного брожения *Saccharomyces cerevisiae*.

Обзор основ экспрессии гетерологичных генов в *Saccharomyces cerevisiae* и секретиции генных продуктов дан в E. Hinchcliffe, E. Kenny (1993, "Yeast as a vehicle for the expression of heterologous genes", *Yeasts*, т. 5, под ред. Anthony H. Rose и J. Stuart Harrison, 2-е издание, Academic Press Ltd.).

Доступен ряд типов векторов дрожжей, включая интегративные векторы, требующие для своего сохранения рекомбинации с геномом организма-хозяина, и автономно реплицирующиеся векторы плазмид.

Для получения трансгенных *Saccharomyces*, экспрессионные конструкции готовят путем встраивания последовательности нуклеотидов в конструкцию, созданную для экспрессии в дрожжах. Разработаны несколько типов конструкций, используемых для гетерологической экспрессии.

Конструкции содержат шитый с последовательностью нуклеотидов промотор, активный в дрожжах; обычно используют промотор дрожжевого происхождения, такой как промотор галактокиназы (GAL1). Как правило, используют сигнальную последовательность дрожжевого происхождения, такую как последовательность, кодирующую репортерный белок SUC2. Экспрессионная система оканчивается активным в дрожжах терминатором.

Для преобразования дрожжей разработан ряд методик преобразования. Например, трансгенные *Saccharomyces* по настоящему изобретению могут быть получены, следуя идеям, описанным в Hinnen и др. (1978, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 75, 1929); Beggs, J.D. (1978, *Nature*, London, 275, 104); и Ito, H. и др. (1983, *J Bacteriology* 153, 163-168).

Преобразованные дрожжевые клетки отбирают с помощью различных селективных генов-

маркёров. Среди используемых для трансформации маркеров присутствует ряд ауксотрофных генов-маркёров, таких как LEU2, HIS4 и TRP1, и доминантные гены-маркёры, обеспечивающие устойчивость к антибиотикам, такие как гены-маркёры аминогликозидных антибиотиков, например, G418.

Другим организмом-хозяином является растение. Основной принцип конструирования генетически модифицированных растений состоит во вставке генетической информации в геном растения таким образом, чтобы обеспечить стабильное существование вставленного генетического материала. Существует ряд методик для вставки генетической информации, причем двумя основными подходами являются прямое введение генетической информации и введение генетической информации посредством использования векторной системы. Обзор общих методик можно найти в статьях Potrykus (*Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* [1991] 42:205-225) и Christou (*Agro-Food-Industry Hi-Tech March/April 1994* 17-27). Дальнейшие положения, относящиеся к преобразованию растений, можно найти в европейском патенте № 0449375.

Таким образом, объектом настоящего изобретения также является способ преобразования клетки-хозяина с помощью последовательности нуклеотидов, которая будет являться мишенью или экспрессировать мишень. Клетки-хозяева, преобразованные с помощью нуклеотидной последовательности, могут выращиваться в условиях, пригодных для экспрессии кодированного белка. Белок, вырабатываемый рекомбинантной клеткой, может проявляться на поверхности клетки. При соответствующем желании, как известно специалистам в данной области, экспрессирующие векторы, содержащие кодирующие последовательности, синтезированы с сигнальными последовательностями, направляющими выделение кодирующих последовательностей через определенную мембрану прокариотической или эукариотической клетки. Другие рекомбинантные конструкции могут объединять кодирующую последовательность с последовательностью нуклеотидов, кодирующей полипептидный домен, который обеспечит очистку растворимых белков (Kroll D.J. и др. (1993) *DNA Cell Biol* 12:441-53).

Варианты/гомологи/производные

В дополнение к упомянутому в контексте специфическим последовательностям аминокислот и нуклеотидов настоящее изобретение также включает использование их вариантов, гомологов и производных. Здесь термин «гомология» может быть приравнен к «идентичности».

В настоящем контексте подразумевается, что гомологическая последовательность включает такую аминокислотную последовательность, которая может быть по крайней мере на 75, 85 или 90% идентичной, предпочтительно по крайней мере на 95 или 98% идентичной. Хотя гомология может также рассматриваться в терминах сходства (т.е. аминокислотные остатки, обладающие сходными химическими свойствами/функциями), в контексте настоящего изобретения гомология предпочтительно выражается в терминах идентичности последовательностей.

Сравнения гомологии могут быть осуществлены невооруженным глазом или, как делают чаще, с помощью легкодоступных программ для сравнения последовательностей. Эти коммерчески доступные компьютерные программы могут рассчитать процент гомологии между двумя или более последовательностями.

Процент гомологии может быть рассчитан для соседствующих последовательностей, т.е. совместно выстраивают в линию одну и другую последовательности и непосредственно сравнивают каждую аминокислоту из одной последовательности с соответствующей аминокислотой из другой последовательности, один остаток за один раз. Эту процедуру называют «безразрывным» выстраиванием. Как правило, подобные безразрывные выстраивания осуществляют только для сравнительно малого числа остатков. Хотя этот метод весьма прост и последователен, он не может принять во внимание, например, то, что одна вставка или один пропуск в идентичной во всем остальном паре последовательностей приведет к тому, что последующие аминокислотные остатки будут выведены из выстроенного состояния, что может потенциально привести к большому снижению процента гомологии в случае осуществления глобального выстраивания. Как следствие, большинство методов сравнения последовательностей устроены таким образом, чтобы обеспечить оптимальные выстраивания, учитывающие возможные вставки и пропуски без чрезмерного ухудшения общей степени гомологии. Это достигается путем включения «разрывов» в выстраивание последовательности в попытке максимизировать локальную гомологию.

Однако эти более сложные методы приписывают «штраф за разрыв» каждому встречающемуся в выстраивании разрыву таким образом, что для одинакового количества идентичных аминокислот выстраивание последовательности с минимально возможным числом разрывов, что отражает большую степень взаимосвязи между двумя сравниваемыми последовательностями, будет характеризоваться более высокой степенью гомологии, чем последовательность со многими разрывами. Как правило, используется система «аффинных штрафов за разрыв», которая назначает сравнительно высокий штраф за существование разрыва и меньший штраф за каждый последующий остаток в разрыве. Это наиболее общепринятая система оценки. Высокие штрафы за разрыв будут, конечно, приводить к оптимизированным выстраиваниям с меньшим числом разрывов. Большинство программ для выстраивания позволяет варьировать штраф за разрыв. Однако при использовании таких программ для сравнения последовательностей предпочитают использовать значения по умолчанию. Например, при использовании программного пакета GCG Wisconsin Bestfit (см. ниже) штраф за разрыв для последовательностей аминокислот по умолча-

нию составляет -12 за разрыв и -4 за каждое его продление.

Таким образом, расчет максимального процента гомологии прежде всего требует осуществления оптимального выстраивания при принятии во внимание штрафов за разрыв. Подходящей компьютерной программой для осуществления такого выстраивания является программный пакет GCG Wisconsin Bestfit package (университет штата Висконсин, США; Devereux и др., 1984, Nucleic Acids Research 12:387). Примеры других программ, которые могут осуществлять сравнение последовательностей, включают программный пакет BLAST (см. Ausubel и др., 1999 там же - глава 18), FASTA (Atschul и др., 1990, J. Mol. Biol., 403-410) и пакет программных средств для сравнения GENEWORKS, но не ограничиваются перечисленными. Как BLAST, так и FASTA доступны для онлайн-ового и офлайн-ового поиска (см. Ausubel и др., 1999 там же, стр. с 7-58 по 7-60). Однако предпочтительно используют программу GCG Bestfit.

Другие полезные сведения можно найти в FEMS Microbiol Lett 1999 May 15; 174(2):247-50 (и опубликованных поправках, вышедших в FEMS Microbiol Lett 1999 1 августа; 177(1): 187-8).

Хотя конечный процент гомологии можно измерить в терминах идентичности, сам по себе процесс выстраивания, как правило, не основывается на сравнении пар по принципу «все или ничего». Вместо этого, используют, как правило, масштабированную матрицу степени сходства, которая приписывает ту или иную оценку каждому парному сравнению, основанную на степени химического сходства или эволюционном расстоянии. Примером широко используемой матрицы подобного типа служит матрица BLOSUM62, используемая по умолчанию пакетом программ BLAST. Программы GCG Wisconsin используют, как правило, либо общеизвестные значения, используемые по умолчанию, либо стандартную таблицу сравнения символов, если она доступна (см. руководство пользователя для дальнейших подробностей). Предпочтительно используют принимаемые по умолчанию общеизвестные значения из пакета программ GCG, или, в случае пользования иными программами, используемую по умолчанию матрицу, такую как BLOSUM62.

Как только программа осуществила оптимальное выстраивание, становится возможным рассчитать процент гомологии, предпочтительно процент идентичности последовательностей. Программа, как правило, осуществляет это как часть процедуры сравнения последовательностей и выводит численный результат.

Последовательности могут также характеризоваться такими пропусками, вставками и замещениями аминокислотных остатков, что соответствующие изменения остаются незаметны, и их результатом является функционально эквивалентное вещество. Намеренные замещения аминокислот могут быть осуществлены, исходя из сходства в полярности, заряде, растворимости, гидрофобности, гидрофильности и/или амфипатической природе остатков при условии сохранения соединением вторичной активности в процессах связывания. Например, отрицательно заряженные аминокислоты включают аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту; положительно заряженные аминокислоты включают лизин и аргинин; аминокислоты с незаряженными полярными «головными» группами, обладающими одинаковыми значениями гидрофильности включают лейцин, изолейцин, валин, глицин, аланин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, фенилаланин и тирозин.

Замещения, сохраняющие свойства, могут быть осуществлены, например, согласно нижеприведенной таблице. Аминокислоты из одной и той же ячейки во второй колонке и предпочтительно из одной и той же строки в третьей колонке могут быть замещены одна на другую.

алифатическая	неполярная	глицин, аланин, пролин
		изолейцин, лейцин, валин
	полярная - незаряженная	цистеин, серин, треонин, метионин
		аспарагин, глутамин
	полярная - заряженная	аспартамовая кислота, глутаминовая кислота
		лизин, аргинин
ароматическая		гистидин, фенилаланин, триптофан, тирозин

Экспрессирующие векторы

Последовательность нуклеотидов, предназначенная для использования в качестве мишени или для экспрессии мишени, может быть встроена в рекомбинантный реплицируемый вектор. Вектор может использоваться для репликации и экспрессии последовательности нуклеотидов в совместимой клетке-хозяине и/или из нее. Экспрессию можно контролировать с помощью контрольных последовательностей, включающих промоторы/энхансеры и другие регулирующие экспрессию сигналы. Могут быть использо-

ваны прокариотические промоторы и промоторы, функциональные в эукариотических клетках. Могут быть использованы промоторы, специфичные к тем или иным тканям или специфичные к раздражителям. Также могут быть использованы химерные промоторы, включающие элементы последовательности из двух или более различных промоторов, упомянутых выше.

Белок, вырабатываемый рекомбинантной клеткой-хозяином в результате экспрессии последовательности нуклеотидов, может выделяться или может содержаться внутри клетки в зависимости от используемой последовательности и/или вектора. Кодированные последовательности могут быть сконструированы с сигнальными последовательностями, направляющими секрецию последовательностей, кодирующих вещество, через определенную мембрану прокариотической или эукариотической клетки.

Гибридные белки

Последовательность аминокислот, выступающая в качестве мишени, может вырабатываться в качестве гибридного белка, например, чтобы способствовать экстракции и очистке. Примеры партнеров гибридных белков включают глутатион-S-трансферазу (GST), гексамер гистидина 6×His, GAL4 (домены связывания с ДНК и/или транскрипционной активации) и α -галактозидазу. Может также оказаться удобным включить сайт протеолитического расщепления между партнером гибридного белка и представляющей интерес белковой последовательностью с той целью, чтобы позволить удаление последовательностей гибридного белка. Предпочтительно гибридный белок не должен препятствовать активности мишени.

Гибридный белок может включать антиген или антигенную детерминанту, сшитую с веществом по настоящему изобретению. В этом варианте осуществления настоящего изобретения гибридный белок может быть не встречающимся в природе гибридным белком, включающим соединение, которое может действовать в качестве адъюванта в том смысле, что оно обеспечивает общую стимуляцию иммунной системы. Антиген или антигенная детерминанта могут быть присоединены либо к аминированному, либо к карбоксильному концу соединения.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения последовательность аминокислот может быть соединена с гетерологичной последовательностью с той целью, чтобы кодировать гибридный белок. Например, для скрининга пептидных библиотек с целью поиска агентов, способных влиять на активность соединения, может оказаться полезным кодировать химерное соединение, экспрессирующее гетерологичную антигенную детерминанту, распознаваемую коммерчески доступным антителом.

Лечение

Соединения по настоящему изобретению могут использоваться в качестве лечебных средств, т.е. для лечебных применений.

Термин «лечение» включает излечивающие действия, смягчающие действия и профилактические действия.

Лечение может осуществляться на людях или животных, предпочтительно на самках животных.

Фармацевтические композиции

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения объектом настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, включающая соединение согласно настоящему изобретению, и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или наполнитель (включая их комбинации).

Фармацевтические композиции могут быть для применения на людях или на животных в медицине человека или ветеринарной медицине и должны, как правило, включать что-либо одно или более из фармацевтически приемлемого разбавителя, носителя или наполнителя. Приемлемые носители или разбавители для лечебных применений хорошо известны в фармацевтике и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (под ред. A.R. Gennaro 1985). Выбор фармацевтического носителя, наполнителя или разбавителя может быть осуществлен с учетом избранного пути введения и общепринятой фармацевтической практики. Фармацевтические композиции могут включать в качестве носителя, наполнителя или разбавителя или в дополнение к ним любое подходящее связующее вещество(вещества), смазывающее вещество(вещества), суспендирующий агент(агенты), агент(агенты) для покрытий, солюбилизатор(солюбилизаторы).

Фармацевтическая композиция может включать консерванты, стабилизаторы, красители и даже ароматизаторы. Примеры консервантов включают бензоат натрия, сорбиновую кислоту и сложные эфиры *p*-гидроксibenзойной кислоты. Также могут быть использованы антиоксиданты и суспендирующие агенты.

К композиции/готовой форме могут выдвигаться различные требования в зависимости от различных систем доставки. В качестве примера фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть приготовлена таким образом, чтобы доставляться с помощью мини-насоса или через слизистую оболочку, например, в виде назального спрея, или аэрозоля для ингаляции, или раствора для приема внутрь, или парентерально, в этом случае композиция составляет в пригодной для инъекций форме, например, для внутривенной, внутримышечной или подкожной доставки. Альтернативно рецептура может быть предназначена для доставки обоими путями.

Если агент предназначен для доставки через слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, он должен оставаться устойчивым в течение прохождения по желудочно-кишечному тракту; например он должен быть устойчив к протеолитическому разложению, устойчив в кислой среде и устойчив к очищающему воздействию желчи.

Фармацевтические композиции могут быть введены, если подобные пути оказываются подходящими, посредством ингаляции, в виде суппозитория или маточного кольца, местным образом в виде примочки, раствора, крема, мази или присыпки, с помощью накожного пластыря, перорально в виде таблеток, содержащих наполнители, такие как крахмал или лактоза, или в капсулах, или вагинальных капсулах, сами по себе или в смеси с наполнителями, или в виде эликсиров, растворов или суспензий, содержащих ароматизаторы или красители, или они могут быть введены в виде парентеральных инъекций, например, внутривенно, внутримышечно или подкожно. В случае парентерального введения композиции лучше всего использовать в виде стерильного водного раствора, который может содержать и другие соединения, например достаточные для того, чтобы сделать раствор изотоническим по отношению к крови, количество солей или моносахаридов. В случае буккального или подъязычного введения композиции могут быть введены в виде таблеток или лепешек, которые могут быть приготовлены общепринятым способом.

Комбинированное лекарственное средство

Соединение по настоящему изобретению может применяться в сочетании с одним или более иными активными агентами, как, например, с одним или более иными фармацевтически активными агентами.

В качестве примера соединения по настоящему изобретению могут применяться в сочетании с другими ингибиторами STS и/или иными ингибиторами, такими как ингибитор ароматазы (такой как, например, 4-гидроксиандростендион (4-OHA)), и/или стероидами, такими как встречающиеся в природе нейростероиды дегидроэпиандростерон-сульфат (DHEAS) и прегненолон-сульфат (PS) и/или другими органическими соединениями сходного строения. Примеры других ингибиторов STS можно найти в вышеприведенных ссылках. В качестве примера ингибиторы STS для применения в настоящем изобретении включают любое из 2-этил- и 2-метокси-17-дезоксисоединений, аналогичных представленному в контексте соединению 5, или оба эти соединения.

Кроме этого или вместо этого, соединение по настоящему изобретению может применяться в комбинации с модификатором биологической ответной реакции.

Термин «модификатор биологической ответной реакции» включает цитокины, иммуномодуляторы, факторы роста, факторы регуляции гемопоэза, колониестимулирующие факторы, хемотаксические, гемолитические и тромболитические факторы, рецепторы клеточной поверхности, лиганды, лейкоцитарные адгезионные молекулы, моноклональные антитела, профилактические и лечебные вакцины, гормоны, компоненты внеклеточного матрикса, фибронектин и т.д. Для некоторых применений модификатор биологической ответной реакции предпочтительно является цитокином. Примеры цитокинов включают интерлейкины (IL), такие как IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-19; фактор некроза опухолей (TNF), такой как TNF- α ; интерфероны α , β и γ ; трансформирующий фактор роста TGF- β . Для некоторых применений цитокин предпочтительно является фактором некроза опухолей (TNF). Для некоторых применений, TNF может быть любого типа, такой как TNF- α , TNF- β , включая их производные и смеси. Более предпочтительно цитокин является TNF- α . Положения, относящиеся к TNF, могут быть найдены в документах, относящихся к данной области, таких как международные заявки на патент WO-A-98/08870 и WO-A-98/13348.

Введение

Как правило, врач должен определить текущую дозировку, которая будет лучше всего подходить для индивидуального субъекта и будет варьироваться в зависимости от возраста, веса и реакции конкретного пациента. Нижеуказанные дозировки приведены в качестве примера для среднестатистического случая. Конечно же, могут встречаться индивидуальные случаи, заслуживающие более высокого или низкого диапазона дозировок.

Композиции по настоящему изобретению могут быть введены путем прямой инъекции. Композиции могут быть составлены для парентерального введения, введения через слизистую оболочку, внутримышечного, внутривенного, подкожного, внутриглазного или чрескожного введения. В зависимости от потребности, средство может быть введено дозой от 0,01 до 30 мг/кг массы тела, как, например, от 0,1 до 10 мг/кг массы тела, более предпочтительно от 0,1 до 1 мг/кг массы тела.

В качестве дальнейшего примера агенты по настоящему изобретению могут быть введены в соответствии с режимом от 1 до 4 раз в сутки, предпочтительно 1 или 2 раза в сутки. Конкретный уровень доз и частота дозировки для каждого конкретного пациента может варьироваться и будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного применяемого соединения, метаболическую устойчивость и длительность действия этого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, диету, способ и время введения, скорость выведения, сочетание лекарственных средств, тяжесть конкретного состояния и подвергаемый лечению организм.

Помимо типичных способов доставки, указанных выше, термин «введенный» также включает дос-

тавку посредством таких методик, как опосредованная липидами трансфекция, липосомы, иммунолипосомы, липофектин, катионные липиды амфифильные вещества (CFA) и их комбинации. Пути для подобных механизмов доставки включают путь через слизистую оболочку, назальный, пероральный, парентеральный пути, путь через желудочно-кишечный тракт, местный и подязычный пути, но не ограничиваются перечисленными.

Термин «введенный» включает доставку через слизистую оболочку, например, в виде назального спрея или аэрозоля для ингаляции или раствора для приема внутрь; или парентеральным путем, в этом случае композиция составляется в пригодной для инъекций форме, например, для внутривенной, внутримышечной или подкожной доставки, но не ограничивается перечисленным.

Таким образом, готовые формы ингибиторов STS по настоящему изобретению для фармацевтического введения может быть составлена любым подходящим образом, используя общепринятые фармацевтические методики составления готовых форм и фармацевтические носители, адъюванты, наполнители, разбавители и т.д., причем, как правило, для парентерального введения. Приблизительные эффективные дозировки могут находиться в пределах от 1 до 1000 мг/день, как, например, от 10 до 900 мг/день или даже от 100 до 800 мг/день, в зависимости от индивидуальных активностей рассматриваемых соединений, для пациента со средней массой тела (70 кг). Более типичные дозировки для предпочтительных и более активных соединений будут находиться в пределах от 200 до 800 мг/день, более предпочтительно от 200 до 500 мг/день, наиболее предпочтительно от 200 до 250 мг/день. Они могут быть введены в режиме однократного приема, в разделенных дозах и/или в режиме многократного приема в течение нескольких суток. Для перорального введения может быть применена рецептура в таблетках, капсулах, растворе или суспензии, содержащих от 100 до 500 мг соединения в стандартной дозе. Альтернативно и предпочтительно соединения должны быть включены в рецептуру для парентерального введения с подходящим носителем для парентерального введения и при единичной суточной дозировке в пределах от 200 до 800 мг, предпочтительно от 200 до 500 мг, более предпочтительно от 200 до 250 мг. Подобные эффективные суточные дозы должны, однако, изменяться в зависимости от собственной активности активного ингредиента и от массы тела пациента, причем такие изменения должны быть в компетенции врача и приниматься на его усмотрение.

Клеточный цикл

Соединения по настоящему изобретению могут быть применимы в способе лечения расстройства клеточного цикла.

Как обсуждалось в «Molecular Cell Biology», 3-е издание, Lodish и др., стр. 177-181, различные эукариотические клетки могут расти и делиться с существенно различными скоростями. Например, дрожжевые клетки могут делиться каждые 120 мин, а первые акты деления оплодотворенных яиц в эмбриональных клетках морских ежей и насекомых занимают лишь 1530 мин, поскольку в этом случае делится на составные части одна уже существующая большая клетка. Однако большинство растущих клеток растений и животных требует 10-20 ч для удвоения в численности, причем некоторые удваиваются с гораздо меньшими скоростями. Многие клетки во взрослых организмах, такие как нервные клетки и клетки поперечно-полосатых мышц, вообще не делятся; другие, подобные фибробластам, помогающим в заживлении ран, растут в случае необходимости, но в остальное время находятся в покое.

Так или иначе, каждая делящаяся эукариотическая клетка должна быть готова снабдить одинаковым генетическим материалом две дочерние клетки. Синтез ДНК в эукариотах происходит не в течение всего цикла клеточного деления, а ограничивается его частью перед делением клетки.

Связь между синтезом ДНК в эукариотах и клеточным делением тщательно изучено на культурах клеток млекопитающих, среди которых все были способны к росту и делению. Было обнаружено, что, в отличие от бактерий, эукариотические клетки посвящают только часть времени синтезу ДНК, который завершается за несколько часов перед делением клетки (митозом). Таким образом, имеется промежуток времени после синтеза ДНК и перед делением клетки; как было обнаружено, еще один промежуток проходит между делением и следующим актом синтеза ДНК. Эти исследования привели к выводу о том, что цикл эукариотической клетки состоит из фазы М (митотической), фазы G₁ (первый промежуток), фазы S (синтез ДНК), фазы G₂ (второй промежуток) и снова фазы М. Фазы, находящиеся между актами митоза (G₁, S и G₂), называют совместно интерфазой.

Многие неделящиеся клетки в тканях (например, фибробласты в состоянии покоя) приостанавливают цикл после митоза и как раз перед синтезом ДНК; говорят, что подобные «отдыхающие клетки» вышли из клеточного цикла и находятся в состоянии G₀.

Имеется возможность идентификации клеток, находящихся на одной из трех стадий интерфазы клеточного цикла, при помощи клеточного сортера с активацией флуоресценции (FACS) с целью измерения относительного содержания в них ДНК: клетка, находящаяся на стадии G₁ (перед синтезом ДНК) содержит определенное количество ДНК, равное x; во время стадии S (репликация ДНК), это количество находится в пределах между x и 2x; наконец, на стадии G₂ (или М), количество ДНК составляет 2x.

В клетке животного наблюдаются следующие стадии митоза и цитокинеза:

(а) Интерфаза. Стадия G₂ интерфазы непосредственно предшествует началу митоза. В ходе фазы S произошла репликация хромосомной ДНК и связывание ее с белком, но хромосомы еще не видны как

отдельные структуры. Ядрышко является единственной подструктурой ядра, видимой в оптический микроскоп. До репликации ДНК в диплоидной клетке имеются две морфологические хромосомы каждого типа, и говорят, что клетка содержит $2n$ хромосом. На стадии G_2 , после репликации ДНК, клетка содержит $4n$ хромосом. Имеются четыре копии каждой хромосомной ДНК. Поскольку сестринские хромосомы еще не отделены друг от друга, они называются сестринскими хроматидами.

б) Ранние стадии профазы. Центриоли, каждая с новообразованной дочерней центриолью, начинают двигаться в сторону противоположных полюсов клетки; хромосомы можно наблюдать в виде длинных нитей. Ядерная мембрана начинает дезагрегировать в маленькие пузырьки.

в) Центральные и поздние стадии профазы. Конденсация хромосом завершена. Каждая видимая хромосомная структура состоит из двух хроматид, удерживаемых вместе своими кинетохорами. Каждая хроматида содержит одну из двух новореплицированных дочерних молекул ДНК. Веретено из микротрубочек начинает расходиться из зон, непосредственно примыкающих к центриолям, которые все приближаются к своим полюсам. Некоторые волокна веретена пролегают от одного до другого полюса; большинство направлено в сторону хроматид и присоединяется к кинетохорам.

г) Метафаза. Хромосомы движутся в сторону экватора клетки, где они выстраиваются в экваториальной плоскости. Сестринские хроматиды все еще не разделены.

д) Анафаза. Две сестринские хроматиды разделяются на независимые хромосомы. Каждая содержит кинетохор, связанный волокном митотического веретена с одним из полюсов, к которому хромосома и движется. Таким образом, каждая дочерняя клетка снабжается одной копией каждой хромосомы. Клетка, как и соединяющие полюса волокна митотического веретена, согласованно растягивается. С началом образования борозды дробления начинается цитокинез.

е) Телофаза. Вокруг дочерних ядер образуются новые мембраны; хромосомы разворачиваются и становятся менее четко различимы, ядрышко снова становится видимым, а вокруг каждого дочернего ядра образуется ядерная мембрана. Цитокинез почти завершен, и веретено исчезает в результате деполимеризации микротрубочек и прочих волокон. В течение всего митоза «дочерняя» центриоль в каждом из полюсов растет до достижения полного размера. В ходе телофазы завершается удвоение каждой из исходных центриолей, а в течение следующей интерфазы будут образованы новые дочерние центриоли.

ж) Интерфаза. По завершении цитокинеза клетка входит в фазу G_1 клеточного цикла и снова проходит весь цикл.

Следует заметить, что клеточный цикл является исключительно важным клеточным процессом. Отклонения от нормального клеточного цикла могут привести к ряду медицинских расстройств. Убыстренное и/или неограниченное протекание клеточного цикла может привести к раку. Замедленное протекание клеточного цикла может привести к дегенеративным состояниям. Применение соединения по настоящему изобретению может обеспечить подходы к лечению таких расстройств и состояний.

Таким образом, соединение по настоящему изобретению может быть пригодным для лечения расстройств клеточного цикла, таких как рак, включая гормонозависимые и гормонезависимые виды рака.

Кроме того, соединение по настоящему изобретению может быть пригодна для лечения таких видов рака, как рак молочной железы, рак яичников, рак слизистой оболочки матки, саркомы, меланомы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы и т.д., а также других солидных опухолей.

Для некоторых применений осуществляется ингибирование, и/или предотвращение, и/или остановка клеточного цикла, причем предпочтительно осуществляется предотвращение и/или остановка клеточного цикла. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения ингибирование, и/или предотвращение, и/или остановка клеточного цикла осуществляется в фазе G_2/M . В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения могут быть осуществлены необратимые предотвращение, и/или ингибирование, и/или остановка клеточного цикла предпочтительно, причем предпочтительно осуществляется необратимое предотвращение и/или остановка клеточного цикла.

Под термином «необратимые предотвращение, и/или ингибирование, и/или остановка» следует понимать, что после применения соединения по настоящему изобретению действие соединения, а именно предотвращение, и/или ингибирование, и/или остановка клеточного цикла, продолжает наблюдаться и после удаления соединения. Более конкретно, под термином «необратимые предотвращение, и/или ингибирование, и/или остановка» следует понимать, что в ходе анализа согласно представленной в контексте методике анализа протекания клеточного цикла подвергнутые действию рассматриваемого соединения клетки демонстрируют после стадии 2 методики 7 меньший рост, чем контрольные клетки. Подробное изложение этой методики представлено ниже.

Таким образом, объектами настоящего изобретения являются соединения, которые вызывают ингибирования роста положительных к эстрогенному рецептору (ER+) и ER-отрицательных (ER-) клеток рака молочной железы *in vitro* вследствие предотвращения, и/или ингибирования, и/или остановки клеточного цикла; и/или вызывают регрессию опухолей молочной железы, вызываемых действием нитрозометилмочевины (NMU), у интактных животных (т.е. не подвергнутых операции удаления яичников), и/или предотвращают, и/или ингибируют, и/или останавливают клеточный цикл в раковых клетках; и/или действуют *in vivo*, приводя к предотвращению, и/или ингибированию, и/или остановке клеточного цикла и/или действуют в качестве агониста клеточного цикла.

Анализ протекания клеточного цикла (методика 7)

Методика.

Стадия 1.

Производят посев клеток рака молочной железы MCF-7 в многоячеечные планшеты для клеточных культур при плотности посева 10 клеток на ячейку. Клеткам дают прикрепиться и расти до достижения 30% слияния, после чего их подвергают следующей обработке.

Контрольные ячейки - без обработки, в остальных случаях - 20 мкМ исследуемого соединения (ИС).

Клетки выращивают в течение 6 дней в среде для выращивания, содержащей ИС, переменяя среду/ИС каждые 3 дня. По завершении этого периода подсчитывают количества клеток с помощью счетчика клеток Coulter.

Стадия 2.

После обработки клеток ИС в течение 6 дней производят повторный посев клеток с плотностью 10^4 клеток на ячейку. В дальнейшем клетки ничем не обрабатывают. Клеткам дают расти дальше еще в течение 6 дней в присутствии среды для выращивания. В конце этого периода вновь подсчитывают количество клеток.

Рак.

Как было отмечено, соединения по настоящему изобретению могут быть полезны в лечении нарушения клеточного цикла. Особенно важным случаем расстройства клеточного цикла является рак.

Рак остается главной причиной смертности в большинстве западных стран. Разработанные к настоящему времени способы лечения рака включают блокаду действия или синтеза гормонов с целью ингибирования роста гормонозависимых опухолей. Однако при лечении гормоннезависимых опухолей в настоящее время применяют более агрессивную химиотерапию.

В связи с этим, разработка лекарственного средства для противоракового воздействия на гормонозависимые и/или гормоннезависимые опухоли, не обладающего, к тому же, некоторыми или всеми побочными эффектами, связанными с химиотерапией, будет являться важным достижением медицины.

Известно, что эстрогены участвуют после своего синтеза в ряде реакций гидроксилирования и сопряжения. До последнего времени считалось, что подобные реакции являются частью метаболического процесса, который в конце концов переводил эстрогены в водорастворимое состояние и способствовал их удалению из организма. В настоящее время очевидно, что некоторые гидроксилированные метаболиты (например, 2-гидрокси- и 16 α -гидрокси-) и конъюгаты (например, эстрон-сульфат, E1S) важны для определения некоторых и сложных воздействий в организме, проявляемых эстрогенами.

Исследователями была изучена взаимосвязь между образованием 2- и 16-гидроксилированных эстрогенов и состояниями, меняющими риск рака молочной железы. В настоящее время имеются свидетельства того, что факторы, увеличивающие активность 2-гидроксилазы, связаны с пониженным риском рака, тогда как увеличение степени 16 α -гидроксилирования может увеличить риск рака молочной железы. Дальнейший интерес к биологической роли метаболитов эстрогена был стимулирован растущим количеством свидетельств того, что 2-метоксистеродиол является эндогенным метаболитом, обладающим антимитотическими свойствами. 2-MeOE2 образуется из 2-гидроксиэстрадиола (2-OHE2) под действием катехолэстрогенметилтрансферазы, фермента, широко распространенного во всем организме.

Исследователями было показано, что 2-MeOE2 ингибирует *in vivo* рост опухолей, порождаемых подкожной инъекцией саркомы Meth A, меланомы B16 или отрицательных к эстрогенному рецептору (ER-) клеток рака молочной железы MDA-MB-435. Он также ингибирует пролиферацию, миграцию и ангиогенез *in vitro* у клеток эндотелия. Было сделано предположение о том, что способность 2-MeOE2 ингибировать *in vivo* рост опухолей может происходить из его способности ингибировать вызванный опухолью ангиогенез, а не ингибировать непосредственно пролиферацию опухолевых клеток.

Механизм, посредством которого 2-MeOE2 осуществляет свое сильное антимитогенное и антиангиогенное действие, все еще находится в процессе выяснения. Имеются свидетельства того, что в высоких концентрациях он может ингибировать полимеризацию микротрубочек и действовать в качестве слабого ингибитора связывания колхицина с тубулином. Недавно, однако, было обнаружено, что при блокирующих митоз концентрациях тубулиновые волокна в клетках не деполимеризуются, но обладают морфологией, идентичной наблюдаемой после обработки таксолом. Возможно, таким образом, что, подобно таксолу, 2-MeOE2, лекарство, применяемое при лечении рака молочной железы и яичников, действует как стабилизатор динамики микротрубочек.

В то время как идентификация 2-MeOE2 в качестве нового средства для лечения рака является важным достижением, биологическая усвояемость введенных перорально эстрогенов низка. Более того, они могут быть вовлечены в глубокие метаболические процессы во время их первого прохождения через печень. Частью программы исследований, направленных на разработку ингибитора стероидной сульфатазы для лечения рака молочной железы, стала идентификация эстрон-3-О-сульфата (EMATE) в качестве сильнодействующего активного сайт-специфичного ингибитора. Неожиданно выяснилось, что EMATE обладает сильными эстрогенными свойствами, причем его утеротропная активность у крыс при пероральном введении оказалась в сто раз выше, чем активность эстрадиола. Его повышенные эстрогенные

свойства проистекают, как полагают, из того, что он поглощается красными кровяными клетками (rbc), которые защищают его от инактивации при прохождении через печень и выступают в качестве резервуара, медленно выделяющего его в течение длительного периода. Был синтезирован и исследован ряд модифицированных по циклу А аналогов, включая 2-метоксиэстрон-3-О-сульфамат. Обладая одинаково сильным с EMATE действием в качестве ингибитора стероидной сульфатазы, он оказался лишен эстрогенных свойств.

Мы полагаем, что соединение по настоящему изобретению предоставляет подходы к лечению рака и, в особенности, рака молочной железы.

В дополнение к этому или вместо этого, соединение по настоящему изобретению может быть применимо для блокирования развития рака, включая лейкемии и солидные опухоли, такие как опухоли молочной железы, слизистой оболочки матки, предстательной железы, яичников и поджелудочной железы.

Лечебные применения, относящиеся к эстрогенам.

Мы полагаем, что некоторые из соединений по настоящему изобретению могут быть применимы для контроля уровней эстрогенов в организме, в особенности у женщин. Таким образом, некоторые из соединений могут быть применимы в качестве предоставляющих подходы к контролю способности к зачатию в виде, например, противозачаточных таблетки, пилюли, растворы или лепешки для перорального введения. Альтернативно, соединение может быть в виде имплантата или накожного пластыря.

Таким образом, соединения по настоящему изобретению могут быть применимы в лечении гормональных состояний, связанных с эстрогеном. В дополнение к этому или вместо этого, соединение по настоящему изобретению может быть применимо в лечении и других гормональных состояний, помимо связанных с эстрогеном. Таким образом, соединение по настоящему изобретению может также быть способно влиять на гормональную активность, а также быть способно влиять на иммунный ответ.

Нейродегенеративные заболевания.

Мы полагаем, что некоторые из соединений по настоящему изобретению могут быть применимы при лечении нейродегенеративных заболеваний и сходных состояний.

В качестве примера полагают, что ингибиторы STS могут быть применимы для улучшения функции памяти у пациентов, страдающих от таких заболеваний, как амнезия, травмы головы, болезнь Альцгеймера, эпилептическое слабоумие, предстарческое слабоумие, посттравматическое слабоумие, старческое слабоумие, мультиинфарктная деменция и послеинсультное слабоумие, или у тех, кто стремится к улучшению памяти во всех остальных случаях.

T_H-лимфоциты TH1.

Мы полагаем, что некоторые из соединений по настоящему изобретению могут быть применимы в случаях, связанных с действием TH1.

В качестве примера полагают, что присутствие ингибиторов STS внутри макрофага или других антигенпредставляющих клеток может приводить к снижению способности сенсibilизированных Т-клеток повышать ответные реакции TH1 (высокое содержание интерлейкина IL-2, гамма-интерферона (IFN γ), низкое содержание интерлейкина IL-4). В результате этого определяющим будет нормальное регуляторное влияние других стероидов, таких как глюкокортикоиды.

Воспалительные состояния.

Мы полагаем, что некоторые из соединений по настоящему изобретению могут быть применимы в лечении воспалительных состояний, таких как состояния, связанные с одним или более из следующих заболеваний: аутоиммунитет, включая, например, ревматоидный артрит, диабет типа I и II, системную красную волчанку, рассеянный склероз, злокачественную миастению, тиреоидит, васкулит, язвенный колит и болезнь Крона, кожные расстройства, например угри, псориаз, контактный дерматит; реакция «трансплантат против хозяина»; экзема, астма и отторжение органов после трансплантации.

В качестве примера полагают, что ингибиторы STS могут предотвращать нормальное физиологическое действие дегидроэпиандростерона (DHEA) или родственных стероидов при иммунных и/или иммуно-воспалительных ответных реакциях.

Соединения по настоящему изобретению могут быть применимы для изготовления лекарственного средства, проявляющего эндогенное действие, подобное действию глюкокортикоидов.

Другие лечебные применения.

Следует также понимать, что соединение/композиция по настоящему изобретению может иметь и другие важные медицинские применения.

Например, соединение или композиция по настоящему изобретению может быть применима при лечении расстройств, перечисленных в международной заявке на патент WO-A-99/52890, а именно,

в дополнение к указанному выше или вместо этого, соединение или композиция по настоящему изобретению может быть применима при лечении расстройств, перечисленных в международной заявке на патент WO-A-98/05635. Для удобства рассмотрения материала, здесь приводится часть перечисленных там применений: рак, воспаление или воспалительное заболевание, дерматологические расстройства, лихорадка, сердечно-сосудистые заболевания, геморрагия, коагуляция и ответная реакция в острой фазе, общее истощение, потеря аппетита, острая инфекция, ВИЧ-инфекция, шоковые состояния, реакции «трансплантат против хозяина», аутоиммунные заболевания, реперфузионная травма, менингит, мигрень

и аспириновой зависимости; тромбоз; разрастание опухоли, прорастание и распространение, ангиогенез, метастазы, злокачественный, перитонеальный и злокачественный плевральный выпот; ишемия головного мозга, ишемическая болезнь сердца, остеоартрит, ревматоидный артрит, остеопороз, астма, рассеянный склероз, нейродегенерация, болезнь Альцгеймера, атеросклероз, инсульт, васкулит, болезнь Крона и язвенный колит; амфодонит, гингивит; псориаз, диффузный нейродерматит, хронические язвы, истинная акантолитическая пузырчатка; язва роговицы, дегенерация сетчатки и хирургическое лечение раны; ринит, аллергический конъюнктивит, экзема, анафилаксия; рестеноз, застойная сердечная недостаточность, эндометриоз, атеросклероз или нейросклероз.

В дополнение к указанному выше или вместо этого, соединение или композиция по настоящему изобретению может быть применима при лечении расстройств, перечисленных в международной заявке на патент WO-A-98/07859. Для удобства представления материала, здесь приводится часть перечисленных там применений: активность цитокинов и пролиферации клеток/клеточной дифференцировки; активность иммунодепрессантов или иммуностимуляторов (например, для лечения иммунного дефицита, включая заражение вирусом иммунодефицита человека; регуляции роста лимфоцитов; лечения рака и многих аутоиммунных заболеваний и для предотвращения отторжения трансплантата и стимуляции иммунитета к опухолям); регуляция гемопоэза, например лечение миелоидных и лимфоидных заболеваний; стимуляция роста костей, хрящей, сухожилий, связок и нервной ткани, например, для заживления ран, лечения ожогов, язв и периодонтальных заболеваний и нейродегенерации; ингибирование или активация фолликулостимулирующего гормона (модуляция способности к зачатию); хемотаксическая/хемокин-ическая активность (например, для мобилизации специфических типов клеток к очагам поражения или заражения); кровоостанавливающая и тромболитическая активность (например, для лечения гемофилии и инсульта); противовоспалительная активность (для лечения, например, септического шока и болезни Крона); в качестве антимикробных средств; модуляторов, например метаболизма или поведения; в качестве болеутоляющих средств; для лечения состояний специфической недостаточности; для лечения, например, псориаза в медицине человека или ветеринарной медицине.

В дополнение к указанному выше или вместо этого, соединение или композиция по настоящему изобретению может быть применима при лечении расстройств, перечисленных в международной заявке на патент WO-A-98/09985. Для удобства представления материала, здесь приводится часть перечисленных там применений: ингибирующая активность макрофагов и/или Т-клеток и, вследствие этого, противовоспалительная активность; противоиммунная активность, т.е. эффекты ингибирования, направленные против клеточного и/или гуморального иммунного отклика, включая отклик, не связанный с воспалением; ингибирование способности макрофагов и Т-клеток прилипать к компонентам межклеточного матрикса и фибронектину, равно как и повышенную регуляцию экспрессии fas-рецептора в Т-клетках; ингибирование нежелательной иммунной реакции и воспалений, включая артрит, включая ревматоидный артрит, воспаления, связанные с повышенной чувствительностью, аллергические реакции, астму, системную красную волчанку, диффузные болезни соединительной ткани и другие аутоиммунные заболевания, воспаления, связанные с атеросклерозом, атеросклеротические сердечные заболевания, реперфузионную травму, остановку сердца, инфаркт миокарда, воспалительные заболевания сосудистой системы, синдром дыхательной недостаточности или другие сердечно-легочные заболевания, воспаления, связанные с язвенной болезнью, язвенный колит и другие заболевания желудочно-кишечного тракта, фиброз печени, цирроз печени или другие заболевания печени, тиреоидит или другие заболевания желез, гломерулонефрит или другие заболевания почек и мочеполовой системы, отит или другие оториноларингологические заболевания, дерматит или другие кожные заболевания, периодонтальные заболевания или другие болезни зубов, орхит или орхоэпидидимит, бесплодие, травмы яичек или другие связанные с иммунитетом болезни гениталий, нарушение функции плаценты, плацентарную недостаточность, привычный выкидыш, эклампсию, преэклампсию и другие гинекологические заболевания, связанные с иммунитетом и воспалением, задний увеит, интермедиарный увеит, передний увеит, конъюнктивит, хориоретинит, увеоретинит, неврит зрительного нерва, внутриглазные воспаления, например ретинит или кистозный отёк макулы, метастатическую офтальмию, склерит, пигментную дегенерацию сетчатки, иммунные и воспалительные компоненты дегенеративных заболеваний фондуса, воспалительные компоненты травмы глаза, глазные воспаления, вызванные инфекцией, пролиферативную дегенерацию стекловидного тела и сетчатки, острая ишемическая невропатия глазного нерва, избыточное рубцевание, например, после фильтрационной операции глаукомы, иммунную и/или воспалительную реакцию против глазных имплантатов и другие связанные с иммунитетом и воспалениями, офтальмологические заболевания, воспаления, связанные с аутоиммунными заболеваниями, или состояниями, или расстройствами, в тех случаях, когда подавление иммунного отклика и/или воспаления как в центральной нервной системе (ЦНС), так и в любом другом органе, имело бы благотворный эффект, болезнь Паркинсона, осложнения и/или побочные эффекты лечения болезни Паркинсона, связанное со СПИДом слабоумие в комплексе со связанной с ВИЧ энцефалопатией, болезнь Девика, хорею Сиденхэма, болезнь Альцгеймера и другие дегенеративные заболевания, состояния или расстройства ЦНС, воспалительные компоненты инсульта, постполиомиелитический синдром, иммунные и воспалительные компоненты психиатрических расстройств, миелит, энцефалит, подострый склерозирующий панэнцефалит, энцефаломиелит, острую невропатию,

подострую невропатию, хроническую невропатию, острый первичный идиопатический полиневрит, хорею Сиденхэма, злокачественную миастению, псевдоопухоль мозга, болезнь Дауна, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз, воспалительные компоненты сдавления ЦНС или травмы ЦНС или инфекций ЦНС, воспалительные компоненты амиотрофии и мышечной дистрофии, а также связанные с воспалениями или иммунитетом заболевания, состояния или расстройства центральной и периферической нервной системы, посттравматические воспаления, септический шок, инфекционные заболевания, воспалительные осложнения или побочные эффекты хирургических операций, пересадку костного мозга и другие осложнения и/или побочные эффекты, связанные с трансплантацией, воспалительные и/или иммунные осложнения и побочные эффекты генной терапии, например, в результате заражения вирусом-носителем, или воспаления связанные со СПИДом; для подавления или ингибирования гуморального и/или клеточного иммунного отклика, для лечения или облегчения заболеваний, связанных с пролиферацией моноцитов или лейкоцитов, например лейкемии, путем снижения количества моноцитов или лимфоцитов, для профилактики и/или лечения отторжения трансплантатов в случаях пересадки природных или искусственных клеток, тканей и органов, таких как роговица, костный мозг, органы, хрусталики, электрокардиостимуляторы, природная или искусственная кожная ткань.

Получение соединения.

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены путем введения соответствующего спирта в реакцию с соответствующим хлоридом (хлорангидридом). В качестве примера сульфаматные соединения по настоящему изобретению могут быть получены путем введения соответствующего спирта в реакцию с подходящим хлорангидридом сульфаминовой кислоты формулы $R^5R^6NSO_2Cl$.

Типичные условия осуществления этой реакции следующие.

Добавляют гидрид натрия и хлорангидрид сульфаминовой кислоты к перемешиваемому раствору спирта в безводном диметилформамиде при температуре $0^\circ C$. После этого реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры, продолжая перемешивание еще в течение 24 ч. Затем реакционную смесь выливают в холодный насыщенный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагируют получаемую таким образом водную фазу хлористым метилом. Объединенные органические экстракты сушат над безводным $MgSO_4$. Фильтрацию и последующее выпаривание растворителя под вакуумом, а также совместное выпаривание с толуолом приводят к неочищенному остатку, который в дальнейшем подвергают очистке с помощью флэш-хроматографии.

Предпочтительно соответствующее производное спирта получают соответствующим образом перед введением его в реакцию с хлорангидридом сульфаминовой кислоты. В случае необходимости, функциональные группы в спирте могут быть защищены общепринятым способом, причем защитная группа или группы может быть удалена по завершении реакции.

Предпочтительно сульфаматные соединения получают согласно указаниям Page и др. (1990 Tetrahedron 46; 2059-2068).

Фосфонатные соединения могут быть получены путем подходящего сочетания указаний Page и др. (1990 Tetrahedron 46; 2059-2068) и PCT/GB 92/01586.

Сульфонатные соединения могут быть получены путем подходящего применения указаний Page и др. (1990 Tetrahedron 46; 2059-2068) и PCT/GB 92/01586.

Тиофосфонатные соединения могут быть получены путем подходящего применения указаний Page и др. (1990 Tetrahedron 46; 2059-2068) и PCT/GB 91/00270.

Предпочтительные примеры получения также представлены в ниже следующем тексте.

Примеры

С этого места настоящее изобретение будет описано более подробно только в виде примеров со ссылками на сопровождающие чертежи, на которых представлено следующее:

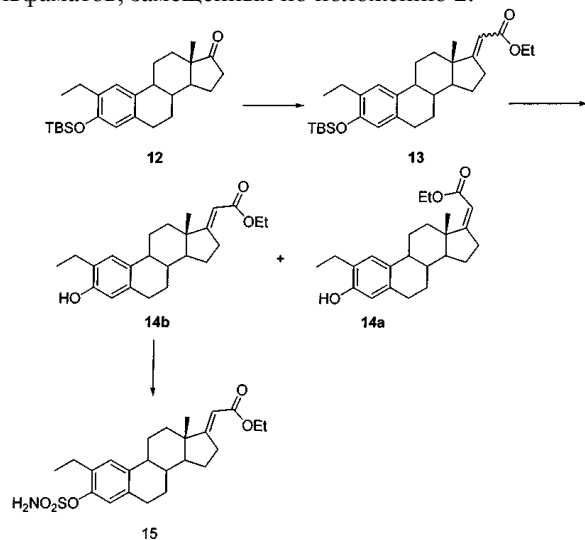
- на фиг. 1 представлена итоговая схема;
- на фиг. 2 - итоговая схема;
- на фиг. 3 - график;
- на фиг. 4 - график;
- на фиг. 5 - планшет;
- на фиг. 6 - планшет;
- на фиг. 7 - график;
- на фиг. 8 - график;
- на фиг. 9 - график;
- на фиг. 10 - планшеты;
- на фиг. 11 - график;
- на фиг. 12 - график;
- на фиг. 13 - график;
- на фиг. 14 - флуоресцентные фотографии;
- на фиг. 15 - график;
- на фиг. 16 - график;
- на фиг. 17 - график.

С этого места настоящее изобретение будет описано только в виде примера. Следует, однако, понимать, что примеры также представляют предпочтительные соединения по настоящему изобретению, равно как и предпочтительные пути их получения и применимые для их получения промежуточные соединения.

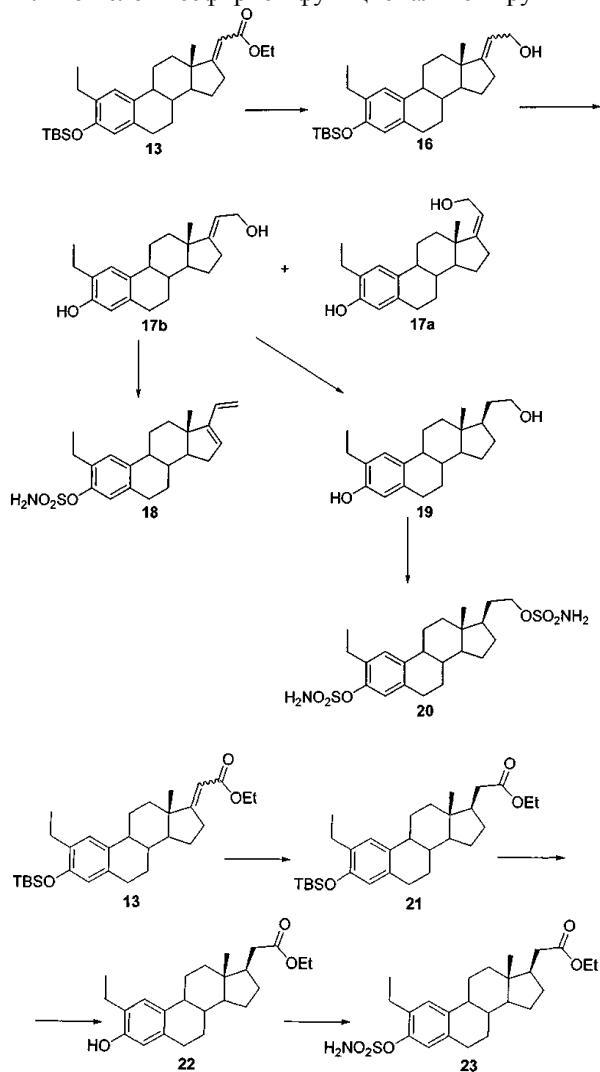
Синтезы

Получение осуществляют по следующим схемам.

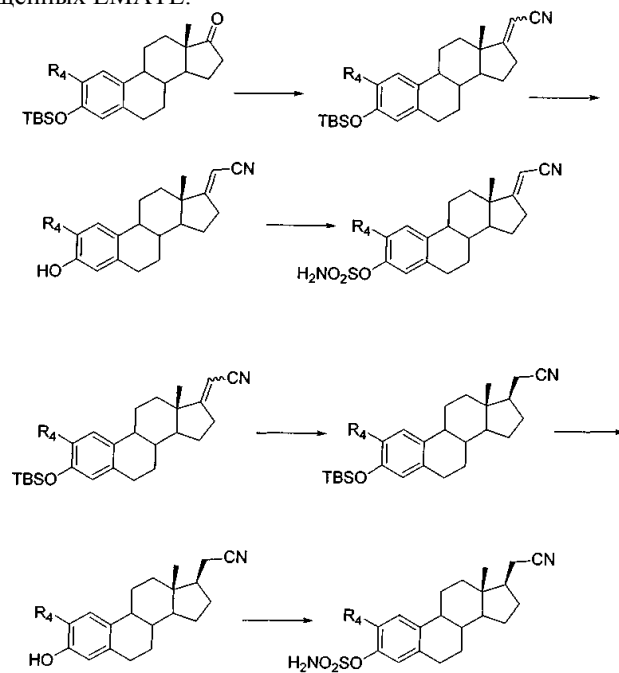
Синтез 17-алкенилсульфаматов, замещенных по положению 2.



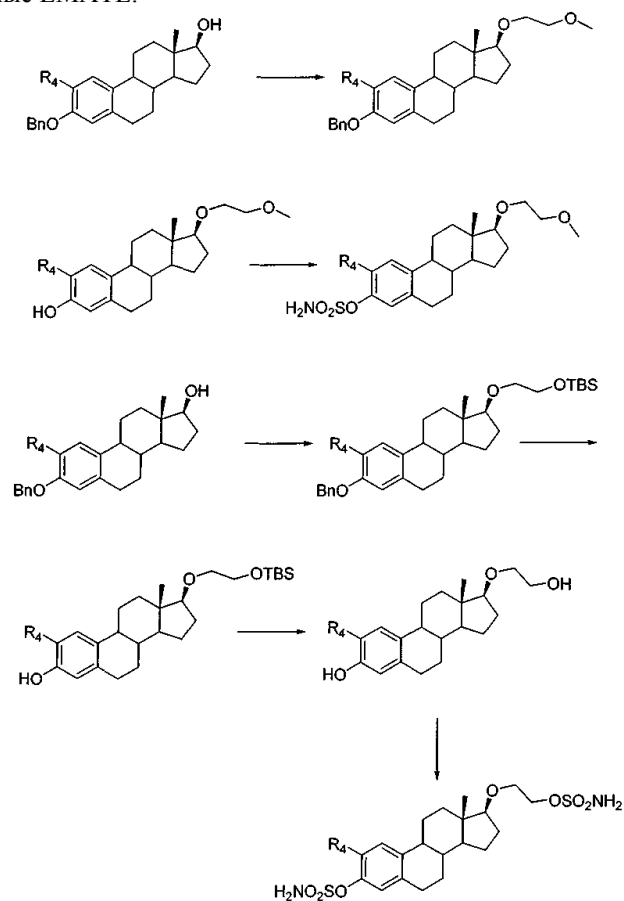
Преобразования алкенильной сложноэфирной функциональной группы в положении 17.



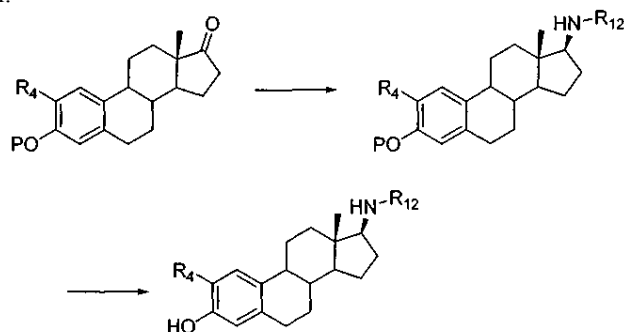
Синтез нитрилзамещенных EMATE.



17-Алкилпроизводные EMATE.



17-Аминоэстрогены.

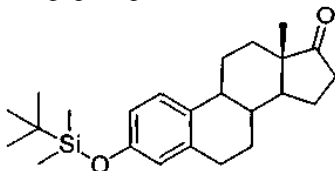


где Р является защитной группой.

Методика А.

Раствор хлорангидрида сульфаминовой кислоты концентрации 0,745М в толуоле (680 мкл, 0,507 ммоль) концентрируют под вакуумом (температура водяной бани не выше 30°C) и охлаждают на ледяной бане, после чего добавляют диметилацетамид (1,5 мл). Затем добавляют соответствующий фенол (0,253 ммоль) и дают реакционной смеси нагреться до комнатной температуры в течение ночи. Затем добавляют воду и экстрагируют смесь этилацетатом (3×10 мл). Объединенные органические фракции промывают водой (5×10 мл) и соляным раствором (10 мл), высушивают (Na₂SO₄) и концентрируют под вакуумом.

3-О-трет-Бутилдиметилсилиловый эфир эстрона 1.



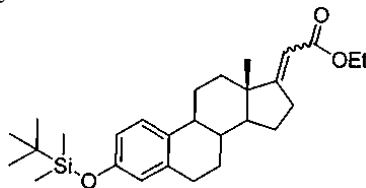
Методика Б.

Растворяют эстрон (10 г, 37 ммоль), имидазол (6,4 г, 94 ммоль) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (6,7 г, 44,4 ммоль) в диметилформамиде (130 мл) и перемешивают в атмосфере азота в течение ночи при комнатной температуре. Затем добавляют воду и экстрагируют смесь хлористым метилом (3×100 мл). Объединенные органические фракции промывают водой (2×100 мл) и соляным раствором (10 мл), высушивают (Na₂SO₄) и концентрируют под вакуумом.

Перекристаллизация из этанола приводит к защищенному эстрону в виде игольчатых кристаллов белого цвета (11,34 г, 29,6 ммоль, 80%). $t_{пл}$. 172-173°C (по литературным данным $t_{пл}$. 170-172°C). δ_H (CDCl₃) 0,19 [6H, s, Si(CH₃)₂], 0,91 (3H, s, CH₃), 0,98 [9H, s, C(CH₃)₃], 1,36-1,68 (5H, m, алкильный протон), 1,90-2,55 (7H, m, алкильный протон), 2,82-2,88 (2H, m, алкильный протон), 6,57 (1H, d, J = 2,3, ArH-4), 6,62 (1H, dd, J = 8,6, 2,3, ArH-2), 7,12 (1H, d, J = 8,6, ArH-1).

$t_{пл}$: Fevig и др. J.Org.Chem. 52: 1987, 247-251.

Этиловый эфир [3-(трет-бутилдиметилсиланокси)-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден]уксусной кислоты 2.



Методика В.

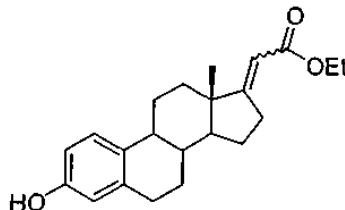
Размешивают гидрид натрия (520 мг, 17,4 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (15 мл) в атмосфере азота при комнатной температуре до полного растворения твердого вещества. Затем добавляют триэтиловый эфир фосфоноксусной кислоты (3,20 г, 2,84 мл, 7,14 ммоль) и перемешивают в течение 10 мин перед добавлением трет-бутилдиметилсилильного (TBS) производного эстрона 1 (2 г, 5,2 ммоль). Получаемую таким образом смесь нагревают при кипячении с обратным холодильником в течение ночи. Затем добавляют воду и экстрагируют смесь этилацетатом (3×50 мл). Объединенные органические фракции промывают водой (2×50 мл) и соляным раствором (10 мл), высушивают (Na₂SO₄) и концентрируют под вакуумом.

После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 9:1) получают смесь двух изомеров в виде кристаллического вещества белого цвета (1,73 г, 3,77 ммоль, 73%). Соотношение изомеров составляет 5:1 по данным ЯМР. m/z (электронный удар, положительные ионы): 454 (M⁺, 50%), 397 (90%), 82,9 (100%). Масс-спектрометрия высокого разрешения (МСВР) (бомбардировка быстрыми атомами,

положительные ионы (ББА⁺): рассчитано для C₂₈H₄₂O₃Si 454,2903, найдено: 454,2910.

Способ: Ewers и др. Tetrahedron, 54: 1998, 4277-4282.

Этиловый эфир (3-гидрокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)уксусной кислоты 3.

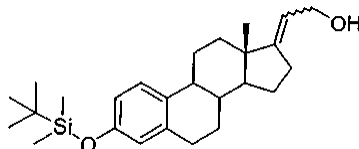


Методика Г.

трет-Бутилдиметилсилильный простой эфир 2 (100 мг, 0,220 ммоль), 1 М тетрабутиламмонийфторид в тетрагидрофуране (300 мкл, 0,300 ммоль) и тетрагидрофуран (5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 2 ч в атмосфере азота. Затем добавляют воду и экстрагируют смесь этилацетатом (3×5 мл). Объединенные органические фракции промывают водой (2×5мл) и соляным раствором (5 мл), высушивают (Na₂SO₄) и концентрируют под вакуумом.

После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 9:1) получают смесь двух изомеров в виде кристаллического вещества белого цвета (74 мг, 0,218 ммоль, 99%). t_{пл.} 118-120°C. Соотношение изомеров по данным ЯМР составляет 5:1. δ_H (CDCl₃) 0,86 (3H, s, CH₃), 1,30 (3H, t, J = 7,0, CH₃), 1,41-2,91 (15H, m, алкильный протон), 4,17 (2H, q, J = 7,0), 5,20 (1H, s, OH), 5,59 (1H, t, J = 2,3, алкеновый протон), 6,58 (1H, d, J = 2,7, ArH-4), 6,64 (1H, dd, J = 8,2, 2,7, ArH-2), 7,15 (1H, d, J = 8,2, ArH-1); m/z (ББА⁺): 341,1 [(МН)⁺, 100%]; МСВР (ББА⁺): рассчитано для C₂₂H₂₈O₃+H 341,2116, найдено: 341,2111.

2-[3-(трет-Бутилдиметилсиланокси)-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден]этанол 4.



Методика Д.

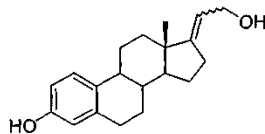
К раствору простого трет-бутилдиметилсилильного эфира 2 (300 мг, 0,66 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) добавляют при температуре -78°C в атмосфере азота 1,5 М раствор диизобутилалюминийгидрида в толуоле (1 мл, 1,5 ммоль). Раствор нагревают до температуры 0°C и перемешивают в течение 1,5 ч. Затем добавляют при температуре 0°C метанол и воду и дают раствору нагреться до комнатной температуры, после чего перемешивают в течение 30 мин. Получаемый мутный раствор экстрагируют этилацетатом (3×10 мл), объединенные органические фракции промывают водой (2×10 мл) и соляным раствором (10 мл), высушивают (Na₂SO₄) и концентрируют под вакуумом.

Получаемое таким образом твердое вещество белого цвета (179 мг, 0,434 ммоль, 66%) используют без дальнейшей очистки. t_{пл.} 128-130°C (по литературным данным t_{пл.} 128-130°C). δ_H (CDCl₃) 0,18 [6H, s, Si(CH₃)₂], 0,81 [3H, s, CH₃], 0,98 [9H, s, C(CH₃)₃], 1,03-1,61 (7H, m, алкильный протон), 1,74-1,97 (3H, m, алкильный протон), 2,16-2,42 (3H, m, алкильный протон), 2,75-2,86 (2H, m, алкильный протон), 4,07-4,23 (2H, m, CH₂OH), 5,26-5,31 (1H, m, алкеновый протон), 6,55 (1H, d, J = 2,3, ArH-4), 6,61 (1H, dd, J = 8,6, 2,3, ArH-2), 7,13 (1H, d, J = 8,6, ArH-1). Соотношение изомеров по данным ЯМР составляет 8:1. m/z (ББА⁺): 412,1 (M⁺, 7%), 73,0 (100%), 147 (35%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для C₂₆H₄₀O₂Si 412,2798, найдено: 412,2778.

Способ: Tanabe и др., патент US 6281205 B1, 2001. Антиэстрогенные стероиды и связанные с ними фармацевтические композиции и способы применения.

t_{пл.}: Ewers и др. Tetrahedron, 54: 1998, 4277-4282.

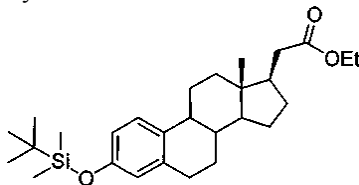
17-(2-Гидроксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 5.



Реакцию с аллильным спиртом 4 (179 мг, 434 ммоль) осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г. После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 4:1) получают смесь двух изомеров в виде порошкообразного вещества белого цвета (74 мг, 0,218 ммоль, 99%). t_{пл.} 200-202°C. δ_H (CDCl₃) 0,81 (3H, s, CH₃), 1,13-1,56 (7H, m, алкильный протон), 1,82-1,98 (3H, m, алкильный протон), 2,16-2,43 (3H, m, алкильный протон), 2,82-2,87 (2H, m, алкильный протон), 5,27-5,32 (2H, m, CH₂OH), 4,53 (1H, s, OH), 5,27-5,32 (1H, m, алкеновый протон), 6,56 (1H, d, J = 2,3, ArH-4), 6,63 (1H, dd, J = 8,6, 2,3,

ArH-2), 7,17 (1H, d, J = 8,6, ArH-1); m/z (ББА⁺): 298,1 (M⁺, 75%), 281,1 (100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для C₂₀H₂₆O₂ 298,1933, найдено: 298,1935.

Этиловый эфир [3-(трет-бутилдиметилсиланокси)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил]уксусной кислоты 6.



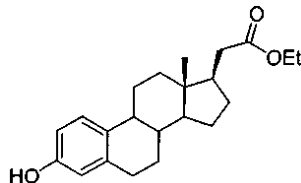
Методика Е.

Раствор сложного эфира 2 (300 мг, 0,66 ммоль) и 5% палладия на карбонате кальция (17 мг) в этаноле (5 мл) перемешивают в атмосфере водорода в течение ночи. После этого реакционную смесь фильтруют сквозь слой целлита и промывают этанолом. Фильтрат концентрируют под вакуумом.

После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 4:1) получают восстановленный продукт 6 в виде кристаллического вещества белого цвета (233 мг, 0,51 ммоль, 77%). t_{пл.} 64-66°C. δ_H (CDCl₃) 0,18 [6H, s, Si(CH₃)₂], 0,64 (3H, s, CH₃), 0,97 [9H, s, C(CH₃)₃], 1,27 (3H, t, J = 7,4, CH₃), 1,30-1,56 (5H, m, алкильный протон), 1,73-2,42 (9H, m, алкильный протон), 2,79-2,82 (2H, m, алкильный протон), 4,13 (2H, q, J = 7,4, CH₂), 6,54 (1H, d, J = 2,7, ArH-4), 6,60 (1H, dd, J = 8,6, 2,7, ArH-2), 7,11 (1H, d, J = 8,6, ArH-1); m/z (ББА⁺): 456,1 (M⁺, 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для C₂₈H₄₄O₃Si 456,3060, найдено: 456,3041.

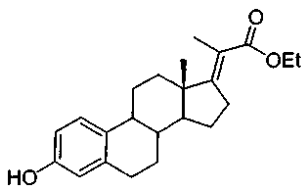
Способ: Tanabe и др., патент US 6281205 B1, 2001. Антиэстрогенные стероиды и связанные с ними фармацевтические композиции и способы применения.

Этиловый эфир (3-гидрокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)уксусной кислоты 7.



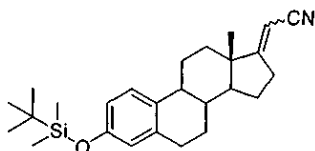
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г, используя сложный эфир 6 (100 мг, 0,211 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 4:1) получают фенол 7 в виде игольчатых кристаллов грязно-белого цвета (56 мг, 0,164 ммоль, 78%). t_{пл.} 126-128°C. δ_H (CDCl₃) 0,63 (3H, s, CH₃), 1,27 (3H, t, J = 7,0, CH₃), 1,30-2,43 (14H, m, алкильный протон), 2,78-2,84 (2H, m, алкильный протон), 4,13 (2H, q, J = 7,0, CH₂), 4,60 (1H, s, OH), 6,56 (1H, d, J = 2,7, ArH-4), 6,62 (1H, dd, J = 8,2, 2,7, ArH-2), 7,14 (1H, d, J = 8,2, ArH-1); m/z (ББА⁺): 342,1 (M⁺, 100%); МСВР (ББА): рассчитано для C₂₂H₃₀O₃ 342,2195, найдено: 342,2201.

Этиловый эфир 2-(3-гидрокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)пропионовой кислоты 8.



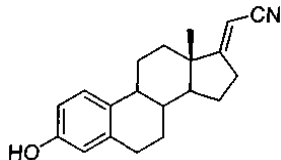
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике В, используя трет-бутилдиметилсилильное производное эстрона 1 (1 г, 2,6 ммоль) и триэтиловый эфир 2-фосфонопропионовой кислоты (1,7 г, 1,53 мл, 7,14 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 9:1) получают единственный изомер продукта 8 со снятой защитой в виде порошкообразного вещества белого цвета (170 мг, 0,48 ммоль, 18%). t_{пл.} 113-115°C. δ_H (CDCl₃) 0,91 (3H, s, CH₃), 1,40 (3H, t, J = 6,6, CH₃), 1,43-1,68 (7H, m, алкильный протон), 1,91-2,28 (6H, m, алкильный протон), 2,37-2,42 (2H, m, алкильный протон), 2,87-2,91 (2H, m, CH₂), 4,00 (2H, q, J = 7,0, CH₂), 6,64 (1H, d, J = 2,7, ArH-4), 6,71 (1H, dd, J = 8,6, 2,7, ArH-2), 7,19 (1H, d, J = 8,6, ArH-1).

[3-(трет-Бутилдиметилсиланокси)-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден]ацетонитрил 9.



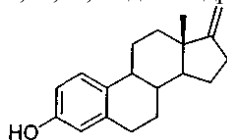
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике В, используя трет-бутилдиметилсилильное производное эстрона 1 (5 г, 13,0 ммоль) и диэтил(цианометил)фосфонат (4,02 г, 4,4 мл, 22,7 ммоль). Тонкослойная хроматография и ^1H ЯМР-спектр неочищенной реакционной смеси после завершения реакции указывают на исчезновение из смеси исходного вещества и на то, что продукт является смесью двух изомеров 9 в соотношении 6:1. Эту смесь используют без дальнейшей очистки.

(3-Гидроксидекагидро-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)ацетонитрил 10.



Реакцию с силильным простым эфиром 9 (100 г, 0,246 ммоль) осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г. После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 4:1) получают единственный изомер фенола 10 в виде порошкообразного вещества белого цвета (53 мг, 0,18 ммоль, 73%). $t_{\text{пл}}$ 264-266°C. δ_{H} (DMSO) 0,84 (3H, s, CH_3), 1,24-1,50 (8H, m, алкильный протон), 1,82-1,87 (2H, m, алкильный протон), 1,93-1,97 (1H, m, алкильный протон), 2,09-2,16 (1H, m, алкильный протон), 2,18-2,34 (1H, m, алкильный протон), 2,66-2,77 (2H, m, алкильный протон), 5,37 (1H, m, алкеновый протон), 6,44 (1H, d, $J = 2,64$, ArH-4), 6,51 (1H, dd, $J = 8,2, 2,6$, ArH-2), 7,06 (1H, d, $J = 8,2$, ArH-1), 9,02 (1H, s, OH); m/z (ББА $^+$): 293,1 (M^+ , 100%); МСВР (ББА $^+$): рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ON}$ 293,1780, найдено: 293,1783.

13-Метил-17-метилден-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 11.

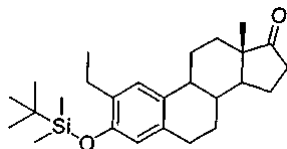


трет-Бутилат калия (220 мг, 1,96 ммоль) добавляют к безводному тетрагидрофурану (5 мл) и перемешивают в течение 10 мин для полного растворения соли. К раствору соли добавляют небольшими порциями метилтрифенилфосфонийбромид (700 мг, 1,96 ммоль). Растворяют эстрон (500 мг, 1,85 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) и добавляют к ярко-желтому раствору по каплям шприцем. После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 ч реакционную смесь нагревают при кипячении с обратным холодильником в течение ночи. Затем реакционную смесь охлаждают, добавляют воду (10 мл) и экстрагируют смесь этилацетатом (3×10 мл). Объединенные органические фракции промывают водой (2×10 мл) и соляным раствором (10 мл), высушивают (Na_2SO_4) и концентрируют под вакуумом. После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 9:1) и перекристаллизации из толуола/гексана получают алкен 11 в виде кристаллического вещества белого цвета (53 мг, 0,198 ммоль, 11%). $t_{\text{пл}}$ 130-132°C (по литературным данным $t_{\text{пл}}$ 134-137°C). δ_{H} (CDCl_3) 0,82 (3H, s, CH_3), 1,20-1,62 (6H, m, алкильный протон), 1,78-1,85 (1H, m, алкильный протон), 1,90-1,99 (2H, m, алкильный протон), 2,16-2,38 (3H, m, алкильный протон), 2,50-2,59 (1H, m, алкильный протон), 2,78-2,92 (2H, m, алкильный протон), 4,50 (1H, s, OH), 4,67 (2H, t, $J = 2,0$, алкеновый протон), 6,57 (1H, d, $J = 2,7$, ArH-4), 6,63 (1H, dd, $J = 8,6, 2,7$, ArH-2), 7,17 (1H, d, $J = 8,6$, ArH-1).

Способ: Williams, Preparation of Alkenes, Oxford University Press, 1996, стр. 32.

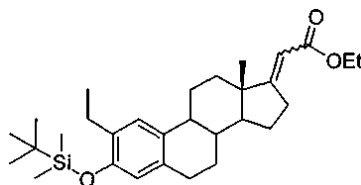
$t_{\text{пл}}$: Forcellese и др. J.Org.Chem. 46: 1981, 3326-3328.

3-(трет-Бутилдиметилсиланокси)-2-этил-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-он 12.



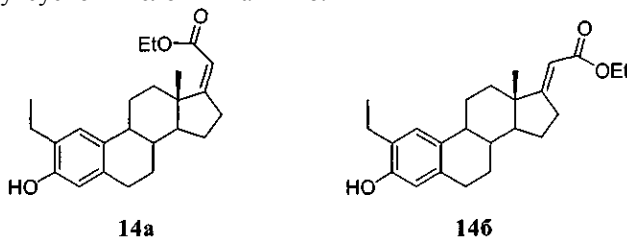
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Б, используя 2-этилэстрон (4 г, 13,4 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 9:1) получают силильный простой эфир 12 в виде кристаллического вещества белого цвета (5,02 г, 12,2 ммоль, 91%). δ_{H} (CDCl_3) 0,24 [6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0,98 (3H, s, CH_3), 1,01 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,17 (3H, t, $J = 7,8$, CH_3), 1,40-1,66 (6H, m, алкильный протон), 1,94-2,52 (7H, m, алкильный протон), 2,57 (2H, q, $J = 7,8$, CH_2), 2,82-2,86 (2H, m, алкильный протон), 6,50 (1H, s, ArH), 7,06 (1H, s, ArH).

Этиловый эфир [3-(трет-бутилдиметилсиланокси)-2-этил-13-метил-12,13,14,15,16,17-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден]уксусной кислоты 13.



Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике В, используя силильный простой эфир 12 (412 мг, 1 ммоль) и триэтиловый эфир фосфоноксусной кислоты (271 мг, 240 мкл, 1,2 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 19:1) получают два изомера 13 в виде бесцветного маслянистого вещества (290 мг, 0,602 ммоль, 60%). Соотношение изомеров по данным ^1H ЯМР составляет 6:1. δ_{H} (CDCl_3) 0,22 [6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0,97 (3H, s, CH_3), 1,00 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,17 (3H, t, $J = 7,8$, CH_3), 1,29 (3H, t, $J = 7,0$, CH_3), 1,59-2,44 (11H, m, алкильный протон), 2,56 (2H, q, $J = 7,8$, CH_2), 2,76-2,92 (4H, m, алкильный протон), 4,15 (2H, q, $J = 7,0$, CH_2), 5,62 (1H, t, $J = 2,0$, алкеновый протон), 6,48 (1H, s, ArH), 7,06 (1H, s, ArH); m/z (ББА $^+$): 482,1 (M^+ , 90%), 73,0 (100%); МСВР (ББА $^+$): рассчитано для $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3\text{Si}$ 482,3216.

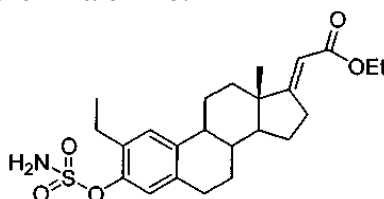
Этиловый эфир Z- и E-(2-этил-3-гидрокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)уксусной кислоты 14а и 14б.



Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г, используя сложный эфир 13 (290 мг, 0,639 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 19:1) получают Z-изомер 14а в виде порошкообразного вещества белого цвета (28 мг, 0,0757 ммоль, 12%). $t_{\text{пл}}$ 157-159°C. δ_{H} (CDCl_3) 1,04 (3H, s, CH_3), 1,22 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,29 (3H, t, $J = 7,0$, CH_3), 1,35-2,48 (13H, m, алкильный протон), 2,60 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,78-2,84 (2H, m, алкильный протон), 4,09-4,12 (2H, m, CH_2), 4,46 (1H, s, OH), 5,68 (1H, t, $J = 2,0$, алкеновый протон), 6,50 (1H, s, ArH), 7,04 (1H, s, ArH); m/z (ББА $^+$): 368,1 (M^+ , 100%); МСВР (ББА $^+$): рассчитано для $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_3$ 368,2351, найдено: 368,2364.

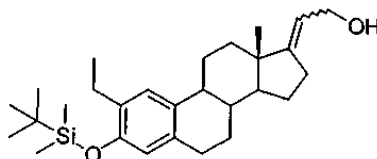
Продолжая элюирование, получают E-изомер 14б в виде бледно-желтого маслянистого вещества (184 мг, 0,497 ммоль, 78%). δ_{H} (CDCl_3) 0,86 (3H, s, CH_3), 1,23 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,29 (3H, t, $J = 7,0$, CH_3), 1,33-2,45 (11H, m, алкильный протон), 2,60 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,74-2,91 (4H, m, алкильный протон), 4,15 (2H, q, $J = 7,0$, CH_2), 4,52 (1H, s, OH), 5,59 (1H, t, $J = 2,3$, алкеновый протон), 6,51 (1H, s, ArH), 7,06 (1H, s, ArH).

Этиловый эфир (2-этил-13-метил-3-сульфамойлокси-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)уксусной кислоты 15.



Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике А, используя сложный эфир 14б (132 мг, 0,357 ммоль). Для очистки сульфамата 15 используют препаративную высокоэффективную жидкостную хроматографию, после которой получают твердое вещество белого цвета (28 мг, 0,0757 ммоль, 21%). δ_{H} (d_6 -ацетон) 0,91 (3H, s, CH_3), 1,18 (3H, t, $J = 7,7$, CH_3), 1,23 (3H, t, $J = 7,2$, CH_3), 1,28-1,65 (6H, m, алкильный протон), 1,86-2,08 (5H, m, алкильный протон), 2,24-2,34 (1H, m, алкильный протон), 2,47-2,54 (1H, m, алкильный протон), (2H, q, $J = 7,7$, CH_2), 2,81-2,89 (2H, m, алкильный протон), 4,10 (2H, q, $J = 7,2$, CH_2), 5,56 (1H, t, $J = 2,5$, алкеновый протон), 7,09 (1H, s, ArH), 7,26 (1H, s, ArH).

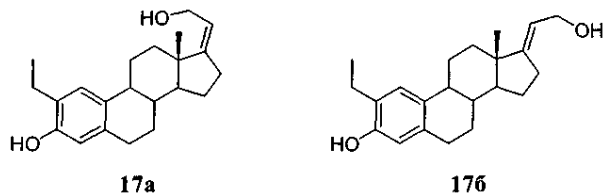
2-[3-(трет-Бутилдиметилсиланоокси)-2-этил-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден]этанол 16.



Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Д, используя сложный эфир 14б (412 мг, 1 ммоль). Как тонкослойная хроматография, так и ^1H ЯМР указывают на то, что исходное

вещество израсходовано и получаемый винильный спирт 16 используют без дальнейшей очистки.

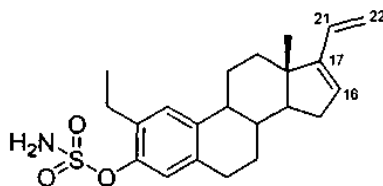
Z- и E-2-Этил-17-(2-гидроксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 17a и 17b.



Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г, используя винильный спирт 16 (520 мг, 1,18 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 19:1) получают Z-фенол 17a в виде порошкообразного вещества белого цвета (27 мг, 0,0831 ммоль, 7%). $t_{\text{пл}}$ 205-207°C. δ_{H} (CDCl_3) 0,93 (3H, s, CH_3), 1,23 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,26-1,61 (5H, m, алкильный протон), 1,72-1,79 (2H, m, алкильный протон), 1,89-1,92 (1H, m, алкильный протон), 2,18-2,39 (4H, m, алкильный протон), 2,47-2,53 (1H, m, алкильный протон), 2,60 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,74-2,87 (2H, m, алкильный протон), 4,21 (1H, dd, $J = 7,0$, 12,1, CHON), 4,35 (1H, dd, $J = 12,1$, 7,0, CHON), 4,62 (1H, s, OH), 5,33-5,37 (1H, m, алкеновый протон), 6,50 (1H, s, ArH), 7,04 (1H, s, ArH); m/z (ББА^+): 326,1 (M^+ , 100%); МСВР (ББА^+): рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_2$ 326,2246, найдено: 326,2259.

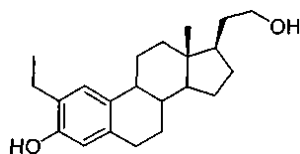
Продолжая элюирование, получают E-фенол 17b в виде порошкообразного вещества белого цвета (245 мг, 0,754 ммоль, 64%). $t_{\text{пл}}$ 169-171°C. δ_{H} (CDCl_3) 0,79 (3H, s CH_3), 1,21 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,27-1,61 (5H, m, алкильный протон), 1,74-1,97 (3H, m, алкильный протон), 2,20-2,48 (5H, m, алкильный протон), 2,59 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,77-2,83 (2H, m, алкильный протон), 4,11-4,60 (2H, m, CH_2OH), 4,50 (1H, s, OH), 5,26-5,37 (1H, m, алкеновый протон), 6,48 (1H, s, ArH), 7,06 (1H, s, ArH); m/z (ББА^+): 326,1 (M^+ , 50%), 73,0 (100%); МСВР (ББА^+): рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_2$ 326,2246, найдено: 326,2256.

2-Этил-13-метил-17-винил-7,8,9,11,12,13,14,15-октагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-иловый эфир сульфаминовой кислоты 18.



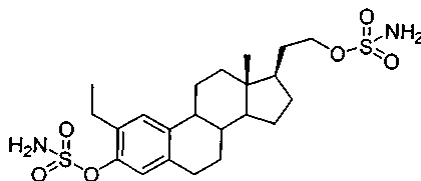
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике А, используя соединение 17b (65 мг, 0,200 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 CHCl_3) получают сульфамат 18 в виде бесцветного маслянистого вещества (36 мг, 0,093 ммоль, 47%). δ_{H} (CDCl_3) 0,91 (3H, s, CH_3), 1,21 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,27-1,55 (2H, m, алкильный протон), 1,61-1,73 (4H, m, алкильный протон), 1,85-2,07 (2H, m, алкильный протон), 2,18-2,39 (4H, m, алкильный протон), 2,69 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,83-2,92 (2H, m, алкильный протон), 4,88-4,97 (1H, m, алкеновый протон-16), 4,99 (2H, s, NH_2), 5,35 (1H, d, $J = 18,0$, алкеновый протон-22), 5,73 (1H, уш. s, алкеновый протон-22), 6,32 (1H, dd, $J = 18,0$, 11,4, алкеновый протон-21), 7,10 (1H, s, ArH), 7,18 (1H, s, ArH).

2-Этил-17-(2-гидроксиэтил)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 19.



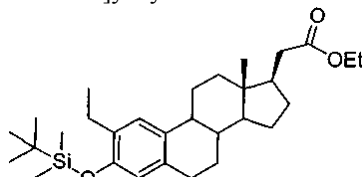
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Е, используя винильный спирт 16 (76 мг, 0,233 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 5:1) получают диол 19 в виде порошкообразного вещества белого цвета (51 мг, 0,155 ммоль, 67%). $t_{\text{пл}}$ 162-164°C. δ_{H} (CDCl_3) 0,63 (3H, s, CH_3), 1,22 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,24-1,50 (10H, m, алкильный протон), 1,72-1,88 (4H, m, алкильный протон), 2,15-2,32 (2H, m, алкильный протон), 2,59 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,76-2,81 (2H, m, алкильный протон), 3,61-3,75 (2H, m, CH_2OH), 5,0 (1H, s, OH), 6,49 (1H, s, ArH), 7,05 (1H, s, ArH); δ_{C} (CDCl_3) 12,6 (CH_3), 14,4 (CH_3), 23,0 (CH_2), 24,4 (CH_2), 26,5 (CH_2), 27,9 (CH_2), 28,4 (CH_2), 29,3 (CH_2), 33,7 (CH_2), 37,8 (CH_2), 38,9 (CH), 42,5 (C), 44,2 (CH), 47,2 (CH), 54,7 (CH), 62,7 (CH_2), 115,2 (CH), 126,3 (CH), 127,1 (C), 132,8 (C), 135,5 (C), 151,1 (C); m/z (ББА^+): 328,1 (M^+ , 100%); МСВР (ББА^+): рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 328,2402, найдено: 328,2407.

2-Этил-13-метил-17-(2-сульфамойлоксиэтил)-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-иловый эфир сульфаминовой кислоты 20.



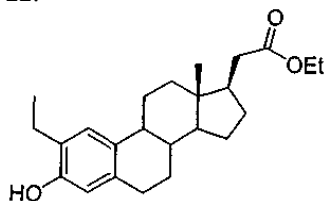
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике А, используя диол 19 (35 мг, 0,107 ммоль). Для очистки сульфамата 20 используют препаративную высокоэффективную жидкостную хроматографию, после которой получают твердое вещество белого цвета (28 мг, 0,0576 ммоль, 54%). δ_{H} (d_6 -ацетон) 0,69 (3H, s, CH₃), 1,18 (3H, t, J = 7,4, CH₃), 1,29-1,62 (10H, m, алкильный протон), 1,76-1,42 (6H, m, алкильный протон), 1,70 (2H, q, J = 7,4, CH₂), 2,80-2,84 (2H, m, алкильный протон), 4,16-4,18 (2H, m, CH₂), 6,63 (2H, s, NH₂), 7,09 (1H, s, ArH), 7,13 (2H, s, NH₂), 7,24 (1H, s, ArH); m/z (ББА, отрицательные ионы) 485,1 [(M-H)⁻, 100%]; МСВР (ББА⁺): рассчитано для C₂₂H₃₄O₆N₂S₂ 486,1858, найдено: 486,1854.

Этиловый эфир [3-(трет-бутилдиметилсиланокси)-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил]уксусной кислоты 21.



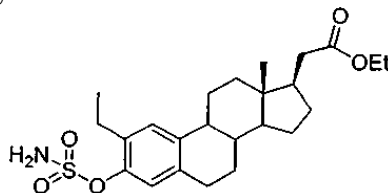
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Е, используя сложный эфир 13 (100 мг, 0,220 ммоль). ¹H ЯМР указывает на то, что исходное вещество израсходовано, и получаемый сложный эфир 21 используют без дальнейшей очистки.

Этиловый эфир (2-этил-3-гидрокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)уксусной кислоты 22.



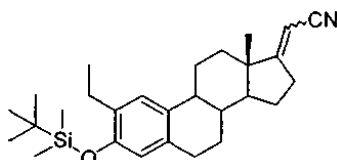
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г, используя сложный эфир 21 (66 мг, 0,145 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 19:1) получают насыщенный сложный эфир 22 в виде бесцветного маслянистого вещества (38 мг, 0,103 ммоль, 71%). δ_{H} (CDCl₃) 0,63 (3H, s, CH₃), 1,22 (3H, t, J = 7,4, CH₃), 1,27 (3H, t, J = 7,4, CH₃), 1,24-2,00 (11H, m, алкильный протон), 2,12-2,22 (3H, m, алкильный протон), 2,27-2,33 (1H, m, алкильный протон), 2,41 (1H, dd, J = 14,5, 5,1, алкильный протон), 2,59 (2H, q, J = 7,4, CH₂), 2,73-2,81 (2H, m, алкильный протон), 4,13 (2H, q, J = 7,4, CH₂), 4,62 (1H, s, OH), 6,49 (1H, s, ArH), 7,06 (1H, s, ArH); m/z (ББА⁺): 370,2 (M⁺, 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для C₂₄H₃₄O₃ 370,2508, найдено: 370,2537.

Этиловый эфир (2-этил-13-метил-3-сульфамойлокси-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)уксусной кислоты 23.



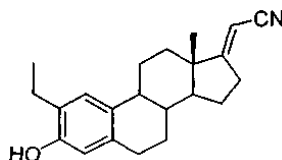
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике А, используя сложный эфир 22 (100 мг, 0,270 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO₂ гексан:этилацетат 9:1) получают сульфамат 23 в виде порошкообразного вещества белого цвета (83 мг, 0,185 ммоль, 68%). $t_{\text{пл}}$ 120-122°C. δ_{H} (CDCl₃) 0,63 (3H, s, CH₃), 1,21 (3H, t, J = 7,4, CH₃), 1,27 (3H, t, J = 7,0, CH₃), 1,24-1,50 (7H, m, алкильный протон), 1,74-1,98 (5H, m, алкильный протон), 2,11-2,42 (4H, m, алкильный протон), 2,68 (2H, q, J = 7,4, CH₂), 2,82-2,84 (2H, m, алкильный протон), 4,12 (2H, q, J = 7,0, CH₂), 5,08 (2H, s, NH₂), 7,05 (1H, s, ArH), 7,16 (1H, s, ArH), δ_{C} (CDCl₃) 12,5, 14,2, 14,6, 23,0, 24,2, 26,2, 27,5, 28,2, 29,2, 35,4, 37,3, 38,4, 42,3, 44,2, 46,9, 54,3, 60,2, 121,4, 126,9, 133,6, 136,0, 139,6, 146,1, 174,0; m/z (ББА⁺): 449,1 (M⁺, 10%), 135,0 (100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для C₂₄H₃₅O₅NS 449,2236, найдено: 449,2237.

[3-(трет-Бутилдиметилсиланокси)-2-этил-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден]ацетонитрил 24.



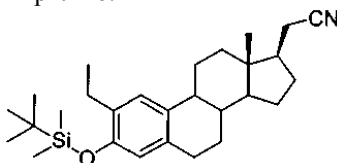
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике В, используя силильный простой эфир 12 (1 г, 2,6 ммоль) и диэтил(цианометил)фосфонат (691 мг, 631 мкл, 3,9 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 20:1) получают два изомера 24 в виде бесцветного маслянистого вещества (641 мг, 1,47 ммоль, 57%). m/z (ББА⁺): 435,3 (М, 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{ONSi}$ 435,2957, найдено: 435,2961.

(2-Этил-3-гидрокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)ацетонитрил 25.



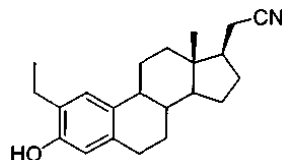
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г, используя силильный простой эфир 24 (540 мг, 1,24 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 4:1) получают фенол 25 в виде бледно-желтого маслянистого вещества (284 мг, 0,88 ммоль, 71%). δ_{H} (CDCl_3) 0,88 (3H, s, CH_3), 1,22 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,25-1,62 (6H, m, алкильный протон), 1,90-1,97 (3H, m, алкильный протон), 2,18-2,24 (1H, m, алкильный протон), 2,40-2,45 (1H, m, алкильный протон), 2,59 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,63-2,84 (4H, m, алкильный протон), 4,53 (1H, s, OH), 5,04 (1H, t, $J = 2,3$, алкеновый протон), 6,49 (1H, s, ArH), 7,02 (1H, s, ArH); δ_{C} (CDCl_3) 14,4 (CH_3), 18,0 (CH_3), 23,0 (CH_3), 23,5 (CH_2), 26,3 (CH_2), 27,4 (CH_2), 29,1 (CH_2), 30,3 (CH_2), 34,7 (CH_2), 38,5 (CH), 43,7 (CH), 46,4 (C), 52,8 (CH), 87,7 (CH), 115,2 (CH), 117,5 (C), 126,2 (CH), 127,4 (C), 131,7 (C), 135,2 (C), 151,4 (C), 181,1 (C); m/z (ББА⁺): 321,3 (М⁺, 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{ON}$ 321,2093, найдено: 321,2088.

[3-(трет-Бутилдиметилсиланокси)-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил]ацетонитрил 26.



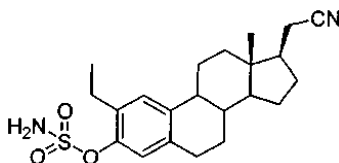
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Е, используя силильный простой эфир 24 (100 мг, 0,230 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 19:1) получают насыщенный нитрил 26 в виде бесцветного маслянистого вещества (81 мг, 0,185 ммоль, 81%). δ_{H} (CDCl_3) 0,22 [6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0,67 (3H, s, CH_3), 1,00 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,16 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,26-1,53 (7H, m, алкильный протон), 1,78-2,17 (5H, m, алкильный протон), 2,20-2,29 (2H, m, алкильный протон), 2,31-2,40 (2H, m, CH_2CN), 2,56 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,74-2,81 (2H, m, алкильный протон), 6,47 (1H, s, ArH), 7,04 (1H, s, ArH); m/z (ББА⁺): 437,4 (М⁺, 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{OSiN}$ 437,3114, найдено: 437,3121.

(2-Этил-3-гидрокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)ацетонитрил 27.



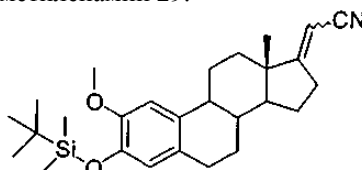
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г, используя нитрил 26 (73 мг, 0,167 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 9:1) получают фенол 27 в виде твердого вещества белого цвета (38 мг, 0,118 ммоль, 70%). $t_{\text{пл}}$ 195-197°C. δ_{H} (CDCl_3) 0,67 (3H, s, CH_3), 1,22 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,27-1,53 (7H, m, алкильный протон), 1,74-1,89 (3H, m, алкильный протон), 1,99 (1H, dt, $J = 12,1$, 3,1, алкильный протон), 2,03-2,12 (1H, m, алкильный протон), 2,14-2,42 (4H, m, алкильный протон), 2,59 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,75-2,86 (2H, m, алкильный протон), 4,67 (1H, s, OH), 6,49 (1H, s, ArH), 7,04 (1H, s, ArH); m/z (ББА⁺): 323,2 (М⁺, 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{ON}$ 323,2249, найдено: 323,2252.

17-Цианометил-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-иловый эфир сульфаминовой кислоты 28 (STX 564).



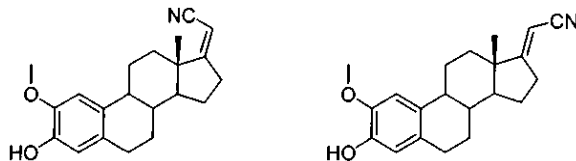
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике А, используя фенол 27 (182 мг, 0,591 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (CHCl_3) получают сульфамат 28 в виде игольчатых кристаллов белого цвета (120 мг, 0,299 ммоль, 51%). $t_{\text{пл}}$ 175-177°C. δ_{H} (d_6 -ацетон) 0,73 (3H, s, CH_3), 1,17 (3H, t, $J = 7,4$, CH_3), 1,26-1,56 (7H, m, алкильный протон), 1,77-2,13 (5H, m, алкильный протон), 2,26-2,58 (3H, m, алкильный протон), 2,69 (2H, q, $J = 7,4$, CH_2), 2,80-2,83 (2H, m, алкильный протон), 7,08 (1H, s, ArH), 7,12 (2H, s, NH_2), 7,23 (1H, s, ArH); m/z (ББА⁺): 402,0 (M^+ , 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2\text{S}$ 402,1977, найдено: 402,1975.

[3-(трет-Бутилдиметилсиланокси)-2-метокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиденметил]метиленамин 29.



Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике В, используя 2-метокси-3-трет-бутилдиметилсилилоксиэстрон (1 г, 2,42 ммоль) и диэтил(цианометил)фосфонат (712 г, 650 мкл, 4,02 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 19:1) получают два изомерных алкена 29 в виде бесцветного маслянистого вещества (481 мг, 1,14 ммоль, 27%). Соотношение изомеров по данным ЯМР составляет 1:1. m/z (ББА⁺): 438,1 [(МН)⁺, 50%], 380,1 (100%), 73,0 (80%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{O}_2\text{NSi}$ 437,2750, найдено: 437,2731.

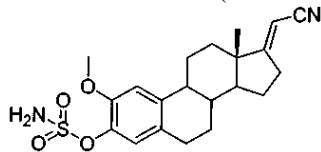
Z- и E-(3-Гидрокси-2-метокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)ацетонитрил 30.



Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Г, используя силильный простой эфир 29 (400 мг, 0,95 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 9:1) получают смесь двух изомеров в виде порошкообразного вещества белого цвета (91 мг, 0,281 ммоль, 30%).

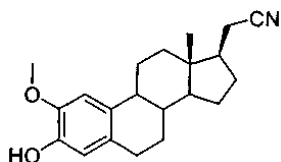
Продолжая элюирование, получают E-изомер 30 в виде твердого вещества белого цвета (115 мг, 0,356 ммоль, 37%). δ_{H} (CDCl_3) 0,89 (3H, s, CH_3), 1,25-1,64 (6H, m, алкильный протон), 1,90-1,99 (3H, m, алкильный протон), 2,22-2,27 (1H, m, алкильный протон), 2,35-2,40 (1H, m, алкильный протон), 2,60-2,69 (1H, m, алкильный протон), 2,74-2,82 (3H, m, алкильный протон), 3,86 (3H, s, OCH_3), 5,05 (1H, t, $J = 2,7$, алкеновый протон), 5,43 (1H, s, OH), 6,65 (1H, s, ArH), 6,77 (1H, s, ArH); m/z (ББА⁺): 323,1 (M^+ , 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{N}$ 323,1885, найдено: 323,1885.

2-Метокси-13-метил-17-метиленаминометил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-иловый эфир сульфаминовой кислоты 31 (STX 639).



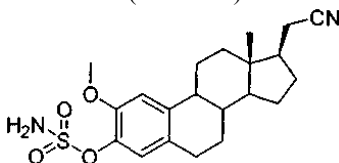
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике А, используя фенол 30 (40 мг, 0,124 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 4:1) получают сульфамат 31 в виде белых игольчатых кристаллов (36 мг, 0,0896 ммоль, 72%). $t_{\text{пл}}$ 202-204°C. δ_{H} (d_6 -ацетон) 0,95 (3H, s, CH_3), 1,25-1,65 (7H, m, алкильный протон), 1,94-2,08 (2H, m, алкильный протон), 2,26-2,35 (1H, m, алкильный протон), 2,46-2,66 (2H, m, алкильный протон), 2,74-2,84 (3H, m, алкильный протон), 3,84 (3H, s, OCH_3), 5,27 (1H, t, $J = 2,3$, алкеновый протон), 6,90 (2H, s, NH_2), 7,02 (1H, s, ArH), 7,04 (1H, s, ArH); m/z (ББА⁺): 402,0 (M^+ , 100%); МСВР (ББА⁺): рассчитано для $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}$ 402,1613, найдено: 402,1611.

(3-Гидрокси-2-метокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)ацетонитрил 32.



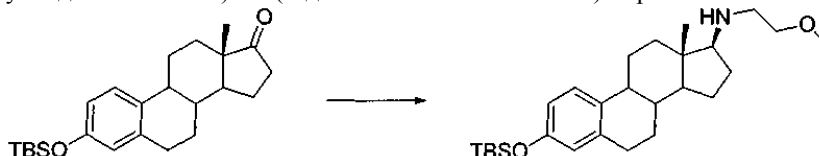
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике Е, используя алкен 30 (100 мг, 0,310 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 4:1) получают насыщенный нитрил 32 в виде твердого вещества белого цвета (81 мг, 0,249 ммоль, 80%). $t_{\text{пл}}$ 172-174°C. δ_{H} (d_6 -ацетон) 0,71 (3H, s, CH_3), 1,22-1,52 (7H, m, алкильный протон), 1,73-1,90 (3H, m, алкильный протон), 1,98-2,08 (2H, m, алкильный протон), 2,14-2,22 (1H, m, алкильный протон), 2,30-2,39 (2H, m, алкильный протон), 2,45-2,54 (1H, m, алкильный протон), 2,65-2,80 (2H, m, алкильный протон), 3,80 (3H, s, OCH_3), 6,52 (1H, s, ArH), 6,84 (1H, s, ArH), 8,00 (1H, s, OH); m/z (ББА^+): 325 (100%, M^+); МСВР (ББА^+): найдено: 325,20418, рассчитано для $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_2$ 325,20418; Рассчитано: C, 77,5%; H, 8,36%; N, 4,30%; Найдено: C, 77,2%; H, 8,41%; N, 4,01%.

17-Цианометил-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенан-трин-3-иловый эфир сульфаминовой кислоты 33 (STX 641).



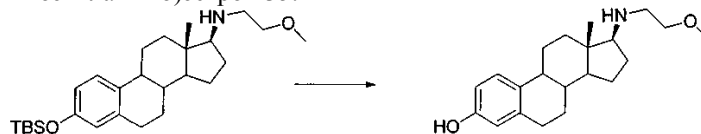
Реакцию осуществляют аналогично тому, как это описано в методике А, используя нитрил 32 (60 мг, 0,185 ммоль). После колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 гексан:этилацетат 4:1) и перекристаллизации из ацетона/гексана получают сульфамат 33 в виде кристаллического вещества белого цвета (20,3 мг, 0,0547 ммоль, 30%). $t_{\text{пл}}$ 183-185°C. δ_{H} (CDCl_3) 0,69 (3H, s, CH_3), 1,20-1,55 (7H, m, алкильный протон), 1,70-1,94 (3H, m, алкильный протон), 1,98-2,50 (6H, m, алкильный протон), 2,74-2,84 (2H, m, алкильный протон), 3,87 (3H, s, OCH_3), 5,06 (2H, s, NH_2), 6,92 (1H, s, ArH), 7,04 (1H, s, ArH); δ_{C} (CDCl_3) 12,2 (CH_3), 17,6 (CH_2), 23,9 (CH_2), 26,3 (CH_2), 27,4 (CH_2), 28,3 (CH_2), 28,6 (CH_2), 37,3 (CH_2), 38,3 (CH), 42,5 (C), 44,3 (CH), 46,7 (CH), 54,4 (CH), 56,4 (CH_3), 110,4 (CH), 119,5 (C), 124,2 (CH), 130,2 (C), 138,2 (C), 140,4 (C), 149,0 (C); m/z (ББА^+): 404,1 (M^+ , 100%); МСВР (ББА^+): рассчитано для $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}$ 404,1770, найдено: 404,1767; рассчитано для $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}$: C, 62,35%; H, 6,98%; N, 6,93%, найдено: C, 62,50%; H, 6,96%; N, 6,85%.

3-О-(трет-Бутилдиметилсилил)-17-(2-диметиламиноэтиламино)эстрон 34.



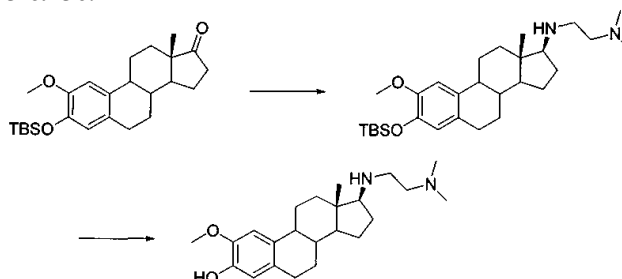
К раствору 3-О-трет-бутилдиметилсилилэстрона (200 мг, 0,52 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл) добавляют 2-метоксиэтиламин (226 мкл, 4 экв.) и через 10 мин триацетоксиборгидрид натрия (449 мг, 4,5 экв.) и уксусную кислоту (150 мкл). После перемешивания в течение 4 суток при комнатной температуре реакцию останавливают с помощью гидроксида натрия (4 мл, 1М водный раствор) и разбавляют реакционную смесь этилацетатом (50 мл). Стандартная водная обработка приводит к искомому амину 34 в виде твердого вещества белого цвета, для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт - тетраметилсилан (TMS) = 0) 7,09 (1H, d, J 8,4, ArH), 6,58 (1H, dd, J 8,4 и 2,5, ArH), 6,52 (1H, d, J 2,5, ArH), 3,34-3,51 (2H, m, OCH_2), 3,34 (3H, s, OMe), 2,57-2,92 (5H, m, 6- CH_2 , CH_2N и CHN), 1,20-2,30 (14H, m), 0,96 (9H, s, ^tBu), 0,74 (3H, s, 18- CH_3) и 0,17 (6H, s, SiMe_2); δ_{C} 153,6, 137,8, 133,2, 126,1, 119,9, 117,1, 72,4, 69,3, 58,7, 52,4, 48,5, 44,0, 43,2, 38,7, 38,3, 29,7, 29,6, 27,5, 26,4, 25,7, 23,5, 1801, 11,8 и -4,4; ББА^+ : 444,3.

17-(2-Диметиламиноэтиламино)эстрон 35.



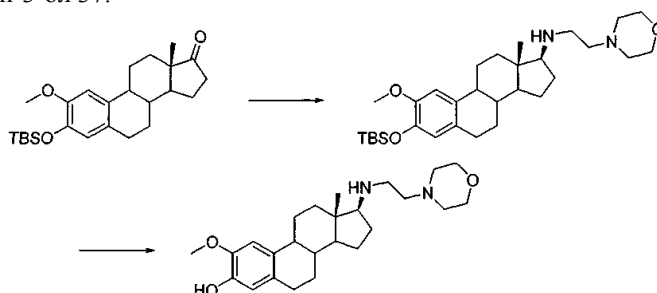
Раствор защищенного трет-бутилдиметилсилильной группой эстратриена 34 (160 мг) в тетрагидрофуране (10 мл) обрабатывают тетрабутиламмоний-фторидом (0,4 мл, 1М раствор в тетрагидрофуране). После перемешивания в течение ночи осуществляют стандартную водную обработку, которая приводит к искомому продукту 35, для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 7,10 (1H, d, J 8,6, ArH), 6,58 (1H, dd, J 8,6 и 2,7, ArH), 6,52 (1H, d, J 2,7, ArH), 3,48-3,52 (2H, m, OCH_2), 3,34 (3H, s, OMe), 2,62-2,94 (5H, m, 6- CH_2 , CH_2N и CHN), 1,24-2,52 (15H, m) и 0,75 (3H, s, 18- CH_3).

17-(2-Диметиламиноэтиламино)-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 36.



К раствору 2-метокси-3-трет-бутилдиметилсиланоксиэстрона (415 мг) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляют N,N-диметилэтилендиамин (439 мкл, 4 ммоль) и через 10 мин триацетоксиборгидрид натрия (954 мг, 4,5 ммоль) и уксусную кислоту (300 мкл). После перемешивания в течение 3 суток при комнатной температуре реакцию останавливают с помощью гидроксида натрия (4 мл, 1М водный раствор) и разбавляют реакционную смесь этилацетатом (50 мл). Стандартная водная обработка приводит к искомому амину в виде бледно-желтого маслянистого вещества, для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 6,76 (1H, s, ArH), 6,53 (1H, s, ArH), 3,76 (3H, s, OMe), 2,65-2,82 (4H, m, 6-CH₂ и CH₂N), 2,62 (1H, dd, J 8,6 и 8,6, CHN), 2,36-2,48 (2H, m, CH₂N), 1,20-2,30 (20H, m, включая 2,23 (6H, s, NMe₂)), 0,99 (9H, s, 'Bu), 0,76 (3H, s, 18-CH₃) и 0,15 (6H, s, SiMe₂). Защищенный трет-бутилдиметилсилильной группой аминостероид растворяют затем в тетрагидрофуране (20 мл) и обрабатывают тетрабутиламмонийфторидом (1,5 мл, 1М в тетрагидрофуране) и KF (10 мг), после чего перемешивают в течение 8 ч. После этого добавляют этилацетат (50 мл) и промывают получаемый таким образом раствор раствором гидрокарбоната натрия (50 мл, насыщенный), водой (50 мл) и соляным раствором (2×50 мл), высушивают его (Na_2SO_4) и выпаривают. Получаемое таким образом бледно-желтое маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ от 99:1 до 1:1), что приводит к искомому амину 36 в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества, которое затем растирают в диэтиловом эфире/гексане, что приводит к порошкообразному белому веществу с $t_{\text{пл}}$ 108°C, для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 6,77 (1H, s, ArH), 6,61 (1H, s, ArH), 3,85 (3H, s, OMe), 2,68-2,84 (4H, m, 6-CH₂ и CH₂N), 2,63 (1H, dd, J 8,6 и 8,6, CHN), 2,38-2,46 (2H, m, CH₂N), 1,20-2,30 (21H, m, включая 2,24 (6H, s, NMe₂)) и 0,76 (3H, s, 18-CH₃), δ_{C} 144,6, 143,4, 131,5, 129,3, 114,7, 108,1, 69,4, 59,3, 56,0, 52,4, 46,3, 45,5, 44,3, 43,2, 38,8, 38,3, 29,7, 29,1, 27,6, 26,9, 23,5 и 11,9.

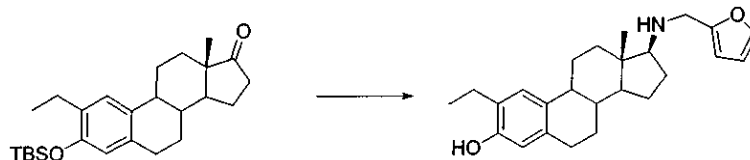
2-Метокси-17-(2-морфолин-4-илэтиламино)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 37.



К раствору 2-метокси-3-трет-бутилдиметилсиланоксиэстрона (315 мг, 0,76 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляют 4-(2-аминоэтил)морфолин (395 мг, 4 экв.) и через 10 мин триацетоксиборгидрид натрия (723 мг, 4,5 экв.) и уксусную кислоту (240 мкл). После перемешивания в течение 4 суток при комнатной температуре реакцию останавливают с помощью гидроксида натрия (4 мл, 1М водный раствор) и разбавляют реакционную смесь этилацетатом (50 мл). Стандартная водная обработка приводит к искомому амину в виде порошкообразного вещества белого цвета, для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 6,78 (1H, s, ArH), 6,54 (1H, s, ArH), 3,78 (3H, s, OMe), 3,66-3,76 (4H, m, 2×OCH₂), 1,20-2,88 (25H, m) 0,99 (9H, s, 'Bu), 0,76 (3H, s, 18-CH₃) и 0,16 (6H, s, SiMe₂). Затем защищенный трет-бутилдиметилсилильной группой аминостероид растворяют в тетрагидрофуране (20 мл) и обрабатывают тетрабутиламмонийфторидом (1,5 мл, 1М в тетрагидрофуране) и KF (10 мг), после чего перемешивают в течение 8 ч. После этого добавляют этилацетат (50 мл) и промывают получаемый таким образом раствор раствором гидрокарбоната натрия (50 мл, насыщенный), водой (50 мл) и соляным раствором (2×50 мл), высушивают его (Na_2SO_4) и выпаривают. Получаемое таким образом бледно-желтое маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ от 99:1 до 1:1), что приводит к искомому амину 37 в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества, которое затем растирают с диэтиловым эфиром/гексаном, что приводит к порошкообразному веществу бе-

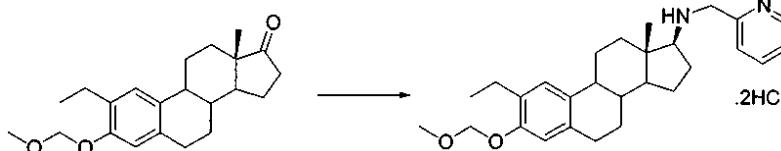
лого цвета, $t_{пл}$ 144-146°C, для которого получены следующие данные: δ_H (400 MHz, $CDCl_3$, стандарт TMS = 0) 6,75 (1H, s, ArH), 6,61 (1H, s, ArH), 3,84 (3H, s, OMe), 3,67-3,71 (4H, m, $2 \times OCH_2$), 2,72-2,86 (4H, m, $6-CH_2$ и CH_2N), 2,65 (1H, dd, J 9,0 и 8,2, CHN), 2,52 (2H, dd, J 6,3 и 6,3, CH_2N), 2,46-2,50 (4H, m, $2 \times CH_2N$), 1,20-2,26 (15H, m) и 0,76 (3H, s, $18-CH_3$), δ_C 144,5, 143,4, 131,3, 129,3 (все C), 114,6, 108,0 (оба CH), 69,2 (CH), 67,0, 57,9 (оба CH_2), 56,0 (CH_3), 53,7 (CH_2), 52,3 (CH), 45,0 (CH_2), 44,3 (CH), 43,2 (C), 38,8 (CH), 38,2, 29,4, 29,1, 27,6, 26,9, 23,5 (все CH_2) и 12,0 (CH_3).

2-Этил-17-[(фуран-2-илметил)амино]-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[a]фенантрен-3-ол 38.



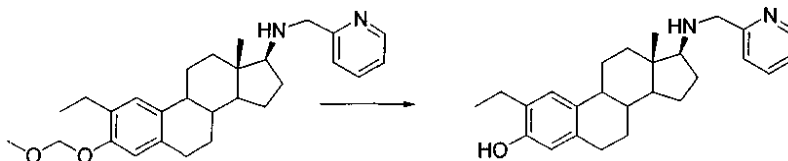
К раствору 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсилилэстрона (414 мг, 1 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляют фурфуриламин (354 мкл, 4 ммоль) и через 10 мин триацетоксиборгидрид натрия (954 мг, 4,5 ммоль) и уксусную кислоту (300 мкл). После перемешивания в течение 3 суток при комнатной температуре реакцию останавливают с помощью гидроксида натрия (4 мл, 1M водный раствор) и разбавляют реакционную смесь этилацетатом (50 мл). Стандартная водная обработка приводит к искомому амину в виде бледно-желтого маслянистого вещества. К раствору защищенного стероида в тетрагидрофуране добавляют тетрабутиламмонийфторид (1,5 мл) и фторид калия (10 мг). После перемешивания при комнатной температуре в течение 14 ч добавляют диэтиловый эфир (50 мл) и воду (50 мл). Затем отделяют органический слой, промывают его раствором гидрокарбоната натрия (25 мл), водой (25 мл) и соляным раствором (25 мл), после чего высушивают и выпаривают, что приводит к бледно-желтому маслянистому веществу (270 мг). После этого выделяют искомый продукт 38 с помощью колоночной хроматографии (0-3% метанол в хлороформе) в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества, для которого получены следующие данные: δ_H ($CDCl_3$, TMS = 0) 7,37 (1H, dd, J 1,8 & 0,8), 7,03 (1H, s, ArH), 6,49 (1H, s, ArH), 6,32 (1H, dd, J 3,2 & 1,8), 6,24 (1H, dd, J 3,2 & 0,8), 3,85-3,95 (2H, m, CH_2N), 2,76-2,84 (2H, m, $6-CH_2$), 2,67 (1H, dd, J 8,8 & 8,5, CHN), 2,60 (2H, q, J 7,6, CH_2Me), 2,27-2,35 (1H, m), 2,14-2,22 (1H, m), 1,26-2,07 (13H, m), 1,23 (3H, t, J 7,6, CH_2Me) и 0,81 (3H, s, $18-CH_3$).

Дигидрохлорид (2-этил-3-метоксиметокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[a]фенантрен-17-ил)пиридин-2-илметиламина 39.



Раствор 2-этил-3-О-метоксиметилэстрона (342 мг, 1 ммоль) и 2-(аминометил)пиридина (515 мкл, 5 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) перемешивают в течение 1 ч, а затем обрабатывают уксусной кислотой (300 мг) и триацетоксиборгидридом натрия (848 мг, 4 ммоль). После перемешивания в течение 3 суток добавляют гидроксид натрия (5 мл 2M водного раствора), а затем этилацетат (30 мл). После этого органический слой отделяют, промывают водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Получаемое таким образом желтое маслянистое вещество растворяют в тетрагидрофуране и обрабатывают раствором HCl в диэтиловом эфире (1 мл 2M раствора), после чего выпаривают растворитель под вакуумом и растирают получаемую после этого смолу с диэтиловым эфиром. Это приводит к продукту 39 в форме дигидрохлорида, имеющему вид порошкообразного вещества грязно-белого цвета, для которого получены следующие данные: δ_H (CD_3OD , TMS=0) (1H, кажуш. d, J 5,1), 8,38 (1H, кажуш. t, J 7,8), 8,06 (1H, кажуш. d, J 7,8), (1H, dd, J 7,8 & 5,1), 7,02 (1H, s, ArCH), 6,73 (1H, s, ArH), 5,14 (2H, s, OCH_2), 4,59 (2H, уш., CH_2N), 3,43 (3H, s, OMe), 2,78-2,86 (2H, m, $6-CH_2$), 2,59 (2H, q, J 7,4, CH_2Me), 1,30-2,41 (12H, m), 1,17 (3H, t, J 7,4, CH_2Me) и 1,01 (3H, s, $18-CH_3$).

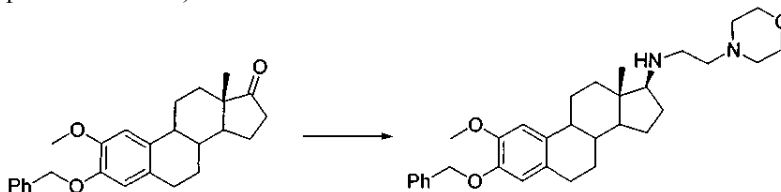
2-Этил-13-метил-17-[(пиридин-2-илметил)амино]-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[a]фенантрен-3-ол 40.



Получают метанольный раствор HCl по реакции хлорангидрида уксусной кислоты (957 мкл) с метанолом (2,5 мл) при температуре 0°C, а затем добавляют его к защищенному метоксиметильной группой эстрону MPL03139. После обработки ультразвуком в течение 2 мин. реакционную смесь выпаривают досуха. Гидрохлорид выпадает в осадок из раствора в диметилевоном эфире, но собрать его достаточно

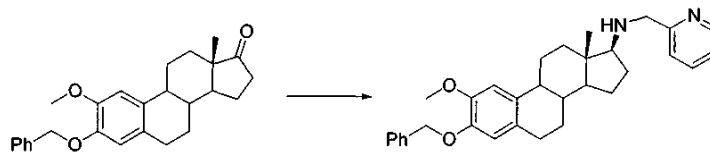
трудно вследствие гигроскопичности, поэтому соединение растворяют в этаноле, создают основную среду с помощью NaHCO_3 (насыщенный раствор), а затем экстрагируют этилацетатом. Органический слой промывают водой, затем соляным раствором, высушивают и выпаривают, что приводит к продукту 40 в виде бесцветного маслянистого вещества, для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3 , TMS = 0) 8,54-8,57 (1H, m), 7,65 (1H, ddd, J 7,8 7,8 & 1,9), 7,39 (1H, кажущ. d, J 7,8), 7,16 (1H, m), 7,03 (1H, s, ArH), 6,45 (1H, s, ArH), 3,97 (2H, s, NCH_2), 2,73-2,78 (2H, m, 6- CH_2), 2,67 (1H, dd, 9,0 & 8,6, CHN), 2,60 (2H, q, J 7,4 CH_2Me), 1,25-2,32 (13H, m), 1,22 (3H, t, J 7,4, CH_2Me) и 0,77 (3H, s, 18- CH_3).

(3-Бензилокси-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенан-трин-17-ил)(2-морфолин-4-илэтил)амин 41.



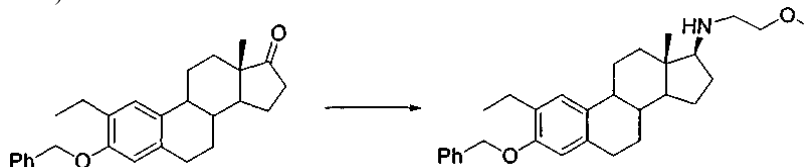
Раствор 2-метокси-3-О-бензилэстрона (390 мг, 1 ммоль) и 4-(2-этиламино)-морфолина (651 мг, 5 ммоль) в тетрагидрофуране (15 мл) перемешивают в течение 1 ч, а затем обрабатывают уксусной кислотой (300 мг) и триацетоксиборгидридом натрия (954 мг, 4,5 ммоль). После перемешивания в течение 5 суток добавляют гидроксид натрия (5 мл 2М водного раствора), а затем этилацетат (30 мл). После этого отделяют органический слой, промывают его водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Искомый продукт 41 имеет вид желтого маслянистого вещества, для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3 , TMS=0) 7,25-7,46 (5H, m), 6,84 (1H, s, ArH), 6,62 (1H, s, ArH), 5,10 (2H, s, PhCH_2O), 3,86 (3H, s, OMe), 3,68-3,74 (4H, m, 2 \times CH_2O), 1,20-2,80 (25H, m) и 0,75 (3H, s, 18- CH_3).

(3-Бензилокси-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенан-трин-17-ил)пиридин-2-илметиламин 42.



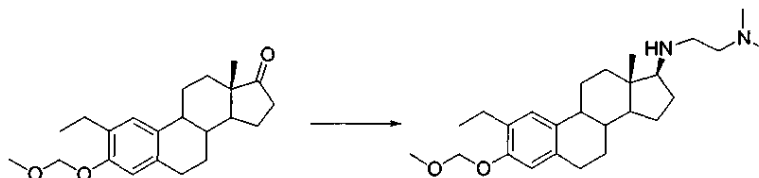
Раствор 2-метокси-3-О-бензилэстрона (390 мг, 1 ммоль) и 2-(аминометил)пиридина (515 мкл, 5 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл) перемешивают в течение 1 ч, а затем обрабатывают уксусной кислотой (300 мг) и триацетоксиборгидридом натрия (954 мг, 4,5 ммоль). После перемешивания в течение 6 суток добавляют гидроксид натрия (5 мл 2М водного раствора), а затем этилацетат (30 мл). После этого отделяют органический слой, промывают его водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Искомый амин 42 имеет вид желтого вещества, для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3 , TMS=0) 8,52 (1H, m), 7,62 (1H, ddd, J 7,8, 7,8 & 1,9) 7,24-7,46 (7H, m), 7,12-7,17 (1H, m), 6,84 (1H, s, ArH), 6,61 (1H, s, ArH), 5,10 (2H, s, PhCH_2O), 3,96 (2H, s, CH_2Ar) 3,86 (3H, s, OMe), 2,63-2,82 (3H, m, 6- CH_2 и CHN) 1,20-2,32 (13H, m) и 0,75 (3H, s, 18- CH_3).

(3-Бензилокси-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрин-17-ил)(2-метоксиэтил)амин 43.



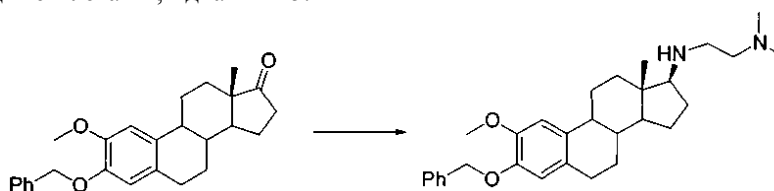
Раствор 2-этил-3-О-бензилэстрона (220 мг, 0,57 ммоль) и 2-метоксиэтиламина (197 мкл, 2,26 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) перемешивают в течение 1 ч, а затем обрабатывают уксусной кислотой (150 мг) и триацетоксиборгидридом натрия (540 мг, 2,55 ммоль). После перемешивания в течение 3 суток добавляют гидроксид натрия (5 мл 2М водного раствора), а затем этилацетат (30 мл). После этого отделяют органический слой, промывают его водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Искомый амин 43 имеет вид желтого вещества, для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3 , TMS=0) 7,27-7,44 (5H, t), 7,08 (1H, s, ArH), 6,61 (1H, s, ArH), 5,02 (2H, s, PhCH_2O), 3,47-3,51 (2H, m, OCH_2), 2,74-2,92 (4H, m, 6- CH_2 & CH_2N), 2,58-2,70 (3H, m, CHN & ArCH_2Me), 1,24-2,34 (14H, m), 1,21 (3H, t, J 7,6, CH_2Me) и 0,75 (3H, s, 18- CH_3).

N'-(2-Этил-3-метоксиметокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрин-17-ил)-N,N-диметилэтан-1,2-диамин 44.



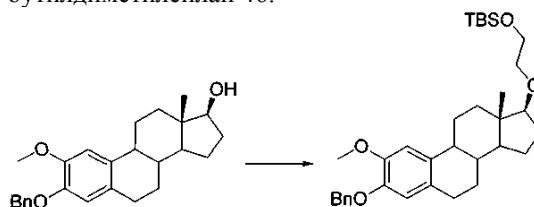
Раствор 2-этил-3-О-метоксиметилэстрона (342 мг, 1 ммоль) и N,N-диметилэтилендиамина (549 мкл, 5 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) перемешивают в течение 1 ч, а затем обрабатывают уксусной кислотой (300 мг) и триацетоксиборгидридом натрия (848 мг, 4 ммоль). После перемешивания в течение 3 суток добавляют гидроксид натрия (5 мл 2М водного раствора), а затем этилацетат (30 мл). После этого отделяют органический слой, промывают его водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Получаемое таким образом желтое маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (10% MeOH в CHCl₃), что приводит к искомому продукту 44, для которого получены следующие данные: δ_H (CDCl₃, TMS=0) 7,08 (1H, s, ArCH), 6,78 (1H, s, ArH), 5,17 (2H, s, OCH₂), 3,48 (3H, s, OMe), 2,24-2,86 (9H, m, 6-CH₂, ArCH₂ и 2×NCH₂ и NCH), 2,23 (6H, s, NMe₂), 1,20 (3H, t, J 7,6, CH₂Me) и 0,75 (3H, s, 18-CH₃).

N'-(3-Бензилокси-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)-N,N-диметилэтан-1,2-диамин 45.



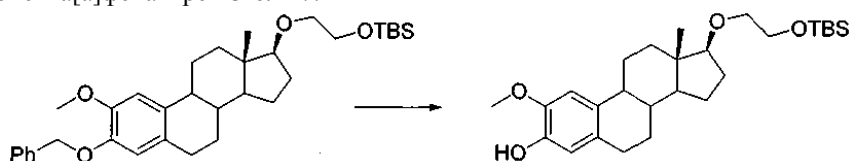
Раствор 2-метокси-3-О-бензилэстрона (390 мг, 1 ммоль) и N,N-диметилэтилендиамина (439 мкл, 4 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) перемешивают в течение 1 ч, а затем обрабатывают уксусной кислотой (300 мг) и триацетоксиборгидридом натрия (954 мг, 4,5 ммоль). После перемешивания в течение 3 суток добавляют гидроксид натрия (5 мл 2М водного раствора), а затем этилацетат (30 мл). После этого отделяют органический слой, промывают его водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Продукт 45, имеет вид желтого маслянистого вещества, для которого получены следующие данные: δ_H (CDCl₃, TMS=0), 7,28-7,46 (5H, m), 6,84 (1H, s, ArH), 6,61 (1H, s, ArH), 5,10 (2H, s, PhCH₂O), 3,86 (3H, s, OMe), 2,37-2,83 (7H, m, 6-CH₂, 2×NCH₂ и NCH), 2,22 (6H, s, NMe₂), 1,24-2,14 (14H, m) и 0,75 (3H, s, 18-CH₃).

[2-(3-Бензилокси-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-илокси)этокси]-трет-бутилдиметилсилан 46.



Раствор 3-О-бензил-2-метоксиэстрадиола (340 мг, 0,86 ммоль) в толуоле (8 мл) обрабатывают гидридом натрия (2 экв.), а затем нагревают в запаянной трубке до температуры 130°C в течение четверти часа, после чего охлаждают до комнатной температуры и обрабатывают 2-(трет-бутилдиметилсилилокси)этилбромидом (429 мкл, 2 ммоль), а затем снова нагревают в запаянной трубке до температуры 130°C в течение 16 ч. После стандартной водной обработки неочищенный материал очищают с помощью колоночной хроматографии, что приводит к искомому простому эфиру 46 в виде твердого вещества белого цвета (208 мг), для которого получены следующие данные: δ_H (400 MHz, CDCl₃, стандарт TMS = 0) 7,26-7,46 (5H, m, ArH), 6,85 (1H, s, ArH), 6,62 (1H, s, ArH), 5,11 (2H, s, OCH₂Ph), 3,87 (3H, s, OMe), 3,71-3,77 (2H, m, OCH₂), 3,39-3,69 (3H, m, OCH₂ и HCO), 2,72-2,82 (2H, m, 6-CH₂), 1,10-2,40 (13H, m), 0,91 (9H, s, tBu), 0,80 (3H, s, 18-CH₃) и 0,10 (6H, s, SiMe₂).

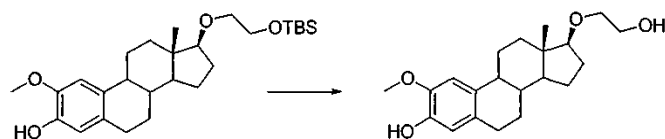
17-[2-(трет-Бутилдиметилсилилокси)этокси]-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 47.



Перемешанный и дегазированный раствор простого эфира 46 (200 мг, 0,36 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) обрабатывают 10% палладия на угле (20 мг) и оставляют в атмосфере водорода в течение

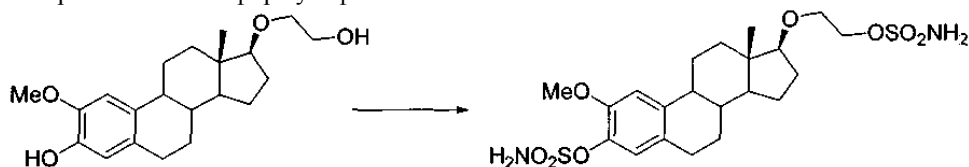
ночи. Затем реакционную смесь фильтруют через целит и выпаривают, что приводит к искомому фенолу 47 в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества. δ_{H} 6,80 (1H, s, ArH), 6,65 (1H, s, ArH), 5,55 (1H, s, OH), 3,87 (3H, s, OMe), 3,52-3,82 (4H, m, $2 \times \text{OCH}_2$), 3,42-3,48 (1H, m, 17-CH), 2,72-2,84 (2H, m, 6-CH₂), 1,20-2,36 (13H, m), 0,94 (9H, s, ^tBu), 0,89 (3H, s, 18-Me) и 0,12 (6H, s, SiMe₂).

17-[2-(Гидрокси)этокси]-2-метокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 48.



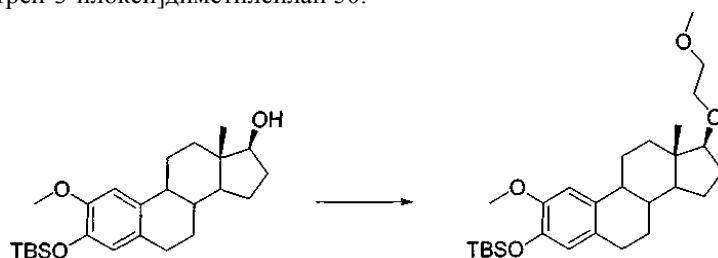
Раствор защищенного трет-бутилдиметилсилильной группой спирта 47 (110 мг, 0,24 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) обрабатывают тетрабутиламмоний-фторидом (250 мл, 0,25 ммоль). После перемешивания в течение ночи реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (25 мл), органическую фазу промывают водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Получаемое таким образом бледно-желтое маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (2% метанол в хлороформе), что приводит к искомому диолу 48 в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества (65 мг), для которого получены следующие данные: δ_{H} 6,78 (1H, s, ArH), 6,64 (1H, s, ArH), 5,51 (1H, s, OH), 3,86 (3H, s, OMe), 3,40-3,68 (5H, m, $2 \times \text{OCH}_2$ и CHOR), 2,72-2,82 (2H, m, 6-CH₂), 1,20-2,30 (14H, m) и 0,81 (3H, s, 18-Me); δ_{C} 144,6, 143,5, 131,7, 129,5, 114,6, 109,1, 89,4, 70,9, 62,1, 56,1, 50,2, 44,2, 38,6, 38,0, 28,9, 28,1, 27,2, 26,6, 23,0 и 11,7.

2-Метокси-13-метил-17-(2-сульфамойлоксиэтокси)-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-иловый эфир сульфаминовой кислоты 49.



Толуольный раствор хлорангидрида сульфаминовой кислоты (1 мл, 0,69 ммоль) выпаривают досуха, охлаждают до температуры 0°C, после чего обрабатывают сначала диметилацетамидом (1,5 мл), а затем диолом 48 (45 мг). После перемешивания в течение 3 ч при комнатной температуре реакционную смесь разбавляют этилацетатом (20 мл), затем обрабатывают водой (10 мл), отделяют органический слой, экстрагируют его соляным раствором (5×10 мл), высушивают и выпаривают, что приводит к желтому маслянистому веществу. Для очистки искомого бис-сульфамата 49 используют колоночную хроматографию (градиент от 5 до 10% метанола в хлороформе), что приводит к прозрачному бесцветному маслянистому веществу (21 мг), для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl₃, TMS = 0) 7,03 (1H, s, ArH), 6,90 (1H, s, ArH), 5,02 (4H, уш., $2 \times \text{NH}_2$), 4,37-4,42 (2H, m, CH₂OS), 3,87 (3H, s, OMe), 3,75-3,82 (2H, m, OCH₂), 3,48 (1H, dd, J 8,6 & 7,9, OCH), 2,74-2,85 (2H, m, 6-CH₂), 1,25-2,50 (H, m) и 0,79 (3H, s, 18-CH₃); m/z: 504,6.

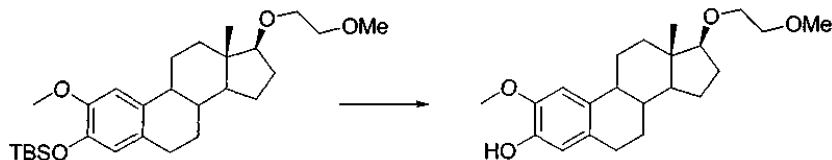
трет-Бутил[2-метокси-17-(2-метоксиэтокси)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-илокси]диметилсилан 50.



Толуольный (20 мл) раствор 2-метокси-3-О-трет-бутилдиметилсилил-эстрадиола (340 мг, 0,81 ммоль) обрабатывают гидридом натрия (98 мг, 2,45 ммоль), затем кипятят с обратным холодильником в течение 1 ч, после чего добавляют 2-метоксиэтилбромид (153 мкл, 1,62 ммоль). Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 14 ч, затем обрабатывают новыми аликвотами гидрида натрия (80 мг, 2 ммоль) и 2-метоксиэтилбромида (141 мкл, 1,5 ммоль), после чего кипятят с обратным холодильником еще в течение 8 ч и снова добавляют аликвоты основания и алкилбромида. После этого снова кипятят реакционную смесь с обратным холодильником в течение 14 ч, а затем охлаждают ее до комнатной температуры, разбавляют этилацетатом (30 мл) и обрабатывают насыщенным раствором хлорида аммония (20 мл). Затем органический слой отделяют, промывают водой (2×20 мл), соляным раствором, высушивают и выпаривают. После этого выделяют искомый простой эфир 50 с помощью колоночной хроматографии (элюент гексан/этилацетат 11:1), в виде белых игольчатых кристаллов $t_{\text{пл}}$ 98-100°C.

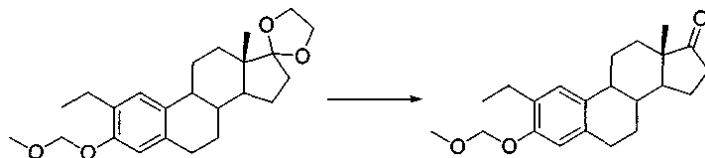
(276 мг, 71%), для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 6,76 (1H, s, ArH), 6,54 (1H, s, ArH), 3,77 (3H, s, OMe), 3,41-3,73 (7H, m), 3,40 (3H, s, OMe), 2,68-2,80 (2H, m, 6- CH_2), 1,16-2,27 (11H, m), 0,99 (9H, s, ^tBu), 0,82 (3H, s, 18- CH_3) и 0,15 (6H, s, SiMe_2) δ_{C} 148,6, 142,9, 133,2, 129,0, 121,0, 110,0, 89,6, 72,3, 69,5, 59,2, 50,4, 43,4, 38,5, 38,2, 29,7, 28,8, 28,2, 27,4, 26,6, 25,8, 23,0, 18,5, 11,7 и -4,6; m/z (ББА $^+$): 473,2.

2-Метокси-17-(2-метоксиэтокси)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол 51.



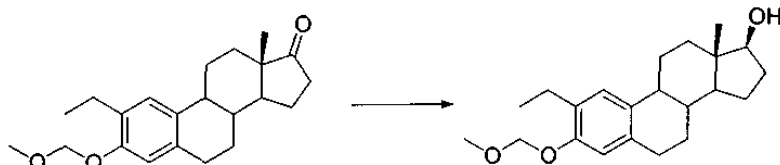
Раствор защищенного трет-бутилдиметилсилильной группой простого эфира 50 (232 мг) в тетрагидрофуране (10 мл) обрабатывают тетрабутиламмонийфторидом (0,5 мл, 1M раствор в тетрагидрофуране). После перемешивания в течение ночи проводят стандартную водную обработку и очищают искомый фенол 51 с помощью колоночной хроматографии (4:1 гексан/этилацетат), что приводит к твердому веществу белого цвета, для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 6,77 (1H, s, ArH), 6,63 (1H, s, ArH), 5,50 (1H, s, OH), 3,85 (3H, s, ArOMe), 3,41-3,72 (5H, m, 2 \times OCH $_2$ и CHOR), 3,40 (3H, s, OMe), 2,69-2,83 (6- CH_2), 1,16-2,26 (13H, m) и 0,81 (3H, s, 18-Me); δ_{C} 144,5, 143,4, 131,7, 129,5 (все C), 114,6, 108,1, 89,6 (все CH), 72,3, 69,5 (оба CH_2), 59,1 (CH), 56,0 (CH_3), 50,3, 44,2 (оба CH), 43,3 (C), 38,6 (CH), 38,1, 28,9, 28,1, 27,2, 26,7, 23,0 (все CH_2) и 11,6 (CH_3).

2-Этил-3-метоксиметокси-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-он 52.



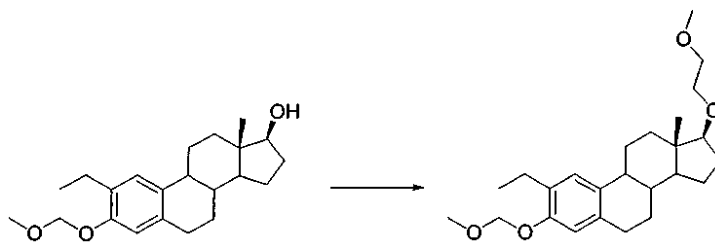
Раствор 2-этил-3-О-метоксиметил-17-(этилендиоксикеталь)эстрона (15 г) в ацетоне (200 мл) и воде (10 мл) обрабатывают толуолсульфонатом парапиридиния (333 мг), а затем кипятят с обратным холодильником в течение 14 ч. После этого выпаривают растворитель на ротационном испарителе, что приводит к твердому веществу белого цвета, которое затем перекристаллизовывают из этанола и воды, что приводит к искомому продукту 52 в виде твердого вещества белого цвета (5,6 г), для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 7,09 (1H, s, ArH), 6,81 (1H, s, ArH), 5,18 (2H, s, OCH $_2$), 3,49 (3H, s, OMe), 2,84-2,92 (2H, m, 6- CH_2), 2,61 (2H, q, J 7,4, CH_2Me), 1,38-2,56 (13H, m), 1,19 (3H, t, J 7,4, CH_2Me) и 0,91 (3H, s, 18- CH_3); δ_{C} 220,1, 152,8, 134,8, 132,6, 130,6, 126,2, 114,0, 94,3, 56,0, 50,4, 48,1, 44,1, 38,4, 36,0, 31,7, 29,6, 26,7, 26,0, 23,6, 21,7, 14,9 и 14,0.

2-Этил-3-метоксиметокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ол 53.



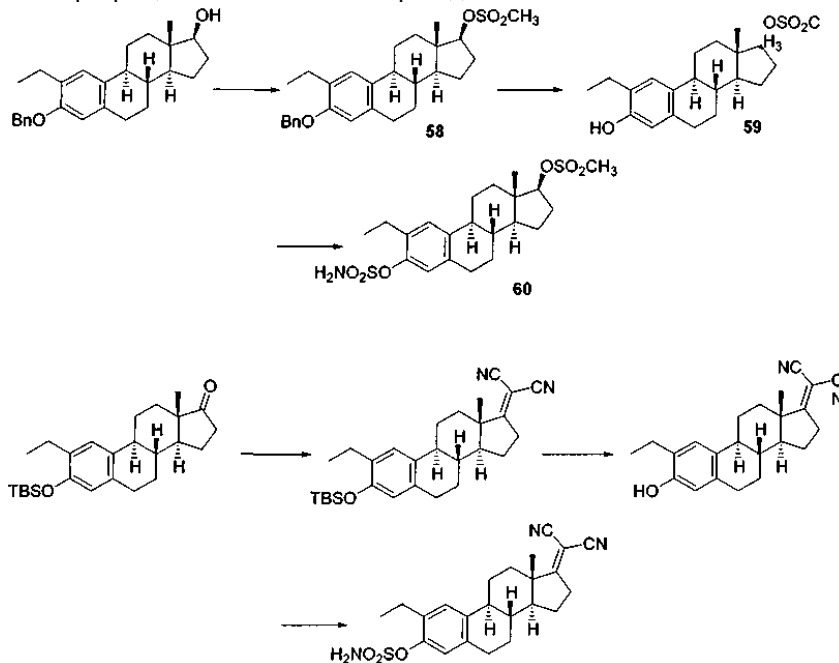
К перемешиваемому при комнатной температуре раствору 2-этил-3-О-метоксиметилэстрона 52 (743 мг, 2,18 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) и метаноле (40 мл) добавляют боргидрид натрия (76 мг, 2 ммоль). По прошествии часа реакцию останавливают, добавляя хлорид аммония (2 мл насыщенного раствора), разбавляют реакционную смесь этилацетатом (50 мл) и водой (25 мл), отделяют органический слой, промывают его водой и соляным раствором, высушивают и выпаривают. Очистка с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат с градиентом) приводит к искомому спирту 53 в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества (650 мг), для которого получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 7,09 (1H, s, ArH), 6,78 (1H, s, ArH), 5,17 (2H, s, OCH $_2$), 3,69-3,78 (1H, m, CHOH), 3,48 (3H, s, OMe), 2,78-2,86 (2H, m, 6- CH_2), 2,61 (2H, q, J 7,4, CH_2Me), 1,24-2,38 (13H, m), 1,19 (3H, t, J 7,4, CH_2Me) и 0,77 (3H, s, 18- CH_3).

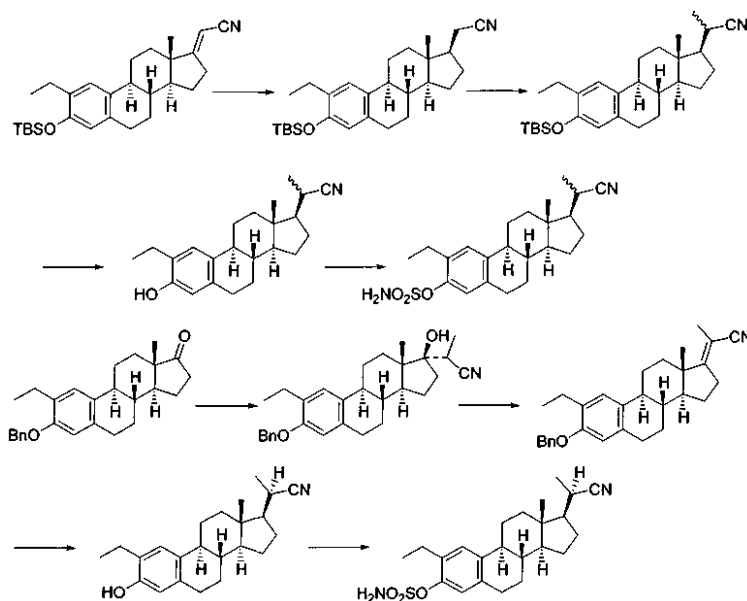
2-Этил-17-(2-метоксиэтокси)-3-метоксиметокси-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен 54.



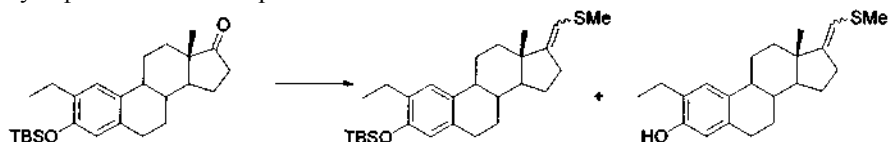
Толуольный (10 мл) раствор 2-этил-3-О-метоксиметилэстрадиола 53 (170 мг, 0,5 ммоль) обрабатывают гидридом натрия (80 мг, 2 ммоль), затем кипятят с обратным холодильником в течение получаса, после чего добавляют 2-метоксиэтилбромид (141 мкл, 1,5 ммоль). Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 14 ч, затем обрабатывают новыми аликвотами гидрида натрия (80 мг, 2 ммоль) и 2-метоксиэтилбромида (141 мкл, 1,5 ммоль), после чего кипятят с обратным холодильником еще в течение 8 ч. После этого исходное вещество расходуется полностью. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, разбавляют этилацетатом (30 мл), а затем обрабатывают насыщенным раствором хлорида аммония (20 мл). После этого органический слой отделяют, промывают водой (2×20 мл), соляным раствором, высушивают и выпаривают. Искомый простой эфир 54 в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества (128 мг, 32%) выделяют с помощью колоночной хроматографии (градиент от 0 до 20% этилацетата в гексане). Для него получены следующие данные: δ_{H} (400 MHz, CDCl_3 , стандарт TMS = 0) 7,08 (1H, s, ArH), 6,78 (1H, s, ArH), 5,17 (2H, s, OCH_2), 3,67-3,74 (1H, m), 3,52-3,56 (2H, m), 3,48 (3H, s, OMe), 3,43 (1H, dd, J 8,6 и 8,2, CHO), 3,40 (3H, s, OMe), 2,78-2,86 (2H, m, 6- CH_2), 2,63 (2H, q, J 7,4, CH_2Me), 2,37-2,44 (1H, m), 2,14-2,22 (1H, m), 2,01-2,11 (2H, m), 1,83-1,90 (1H, m), 1,23-1,72 (8H, m), 1,19 (3H, t, J 7,4, CH_2Me) и 0,81 (3H, s, 18- CH_3) δ_{C} 152,6, 135,0, 133,2, 130,3, 126,1, 114,0, 94,3, 89,6, 72,3, 69,6, 59,2, 56,0, 50,4, 44,1, 43,5, 38,7, 38,3, 29,7, 28,3, 27,4, 26,6, 23,6, 23,2, 15,0 и 11,7.

Осуществляют превращения согласно нижеприведенным схемам





(Е- и Z-)-2-Этил-3-О-трет-бутилдиметилсилил-17-метилсульфанилметилэстрон А и (Е- и Z-)-2-этил-17-метилсульфанилметилэстрон Б.

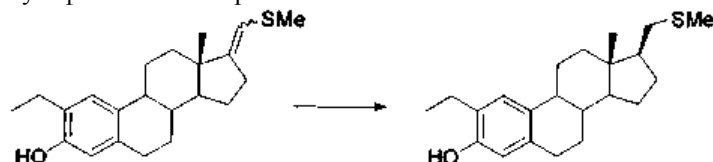


Гидрид натрия (120 мг, 3 ммоль) промывают тремя аликватами гексана (каждая по 1 мл), высушивают в атмосфере азота, а затем обрабатывают тетрагидрофураном (5 мл). После этого добавляют к суспензии диэтил(метилтиометил)фосфонат (526 мкл, 3 ммоль), что приводит к бурному выделению газа, после чего образуется прозрачный бесцветный раствор. Затем реакционную смесь обрабатывают раствором 2-этил-3-трет-бутилдиметилсиланоксиэстрона (412 мг, 1 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) и кипятят с обратным холодильником в течение 48 ч. После этого разбавляют охлажденную реакционную смесь этилацетатом (30 мл), выливают ее в воду (20 мл) и отделяют водный слой. Органический слой промывают водой (3×35 мл) и соляным раствором (50 мл), затем высушивают и выпаривают. Получаемое таким образом маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (5% этилацетат/гексан), после которой в первой фракции получают смесь изомеров искомого защищенного трет-бутилдиметилсилильной группой алкена А (первая фракция) в виде бесцветного маслянистого вещества (196 мг, 43%), а во второй фракции бесцветное маслянистое вещество, оказывающееся десилилированными алкенами Б (150 мг, 44%).

Фракция 1: δ_{H} (CDCl_3) 7,05 (1H, s, ArH), 6,54, 6,47 (1H, s, ArH, оба изомера), 5,48-5,55 (1H, m, :CHSMe, оба изомера), 2,75 (2H, m, 6-CH₂), 2,56 (2H, q, J 7,4, CH₂Me), 2,26, 2,21 (3H, s, SMe для обоих изомеров), 1,19 (3H, t, J 7,4, CH₂Me), 1,00 (9H, s, tBu), 0,92, 0,81 (3H, s, 18-CH₃), и 0,21 (6H, s, SiMe₂); m/z (ББА⁺): найдено: 456,28822, рассчитано для C₂₈H₄₄SO₂Si 456,28821.

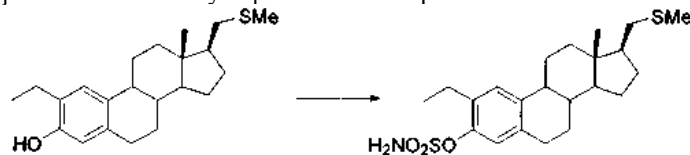
Фракция 2: δ_{H} (CDCl_3) 7,04 (1H, s, ArH), 6,48 (1H, s, ArH), 5,51 (t, 1,9, :CHSMe), 5,49 (t, 2,3, :CHSMe), 4,43-4,46 (1H, m, OH), 2,72-2,88 (2H, m, 6-CH₂), 2,59 (2H, q, J 7,4, CH₂Me), 2,27 и 2,22 (3H, 2×s, SMe для обоих изомеров), 1,22 (3H, t, J 7,4, CH₂Me), 0,93 и 0,81 (3H, s, 18-CH₃ для обоих изомеров); m/z (ББА⁺): найдено: 342,20174, рассчитано для C₂₂H₃₀SO 342,20173.

2-Этил-17-метилсульфанилметилэстрон В.



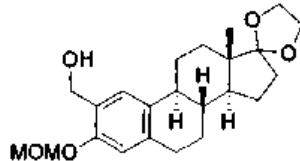
Растворяют (Е- и Z-)-2-этил-17-метилсульфанилметилэстрон Б (150 мг) в тетрагидрофуране (1 мл) и этанол (10 мл), а затем обрабатывают палладием на угле (25 мг, 5%), дегазируют и перемешивают в атмосфере водорода в течение 16 ч. После этого фильтруют реакционную смесь сквозь слой целита и выпаривают. Искомый восстановленный продукт В выделяют с помощью колоночной хроматографии в виде бесцветного маслянистого вещества (85 мг), для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3) 7,04 (1H, s, ArH), 6,48 (1H, s, ArH), 4,48 (1H, s, OH), 2,74-2,84 (2H, m, 6-CH₂), 2,58 (2H, q, J 7,4, CH₂Me), 2,11 (3H, s, SMe), 1,21 (3H, t, J 7,4, CH₂Me) и 0,65 (3H, s, 18-CH₃).

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-метилсульфанилметилэстрон Г.



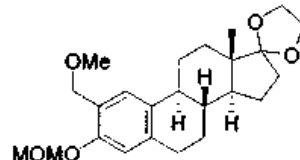
Хлорангидрид сульфаминовой кислоты (1,5 мл 0,56М раствора) выпаривают досуха, а затем растворяют в диметилацетамиде (1,5 мл) при температуре 0°C, после чего добавляют к 2-этил-13-метил-17-метилсульфанилметилэстрону В (80 мг). Перемешиваемой реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры в течение 14 ч. После этого добавляют этилацетат (10 мл) и промывают раствор водой (3×10 мл) и соляным раствором (10 мл), высушивают (Na₂SO₄) и выпаривают досуха. Неочищенный продукт очищают с помощью колоночной хроматографии (0-7,5% этилацетат в хлороформе), что приводит к искомому сульфамату Г в виде пены белого цвета (65 мг), для которой получены следующие данные: δ_H (CDCl₃) 7,18 (1H, s, ArH), 7,06 (1H, s, ArH), 4,90 (2H, уш., NH₂), 2,78-2,88 (2H, m, 6-CH₂), 2,68 (2H, q, J 7,4, CH₂Me), 2,11 (3H, s, SMe), 1,21 (3H, t, J 7,4, CH₂Me) и 0,66 (3H, s, 18-CH₃).

2-Гидроксиметил-3-О-метоксиметил-17-этилендиоксиэстрон.



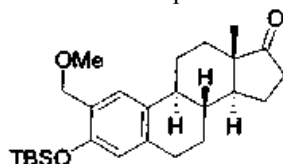
Раствор 2-формил-3-О-метоксиметил-17-этилендиоксиэстрона (2,00 г, 5,18 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) и метаноле (20 мл) обрабатывают боргидридом натрия (189 мг, 5 ммоль). По прошествии 10 мин исходное вещество полностью расходуется, а избыток боргидрида разлагают посредством добавления хлорида аммония. Реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (50 мл), промывают водой (2×25 мл), соляным раствором (25 мл), высушивают и выпаривают, что приводит к 2-гидроксиметил-3-О-метоксиметил-17-этилендиоксиэстрону (1,98 г) в виде пены белого цвета. δ_H (CDCl₃) 7,23 (1H, s, ArH), 6,82 (1H, s, ArH), 5,20 (2H, s, OCH₂), 4,64-4,70 (2H, m, ArCH₂O), 3,88-4,00 (4H, m, OCH₂CH₂O), 3,49 (3H, s, OCH₃), 2,82-2,88 (2H, m, 6-CH₂), 1,30-2,40 (14H, m) и 0,88 (3H, s, 18-CH₃); δ_C 152,9, 137,7, 133,9, 127,2, 126,2, 119,3, 114,5, 94,6, 65,2, 64,5, 61,9, 56,1, 49,3, 46,1, 43,6, 38,9, 34,2, 30,6, 29,7, 26,9, 26,0, 22,3 и 14,3; m/z (ионизация распылением в электрическом поле, положительные ионы (ИРЭП⁺)) 411,2 (100%, M⁺ + Na).

2-Метоксиметил-3-О-метоксиметил-17-этилендиоксиэстрон.



К перемешиваемому раствору 2-гидроксиметил-3-О-метоксиметил-17-этилендиоксиэстрона (1,98 г, 5,10 ммоль) в тетрагидрофуране (25 мл) добавляют при комнатной температуре гидрид натрия (306 мг) и по прошествии получаса йодистый метан. Реакционную смесь перемешивают в течение ночи, а затем проводят стандартную водную обработку. Хроматографическая очистка (гексан/этилацетат) приводит к искомому продукту в виде бесцветного маслянистого вещества (1 г) совместно с заново выделенным исходным веществом (600 мг). Для образующегося 2-метоксиметил-3-О-метоксиметил-17-этилендиоксиэстрона получены следующие данные: δ_H (CDCl₃) 7,26 (1H, s, ArH), 6,80 (1H, s, ArH), 5,16 (2H, s, OCH₂), 4,43-4,50 (2H, m, ArCH₂O), 3,86-3,98 (4H, m, OCH₂CH₂O), 3,46 (3H, s, OCH₃), 3,39 (3H, s, OMe), 2,80-2,86 (2H, m, 6-CH₂), 1,26-2,40 (13H, m) и 0,86 (3H, s, 18-CH₃); δ_C 152,6, 137,4, 133,6, 126,4, 124,4, 119,3, 114,3, 94,4, 69,5, 65,2, 64,5, 58,1, 55,9, 49,3, 46,1, 43,6, 38,9, 34,2, 30,6, 29,6, 26,9, 26,1, 22,3 и 14,3; m/z (ИРЭП⁺) 425,3 (100%, M⁺ + Na); МСВР (ББА⁺): 402,24063.

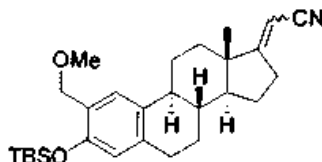
2-Метоксиметил 3-О-трет-бутилдиметилсилилэстрон.



Обрабатывают 2-метоксиметил-3-О-метоксиметил-17-этилендиоксиэстрон (1 г) в тетрагидрофуране (10 мл) раствором HCl в метаноле (10 мл, 4М) в течение четверти часа, затем проводят стандартную водную обработку, после чего растворяют продукт в N,N-диметилформамиде (10 мл) и обрабатывают его имидазолом (425 мг) и трет-бутилдиметилсилилхлоридом (453 мг). По прошествии 14 ч реакционную

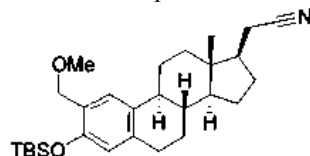
смесь экстрагируют этилацетатом (25 мл), затем промывают водой (5×20 мл) и соляным раствором (20 мл), высушивают и выпаривают. Очистка с помощью колоночной хроматографии (0-15% этилацетат в гексане) приводит к искомому продукту в виде твердого вещества белого цвета (360 мг), для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3) 7,25 (1H, s, ArH), 6,51 (1H, s, ArH), 4,43 (1H, d, J 11,7, ArCH_a), 4,40 (1H, d, J 11,7, ArCH_b), 3,39 (3H, s, OCH_3), 2,82-2,88 (2H, m, 6- CH_2), 2,42-2,54 (2H, m), 1,92-2,29 (δ_{H} , m), 1,36-1,68 (6H, m), 1,01 (9H, s, t-Bu), 0,91 (3H, s, 18- CH_3) и 0,22 (6H, s, SiMe_2); δ_{C} 221,1, 151,3, 136,7, 132,3, 126,4, 126,1, 118,6, 69,8, 58,2, 50,4, 48,0, 44,0, 38,3, 35,9, 31,5, 29,4, 26,6, 25,9, 25,7, 21,6, 18,2, 13,8 и -4,3.

2-Метоксиметил-3-O-TBS-17-цианометилэстрон.



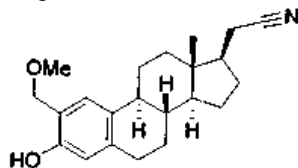
Обрабатывают диэтил(цианометил)фосфонат (506 мкл, 3 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) гидридом натрия (124 мг), а затем после прекращения выделения газа 2-метоксиметил-3-O-трет-бутилдиметилсилилэстроном (320 мг) в тетрагидрофуране (5 мл). После этого реакционную смесь нагревают до температуры 70°C в течение полутора часов, а затем проводят завершающую обработку. После хроматографической очистки продукта (7:1 гексан/этилацетат) получают смесь изомеров (240 мг) в соотношении 1:1 в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества, для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3) 7,24 & 7,25 (1H, 2×s, ArH), 6,51 & 6,50 (1H, 2×s, ArH), 5,13 (dd, J 2,3 и 2,0 :CHCN) & 5,05 (dd, J 2,5 и 2,3) (1H, 2×dd, :CHCN оба изомера), 4,43 (1H, d, J 12,8, OCH_a), 4,40 (1H, d, J 12,8, OCH_b), 3,39 & 3,39 (3H, 2×s, OCH_3), 0,99 и 0,88 (3H, 2×s, 18- CH_3 , оба изомера).

2-Метоксиметил-3-O-TBS-17-β-цианометилэстрон.



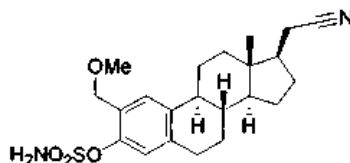
Гидрируют 2-метоксиметил-3-O-TBS-17-цианометилэстрон (220 мг) в тетрагидрофуране (1 мл) и этанол (5 мл) в присутствии палладия на угле (200 мг, 5%) в течение 14 ч. После этого реакционную смесь фильтруют сквозь целит и выпаривают, что приводит к искомому продукту, 2-метоксиметил-3-O-TBS-17-β-цианометилэстронон, в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества (200 мг), для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3) 7,23 (1H, s, ArH), 6,50 (1H, s, ArH), 4,42 (1H, d, J 11,8, ArCH_a), 4,41 (1H, d, J 11,8, ArCH_b), 3,39 (3H, s, OCH_3), 2,72-2,86 (2H, m, 6- CH_2), 1,15-2,46 (16H, m), 1,01 (9H, s, t-Bu), 0,67 (3H, s, 18- CH_3) и 0,21 (6H, s, SiMe_2); δ_{C} 151,20, 136,9, 132,7, 126,4, 125,9, 119,8, 118,6, 69,8, 58,2, 54,4, 46,8, 44,0, 42,7, 38,8, 37,3, 28,6, 28,4, 27,8, 26,3, 25,7, 24,0, 18,2, 17,6, 12,3 и -4,1.

2-Метоксиметил-17-β-цианометилэстрон.



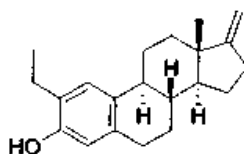
Обрабатывают 2-метоксиметил-3-O-TBS-17-β-цианометилэстрон (200 мг) в тетрагидрофуране (5 мл) тетрабутиламмонийфторидом (1 мл, 1M раствор в тетрагидрофуране). По прошествии получаса проводят завершающую обработку реакционной смеси. Хроматографическая очистка (гексан/диэтиловый эфир) приводит к искомому продукту, 2-метоксиметил-17-β-цианометилэстронон, в виде кристаллического твердого вещества (120 мг), для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3) 7,22 (1H, s, ArH), 6,91 (1H, s, ArH), 6,62 (1H, s, OH), 4,64 (1H, d, J 12,5, ArCH_a), 4,59 (1H, d, J 12,5, ArCH_b), 3,43 (3H, s, OCH_3), 2,78-2,86 (2H, m, 6- CH_2), 1,24-2,42 (15H, m) и 0,67 (3H, s, 18- CH_3); δ_{C} 153,8, 138,0, 131,5, 125,0, 119,8, 119,4, 116,3, 74,1, 58,1, 54,3, 46,7, 43,6, 42,5, 38,7, 37,3, 29,3, 28,2, 27,6, 26,2, 25,6, 23,9, 17,6 и 12,2; m/z (химическая ионизация при атмосферном давлении, отрицательные ионы (ХИАД)): 338,3 (100%, (M-H)).

2-Метоксиметил-3-O-сульфамойл-17-β-цианометилэстрон.



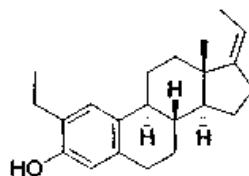
Хлорангидрид сульфаминовой кислоты (1,7 ммоль) охлаждают до температуры 0°C, растворяют в диметилацетамиде (1,5 мл) и по прошествии 5 мин обрабатывают 2-метоксиметил-17-β-цианометилэстроном (60 мг). Через 15 мин снимают внешнее охлаждение и оставляют реакционную смесь перемешиваться при температуре окружающей среды в течение 3 ч. Затем разбавляют реакционную смесь этилацетатом (15 мл), выливают в соляной раствор (15 мл) и отделяют органический слой. После этого промывают органический экстракт водой (3×15 мл) и соляным раствором (15 мл), высушивают его и выпаривают. Хроматографическая очистка (0-5% MeOH в хлористом метиле) приводит к продукту, 2-метоксиметил-3-О-сульфамойл-17-β-цианометилэстроу, в виде бесцветного маслянистого вещества (65 мг). Кристаллизация из хлороформа/гексана приводит к кристаллическому веществу белого цвета, для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl₃) 7,29 (1H, s, ArH), 7,17 (1H, s, ArH), 5,55 (2H, s, NH₂), 4,48 (2H, s, OCH₂), 3,44 (3H, s, OCH₃), 2,86-2,92 (2H, m, 6-CH₂), 1,26-2,42 (15H, m) и 0,69 (3H, s, 18-CH₃); δ_{C} 147,3, 139,4, 139,3, 128,5, 126,8, 122,7, 119,6, 70,6, 58,3, 54,3, 46,6, 43,9, 42,6, 38,2, 37,3, 29,2, 28,2, 27,2, 26,1, 23,9, 17,6 и 12,2; m/z (ХИАД) 417,3 (100%, (M-H)⁻).

2-Этил-17-метиленэстрон.



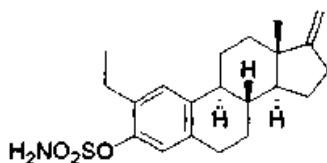
Обрабатывают метилтрифенилфосфониййодид (10 ммоль) в диметилсульфоксиде (15 мл) гидридом натрия (400 мг). По прошествии получаса добавляют к получаемому таким образом желтому илиду 2-этилэстрон (600 мг) в диметилсульфоксиде (15 мл) и нагревают реакционную смесь до температуры 60°C в течение 16 ч. После этого реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, выливают в ледяную воду (50 мл), экстрагируют диэтиловым эфиром (3×50 мл), промывают объединенные органические экстракты водой (3×50 мл), высушивают их и выпаривают. Хроматографическая очистка (10% диэтиловый эфир в гексане) приводит к искомому продукту, 2-этил-17-метиленэстроу, в виде пены белого цвета (390 мг), для которой получены следующие данные: δ_{H} (CDCl₃) 7,05 (1H, s, ArH), 6,47 (1H, s, ArH), 4,65-4,68 (2H, m, :CH₂), 4,53 (1H, s, OH), 2,72-2,87 (2H, m, 6-CH₂), 2,59 (2H, q, J 7,4, CH₂Me), 1,25-2,56 (13H, m), 1,22 (3H, t, J 7,4, CH₂Me) и 0,81 (3H, s, 18-CH₃); δ_{C} 161,6, 150,9, 135,4, 132,6, 127,0, 126,2, 115,1, 100,7, 53,5, 44,4, 44,1, 38,9, 35,8, 29,5, 29,4, 27,7, 26,8, 24,0, 23,1, 18,7 и 14,6; МСВР (ББА⁺): 296,21402.

2-Этил-17-этилиденэстрон.



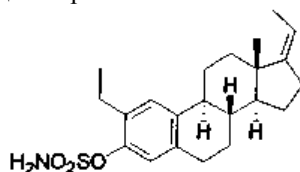
Этилтрифенилфосфониййодид (10 ммоль) в диметилсульфоксиде (15 мл) обрабатывают гидридом натрия (400 мг). По прошествии получаса к получаемому таким образом желтому илиду добавляют 2-этилэстрон (600 мг) в диметилсульфоксиде (15 мл) и нагревают реакционную смесь до температуры 60°C в течение 16 ч. После этого реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, выливают в ледяную воду (50 мл), экстрагируют диэтиловым эфиром (3×50 мл), промывают объединенные органические экстракты водой (3×50 мл), высушивают их и выпаривают. Хроматографическая очистка (10% диэтиловый эфир в гексане) приводит к искомому продукту, цис-2-этил-17-этилиденэстроу, в виде пены белого цвета (460 мг), для которой получены следующие данные: δ_{H} (CDCl₃) 7,03 (1H, s, ArH), 6,47 (1H, s, ArH), 5,14 (1H, qdd, J 7,0, 2,0, :CHMe), 4,45 (1H, s, OH), 2,72-2,88 (2H, m, 6-CH₂), 2,59 (2H, q, J 7,4, CH₂Me), 2,14-2,46 (5H, m), 1,87-1,95 (1H, m), 1,70-1,78 (1H, m), 1,69 (3H, ddd, J 7,0, 2,0, 2,0, MeHC:), 1,25-1,62 (6H, m), 1,22 (3H, t, J 7,4, CH₂Me) и 0,91 (3H, s, 18-CH₃); δ_{C} 150,8, 150,1, 135,4, 132,7, 126,9, 126,1, 115,1, 113,3, 55,2, 44,6, 43,9, 38,5, 37,3, 31,5, 29,4, 27,7, 27,1, 24,3, 23,1, 17,1, 14,7 и 13,3; МСВР (ББА⁺): 310,22967.

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-метиленэстрон.



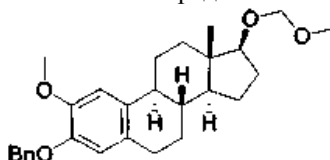
К раствору 2-этил-17-метиленэстрона (231 мг) в хлористом метиле (5 мл) добавляют 2,6-ди-трет-бутил-4-метилпиридин (320 мг) и хлорангидрид сульфаминовой кислоты (1,56 ммоль). После перемешивания в течение 14 ч при комнатной температуре реакционную смесь разбавляют этилацетатом (20 мл), затем промывают водой (3×20 мл) и соляным раствором (20 мл), высушивают и выпаривают. Очистка с помощью колоночной хроматографии приводит к искомому продукту, 2-этил-3-О-сульфамойл-17-метиленэстрону, в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества (200 мг), которое затвердевает при стоянии и для которого получены следующие результаты: δ_{H} (CDCl_3) 7,19 (1H, s, ArH), 7,09 (1H, s, ArH), 5,06-5,14 (2H, уш., NH_2), 4,56-4,60 (2H, m, $-\text{CH}_2-$), 2,82-2,87 (2H, m, 6- CH_2), 2,69 (2H, q, J 7,4, CH_2Me), 1,32-2,60 (13H, m), 1,22 (3H, t, J 7,4, CH_2Me) и 0,82 (3H, s, 18- CH_3); δ_{C} 161,3, 145,9, 139,5, 135,8, 126,8 (все C), 126,8, 121,3 (оба CH), 100,9 ($-\text{CH}_2-$), 53,5 (CH), 44,3 (C), 44,3, 38,4 (оба CH), 35,7, 29,5, 29,3, 27,5, 26,5, 24,0, 23,1 (все CH_2), 18,6 и 14,7 (оба CH_3); МСВР (ББА^+): 375,18681.

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-этилиденэстрон.



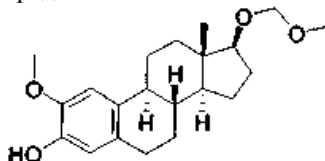
К раствору 2-этил-17-этилиденэстрона (329 мг) в хлористом метиле (5 мл) добавляют 2,6-ди-трет-бутил-4-метилпиридин (435 мг) и хлорангидрид сульфаминовой кислоты (2,12 ммоль). После перемешивания в течение 14 ч при комнатной температуре реакционную смесь разбавляют этилацетатом (20 мл), затем промывают водой (3×20 мл) и соляным раствором (20 мл), высушивают и выпаривают. Очистка с помощью колоночной хроматографии приводит к искомому продукту, цис-2-этил-3-О-сульфамойл-17-этилиденэстрону, в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества, которое затвердевает при стоянии и для которого получены следующие результаты: δ_{H} (CDCl_3) 7,17 (1H, s, ArH), 7,04 (1H, s, ArH), 5,15 (1H, qdd, J 7,0, 2,0, 2,0, $-\text{CHMe}$), 5,09 (2H, s, NH_2), 2,80-2,86 (2H, m, 6- CH_2), 2,69 (2H, q, J 7,4, CH_2Me), 2,18-2,46 (5H, m), 1,89-1,96 (1H, m), 1,70-1,78 (1H, m), 1,69 (3H, ddd, J 7,0, 2,0, 2,0, MeHC), 1,23-1,63 (6H, m), 1,21 (3H, t, J 7,4, CH_2Me) и 0,90 (3H, s, 18- CH_3); δ_{C} 149,8, 145,9, 139,5, 135,8, 133,4 (все C), 126,8, 121,2, 113,4, 55,4 (все CH), 44,5 (C), 44,1, 38,0 (оба CH), 37,2, 31,5, 29,3, 27,4, 26,9, 24,2, 23,1 (все CH_2), 17,0, 14,7 и 13,3; МСВР (ББА^+): 389,20246.

2-Метокси-3-бензилокси-17-О-метоксиметилэстрадиол.



Обрабатывают раствор 2-метокси-3-бензилоксиэстрадиола (800 мг) в N,N-диметилформамиде (10 мл) гидридом натрия (120 мг) и по прошествии четверти часа метил(хлорметил)овым эфиром (266 мкл). Реакционную смесь перемешивают в течение 14 ч при комнатной температуре, а затем проводят стандартную водную обработку. Хроматографическая очистка (6:1 гексан/этилацетат) приводит к искомому продукту в виде прозрачного бесцветного маслянистого вещества (590 мг), затвердевающего при стоянии, $t_{\text{пл}}$ 87-88°C, для которого получены следующие данные: δ_{H} (CDCl_3) 7,24-7,45 (5H, m), 6,85 (1H, s, ArH), 6,62 (1H, s, ArH), 5,10 (2H, s, OCH_2), 4,66 (2H, s, OCH_2), 3,86 (3H, s, OMe), 3,62 (1H, dd, J 8,4, 8,2, 17- αH), 3,37 (3H, s, OCH_3), 2,70-2,80 (2H, m, 6- CH_2), 1,20-2,32 (13H, m), и 0,82 (3H, s, 18- CH_3); m/z (ББА^+): 436,1 (100%, $\text{M}^+ + \text{H}$); МСВР (ББА^+): 436,26136.

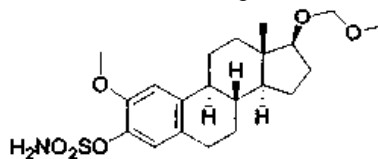
2-Метокси-17-О-метоксиметилэстрадиол.



Раствор 2-метокси-3-бензилокси-17-О-метоксиметилэстрадиола (500 мг) в тетрагидрофуране (2 мл) и этаноле (10 мл) гидрируют (1 атм.) в течение 16 ч в присутствии палладия на угле (50 мг, 5%). Реакционную смесь обрабатывают посредством фильтрования сквозь целит и выпаривания, что приводит к искомому продукту в виде твердого вещества белого цвета (500 мг). Белые кристаллы получают перекри-

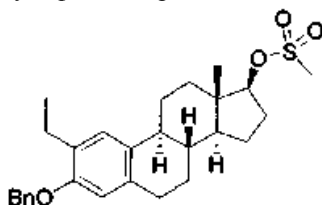
сталлизацией из диэтилового эфира/гексана. δ_{H} (CDCl_3) 6,78 (1H, s, ArH), 6,63 (1H, s, ArH), 4,65 (2H, s, OCH_2), 3,86 (3H, s, OMe), 3,56-64 (1H, m, 17- α H), 3,37 (3H, s, OCH_3) 2,72-2,80 (2H, m, 6- CH_2), 1,15-2,30 (13H, m), и 0,82 (3H, s, 18- CH_3).

2-Метокси-3-О-сульфамойл-17-О-метоксиметилэстрадиол.



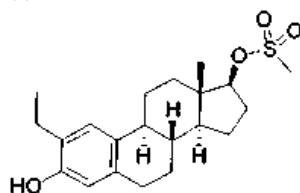
Раствор хлорангидрида сульфаминовой кислоты (1,7 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) обрабатывают при температуре 0°C 2-метокси-17-О-метоксиметилэстрадиолом (170 мг). По прошествии 3 ч реакционную смесь обрабатывают посредством разбавления этилацетатом (15 мл), последующего промывания водой (4×15 мл) и соляным раствором (15 мл), высушивания и выпаривания. Хроматографическая очистка (ацетон/хлороформ с градиентом) приводит к искомому продукту, 2-метокси-3-О-сульфамойл-17-О-метоксиметилэстрадиолу, в виде твердого вещества белого цвета (160 мг), которое затем кристаллизуют из диэтилового эфира/гексана. δ_{H} (CDCl_3) 7,02 (1H, s, ArH), 6,91 (1H, s, ArH), 4,99 (2H, s, NH_2), 4,65 (1H, d, 9,0, $\text{CH}_2\text{H}_b\text{O}$), 4,64 (1H, d, 9,0, $\text{CH}_2\text{H}_b\text{O}$), 3,86 (3H, s, OMe), 3,60 (1H, dd, J 8,6, 8,2, 17- α H), 3,37 (3H, s, OCH_3) 2,76-2,82 (2H, m, 6- CH_2), 1,15-2,30 (13H, m), и 0,82 (3H, s, 18- CH_3); δ_{C} 148,7, 140,4, 136,6, 130,1, 124,0, 110,4, 96,0, 86,5, 56,4, 55,2, 50,0, 44,5, 43,0, 38,2, 37,3, 28,7, 27,1, 26,5, 23,2 и 11,9.

2-Этил-3-бензилокси-17-О-метилсульфанилэстрадиол 58.



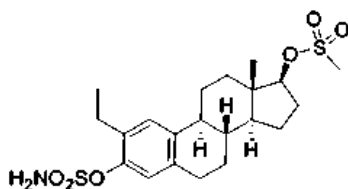
К охлажденному до температуры 0°C раствору 2-этил-3-О-бензилэстрадиола (1 ммоль) в 5 мл безводного пиридина при перемешивании в атмосфере азота добавляют хлорангидрид метансульфонокислоты (0,09 мл, 1,2 ммоль). Раствор перемешивают при температуре 0°C в течение 2 ч, а затем добавляют воду (20 мл). Органическую фазу экстрагируют этилацетатом (2×60 мл), промывают органический слой последовательно водой и соляным раствором, затем высушивают над MgSO_4 . После удаления растворителя под вакуумом и очистки с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат 5:1) получают 2-этил-3-бензилокси-17-О-метилсульфанилэстрадиол в виде твердого вещества белого цвета (0,36 г, 77%), $t_{\text{пл.}} = 133^\circ\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,87 (s, 3H, CH_3), 1,22 (t, $J_{\text{H-H}} = 7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,25-1,60 (m, 6H), 1,70-1,95 (m, 3H), 2,05 (m, 1H), 2,15-2,45 (m, 3H), 2,68 (q, $J_{\text{H-H}} = 7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,85 (m, 2H, H6), 3,02 (s, 3H, CH_3SO_2), 4,57 (m, 1H, H17), 5,05 (s, 2H, CH_2Ph), 6,64 (s, 1H, ArH), 7,10 (s, 1H, ArH), 7,36-7,44 (m, 5H, Ph), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 11,7(CH_3), 14,6 (CH_3), 23,0, 23,4, 26,0, 27,1, 27,9, 29,5, 36,4, 38,2, 38,6, 43,3, 43,7, 49,0, 69,8 (CH_2Ph), 89,5(C17), 111,8, 126,2, 127,0, 127,6, 128,4, 130,3, 131,7, 134,7, 137,6 и 154,5.

2-Этил-17-О-метилсульфанилэстрадиол 59.



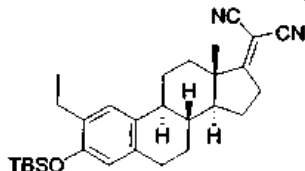
К раствору 2-этил-3-бензилокси-17-О-метилсульфанилэстрадиола (0,5 ммоль) в 10 мл тетрагидрофурана и 40 мл этанола добавляют 30 мг 10% палладия на угле. Смесь перемешивают при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 14 ч. После этого фильтруют суспензию сквозь целит, промывают тетрагидрофураном и концентрируют органический слой под вакуумом. После очистки с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 1:0 до 2:1) выделяют 2-этил-17-О-метилсульфанилэстрадиол в виде твердого вещества белого цвета (145 мг, 77%), $t_{\text{пл.}} = 195^\circ\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,86 (s, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J_{\text{H-H}} = 7,7\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,25-1,60 (m, 6H), 1,71-1,91 (m, 3H), 2,03 (m, 1H), 2,13-2,38 (m, 3H), 2,58 (q, $J_{\text{H-H}} = 7,7\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,79 (m, 2H, H6), 3,01 (s, 3H, CH_3SO_2), 4,53 (s, 1H, OH), 4,56 (dd, $J_{\text{H-H}} = 9,1$ и $7,9\text{Hz}$, 1H, H17), 6,49 (s, 1H, ArH), 7,03 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 11,7 (CH_3), 14,6 (CH_3), 23,0, 23,4, 26,0, 27,1, 27,9, 29,5, 36,4, 38,2, 38,6, 43,3, 43,7, 49,0, 89,5 (C17), 115,2, 126,3, 127,3, 132,1, 135,2 и 151,2; масс-спектрометрия m/z: 350,16 (M^+); ВЭЖХ: 100%. Микроанализ: C: 66,30 (ожидаемое содержание 66,63); H: 7,80 (ожидаемое содержание 7,99).

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-О-метилсульфанилэстрадиол 60.



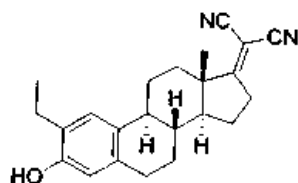
Концентрируют 1 мл 0,559М раствора хлорангидрида сульфаминовой кислоты в толуоле под вакуумом и растворяют хлорангидрид сульфаминовой кислоты в 1 мл диметилацетамида. Получаемый раствор охлаждают до температуры 0°C и добавляют к 2-этил-17-О-метилсульфанилэстрадиолу (0,2 ммоль) в атмосфере азота. После этого раствор перемешивают в течение 15 ч при комнатной температуре. Затем добавляют 5 мл воды и экстрагируют органические вещества этилацетатом (2×50 мл). Органический слой промывают последовательно водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и концентрируют под вакуумом. После очистки с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат 5:2) получают 2-этил-3-О-сульфамойл-17-О-метилсульфанилэстрадиол в виде твердого вещества белого цвета (60 мг, 66%), $t_{\text{пл.}} = 179^\circ\text{C}$. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,85 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J_{\text{H-H}} = 7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,30-1,55 (m, 6H), 1,73-1,87 (m, 3H), 2,04 (m, 1H), 2,16-2,36 (m, 3H), 2,68 (q, $J_{\text{H-H}} = 7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,82 (m, 2H, H6), 3,01 (s, 3H, CH_3SO_2), 4,57 (dd, 1 $J_{\text{H-H}} = 8,7$ и $8,1\text{Hz}$, 1H, H17), 5,08 (s, 2H, NH_2), 6,49 (s, 1H, ArH), 7,03 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 14,1 (CH_3), 17,0 (CH_3), 25,4, 23,4, 28,2, 29,2, 30,3, 31,4, 38,6, 40,5, 40,6, 45,6, 46,3, 51,4, 91,5 (C17), 123,6, 129,2, 135,9, 137,9, 141,1 и 148,3; масс-спектрометрия низкого разрешения m/z: 457,32 (M^+); ВЭЖХ 100%. Микроанализ: C: 53,40 (ожидаемое содержание 55,12); H: 6,38 (ожидаемое содержание 6,34); N: 3,09 (ожидаемое содержание 3,06).

2-Этил-3-О-трет-бутилдиметилсилил-17-дицианометиленэстрон.



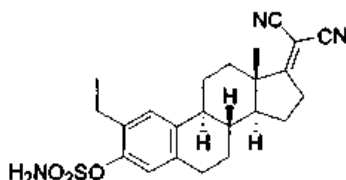
Раствор 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсилилэстрона (2 ммоль), малонитрила (6 ммоль) и β -аланина в 150 мл толуола и 30 мл уксусной кислоты кипятят с обратным холодильником в течение 3 дней. Добавляют дополнительные аликваты малонитрила по 2 ммоль по прошествии 24 и 48 ч. После охлаждения раствора до комнатной температуры выпаривают растворители и перемешивают твердый остаток с 50 мл воды, а затем экстрагируют этилацетатом (2×100 мл). Органический слой промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворитель под вакуумом. После очистки с помощью колоночной хроматографии получают 2-этил-3-О-TBS-17-дицианометиленэстрон в виде порошкообразного вещества белого цвета (840 мг, 91%), $t_{\text{пл.}} = 168^\circ\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,21 (s, 6H, CH_3Si), 1,00 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$), 1,06 (s, 3H, CH_3), 1,15 (t, $J = 7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,40-1,80 (m, 6H), 1,85-2,05 (m, 2H), 2,26 (m, 1H), 2,45-3,05 (m, 7H), 6,4 (s, 1H, ArH), 7,02 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): -4,2 и -4,1 (CH_3Si), 14,6 (CH_3), 16,6, 18,2, 23,2, 23,6, 25,7 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 26,3, 27,5, 29,1, 34,0, 34,7, 38,3, 43,4, 49,5, 54,2, 79,6 (C17), 111,1, 112,4, 118,3, 126,1, 131,2, 132,2, 134,3, 151,5 и 196,2.

2-Этил-17-дицианометиленэстрон.



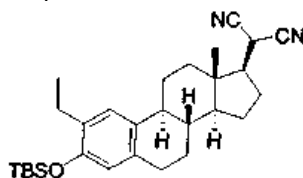
Раствор 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17-дицианометиленэстрона (0,5 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют по каплям раствор тетрабутиламмонийфторида в тетрагидрофуране (1M, 0,6 ммоль, 0,6 мл). Раствор перемешивают в течение 2 ч при температуре 0°C, а затем нагревают до комнатной температуры. После этого добавляют воду (10 мл) и этилацетат (80 мл), органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Получаемый твердый остаток очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 5:1 до 2:1), что приводит к 2-этил-17-дицианометиленэстрону в виде твердого вещества белого цвета (125 мг, 72%); $t_{\text{пл.}} = 270^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 1,06 (s, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J = 7,5\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,39-1,79 (m, 6H), 1,89-2,05 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,45-2,52 (m, 1H), 2,61 (q, $J = 7,5\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,63-3,02 (m, 5H), 4,52 (s, 1H, OH), 6,50 (s, 1H, ArH), 7,02 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 14,3, 16,6 (CH_3), 23,0, 23,2, 26,4, 27,4, 28,9, 33,9, 34,7, 38,3, 43,3, 49,4, 54,1, 79,6 (C17), 111,2, 112,5, 115,2, 126,2, 127,5, 131,3, 135,0, 151,4 и 196,1; ВЭЖХ: 100%.

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-дицианометиленэстрон.



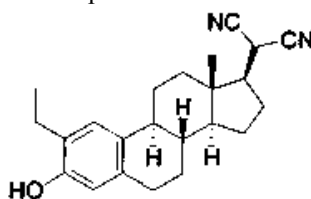
Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (0,6 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к 2-этил-17-дицианометиленэстрону (0,2 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 14 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. После этого добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические вещества этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой, соляным раствором и высушивают над MgSO_4 , а затем выпаривают растворитель под вакуумом. Получаемый твердый остаток очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 5/1 до 3/1), что приводит к 2-этил-3-О-сульфамойл-17-дицианометиленэстрону (62 мг, 73%), $t_{\text{пл.}} = 228^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 1,06 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,44-1,75 (m, 6H), 1,92-2,03 (m, 2H), 2,29 (m, 1H), 2,44-2,55 (m, 1H), 2,69 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,75-3,04 (m, 5H), 5,03 (s, 2H, NH_2), 7,09 (s, 1H, ArH), 7,16 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 14,6, 16,6 (CH_3), 23,0, 23,2, 26,2, 27,2, 28,9, 33,8, 34,7, 37,8, 43,4, 49,3, 54,1, 79,7 (C17), 111,0, 112,3, 121,5, 126,9, 134,0, 135,4, 138,0, 146,4 и 195,8; ВЭЖХ 100%; микроанализ: C: 64,90 (ожидаемое содержание 64,92); H: 6,45 (ожидаемое содержание 6,40); N: 9,68 (ожидаемое содержание 9,87).

2-Этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17β-дицианометил-17-дезоксистерон.



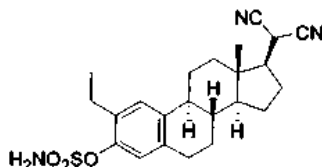
Раствор 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17-дицианометиленэстрона (1 ммоль) в метаноле (50 мл) и тетрагидрофуране (5 мл) охлаждают до температуры -10°C и добавляют небольшими порциями NaBH_4 (76 мг, 2 ммоль). Смесь перемешивают при температуре -10°C в течение 4 ч. Затем добавляют воду (50 мл) и подкисляют раствор с помощью NH_4Cl и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×60 мл), последовательно промывают органический слой водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Получаемые в остатке твердые вещества очищают с помощью колоночной хроматографии, что приводит к 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17β-дицианометил-17-дезоксистерону (380 мг, 83%), $t_{\text{пл.}} = 162^\circ\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3): 0,22 (s, 6H, CH_3Si), 0,80 (s, 3H, CH_3), 1,00 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1,16 (t, $J=7,5\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,33-1,66 (m, 6H), 1,85 (m, 2H), 2,10-2,40 (m, 6H), 2,55 (q, $J=7,5\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,78 (m, 2H, H6), 3,56 (d, $J=9,9\text{Hz}$, 1H, $\text{CH}(\text{CN})_2$), 6,47 (s, 1H, ArH), 7,03 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): -4,2 и -4,1 (CH_3Si), 12,4 (CH_3), 14,7, 18,2, 23,4, 25,7 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 26,2, 27,6, 27,7, 29,2, 37,5, 38,8, 43,2, 43,6, 50,3, 54,6, 112,7, 118,2, 126,1, 131,9, 132,1, 134,5, и 151,3.

2-Этил-17β-дицианометил-17-дезоксистерон.



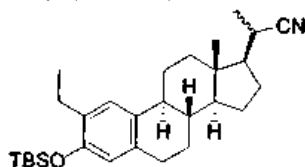
Раствор 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17β-дицианометил-17-дезоксистерона (0,5 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к нему по каплям раствор тетрабутиламмонийфторида в тетрагидрофуране (1M, 0,6 ммоль, 0,6 мл). Раствор перемешивают в течение 2 ч при температуре 0°C , а затем нагревают до комнатной температуры. После этого добавляют воду (10 мл) и этилацетат (80 мл), органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Получаемый твердый остаток очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 5:1 до 2:1), что приводит к 2-этил-17β-дицианометил-17-дезоксистерону в виде твердого вещества белого цвета (124 мг, 71%), $t_{\text{пл.}} = 248^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,80 (s, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,30-1,61 (m, 7H), 1,85 (m, 2H), 2,10-2,41 (m, 5H), 2,59 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,81 (m, 2H, H6), 3,56 (d, $J=9,9\text{Hz}$, 1H, $\text{CH}(\text{CN})_2$), 4,51 (уш., 1H, OH), 6,49 (s, 1H, ArH), 7,02 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 12,4 (CH_3), 14,4 (CH_3), 22,9, 23,4, 26,3, 27,6, 27,7, 29,0, 37,5, 38,8, 43,2, 43,6, 50,3, 54,5, 112,7, 115,2, 126,3, 127,3, 131,9, 135,2, и 151,3; ВЭЖХ: 100%; микроанализ: C: 78,96 (ожидаемое содержание 79,27); H: 8,03 (ожидаемое содержание 8,10); N: 7,79 (ожидаемое содержание 8,04).

2-Этил-3-О-сульфамойл-17β-дицианометил-17-дезоксистерон.



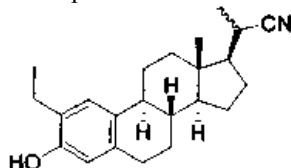
Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (0,6 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к 2-этил-17β-дицианометил-17-дезоксистерону (0,2 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 14 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. Затем добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 , после чего выпаривают растворитель под вакуумом. Получаемые в остатке твердые вещества очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 5/1 до 3/1), что приводит к 2-этил-3-О-сульфамойл-17β-дицианометил-17-дезоксистерону (170 мг, 80%) в виде порошкообразного вещества белого цвета, $t_{\text{пл}} = 169^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,80 (s, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,32-1,55 (m, 7H), 1,87 (m, 2H), 2,10-2,38 (m, 5H), 2,68 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,83 (m, 2H, H6), 3,57 (d, $J=9,9\text{Hz}$, 1H, $\text{CH}(\text{CN})_2$), 4,91 (уш., 2H, NH_2), 7,08 (s, 1H, ArH), 7,16 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 12,4 (CH_3), 14,4 (CH_3), 22,9, 23,4, 26,3, 27,6, 27,7, 29,0, 37,5, 38,8, 43,2, 43,6, 50,3, 54,5, 112,7, 115,2, 126,3, 127,3, 131,9, 135,2, и 151,3; ВЭЖХ: 100%; микроанализ: C: 64,64 (ожидаемое содержание 64,61); H: 7,80 (ожидаемое содержание 6,84); N: 9,62 (ожидаемое содержание 9,83).

2-Этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17β-(1-циано)этил-17-дезоксистерон.



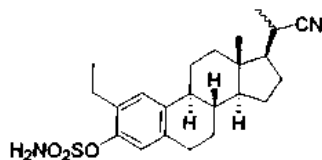
Раствор 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17β-цианометил-17-дезоксистерона (0,5 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл) перемешивают в атмосфере азота при температуре -78°C , а затем обрабатывают прибавляемым по каплям 1М раствором литийдиизопропиламина (1,2 ммоль, 1,2 мл). По прошествии 30 мин добавляют CH_3I (1,5 ммоль, 212 мг) и перемешивают смесь в течение 4 ч при температуре -78°C , а затем 12 ч при комнатной температуре. После этого добавляют этилацетат (100 мл) и воду (30 мл), органический слой промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Получаемое таким образом желтое маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат 20:1), что приводит к смеси диастереомеров (1:1) 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17β-(1-циано)этил-17-дезоксистерона в виде бесцветного маслянистого вещества (176 мг, 78%), ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,23 (s, 6H, CH_3Si), 0,76 и 0,78 (s, 3H, CH_3), 1,01 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$), 1,17 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_3), 1,25-1,96 (m, 13H), 2,05-2,50 (m, 3H), 2,57 (q t, $J=7,3\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,66-2,88 (m, 4H, CH_2), 6,48 и 6,50 (m, 1H, ArH), 7,03-7,06 (m, 1H, ArH).

2-Этил-17-деокси-17β-(1-циано)этилэстрон.



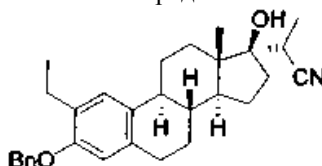
Раствор 2-этил-3-О-трет-бутилдиметилсил-17β-(1-циано)этил-17-дезоксистерона (1 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл) охлаждают до температуры 0°C и прибавляют по каплям раствор тетрабутиламмонийфторида в тетрагидрофуране (1М, 1,2 ммоль, 1,2 мл). Раствор перемешивают в течение 2 ч при температуре 0°C , а затем нагревают до комнатной температуры. После этого добавляют воду (10 мл) и этилацетат (80 мл), органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Получаемое в остатке твердое вещество желтого цвета (400 мг) очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 5:1 до 2:1), а затем перекристаллизуют из гексана/этилацетата 6:1, что приводит к 220 мг (71%) 2-этил-17-деокси-17β-(1-циано)этилэстрона в виде порошкообразного вещества белого цвета, $t_{\text{пл}} = 226-228^\circ\text{C}$. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,75 (s, 3H, CH_3), 1,20-1,65 (m, 9H), 1,85-1,92 (m, 5H), 2,10-2,58 (m, 4H), 2,5 (m, 2H, H6), 6,55-6,62 (m, 2H, ArH), 7,07 (m, 1H, ArH); ВЭЖХ: 100% Микроанализ: C: 81,60 (ожидаемое содержание 81,51); H: 8,79 (ожидаемое содержание 8,79); N: 4,40 (ожидаемое содержание 4,53).

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-деокси 17β-(1-циано)этилэстрон.



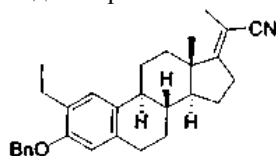
Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (0,6 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к 2-этил-17-дезоксид-17β-(1-циано)этилэстрону (0,2 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 14 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. Затем добавляют 10 мл воды и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 , после чего выпаривают растворитель под вакуумом. Получаемый твердый остаток очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 5/1 до 2/1), а затем перекристаллизовывают (гексан/этилацетат 5:1), что приводит к 42 мг (54%) 2-этил-3-О-сульфамойл-17-дезоксид-17β-(1-циано)этилэстрона, $t_{\text{пл.}} = 157-159^\circ\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,79 (s, 3H, CH_3), 1,25-1,64 (m, 11H), 1,73-1,81 (m, 1H), 1,85-2,03 (m, 2H), 2,23-2,37 (m, 2H), 2,40-2,53 (m, 2H), 2,89 (m, 2H, H6), 7,03 (d, $J=2,7\text{Hz}$, 1H, ArH), 7,07 (dd, $J=9,0$ и $2,7\text{Hz}$, 1H, ArH), 7,31 (d, $J=9,0\text{Hz}$, 1H, ArH); ВЭЖХ:100%; микроанализ: C: 64,90 (ожидаемое содержание 64,92); H: 7,52 (ожидаемое содержание 7,26); N: 7,23 (ожидаемое содержание 7,21).

2-Этил-3-О-бензил-17α-(метил)цианометилэстрадиол.



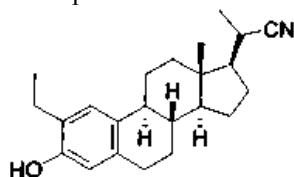
Раствор пропионитрила (0,05 моль) в безводном тетрагидрофуране (50 мл) перемешивают в атмосфере азота при температуре -78°C , а затем обрабатывают добавляемым по каплям литийдиизопропиламином (0,05 моль). Смесь перемешивают в течение 1 ч, после чего добавляют 2-этил-3-О-бензилэстрон (8 ммоль) в 20 мл тетрагидрофурана (по каплям в течение 3 ч). После этого смесь перемешивают еще в течение 3 ч, а затем останавливают реакцию с помощью водного раствора NH_4Cl и экстрагируют смесь этилацетатом. Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Неочищенное маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 10/1 до 4/1), что приводит к 2-этил-3-О-бензил-17α-(метил)цианометилэстрадиолу (2,70 г, 76%) в виде порошкообразного вещества белого цвета, $t_{\text{пл.}} = 75-77^\circ\text{C}$. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,97 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,6\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,25-1,90 (m, 12H), 1,97-2,07 (m, 2H), 2,15-2,23 (m, 1H), 2,41-2,49 (m, 1H), 2,66 (q, $J=7,6\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,77-2,91 (m, 3H), 5,04 (s, 2H, CH_2Ph), 6,62 (s, 1H, ArH), 7,09 (s, 1H, ArH), 7,28-7,46 (m, 5H, Ph).

2-Этил-3-О-бензил-17-(1-циано)этилиденэстрон.



Добавляют 2-этил-3-О-бензилэстрадиол-17α-пропионитрил (0,05 моль) к охлажденному до температуры 0°C раствору триэтиламина (2 мл) и хлористого метилена (25 мл), а затем добавляют $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ (0,055 моль, 0,44 мл) и перемешивают раствор в течение 8 ч при температуре 0°C . После этого смешивают раствор с водой и экстрагируют органические соединения хлористым метиленом. Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и удаляют растворители под вакуумом. Неочищенное маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат 10/1), что приводит к 2-этил-3-О-бензил-17-цианоэтилиденэстрону. Выход 85%, $t_{\text{пл.}} = 63-64^\circ\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,95 (s, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7,3\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,30-1,71 (m, 6H), 1,84 (s, 3H, CH_3), 1,85-1,96 (m, 2H), 2,21-2,51 (m, 4H), 2,64 (q, $J=7,3\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,75-2,90 (m, 3H), 5,04 (s, 2H, CH_2Ph), 6,63 (s, 1H, ArH), 7,10 (s, 1H, ArH), 7,28-7,48 (m, 5H, Ph).

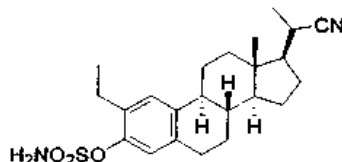
2-Этил-17-дезоксид-17β-(1-циано)этилэстрон.



К раствору 2-этил-3-О-бензил-17-(1-циано)этилиденэстрона (1 ммоль) в 5 мл тетрагидрофурана/45 мл метанола добавляют 50 мг 5% палладия на угле и перемешивают смесь в атмосфере водорода в течение

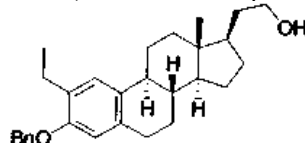
ние 16 ч. После этого фильтруют суспензию сквозь целит/песок, промывают тетрагидрофураном и концентрируют органический слой под вакуумом. После очистки с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 10:1 до 1:1) и перекристаллизации (гексан/этилацетат 5:1) выделяют 2-этил-17-дезоксид-17β-(1-циано)этилэстрон в виде твердого вещества белого цвета. Получают 225 мг (67%) порошкообразного вещества белого цвета, $t_{пл.} = 235-236^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,76 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,24-1,69 (m, 13H), 1,71-2,00 (m, 2H), 2,10-2,48 (m, 2H), 2,57 (q, $J=7,3\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,71 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CN}$), 2,78 (m, 2H, H6), 4,47 (уш., 1H, OH), 6,49 (s, 1H, ArH), 7,03 (s, 1H, ArH), микроанализ: C: 81,50 (ожидаемое содержание 81,85); H: 9,18 (ожидаемое содержание 9,26); N: 3,99 (ожидаемое содержание 4,15).

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-дезоксид-17β-(1-циано)этилэстрон.



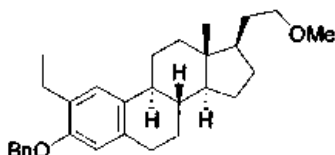
Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (1 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к соединению 21a (0,3 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 14 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. Затем добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 , после чего выпаривают растворитель под вакуумом. Получаемый твердый остаток очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 5/1 до 2/1), а затем перекристаллизовывают (гексан/этилацетат 5:1), что приводит к 2-этил-3-О-сульфамойл-17-дезоксид-17β-(1-циано)этилэстрону в виде порошкообразного вещества белого цвета (86 мг, 69%), $t_{пл.} = 171-172^{\circ}\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,76 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,22-1,64 (m, 11H), 1,75-2,35 (m, 6H), 2,66 (q, $J=7,3\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,68 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CN}$), 2,84 (m, 2H, H6), 4,92 (уш., 2H, NH_2), 7,07 (s, 1H, ArH), 7,16 (s, 1H, ArH); ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 12,4 (CH_3), 14,6 (CH_3), 18,6 (CH_3), 23,0, 23,8, 26,2, 26,8, 27,0, 27,4, 29,1, 38,2, 38,6, 42,9, 44,0, 53,3, 54,8, 121,4, 123,0 (CN), 126,9, 133,6, 135,9, 139,3, 146,2; микроанализ: C: 66,40 (ожидаемое содержание 66,31); H: 7,73 (ожидаемое содержание 7,74); N: 6,52 (ожидаемое содержание 6,72).

2-Этил-3-О-бензил-17β-(2-гидроксиэтил)-17-дезоксидэстрон.



Раствор этилового эфира (3-бензилокси-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)уксусной кислоты (1,84 г, 4 ммоль) в 30 мл безводного тетрагидрофурана охлаждают до температуры 0°C в атмосфере азота, после чего добавляют небольшими порциями LiAlH_4 (0,30 г, 8 ммоль). После выдерживания смеси в течение 3 ч при температуре 0°C ее смешивали с водным раствором NH_4Cl и экстрагируют органические соединения этилацетатом. Органический слой промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Неочищенное маслянистое вещество подвергают хроматографической очистке (гексан/этилацетат от 15:1 до 8:1), что приводит к 1,47 г (88%) 2-этил-3-О-бензил-17β-(2-гидроксиэтил)-17-дезоксидэстрона в виде порошкообразного вещества белого цвета, $t_{пл.} = 98-99^{\circ}\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,63 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,22-1,58 (m, 9H), 1,70-1,92 (m, 5H), 2,16-2,34 (m, 2H), 2,66 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,82 (m, 2H, H6), 3,68 (m, 2H, CH_2OH), 5,03 (s, 2H, CH_2Ph), 6,62 (s, 1H, ArH), 7,10 (s, 1H, ArH), 7,28-7,45 (m, 5H, Ph).

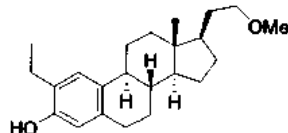
2-Этил-3-О-бензил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксидэстрон.



Раствор 2-этил-3-О-бензил-17β-(2-гидроксиэтил)-17-дезоксидэстрона (1,26 г, 3 ммоль) в 30 мл безводного тетрагидрофурана охлаждают до температуры 0°C в атмосфере азота. Затем добавляют небольшими порциями NaH (0,16 г, 4 ммоль NaH , 60% дисперсия в минеральном масле) и перемешивают раствор в течение 30 мин, после чего добавляют по каплям CH_3I (0,37 мл, 6 ммоль). После этого раствору дают нагреться до комнатной температуры и его перемешивают еще в течение 18 ч. После этого добавляют воду (20 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом. Органический слой промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом.

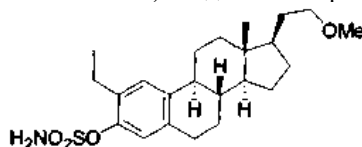
Неочищенное маслянистое вещество подвергают хроматографической очистке (гексан/этилацетат 20/1), что приводит к 1,25 г (96%) 2-этил-3-О-бензил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксистерона в виде порошкообразного вещества белого цвета, $t_{пл.} = 70-71^{\circ}\text{C}$, ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,66 (s, 3H, CH_3), 1,25 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,26-1,60 (m, 9H), 1,76-1,96 (m, 5H), 2,20-2,42 (m, 2H), 2,70 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,86 (m, 2H, H6), 3,38 (s, 3H, CH_3O), 3,44 (m, 2H, CH_2O), 5,07 (s, 2H, CH_2Ph), 6,66 (s, 1H, ArH), 7,15 (s, 1H, ArH), 7,31-7,50 (m, 5H, Ph).

2-Этил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксистерон.



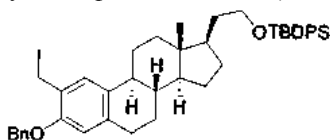
Растворяют 2-этил-3-О-бензил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксистерон 35 (0,87 г, 2 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) и MeOH (50 мл), добавляют 50 мг 5% палладия на угле и перемешивают смесь в атмосфере водорода в течение 16 ч. После этого фильтруют суспензию сквозь целит/песок, промывают тетрагидрофураном и выпаривают растворители под вакуумом. Вязкое желтоватое маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 15/1 до 10/1), что приводит к 2-этил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксистерону (0,66 г, 97%) в виде порошкообразного белого вещества, $t_{пл.} = 58-59^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,62 (s, 3H, CH_3), 1,19-1,56 (m, 12H), 1,72-1,91 (m, 5H), 2,13-2,34 (m, 2H), 2,60 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,77 (m, 2H, H6), 3,37 (s, 3H, CH_3O), 3,45 (m, 2H, CH_2O), 5,26 (s, 1H, OH), 6,48 (s, 1H, ArH), 7,06 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 12,4 (CH_3), 12,5 (CH_3), 23,0, 24,4, 26,5, 27,9, 28,3, 29,3, 30,2, 37,7, 38,9, 42,4, 44,2, 47,3, 54,6, 58,4, 72,4, 115,1, 126,2, 127,2, 132,6, 135,4, и 151,3, ВЭЖХ: 100%; МСВР(ББА⁺): найдено: 342,255493, рассчитано для $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_2$ 342,255881.

2-Этил-3-О-сульфамоил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксистерон.



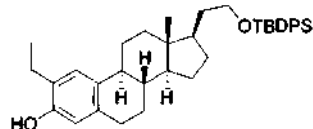
Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (3 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к 2-этил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксистерону (342 мг, 1 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. После этого добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 . Выпаривают растворитель под вакуумом и очищают получаемый твердый остаток с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 10/1 до 4/1), после чего перекристаллизовывают (гексан/этилацетат 5:1), что приводит к 2-этил-3-О-сульфамоил-17β-(2-метоксиэтил)-17-дезоксистерону (0,35 г, 84%) в виде порошкообразного вещества белого цвета, $t_{пл.} = 168-169^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,61 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,22-1,54 (m, 9H), 1,70-1,95 (m, 5H), 2,15-2,33 (m, 2H), 2,68 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,82 (m, 2H, H6), 3,33 (s, 3H, CH_3O), 3,35 (m, 2H, CH_2O), 4,95 (s, 2H, NH_2), 7,06 (s, 1H, ArH), 7,18 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 12,4 (CH_3), 14,6 (CH_3), 23,0, 24,4, 26,3, 27,7, 28,3, 29,3, 30,4, 37,6, 38,5, 42,4, 44,4, 47,4, 54,9, 58,7, 72,6, 121,4, 127,0, 133,5, 136,1, 139,9, и 146,1; ВЭЖХ: 100%; микроанализ: C: 65,40 (ожидаемое содержание 65,52); H: 8,29 (ожидаемое содержание 8,37); N: 3,14 (ожидаемое содержание 3,32).

2-Этил-3-О-бензил-17β-(2-(трет-бутилдифенилсиланокс)этил)-17-дезоксистерон.



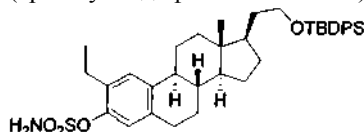
Раствор 2-этил-3-О-бензил-17β-(2-гидроксиэтил)-17-дезоксистерона (0,419 г, 1 ммоль), имидазола (0,136 г, 2 ммоль) и трет-бутилдифенилсиланхлорида (1,1 ммоль) в 10 мл безводного N,N-диметилформамида перемешивают при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 24 ч. После этого добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 . Растворитель выпаривают под вакуумом и очищают получаемое в остатке маслянистое вещество с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат 25/1), что приводит к [2-(3-бензилокси-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)этокси]-трет-бутилдифенилсилану в виде порошкообразного вещества белого цвета (590 мг, 90%), $t_{пл.} = 48-50^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,63 (s, 3H, CH_3), 1,12 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 1,15-1,60 (m, 11H), 1,71-2,01 (m, 5H), 2,20-2,44 (m, 2H), 2,69 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,88 (m, 2H, H6), 3,65-3,81 (m, 2H, CH_2O), 5,09 (s, 2H, CH_2Ph), 6,68 (s, 1H, ArH), 7,20 (s, 1H, ArH), 7,32-7,51 (m, 11H, Ph), 7,72-7,77 (m, 4H, Ph).

2-Этил-17β-(2-(трет-бутилдифенилсиланокси)этил)-17-дезоксистерон.



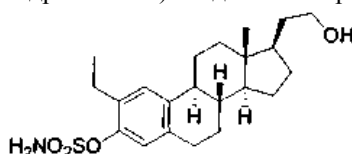
К раствору 2-этил-3-О-бензил-17β-(2-(трет-бутилдифенилсиланокси)этил)-17-дезоксистерона (1 ммоль) в тетрагидрофуране (2 мл) и этаноле (20 мл) добавляют 50 мг 5% палладия на угле и перемешивают смесь в атмосфере водорода. Ход реакции отслеживают с помощью тонкослойной хроматографии. По завершении реакции фильтруют суспензию сквозь целит/песок и выпаривают растворители под вакуумом. Получаемое в остатке маслянистое вещество очищают с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 20:1 до 3:1), что приводит к 17-[2-(трет-бутилдифенилсиланокси)этил]-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-олу в виде твердого вещества белого цвета, $t_{пл.}=134-135^{\circ}\text{C}$ (0,49 г, 87%); ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,59 (s, 3H, CH_3), 1,08 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 1,18-1,56 (m, 12H), 1,68-1,89 (m, 5H), 2,10-2,33 (m, 2H), 2,61 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,78 (m, 2H, H6), 3,61-3,78 (m, 2H, CH_2O), 4,71 (s, 1H, OH), 6,49 (s, 1H, ArH), 7,07 (s, 1H, ArH), 7,38 (m, 6H, Ph), 7,70 (m, 4H, Ph).

2-Этил-3-О-сульфамойл-17β-(2-(трет-бутилдифенилсиланокси)этил)-17-дезоксистерон.



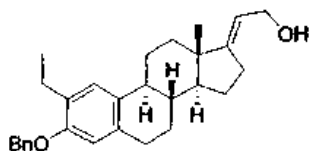
Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (3 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к соединению 39в (566 мг, 1 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. После этого добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 . Выпаривают растворитель под вакуумом и очищают получаемый твердый остаток с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 15/1 до 8/1, что приводит к 2-этил-3-О-сульфамойл-17β-(2-(трет-бутилдифенилсиланокси)этил)-17-дезоксистерону в виде твердого вещества белого цвета (470 мг, 72%), $t_{пл.} = 185-186^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,57 (s, 3H, CH_3), 1,05 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 1,18-1,55 (m, 13H), 1,68-1,89 (m, 4H), 2,15-2,31 (m, 2H), 2,68 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,82 (m, 2H, H6), 3,57-3,75 (m, 2H, CH_2O), 4,91 (уш., 2H, NH_2), 7,06 (s, 1H, ArH), 7,19 (s, 1H, ArH), 7,34-7,45 (m, 6H, Ph), 7,67 (m, 4H, Ph), ^{13}C ЯМР (CDCl_3): 12,9 (CH_3), 15,1 (CH_3), 20,0, 23,5, 24,9, 26,8, 27,3, 28,1, 28,8, 29,7, 33,9, 38,1, 38,8, 42,7, 44,8, 47,6, 55,0, 63,9, 121,5, 127,2, 127,7, 129,7, 133,7, 134,3, 135,7, 136,3, 140,1, и 146,2, МСВР (ББА⁺): найдено: 645,326294, рассчитано для $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_2$ 645,330810.

2-Этил-3-О-сульфамойл-17β-(2-гидроксиэтил)-17-дезоксистерон.



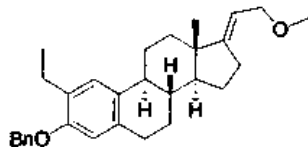
Раствор 2-этил-3-О-сульфамойл-17β-(2-(трет-бутилдифенилсиланокси)этил)-17-дезоксистерона (323 мг, 0,5 ммоль) в 20 мл тетрагидрофурана охлаждают до температуры 0°C , после чего добавляют по каплям 1М раствор тетрабутиламмонийфторида в тетрагидрофуране. После этого раствор перемешивают при температуре 0°C в течение 6 ч, затем добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 . Выпаривают растворители под вакуумом и очищают получаемый твердый остаток с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 10/1 до 2/1), после чего перекристаллизовывают его из гексана/этилацетата 4:1, что приводит к 2-этил-3-О-сульфамойл-17β-(2-гидроксиэтил)-17-дезоксистерону в виде порошкообразного вещества белого цвета (145 мг, 72%), $t_{пл.}=157-158^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) 0,62 (s, 3H, CH_3), 1,17-1,55 (m, 12H), 1,70-1,94 (m, 5H), 2,16-2,33 (m, 2H), 2,68 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,83 (m, 2H, H6), 3,60-3,76 (m, 2H, CH_2O), 4,87 (уш., 2H, NH_2), 7,06 (s, 1H, ArH), 7,19 (s, 1H, ArH); ^{13}C ЯМР (CD_3COCD_3 , 400MHz): 11,8 (CH_3), 13,9 (CH_3), 22,3, 23,7, 25,7, 27,1, 27,7, 28,5, 33,0, 37,1, 38,0, 41,7, 43,8, 46,7, 54,1, 61,2, 121,1, 126,0, 133,1, 134,9, 138,4 и 145,8; микроанализ: С: 64,78 (ожидаемое содержание 64,83); Н: 8,12 (ожидаемое содержание 8,16); N: 3,41 (ожидаемое содержание 3,44).

2-(3-Бензилокси-2-этил-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)этанол.



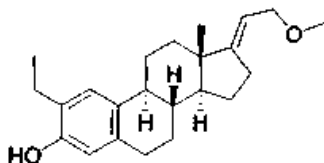
Раствор этилового эфира (3-бензилокси-2-этил-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)уксусной кислоты (0,92 г, 2 ммоль) в 20 мл безводного тетрагидрофурана охлаждают до температуры 0°C в атмосфере азота, а затем добавляют небольшими порциями LiAlH_4 (0,15 г, 4 ммоль). После выдерживания смеси в течение 6 ч при температуре 0°C ее смешивают с водным раствором NH_4Cl и экстрагируют органические соединения этилацетатом. Органический слой промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Неочищенное маслянистое вещество подвергают хроматографической очистке (гексан/этилацетат от 15/1 до 6/1), что приводит к 2-(3-бензилокси-2-этил-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)этанолу (0,75 г, 89%) в виде порошкообразного вещества белого цвета, $t_{\text{пл}}=61-62^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,84 (s, 3H, CH_3), 1,20-1,66 (m, 9H), 1,82-2,02 (m, 3H), 2,21-2,51 (m, 3H), 2,71 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,87(m, 2H, H6), 4,16 (m, 2H, CH_2OH), 5,07 (s, 2H, CH_2Ph), 5,31 (m, 1H, CHCH_2OH), 6,66 (s, 1H, ArH), 7,15 (s, 1H, ArH), 7,30-7,48 (m, 5H, Ph).

3-Бензилокси-2-этил-17-(2-метоксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен.



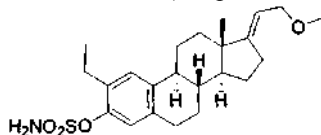
Раствор 2-(3-бензилокси-2-этил-13-метил-6,7,8,9,11,12,13,14,15,16-декагидроциклопента[а]фенантрен-17-илиден)этанола (0,62 г, 1,5 ммоль) в 10 мл безводного тетрагидрофурана охлаждают до температуры 0°C в атмосфере азота. Затем добавляют небольшими порциями NaNH (0,08 г, 2 ммоль NaNH , 60% дисперсия в минеральном масле) и перемешивают раствор в течение 30 мин, после чего добавляют по каплям CH_3I (0,19 мл, 3 ммоль). Затем раствору дают нагреться до комнатной температуры и перемешивают еще в течение 18 ч. После этого добавляют воду (20 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом. Органический слой промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворители под вакуумом. Неочищенное маслянистое вещество подвергают хроматографической очистке (гексан/этилацетат 20/1), что приводит к 3-бензилокси-2-этил-17-(2-метоксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрено (0,59 г, 91%) в виде бесцветного маслянистого вещества; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,84 (s, 3H, CH_3), 1,24 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,26-1,66 (m, 6H), 1,82-2,02 (m, 3H), 2,20-2,51 (m, 3H), 2,70 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,87(m, 2H, H6), 3,36 (s, 3H, CH_3O), 3,94 (m, 2H, CH_2OMe), 5,06 (s, 2H, CH_2Ph), 5,27 (m, 1H, CHCH_2OH), 6,66 (s, 1H, ArH), 7,15 (s, 1H, ArH), 7,31-7,48 (m, 5H, Ph).

2-Этил-17-(2-метоксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-ол.



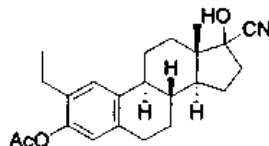
Раствор 3-бензилокси-2-этил-17-(2-метоксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрена (0,43 г, 1 ммоль) в 50 мл трет-бутанола кипятят с обратным холодильником, добавляя небольшими порциями натрия (0,46 г, 20 ммоль) в течение 6 ч. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 18 ч, после чего охлаждают до комнатной температуры и добавляют 2-пропанол для удаления избытка натрия. Растворители выпаривают и переносят получаемый твердый остаток в воду (20 мл). После этого экстрагируют органические соединения этилацетатом, органический слой промывают водой и соляным раствором и высушивают его над MgSO_4 . Растворитель выпаривают под вакуумом. Неочищенное маслянистое вещество подвергают хроматографической очистке (гексан/этилацетат от 15/1 до 8/1), что приводит к 2-этил-17-(2-метоксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-олу в виде порошкообразного вещества белого цвета (230 мг, 68%), $t_{\text{пл}}=133-134^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,79 (s, 3H, CH_3), 1,22 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,28-1,60 (m, 6H), 1,75-1,96 (m, 3H), 2,18 (m, 1H), 2,39 (m, 3H), 2,59 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,79 (m, 2H, H6), 3,35 (s, 3H, CH_3O), 3,94 (m, 2H, CH_2OMe), 5,11 (s, 1H, OH), 5,24 (m, 1H, CHCH_2OH), 6,48 (s, 1H, ArH), 7,05 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 400MHz): 14,9 (CH_3), 19,2, 23,5, 24,4, 26,7, 27,1, 28,1, 29,7,36,4, 39,1, 44,4, 44,8, 53,5, 58,2, 70,2, 112,8, 115,7, 126,4, 127,5, 132,6, 135,5, 151,5, и 157,1; ВЭЖХ: 98%; МСВР (ББА⁺): найдено: 340,24023, рассчитано для $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 340,24023.

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-(2-метоксиэтилиден)эстрон.



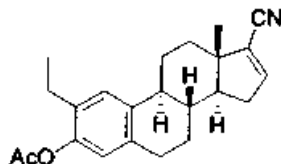
Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (2 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к 2-этил-17-(2-метоксиэтилиден)-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-декагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-олу (170 мг, 0,5 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. После этого добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 . Выпаривают растворитель под вакуумом и очищают получаемый твердый остаток с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат от 10/1 до 5/1), что приводит к 2-этил-3-О-сульфамойл-17-(2-метоксиэтилиден)эстрону в виде твердого вещества белого цвета (142 мг, 68%), ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,79 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,22-1,67 (m, 6H), 1,78-1,98 (m, 3H), 2,17-2,47 (m, 4H), 2,68 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,85 (m, 2H, H6), 3,32 (s, 3H, CH_3O), 3,90 (m, 2H, CH_2OMe), 5,14 (s, 2H, NH_2), 5,22 (m, 1H, CHCH_2OH), 7,06 (s, 1H, ArH), 7,19 (s, 1H, ArH), ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 400MHz): 14,6 (CH_3), 18,8, 23,1, 24,0, 26,4, 26,5, 27,4, 29,2, 35,8, 38,2, 44,3, 44,4, 53,2, 57,8, 69,8, 112,9, 121,4, 127,0, 133,7, 136,0, 139,6, 146,2 и 156,4; ВЭЖХ: 99,7%; МСВР (ББА $^+$): найдено: 419,21303, рассчитано для $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{O}_4\text{NS}$ 419,21303.

2-Этил-3-О-ацетил-17-циано-17-гидроксиэстрон.



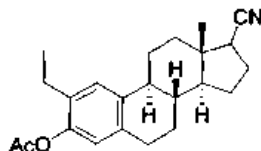
Раствор ацетата 2-этилэстрона (5 ммоль) и KCN (3,26 г, 50 ммоль) в 20 мл метанола и 5 мл уксусной кислоты перемешивают при комнатной температуре в течение 3-5 суток. Затем добавляют к смеси лед и воду, фильтруют и промывают получаемое твердое вещество большим количеством воды. После этого твердое вещество белого цвета растворяют в этилацетате (100 мл), органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором, высушивают над MgSO_4 и выпаривают растворитель под вакуумом, что приводит к 2-этил-3-О-ацетил-17-циано-17-гидроксиэстрону в виде твердого вещества белого цвета (1,6 г, 87%), для которого получены следующие данные: ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,85 (s, 3H, CH_3), 1,16 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,33-1,70 (m, 6H), 1,80-2,06 (m, 5H), 2,30 (s, 3H, CH_3CO), 2,25-2,35 (m, 1H), 2,38-2,58 (m, 3H), 2,70 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,82 (m, 2H, H6), 6,71 (s, 1H, ArH), 7,15 (s, 1H, ArH).

17-Циано-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15-октагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-иловый эфир уксусной кислоты.



Растворяют 2-этил-3-О-ацетил-17-циано-17-гидроксиэстрон (4 ммоль) в 10 мл безводного пиридина и добавляют по каплям SOCl_2 (1,46 мл, 20 ммоль). После этого раствор кипятят с обратным холодильником в течение 1 ч в атмосфере азота, охлаждают до температуры 0°C и гидролизуют до достижения pH 1 с помощью 5М водного раствора HCl . Органические соединения экстрагируют этилацетатом, последовательно промывают органический слой водой и соляным раствором и высушивают его над MgSO_4 . Выпаривают растворитель под вакуумом и получаемое таким образом маслянистое вещество темного цвета подвергают хроматографической очистке (гексан/этилацетат от 8:1 до 6:1), что приводит к 17-циано-2-этил-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15-октагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-иловому эфиру уксусной кислоты в виде порошкообразного вещества белого цвета (0,50 г, 36%), $t_{\text{пл.}} = 176-177^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270MHz): 0,94 (s, 3H, CH_3), 1,16 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,36-1,52 (m, 1H), 1,60-1,73 (m, 4H), 1,84-1,94 (m, 1H), 2,05-2,26 (m, 3H), 2,30 (s, 3H, CH_3CO), 2,39-2,52 (m, 4H), 2,86 (m, 2H, H6), 6,65 (dd, $J=3,5$ и $2,0\text{Hz}$, 1H, H16), 6,72 (s, 1H, ArH), 7,14 (s, 1H, ArH).

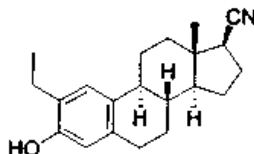
2-Этил-3-О-ацетил-17-циано-17-дезоксизэстрон.



К раствору 17-циано-13-метил-7,8,9,11,12,13,14,15-октагидро-6H-циклопента[а]фенантрен-3-

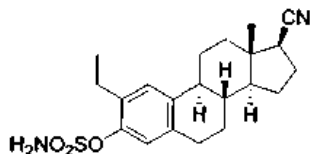
илового эфира уксусной кислоты (1 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) и метаноле (30 мл) добавляют 5% палладий на угле (30 мг) и перемешивают суспензию при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 24 ч. После этого фильтруют суспензию сквозь целит/песок и выпаривают растворители под вакуумом. Получаемый твердый остаток подвергают хроматографической очистке (гексан/этилацетат от 8:1 до 6:1), что приводит к 2-этил-3-О-ацетил-17-циано-17-дезоксистерону в виде порошкообразного вещества белого цвета (330 мг, 94%), $t_{пл.} = 195-196^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,99 (s, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,22-1,32 (m, 1H), 1,37-1,53 (m, 4H), 1,56-1,67 (m, 1H), 1,86-1,95 (m, 2H), 1,99-2,08 (m, 1H), 2,12-2,17 (m, 1H), 2,19-2,32 (m, 2H), 2,35 (s, 3H, CH_3CO), 2,38-2,47 (m, 2H), 2,53 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,88 (m, 2H, H6), 6,76 (s, 1H, ArH), 7,19 (s, 1H, ArH).

2-Этил-17-циано-17-дезоксистерон.



Растворяют 2-этил-3-О-ацетил-17-циано-17-дезоксистерон (0,8 ммоль) в ацетоне (10 мл) и метаноле (10 мл) и добавляют к раствору K_2CO_3 (0,55 г, 4 ммоль). Смесь перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре. После этого отфильтровывают соли и выпаривают растворители. Получаемое таким образом твердое вещество обрабатывают водным раствором NH_4Cl (до установления pH 1) и экстрагируют органические соединения этилацетатом. Органический слой последовательно промывают водой и соляным раствором и высушивают над MgSO_4 . Выпаривают растворитель под вакуумом и подвергают полученное таким образом твердое вещество хроматографической очистке (гексан/этилацетат от 8:1 до 6:1), после чего перекристаллизовывают его из гексана/этилацетата (4:1), что приводит к 2-этил-17-циано-17-дезоксистерону в виде порошкообразного вещества белого цвета (210 мг, 85%), $t_{пл.} = 284-285^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,95 (s, 3H, CH_3), 1,21 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,30-1,60 (m, 6H), 1,79-1,91 (m, 2H), 1,94-2,07 (m, 2H), 2,09-2,24 (m, 2H), 2,33-2,42 (m, 2H), 2,58 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,78 (m, 2H, H6), 4,50 (s, 1H, OH), 6,49 (s, 1H, ArH), 7,03 (s, 1H, ArH); ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 400МГц): 14,4 (CH_3), 14,5, 23,1, 24,3, 26,4, 26,7, 27,8, 29,1, 37,1, 39,2, 40,4, 43,7, 44,7, 53,5, 115,2, 121,3, 126,4, 127,4, 131,9, 135,2 и 151,3; микроанализ: C: 81,15 (ожидаемое содержание 81,51); H: 8,72 (ожидаемое содержание 8,79); N: 4,33 (ожидаемое содержание 4,53).

2-Этил-3-О-сульфамойл-17-циано-17-дезоксистерон.



Раствор $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$ (0,8 ммоль) в диметилацетамиде (2 мл) охлаждают до температуры 0°C и добавляют к 2-этил-17-циано-17-дезоксистерону (0,3 ммоль), после чего смесь перемешивают в течение 24 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. После этого добавляют воду (10 мл) и экстрагируют органические соединения этилацетатом (2×50 мл). Органический слой последовательно промывают водой, соляным раствором и высушивают над MgSO_4 . Растворитель выпаривают под вакуумом и очищают полученный твердый остаток с помощью колоночной хроматографии (гексан/этилацетат 5/1), после чего перекристаллизовывают его из гексана/этилацетата (5/1), что приводит к 2-этил-3-О-сульфамойл-17-циано-17-дезоксистерону в виде порошкообразного вещества белого цвета (100 мг, 86%), $t_{пл.} = 193-194^{\circ}\text{C}$; ^1H ЯМР (CDCl_3 , 270МГц): 0,95 (s, 3H, CH_3), 1,20 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,28-1,62 (m, 6H), 1,86 (m, 2H), 1,96-2,28 (m, 4H), 2,37 (m, 2H), 2,68 (q, $J=7,4\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2,83 (m, 2H, H6), 4,94 (s, 2H, NH_2), 7,08 (s, 1H, ArH), 7,18 (s, 1H, ArH); ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 400МГц): 14,4 (CH_3), 14,7, 23,1, 24,3, 26,1, 26,6, 27,5, 29,1, 37,0, 38,8, 40,3, 43,8, 44,6, 53,5, 121,2, 121,5, 127,0, 133,8, 135,7, 138,8 и 146,3; микроанализ: C: 64,95 (ожидаемое содержание 64,92); H: 7,29 (ожидаемое содержание 7,26); N: 7,11 (ожидаемое содержание 7,21).

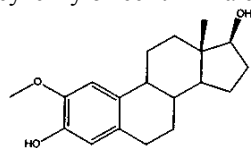
Биологические данные

Соединения, на которые здесь даются ссылки, могут быть идентифицированы либо по номерам соединений, используемым в предшествующем синтетическом разделе, либо по коду STX. Ниже перечислены номера соединений вместе с их соответствующими кодами STX.

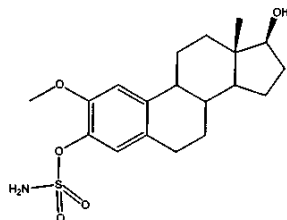
Номер соединения	Код STX
14a	441
14b	442
15	563
17a	590
17b	504

Номер соединения	Код STX
19	535
20	537
22	506
23	589
27	505
28	564
30	626
31	639
32	640
33	641
36	621
51	591
59	941
60	940

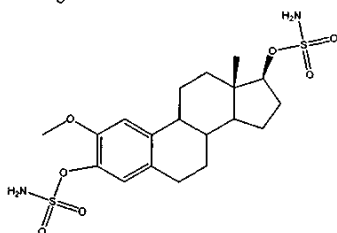
Кроме того, присутствуют ссылки на следующие соединения:



STX 66



STX 68



STX 140

Ингибирование стероидной сульфатазы

Номер соединения	Величины IC ₅₀ (нМ) для ингибирования стероидной сульфатазы в плацентарных микросомах:
28	945
31	9000
33	109
60	>10,000

Пролиферация клеток

Влияние препаратов на пролиферацию клеток измеряли с помощью анализа, использующего планшеты для титрования (анализ пролиферации Cell Titer 96, Promega, Hampshire, UK).

Номер соединения	IC ₅₀ в мкМ для ингибирования роста клеток рака молочной железы MCF-7
14a	30,6
14b	31,1
15	1,85
17a	0,67
17b	0,77
19	2,52
20	5,64
22	26,4
23	4,19
27	3,24
28	0,06
30	3,22

Номер соединения	IC ₅₀ в мкМ для ингибирования роста клеток рака молочной железы MCF-7
31	0,03
32	0,30
33	0,15
36	3,25
51	6,02
59	5,58
60	0,09

В нижеследующих анализах вещество STX 140 было использовано в качестве контрольного.

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)		
	MCF-7 клетки рака молочной железы	A2780 клетки рака яичников	PC3 клетки рака предстательной железы
STX 140	0,25	0,28	0,27
STX 641	0,15	0,09	0,05

Клетки пупочной вены человека; 96-ячеечные планшеты, анализ пролиферации с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолия, средняя степень ингибирования для трех ячеек +/- стандартное отклонение.

Концентрация	STX 140	Соединение 33	Соединение 28
0,05 мкМ	7% +/- 4	53% +/- 13	0% +/- 6
0,10 мкМ	18% +/- 1*	60% +/- 8	5% +/- 5
1,00 мкМ	59% +/- 3	48% +/- 6	54% +/- 10
5,00 мкМ	49% +/- 5	42% +/- 3	49% +/- 7

* Только двойное считывание.

Фибробласты кожи человека; 96-ячеечные планшеты, анализ пролиферации с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолия, средняя степень ингибирования для трех ячеек +/- стандартное отклонение.

Концентрация	STX 140	Соединение 33	Соединение 28
0,05 мкМ	0% +/- 6	2% +/- 2*	2% +/- 1
0,10 мкМ	2% +/- 6	10% +/- 4	0% +/- 2
1,00 мкМ	9% +/- 9	8% +/- 4	1% +/- 4
5,00 мкМ	18% +/- 12	0% +/- 7	6% +/- 5

* Только двойное считывание.

Клетки рака яичников A2780; трехдневные исследования, количество клеток.

Обработка	Количество клеток					
	день 0	стандартное отклонение	день 3	стандартное отклонение	день 6	стандартное отклонение
без обработки	1326000	221873,8	7620500	149315,9	7709500	272843,8
STX 641, 0,5 мкМ	1326000	221873,8	345084	44136,09	78734,83	12213,5
STX 641®, 0,5 мкМ	1326000	221873,8	345084	44136,09	88680	5448,237
STX 140, 0,5 мкМ	1326000	221873,8	679663,3	25472,96	204255,5	24555,12
STX 140®, 0,5 мкМ	1326000	221873,8	679663,3	25472,96	462869,8	21542,44

Обозначения STX 641® и STX 140® показывают, что проводилось исследование обратимости эффектов, вызванных препаратами STX 641 и STX140 соответственно. В этих исследованиях препарат удаляли на третий день, клетки промывали забуференным фосфатом физиологическим раствором, а затем добавляли среду для культивирования. Эти исследования показали, что в большинстве случаев действие препаратов было необратимым.

Эти данные представлены на фиг. 8.

Клетки рака предстательной железы PC3; трехдневные исследования, количество клеток.

Обработка	Количество клеток					
	день 0	стандартное отклонение	день 3	стандартное отклонение	день 6	стандартное отклонение
без обработки	168552,3	24330,94	1402666,7	192756,5	3142111	422890,6
STX 641, 0,5 мкМ	168552,3	24330,94	117351	9470,006	84191,33	15036,01

Обработка	Количество клеток					
	день 0	стандартное отклонение	день 3	стандартное отклонение	день 6	стандартное отклонение
STX 641®, 0,5 мкМ	168552,3	24330,94	117351	9470,006	95845,33	11029,65
STX 140, 0,5 мкМ	168552,3	24330,94	125218,67	16505,52	100059	10827,65
STX 140®, 0,5 мкМ	168552,3	24330,94	125218,67	16505,52	197780	3212,232

Обозначения STX 641® и STX 140® показывают, что проводилось исследование обратимости эффектов, вызванных препаратами STX 641 и STX140 соответственно. В этих исследованиях препарат удаляли на третий день, клетки промывали забуференным фосфатом физиологическим раствором, а затем добавляли среду для культивирования. Эти исследования показали, что в большинстве случаев действие препаратов было необратимым.

Эти данные представлены на фиг. 9.

Клоногенность в клетках рака яичников A2780.

Обработка		% клоногенности (относительно необработанных клеток)	стандартное отклонение
STX 140	0,25 мкМ	64,42	1,71
STX 140	1 мкМ	0,04	0,06
STX 641	0,25 мкМ	0,24	0,33
STX 641	1 мкМ	0,00	0,00

Эти данные представлены на фиг. 10.

Ингибирование вызываемой таксолом полимеризации микротрубочек.

Способность препаратов ингибировать вызываемую таксомом полимеризацию тубулина измеряли по степени помутнения при длине волны 350 нм. Тубулин (Cryoskeleton Inc., Denver, CO) с конечной концентрацией 1 мг/мл инкубировали при температуре 32°C в буферном растворе G-PEM [80 mM полуторанатриевой соли пиперазин-N,N'-бис(2-этансульфокислоты), 1 mM MgCl₂, 1 mM этилен-бис(оксипропиленнитрило)тетрауксусной кислоты и 1 mM гуанозин-5'-трифосфата (pH 6,8)] в присутствии таксола и в присутствии или отсутствии производных эстрогена (20 мкМ).

На фиг. 3 представлено ингибирование вызываемой таксомом полимеризации тубулина, вызванное STX641 и родственными соединениями.

STX641, как полагают, действует в качестве направленного против микротрубочек средства, т.е. разрывает действие микротрубочек. Для того чтобы продемонстрировать это, тубулин инкубировали в присутствии таксола (соединения, способствующего, как известно, полимеризации тубулина). Таксол вызывает эффективную сборку микротрубочек *in vitro*, что можно заметить по увеличению мутности, измеренному при длине волны 350 нм. Добавление STX641, STX 505, STX564 или STX640 к реакционной смеси тубулина и таксола эффективно блокирует сборку тубулина, при этом регистрируют небольшой прирост мутности. Эти результаты показывают, что STX641 и родственные соединения ингибируют полимеризацию тубулина *in vitro* и что подобные соединения, вероятно, нарушают динамику микротрубочек (и, как следствие, рост опухолей) и *in vivo*.

Ингибирование поглощения глюкозы.

Для измерения ингибирования накопления в клетках глюкозы клетки помещали в 12-ячеечные планшеты и выращивали до слияния. Затем клетки промывали забуференным фосфатом физиологическим раствором и инкубировали в течение 15 мин в буферном растворе для инкубирования, содержащем 1 мкКи 2-дезоксид-³H-глюкозы (NEN-Dupont, UK) на ячейку в отсутствие или в присутствии потенциальных ингибиторов (0,1-10 мкМ). Поглощение прекращали посредством промывания клеток холодным (4°C) забуференным фосфатом физиологическим раствором. После этого солибилизировали клетки в тритоне-X в 0,01M растворе гидроксида натрия и исследовали с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика (Singh и др., Molecular and Cellular Endocrinology, 160: 61-66, 2000).

Соединение	Процент ингибирования поглощения глюкозы	
	клетки MCF-7	клетки MDA MB 231
STX 66	37%	32%
STX 68	66%	70%
STX 140	68%	77%
STX 641	28%	60%

На фиг. 4 представлено ингибирование поглощения глюкозы. Повышенное поглощение глюкозы (в качестве источника энергии) является отличительной чертой большинства раковых клеток. Глюкоза поступает внутрь клетки в результате действия ряда транспортёров глюкозы, и один из таких транспортёров (антигенов GLUT 1) сверхэкспрессируется в злокачественных тканях молочной железы. Фиг. 4 показывает, что STX 641 (и родственные соединения) ингибируют поглощение глюкозы клетками рака молочной железы MCF-7 (положительные к эстрогенному рецептору, ER+) и MDA-MB-231 (ER-). Ингибирование поглощения глюкозы *in vivo* должно ингибировать рост опухолей, что может оказаться важным механизмом, посредством которого STX 641 и родственные соединения будут ингибировать рост опухолей у пациентов.

Влияние на формирование сосудов.

Влияние препаратов на формирование сосудов (измеряемое в качестве характеристики их ангиогенного потенциала) анализировали с помощью набора Angiogenesis (TCS-Cellworks Ltd (Bucks, UK). С этой целью культивировали клетки эндотелия пупочной вены человека (HUVECs) в 24-ячеечной планшете в матриксе из диплоидных человеческих фибробластов кожного происхождения. Совместно культивируемые клетки инкубировали в течение всего эксперимента при температуре 37°C в присутствии в атмосфере 5% CO₂ в увлажняемом инкубаторе. В первый день среду для культивирования удалили и заменили средой, содержащей исследуемые препараты. На четвертый, седьмой и девятый дни среду заменяли на свежую среду, содержащую исследуемые препараты. На 11 день клетки промыли забуференным фосфатом физиологическим раствором и 70% этанолом (1 мл), который добавляли на 30 мин в каждую ячейку для фиксации клеток. После фиксации клетки промыли блокирующим буферным раствором (1 мл забуференного фосфатом физиологического раствора + 1% бычьего сывороточного альбумина, Sigma, UK) и окрасили или фактором фон Виллебранда, или антителами CD31. Степень формирования сосудов количественно оценивали путем ручного подсчета или компьютерного анализа. Изображения получали с помощью цифрового фотоаппарата Kodak DC120. Кроме этого, подробности вызванных препаратами изменений в формировании сосудов также регистрировали в результате сканирования планшетов с высоким разрешением; некоторые из результатов сканирования представлены в виде изображений, обработанных с помощью программы Photoshop.

Большинство солидных опухолей может продолжать расти после достижения размера в 1-2 мм только при условии развития в них сети кровеносных сосудов, что позволяет им получать основные пи-

тательные вещества для поддержки своего роста (процесс, известный под названием ангиогенез). Препараты, блокирующие этот ангиогенный процесс, должны, таким образом, ингибировать рост широкого диапазона солидных опухолей. В данном анализе способность STX 641 (и родственных соединений) выступать в качестве ингибиторов ангиогенеза исследовали с помощью совместного выращивания клеток HUVECs и дермальных фибробластов. В данной системе клетки эндотелия образуют вначале небольшие островки в матриксе фибробластов. После этого они разрастаются и входят в фазу миграции, во время которой они двигаются сквозь матрикс с целью образования нитевидных сосудистых структур. Они слипаются с целью образования сети анастомозирующих сосудов. На фиг. 5 и 6 представлены типичные данные о влиянии STX 641 на образование сосудов. На фиг. 5 ясно видна нитевидная природа развитой сети сосудов, полученной в необработанных (контрольных) совместно выращенных культурах клеток HUVECs и дермальных фибробластов. Напротив, в случае обработки совместно культивируемых клеток веществом STX 641 (0,1 мкМ) сосуды оказались полностью разрушены, что указывало на сильные антиангиогенные свойства данного препарата. На фиг. 6 показаны планшеты, изображение которых получено посредством сканирования с высоким разрешением и последующей обработки с целью получения точечных изображений. Как и в предыдущем случае, нитевидные сосуды четко видны в необработанных (контрольных) совместно выращенных клеточных культурах, тогда как STX 641 (и STX 140) в концентрации 0,05 мкМ полностью прекращают формирование сосудов.

Степень ингибирования формирования сосудов может быть оценена количественно с помощью компьютерного анализа (фиг. 7). Как показано, STX 641, STX 564 и STX 639 в концентрациях 0,05 мкМ и 0,1 мкМ полностью ингибируют формирование сосудов, что подтверждает антиангиогенный потенциал этих соединений.

Ингибирование формирования микроскопических сосудов.

Исследуемое соединение	концентрация		Площадь поля	Число соединений	Число сосудов	Общая длина сосудов	Средняя длина сосудов
контроль			701290	29	150	20601,79	137,35
			695889	28	118	18467,03	156,5
			694610	20	138	21041,03	152,47
контроль		2 нг/мл VEGF	785729	120	312	37507,58	120,22
			762576	68	230	34816,21	151,37
			763322	93	246	35338,12	143,65
STX 140	40 нМ	2 нг/мл VEGF	627527	8	37	3064,85	82,83
			619251	5	40	3851,64	96,29
			638786	14	45	3619,74	80,44
	20 нМ	2 нг/мл VEGF	749415	25	115	13509,76	117,48
			687717	22	94	10489,22	111,59
			674918	26	92	8191,48	89,04
STX 641	20 нМ	2 нг/мл VEGF	593238	1	5	248,31	49,66
			605489	4	14	505,5	36,11
			582954	3	13	474,05	36,47
	40 нМ	2 нг/мл VEGF	588528	3	6	99,77	16,63
			597370	4	7	244,17	34,88
			591356	3	5	83,7	16,74
STX 564	20 нМ	2 нг/мл VEGF	661539	3	24	2152,74	89,7
			647067	2	14	1047,45	74,82
			686243	2	15	1182,8	78,85
	4 нМ	2 нг/мл VEGF	625377	0	7	497,27	71,04
			620605	4	7	431,5	61,64
			628052	2	9	565,8	62,87

В каждом случае калибровка составляла 1,0 пиксель, а площадь изображения - 3211216. VEGF означает фактор роста сосудистого эндотелия.

Эти данные представлены на фиг. 11.

Остановка клеточного цикла и апоптоз.

Клетки рака молочной железы MCF-7.

Проточный цитометрический анализ клеточного цикла осуществляли на 40% слившихся популяциях MCF-7, добавляя 500 нМ соединения.

Через 8 ч STX 140, STX 640 и STX 641 вызвали остановку в фазах G2/M в заметной степени по сравнению с контрольным опытом (от 16 до 27%).

Через 24 ч нахождения в среде STX 641, 68% клеток были остановлены в фазах G2/M в сравнении с контрольным опытом (28%), STX 140 (28%) и STX 640 (18%). Указанный рост клеточной популяции в фазах G2/M сопровождался снижением популяции в фазах G1 и S (от 37 до 15% и от 30 до 9% соответственно). У клеток, обработанных STX 140, наблюдался существенный рост популяции в подфазе G1, что, как правило, является показателем апоптоза (36% по сравнению с 2% в контрольных клетках).

Через 48 ч клетки, обработанные STX 641, все еще были остановлены в фазах G2/M без существен-

ного роста апоптотической популяции в подфазе G1. Клетки, обработанные STX 140, продолжали демонстрировать повышенную клеточную популяцию в подфазе G1.

Клетки рака яичников A2780.

На фиг. 12 показано действие STX 641 в концентрации 1 мкМ на клетки рака яичников A2780, в частности, остановка в фазе G2/M, вызванная STX 641 через 24 ч (графики слева). На графиках справа показаны результаты анализа методом клеточного сортирования с активацией флуоресценции для клеток, окрашенных антителом аннексии V. В контрольных образцах не происходило экспрессии клеточной поверхности, на что указывает отсутствие пика в зоне M2. Напротив, клетки, обработанные STX 641, продемонстрировали заметный рост степени окрашивания этим маркером апоптоза, на что указывает рост в зоне M2, свидетельствуя о том, что соединение вызывает апоптоз.

Модель с ксенотрансплантатом на бестимусных мышах с мутацией nude.

Модель на мышах с мутацией nude для клеток рака молочной железы MCF-7.

Взрослым женским особям бестимусных мышей ICRF (пи/пи) мышей вводили клетки подкожно MCF-7 в количестве 10×10^6 клеток на 0,1 мл матригеля и отслеживали еженедельно рост опухолей. По достижении опухолями 100-150 мм³ в объеме, мышей разделяли на следующие группы:

А) контрольная группа: носитель 0,1 мл перорально 5 раз в неделю в течение 3 недель;

Б) STX 140: 20 мг/кг перорально 5 раз в неделю в течение 3 недель;

В) STX 641: 20 мг/кг перорально 5 раз в неделю в течение 3 недель.

Мышам впрыскивали внутривенно 0,1 мл 25 мг/мл раствора флуоресцеинизотиоцианта и декстрана за 20 мин перед умерщвлением для обеспечения визуализации и возможности количественной оценки степени ангиогенеза опухоли.

Результаты этого исследования представлены на следующих фигурах.

На фиг. 13 представлено воздействие STX 140 и STX 641 (20 мг/кг перорально) на рост опухолей из клеток рака молочной железы MCF-7 у бестимусных мышей ICRF.

STX 140 привел к 59% регрессии опухолей, а STX 641 обеспечил 25% регрессию опухолей за трехнедельный период введения.

На фиг. 14 представлены флуоресцентные фотографии, отражающие воздействие обработки с помощью STX 140 и STX 641 (20 мг/кг перорально) на сосудистую сеть опухолей.

Полученное с помощью флуоресцеинизотиоцианата изображение опухолей показало, что у мышей контрольной группы имеется выраженная структурированная сосудистая сеть, тогда как у животных, подвергнутых обработке STX 140 и STX 641, сосудистая сеть опухоли была нарушена и выражена слабо.

На фиг. 15 представлено воздействие STX 140 и STX 641 (20 мг/кг) на ангиогенез опухоли в опухолях молочной железы MCF-7.

Количественная оценка ангиогенеза опухолей с помощью флуоресцеинизотиоцианата показала, что как STX 140, так и STX 641 обеспечили существенное ингибирование ангиогенеза опухолей (40 и 60% соответственно).

На фиг. 16 представлено воздействие STX 140 и 641 (20 мг/кг перорально) на активность сульфатазы в печени и опухоли у бестимусных мышей с мутацией nude.

Активность сульфатазы в печени была ингибирована как STX 140, так и STX 641 почти полностью.

На фиг. 17 представлено воздействие STX 140 и 641 (20 мг/кг перорально) на массу бестимусных мышей с мутацией nude, подвергнутых трехнедельному воздействию препаратов.

В течение введения ни в одной из групп никакого снижения массы не наблюдалось.

Карбоангидраза.

Соединение	CA2 IC ₅₀
ацетазоламид	25 нМ
STX 140	400 нМ
STX 641	1 мкМ
2-метоксиэстрадиол	ингибирования не обнаружено

Ингибирующие активности карбоангидраз CA2 и CA9 взаимосвязаны (Vullo 2003, BioOrg. Med. Chem.).

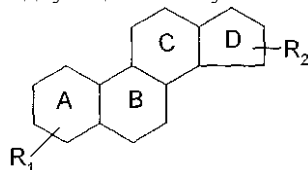
Все публикации и патенты, упомянутые в вышеприведенной спецификации, включены в контекст в виде ссылок.

Различные модификации и вариации настоящего изобретения должны быть очевидны для специалистов в соответствующей области без отступления от объема и сущности изобретения. Несмотря на то, что изобретение описано в связи с конкретными предпочтительными вариантами осуществления, следует понимать, что изобретение в том виде, в каком оно заявлено, не должно быть необоснованно ограничено такими конкретными вариантами осуществления. Действительно, подразумевается, что различные модификации описанных способов осуществления изобретения, очевидные для специалистов в области

химии, биологии или смежных областях, включены в объем нижеследующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, включающее стероидную циклическую систему



и необязательно группу R^1 , выбранную из гидроксигруппы и сульфатной группы;

где цикл D, входящий в стероидную циклическую систему, замещен группой R^2 формулы $-L-R^3$, в которой L является необязательной мостиковой группой, представляющей собой (C_1-C_{10}) алкиленовую группу, а R^3 выбран из группы, включающей

нитрильную группу,

спирт $C_0-C_{40}-OH$,

сложный эфир $-C(O)OR^{17}$,

простой эфир, выбранный из группы, состоящей из $-OR^{10}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-CR^{10}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-OR^{16}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-S-R^{16}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_pNR^{11}R^{12}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_pC\equiv N$, $-O-CH=CH_2$, $-OSO_2R^9$, $-(CH_2)_qO-R^{16}$, $-(CH_2)_qS-R^{16}$, $=CH-OR^{10}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pOR^{10}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qO-R^{16}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_q-S-R^{16}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pOR^{10}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qO-R^{16}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qS-R^{16}$,

амин, выбранный из группы, состоящей из $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pSO_2R^9$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pOR^{10}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pC(O)OR^{17}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pC\equiv N$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qO-R^{16}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qS-R^{16}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pNR^{11}R^{12}$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pC\equiv CH$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pCH=CH_2$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pNR^{11}R^{12}$, $-O-(CR^{14}R^{15})_pNR^{11}R^{12}$ и $-NR^{11}R^{12}$, и

алкен, выбранный из группы, состоящей из $=CH-(CR^{14}R^{15})_pSO_2R^9$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pOR^{10}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pC(O)OR^{17}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qO-R^{16}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_p(CH_2)_qS-R^{16}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pC\equiv N$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pNR^{11}R^{12}$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pC\equiv CH$, $=CH-(CR^{14}R^{15})_pCH=CH_2-O-(CR^{14}R^{15})_pCH=CH_2$, $NR^{13}(CR^{14}R^{15})_pCH=CH_2$,

где R^{10} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; R^{11} и R^{12} независимо друг от друга выбирают из (C_1-C_{10}) алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин;

где R^{13} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; R^{14} и R^{15} независимо друг от друга выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; R^{16} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила и R^{17} представляет собой (C_1-C_{10}) алкил,

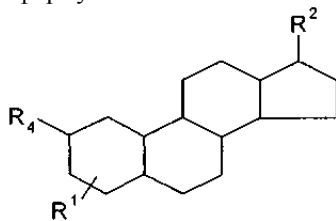
q является целым числом от 0 до 20;

p является целым числом от 0 до 20;

при том условии, что когда R^3 является спиртом или включает его, L наличествует; и

цикл A, принадлежащий к стероидной циклической системе, замещен по положению 2 группой R^4 , где R^4 выбирают из атома водорода, (C_1-C_6) алкила и (C_1-C_6) алкокси.

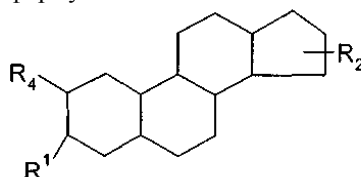
2. Соединение по п.1 формулы II



формула II

где R^1 является необязательной группой, выбранной из $-OH$ и сульфатной группы.

3. Соединение по п.1 формулы III

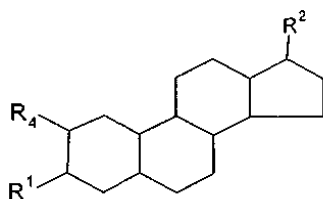


формула III

где R^1 является необязательной группой выбранной из $-OH$ и сульфатной группы.

4. Соединение по п.1 формулы IV

формула IV



где R^1 является необязательной группой, выбранной из -ОН и сульфаматной группы.

5. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R^4 представляет собой метокси-группу.

6. Соединение по любому из пп.1-4, в котором R^4 является этилом.

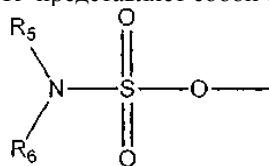
7. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором в тех случаях, когда цикл А замещен группами R^1 и R^4 , R^4 находится в орто-положении по отношению к R^1 .

8. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R^1 присутствует.

9. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R^1 представляет собой -ОН.

10. Соединение по любому из пп.1-7, в котором R^1 представляет собой сульфаматную группу.

11. Соединение по п.10, в котором R^1 представляет собой сульфаматную группу формулы



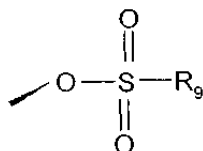
в котором R^5 и R^6 независимо выбирают из атома водорода, (C_1-C_{20}) алкильной, (C_3-C_6) циклоалкильной, (C_2-C_{10}) алкенильной, и арильных, таких как фенильная или толильная, групп или их комбинаций, причем алкильная, или циклоалкильная, или алкенильная, или арильная группы, или каждая из этих групп обязательно содержат один или более гетероатом или группу, выбранную из -О- или -NH-.

12. Соединение по п.11, в котором по меньшей мере одна из групп R^5 и R^6 представляет собой атом водорода.

13. Соединение по п.12, в котором каждая из групп R^5 и R^6 представляет собой атом водорода.

14. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R^3 представляет собой нитрильную группу или включает ее.

15. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R^3 представляет собой группу формулы



где R^9 выбирают из Н и (C_1-C_{20}) алкила.

16. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R^3 является группой формулы $-(R^7)_n(CR^{14}R^{15})_pR^8$, в которой

n принимает значения 0 или 1, а p обозначает целое число от 0 до 20;

R^7 выбирают из $=CH-$, $-O-$ и NR^{13} ;

R^8 выбирают из $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$ и $-CH=CH_2$;

R^9 представляет собой замещенный или незамещенный амин;

R^{10} выбирают из Н и (C_1-C_{20}) алкила;

R^{11} и R^{12} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин;

R^{13} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила;

R^{14} и R^{15} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила;

q является целым числом от 0 до 20;

X обозначает О или S;

R^{16} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; и

R^{17} выбирают из атома водорода и (C_1-C_2) алкила.

17. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R^3 является группой формулы $-(CR^{14}R^{15})_pR^8$, где p обозначает число от 0 до 20; R^8 выбирают из $-SO_2-R^9$, $-C(O)OR^{17}$, $-OR^{10}$, $(CH_2)_q-X-R^{16}$, $-C\equiv N$, $-NR^{11}R^{12}$ и $-CH=CH_2$; R^9 представляет собой замещенный или незамещенный амин; R^{10} выбирают из Н и (C_1-C_{20}) алкила; R^{11} и R^{12} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин; R^{14} и R^{15} , каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; q является целым числом от 0 до 20; X обозначает О или S; R^{16} выбирают из атома водорода и (C_1-C_{20}) алкила; и R^{17} выбирают из атома водорода

и (C₁-C₂₀)алкила.

18. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R³ является группой формулы -(CH₂)_pR⁸, где p обозначает число от 0 до 20; R⁸ выбирают из -SO₂-R⁹, -C(O)OR¹⁷, -OR¹⁰, (CH₂)_q-X-R¹⁶, -C≡N, -NR¹¹R¹² и -CH=CH₂; R⁹ представляет собой замещенный или незамещенный амин; R¹⁰ выбирают из H и (C₁-C₂₀)алкила; R¹¹ и R¹², каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C₁-C₂₀)алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин; q является целым числом от 0 до 20; X обозначает O или S; R¹⁶ выбирают из атома водорода и (C₁-C₂₀)алкила; и R¹⁷ выбирают из атома водорода и (C₁-C₂₀)алкила.

19. Соединение по любому из пп.1-15, в котором R³ является группой формулы -(R⁷)_nR⁸, где n принимает значения 0 или 1; R⁷ выбирают из =CH-, -O- и NR¹³; R⁸ выбирают из -SO₂-R⁹, -C(O)OR¹⁷, -OR¹⁰, (CH₂)_q-X-R¹⁶, -C≡N, -NR¹¹R¹², -C≡CH и -CH=CH₂; R⁹ представляет собой замещенный или незамещенный амин; R¹⁰ выбирают из H и (C₁-C₂₀)алкила; R¹¹ и R¹², каждый независимо друг от друга, выбирают из атома водорода и (C₁-C₂₀)алкила или они вместе образуют морфолин, пирролидин или пиперидин; R¹³ выбирают из атома водорода и (C₁-C₂₀)алкила; q является целым числом от 0 до 20; X обозначает O или S; R¹⁶ выбирают из атома водорода и (C₁-C₂₀)алкила; и R¹⁷ выбирают из атома водорода и (C₁-C₂₀)алкила.

20. Соединение по любому из пп.16-19, в котором p принимает значения от 0 до 5.

21. Соединение по любому из пп.16-20, в котором p принимает значение 0, 1 или 2.

22. Соединение по любому из пп.16-21, в котором R⁸ представляет собой -SO₂-R⁹.

23. Соединение по любому из пп.16-22, в котором R¹⁰ выбирают из атома водорода и (C₁-C₁₀)алкила.

24. Соединение по любому из пп.16-23, в котором R¹⁰ представляет собой атом водорода или -CH₃.

25. Соединение по любому из пп.16-24, в котором R¹¹ и R¹² независимо выбирают из атома водорода и (C₁-C₁₀)алкила.

26. Соединение по любому из пп.16-25, в котором R¹¹ и R¹² независимо выбирают из атома водорода и -CH₃.

27. Соединение по любому из пп.16-26, в котором R¹³ выбирают из атома водорода и (C₁-C₁₀)алкила.

28. Соединение по любому из пп.16-27, в котором R¹³ является атомом водорода.

29. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором R³ представляет собой группу, выбранную из =CHC(O)OEt, -CH₂C(O)OEt, =CHCH₂OH, -CH₂CH₂OH, -CH₂C≡N, =CHC≡N, -NHCH₂CH₂N(Me)₂, -OCH₂CH₂OMe.

30. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором L представляет собой (C₁-C₅)алкилен.

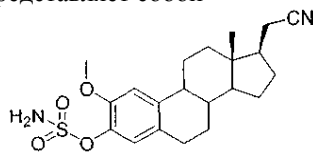
31. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором L представляет собой C₁ или C₂ алкилен.

32. Соединение по любому из пп.1-29, в котором R² представляет собой группу формулы -R³.

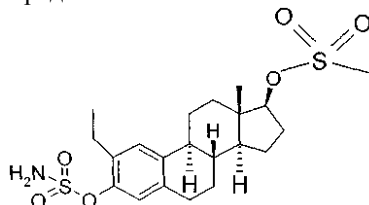
33. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором группа R² находится в α-конформации.

34. Соединение по любому из предшествующих пунктов, в котором группа R² находится в α-конформации в положении 17 цикла D.

35. Соединение по п.1, которое представляет собой



36. Соединение по п.1, которое представляет собой



37. Фармацевтическая композиция, включающая:

- i) соединение, как оно определено в любом из предшествующих пунктов; и
- ii) модификатор биологической ответной реакции.

38. Композиция по п.37, в которой модификатор биологической ответной реакции является цитокином.

39. Композиция по п.38, в которой цитокин представляет собой фактор некроза опухолей (TNF).

40. Композиция по п.39, в которой TNF представляет собой TNFα.

41. Фармацевтическая композиция, включающая:

(а) (i) соединение, как оно определено в любом из пп.1-36 или (ii) композицию, как она определена в любом из пп.37-40, и

(б) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, наполнитель или адъювант.

42. Применение соединения, как оно определено в любом из пп.1-36, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для профилактики и/или ингибирования роста опухолей.

43. Применение соединения, как оно определено в любом из пп.1-36, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для применения в лечении состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: активностью стероидной сульфатазы (STS); протеканием клеточного цикла; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек; и апоптозом.

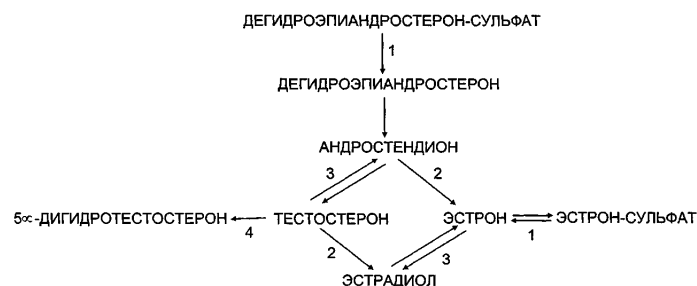
44. Применение соединения, как оно определено в любом из пп.1-36, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для применения в лечении состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: неблагоприятной активностью стероидной сульфатазы (STS); протеканием клеточного цикла; апоптозом; ростом клеток; поглощением опухолью глюкозы; ангиогенезом опухоли; образованием микротрубочек и апоптозом.

45. Применение соединения, как оно определено в любом из пп.1-36, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для ингибирования активности стероидной сульфатазы (STS); модуляции протекания клеточного цикла; модуляции апоптоза; модуляции роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек и стимуляции апоптоза.

46. Применение соединения, как оно определено в любом из пп.1-36, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для ингибирования активности стероидной сульфатазы (STS).

47. Применение соединения, как оно определено в любом из пп.1-36, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для модуляции клеточного роста.

48. Способ лечения состояния или заболевания, связанного с одним или более из следующих факторов: активностью стероидной сульфатазы (STS); модуляцией протекания клеточного цикла; модуляцией апоптоза; модуляцией роста клеток; предотвращения и/или подавления поглощения опухолью глюкозы; предотвращения и/или ингибирования ангиогенеза опухоли; разрушения микротрубочек и/или стимуляцией апоптоза, включающий введение нуждающемуся в лечении субъекту соединения, как оно определено в любом из пп.1-36.

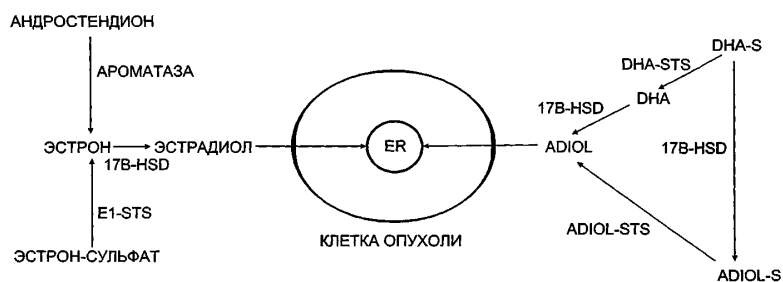


КЛЮЧЕВЫЕ ФЕРМЕНТЫ В СТЕРОИДОГЕНЕЗЕ:

1. СУЛЬФАТАЗА 2. АРОМАТАЗА 3. ДЕГИДРОГЕНАЗА 4. 5α-РЕДУКТАЗА

Фиг. 1

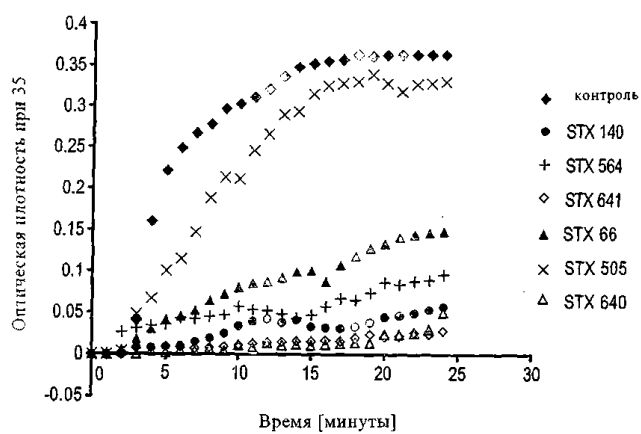
ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЭСТРОГЕННЫХ СТЕРОИДОВ У ЖЕНЩИН В ПОСТКЛИМАКТЕРИЧЕСКИЙ ПЕРИОД



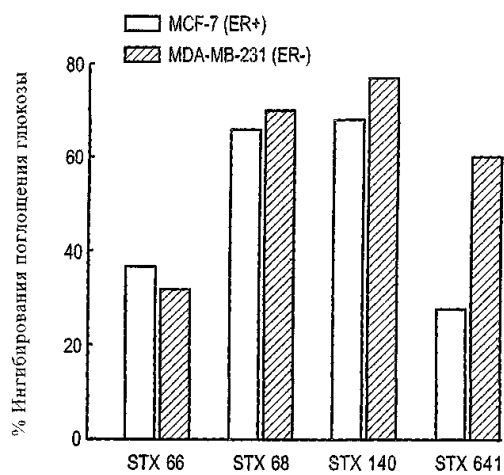
ER - ЭСТРОГЕННЫЙ РЕЦЕПТОР, ДНА - ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОН, ДНА-S - ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОН-СУЛЬФАТ, ADOL - АНДРОСТЕНДИОЛ, E1-STs - ЭСТРОНСУЛЬФАТАЗА, ДНА-STs - ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНСУЛЬФАТАЗА, ADOL-STs - АНДРОСТЕНДИОЛСУЛЬФАТАЗА, 17β-HSD - ЭСТРАДИОЛ-17β-ГИДРОКСИСТЕРОИДДЕГИДРОГЕНАЗА

Фиг. 2

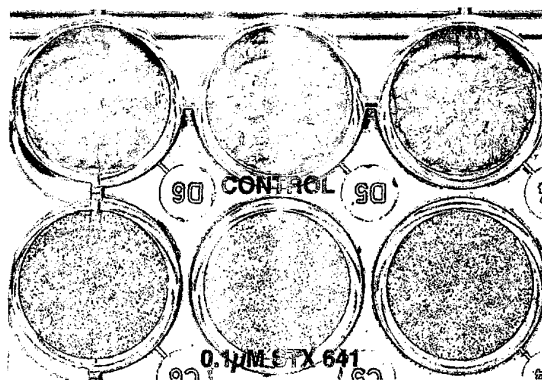
Эффект 2-замещенных E2 производных [20мкМ] на таксол-индуцированную полимеризацию тубулина

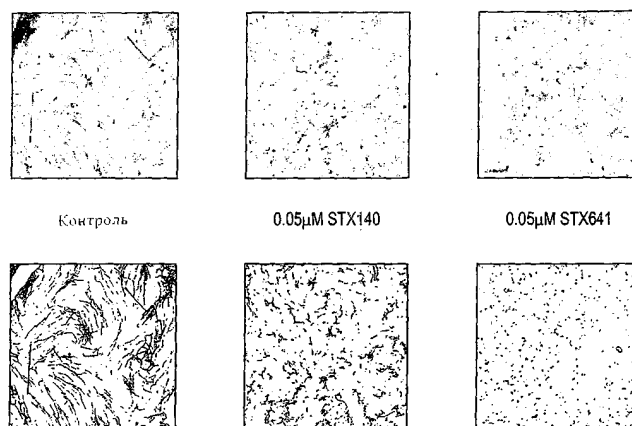


Ингибирование поглощения глюкозы соединениями с ангионым действием в ER + и ER-клетках рака молочной железы

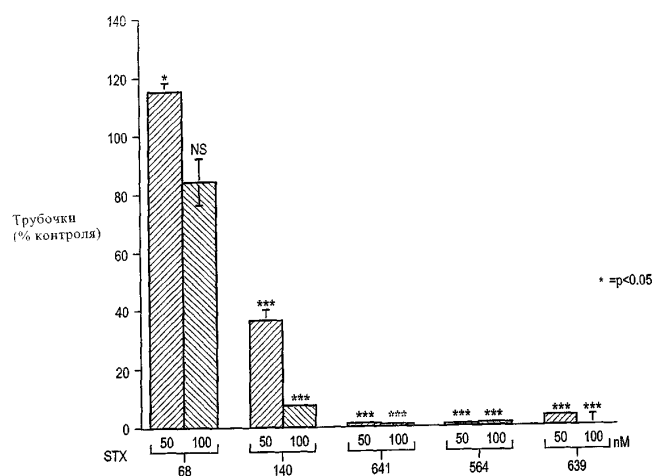


(Все соединения тестировались при 10мкМ)

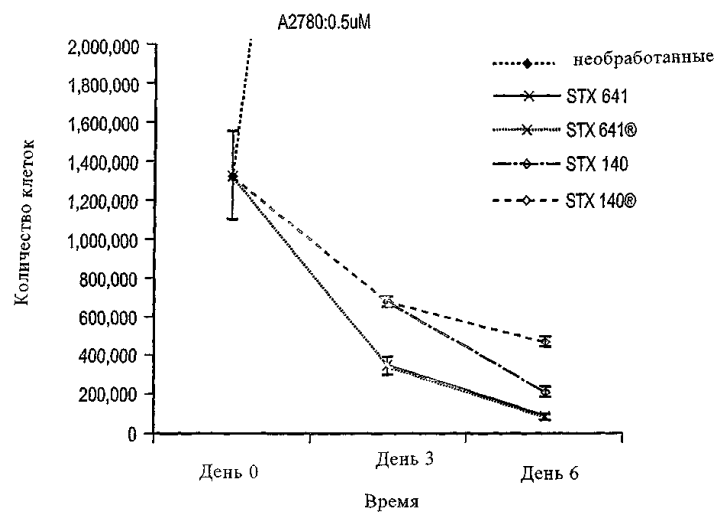




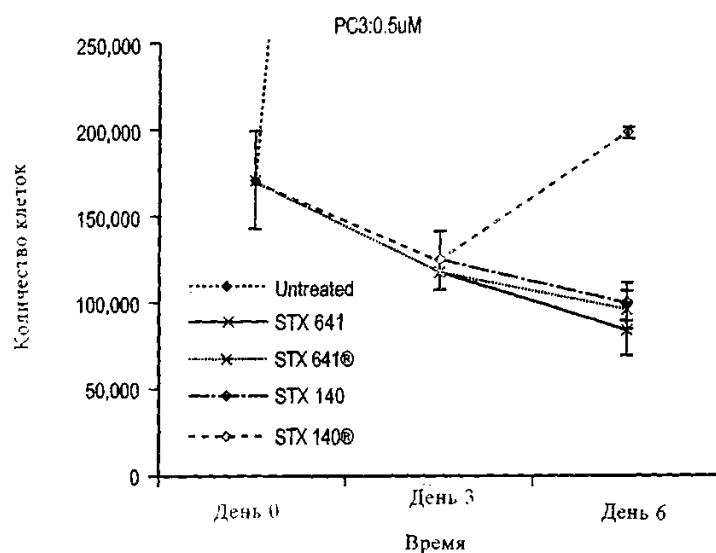
Фиг. 6



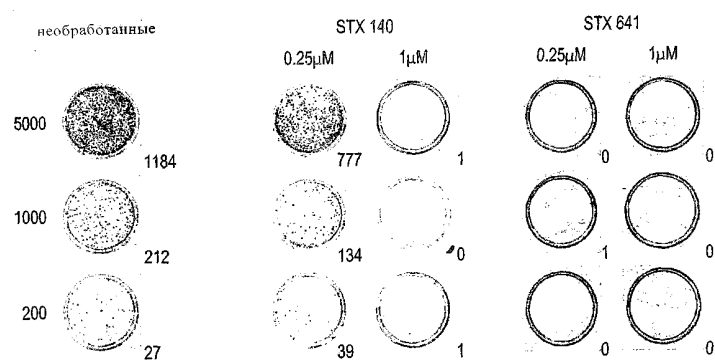
Фиг. 7



Фиг. 8

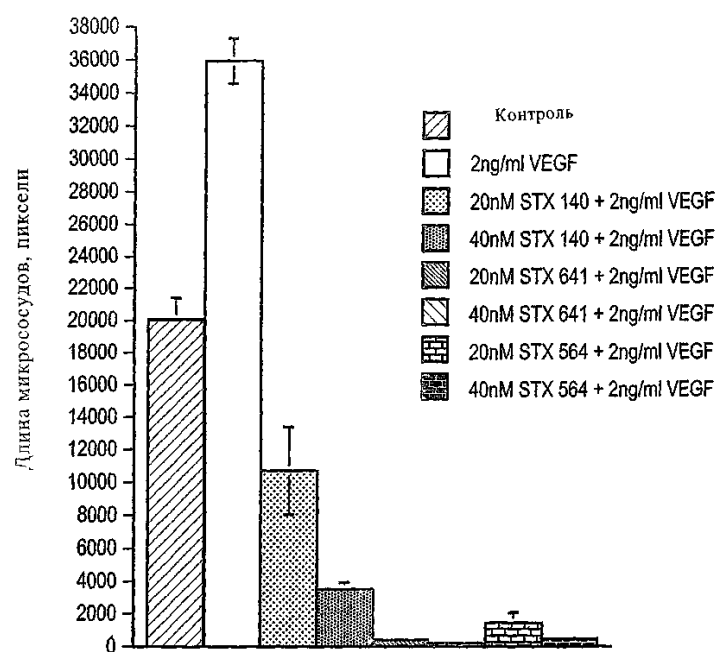


Фиг. 9

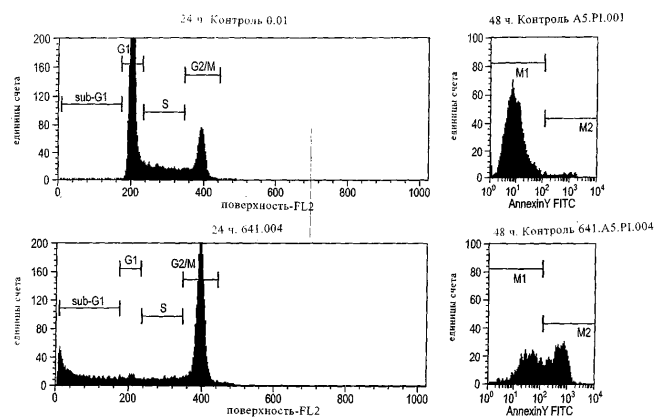


Фиг. 10

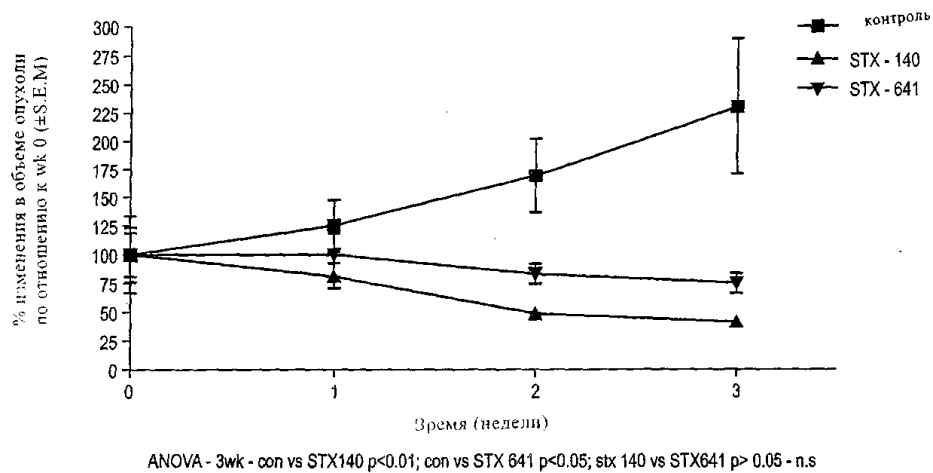
Ангиома II; АнгиоНабор



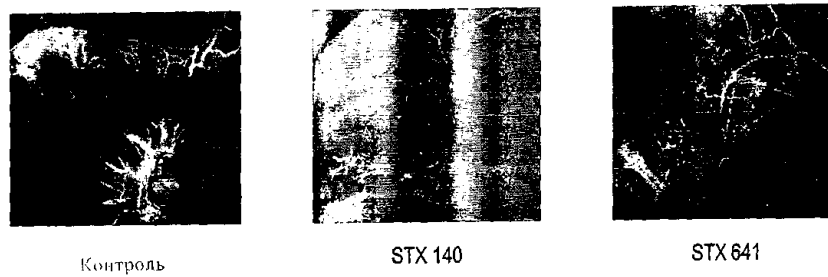
Фиг. 11



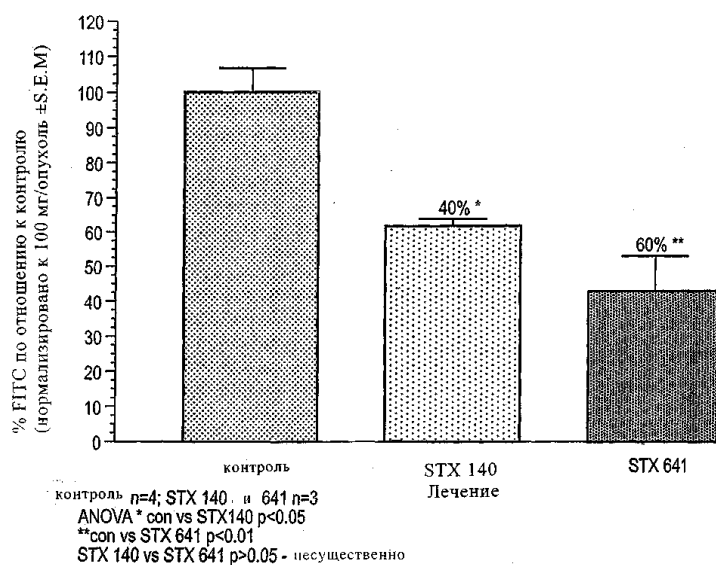
Фиг. 12



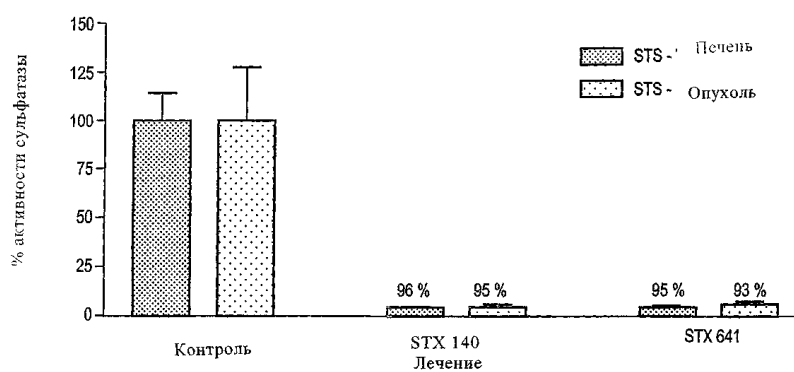
Фиг. 13



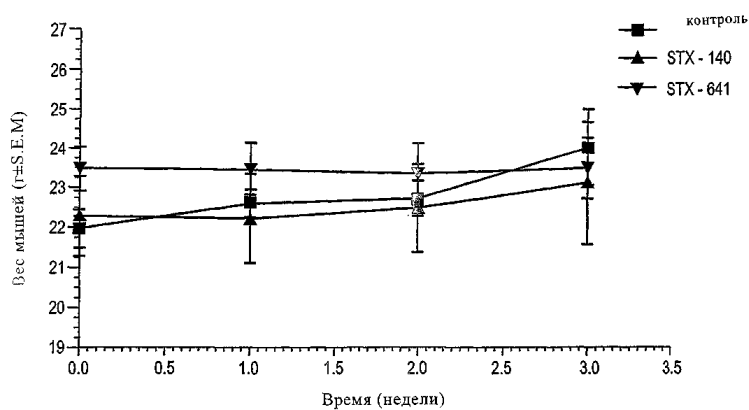
Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2/6