



(19) **UA** (11) **76 079** (13) **C2**
(51)МПК

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 20041109227, 09.04.2003

(24) Дата начала действия патента: 15.06.2006

(30) Приоритет: 11.04.2002 FR 02/04499

(46) Дата публикации: 15.06.2006C07C 213/00
20060101CFI20060516VHUA C07D
263/06 20060101ALI20060516RHUA

(86) Заявка PCT:
PCT/FR03/01117, 20030409

(72) Изобретатель:

Мютти Стефан, FR,
Лавинь Мишель, FR,
Малежонок Ирина, FR,
Казимир Жан-Поль, FR

(73) Патентовладелец:

АВЕНТИС ФАРМА С.А., FR

(54) СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОМБРЕТАСТАТИНА И ЕГО СОЛЕЙ, ПРОМУЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

(57) Реферат:

Способы получения комбретастина путем конденсации согласно способу Витгига нитрометоксибензальдегида и фосфониевой соли триметоксибензила или, наоборот, фосфониевой соли нитрометоксибензила и триметоксибензальдегида или путем реакции Витгига между этими же производными, в которых

нитрогруппа восстановлена до аминогруппы.

Официальный бюлетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2006, N 6, 15.06.2006. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.



(19) **UA** ⁽¹¹⁾ **76 079** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) Int. Cl.

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF
UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL
PROPERTY

(12) **DESCRIPTION OF PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION**

(21), (22) Application: 20041109227, 09.04.2003

(24) Effective date for property rights: 15.06.2006

(30) Priority: 11.04.2002 FR 02/04499

(46) Publication date: 15.06.2006C07C 213/00
20060101CFI20060516VHUA C07D
263/06 20060101ALI20060516RHUA

(86) PCT application:
PCT/FR03/01117, 20030409

(72) Inventor:

Mutti Stephane, FR,
Lavigne Michel, FR,
Malejonock Irina, FR,
Casimir Jean-Paul, FR

(73) Proprietor:

AVENTIS PHARMA S.A., FR

(54) methods for preparing combretastatin and salts thereof, an intermediary compound

(57) Abstract:

The invention concerns novel methods for preparing combretastatins by Wittig condensation between nitromethoxy-benzaldehyde and a trimethoxybenzyl phosphonium salt or inversely a nitromethoxybenzyl phosphonium salt with trimethoxyben-zylaldehyde or further by a Wittig reaction on the same derivatives whereof the

nitro function has been reduced into an amino group.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2006, N 6, 15.06.2006. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.



(19) **UA** (11) **76 079** (13) **C2**
(51)МПК

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВІНАХОДУ ДО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:
20041109227, 09.04.2003

(24) Дата набуття чинності: 15.06.2006

(30) Дані стосовно пріоритету відповідно до Паризької
конвенції : 11.04.2002 FR 02/04499

(46) Публікація відомостей про видачу патенту
(деклараційного патенту): 15.06.2006C07C 213/00
20060101CFI20060516VHUA C07D
263/06 20060101ALI20060516RHUA

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки
відповідно до договору РСТ:
PCT/FR03/01117, 20030409

(72) Винахідник(и):

Мютті Стефан , FR,
Лавінь Мішель , FR,
Малежонок Іріна , FR,
Казімір Жан-Поль , FR

(73) Власник(и):

АВЕНТІС ФАРМА С.А., FR

(54) СПОСОБИ ОДЕРЖАННЯ КОМБРЕТАСТАТИНУ ТА ЙОГО СОЛЕЙ, ПРОМІЖНА СПОЛУКА

(57) Реферат:

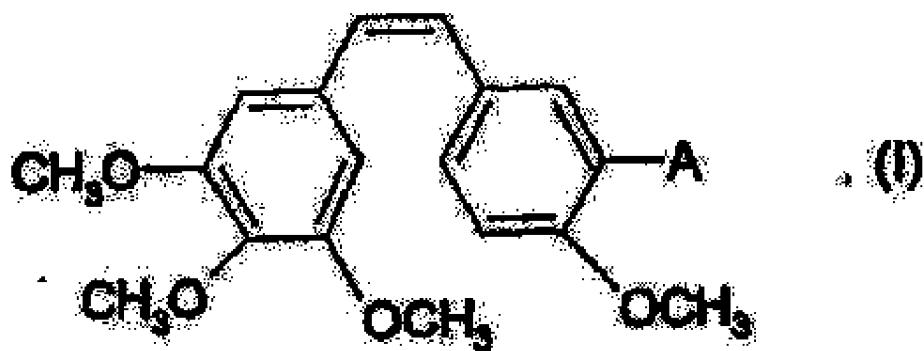
Способи одержання комбретастатину шляхом
конденсації за способом Віттіга
нітрометоксибензальдегіду і фосфонієвої солі

триметоксибензила або, навпаки, фосфонієвої солі
нітрометоксибензила і триметоксибензальдегіду
або шляхом реакції Віттіга між цими ж похідними,
в яких нітрогрупа відновлена до аміногрупи.

Опис винаходу

Даний винахід відноситься до нового способу отримання комбретастатинів і їх похідних.

Під комбретастатинами, або похідними стильбену, розуміють похідні наступної загальної формули:



в якій А означає гідроксильну групу або аміногрупу, а також їх фармацевтично прийнятні солі.

З цих солей можна назвати гідрохлорид, ацетат, фосфат, метансульфонат. Коли сполука або А означає аміногрупу, вона може бути також зв'язана з амінокислотами з утворенням амідів, а також їх фармацевтично прийнятних солей.

Синтез похідних стильбену, або комбретастатинів, які можуть знаходитися в формі фармацевтично прийнятної солі, а також фармацевтичні композиції, що їх містять, [описані в патентах US 4 996 237; US 5 525 632; US 5 731 353 і US 5 674 906]. У цих патентах описані комбретастатини, а також їх метаболіти і описана їх онкологічна активність *in vitro*.

Згідно з цими патентами, комбретастатини отримують з солей (3,4,5-триметоксибензил)-трифенілфосфонію, який конденсують з 3-нітро- або 3-гідрокси- (де гідроксильна група захищена) 4-метоксибензальдегідом в присутності гідриду натрію або похідних літію, після чого отримане похідне, якщо воно є нітропохідним, відновлюють в присутності цинку. Потім отримують ізомер в цис-конфігурації дією світла або хроматографічним розділенням суміші.

Даний винахід відноситься до нових способів отримання комбретастатинів або їх похідних, а також до удосконалень відомих способів.

Передусім, був відкритий перший спосіб за шляхом V0 1 отримання похідних формули (I), в яких А означає аміногрупу, який являє собою вдосконалений спосіб, описаний у перелічених вище патентах, який полягає в тому, що після конденсації по Віттігу в присутності броміду або хлориду (3,4,5-триметоксибензил)-трифенілфосфонію і 3-нітро-4-метоксибензальдегіду проводять відновлення в присутності заліза замість цинку, який використовується у відомому способі, що дозволяє отримати загальний вихід реакції, по відношенню до використаного альдегіду, який складає 60% (вихід по відношенню до використаного альдегіду [в патенті US 5 525 632] складає від 21% до 33%).

Перший спосіб за шляхом V0 2 полягає в конденсації 3,4,5-триметоксибензальдегіду з бромідом або хлоридом (4-метокси-3-нітробензил)-трифенілфосфонію. В обох перших способах за шляхом V0 1 і V0 2 реакцію проводять в присутності основи, вибраної, зокрема, з трет-бутилату калію, трет-амілату натрію, гідриду натрію, бутиллітію, літійдіізопропіламіну (LDA), метилату натрію, карбонату калію або лужних похідних гексаметилдисиланів.

Цю реакцію здійснюють в різних розчинниках, таких як простий ефір (ТГФ), полярні апротонні розчинники (ацетонітрил, NMP, DMF, DMSO...), спирти, ароматичні розчинники або вода, при температурі, вибраній фахівцем в залежності від основи і розчинника, що використовуються.

Ця реакція, в тому, що стосується першого способу за шляхом V0 2, описана, зокрема, [в публікації K.G. Piney, Bioorg. Med. Chem. 8(2000) 2417-2425].

2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-нітрофеніл відновлюють згідно з поліпшеним способом згідно з винаходом дією заліза. Переважно використовують надлишок заліза, якщо потрібно повне перетворення вихідного продукту. Цей надлишок переважно перевищує 2 еквіваленти на моль вихідного нітропохідного.

Було доведено, що та ж стадія, здійснена в присутності цинку в оцтовій кислоті, традиційному розчиннику, що використовується при відновленні за допомогою цинку, не дозволяє здійснити повну реакцію, [в патенті US 5 525 632] вихід реакції відновлення, здійснюваної на чистому ізомері Z, складає від 46 до 66%, і, з іншого боку, кількості цинку, що використовуються, непомірно великі, що приводить до великого об'єму промислових відходів; крім того, такий спосіб приводить до утворення великої кількості "азо"-сполук, що походять від злиття аміно, що утворюється, і нітрозо, що є проміжним продуктом реакції відновлення.

Відновлення за рахунок водню, що утворюється форміатом амонію в присутності класичних каталізаторів, таких як паладій або платина, приводить до сильної ізомеризації подвійного зв'язку з утворенням небажаного ізомеру Е, а також до часткового насичення подвійного зв'язку.

У згаданій вище публікації Piney описане відновлення за допомогою гідросульфату натрію чистого ізомеру Z

нітро, отриманого хроматографією і перекристалізацією, з отриманням ізомеру Z аміно з виходом, що складає усього-навсього 37%.

Гідрування молекулярним воднем, що каталізуються платиною або паладієм, рідко виявляються повними і, що гірше, приводять до насичення етиленового подвійного зв'язку.

Також був знайдений другий спосіб, що дозволяє уникнути стадії проміжного відновлення, яка є обов'язковою при використанні нітропохідного як вихідного продукту. Дійсно, значно більш економічним є перший метод здійснення цього другого способу, в якому конденсують бромід або хлориди (3,4,5-триметоксибензил)-трифенілфосфонію з 3-аміно-4-метоксибензальдегідом, або другий метод здійснення цього другого способу, в якому конденсують 3,4,5-триметоксибензальдегід з сіллю (3-аміно-4-метоксибензил)-трифенілфосфонію.

Цей другий спосіб згідно з обома варіантами вимагає на одну стадію менше з числа таких, на яких використовують продукти CMR (канцерогени, мутагени, сполуки, токсичні відносно репродуктивної функції) в порівнянні з першими способами за шляхом V0 1 і V0 2, що в промисловому масштабі вважається відчутною перевагою з точки зору безпеки і виробничих витрат.

Згідно з другим способом за шляхом V0 3 здійснення винаходу вводять в реакцію сіль (3,4,5-триметоксибензил)-трифенілфосфонію і 3-аміно-4-метоксибензальдегід, причому реакцію здійснюють переважно в присутності основи, вибраної, зокрема, з трет-бутилату калію, трет-амілату натрію, гідриду натрію, бутиллітію, LDA, метилату натрію, карбонату калію або лужних похідних гексаметилдисиланів. Переважно використовують метилат натрію.

Цю реакцію проводять в різних розчинниках, таких як простий ефір (ТГФ), полярні апротонні розчинники (ацетонітрил, NMP, DMF, DMSO...), спирти, ароматичні розчинники або вода, при температурі, вибраній фахівцем в залежності від основи і розчинника, що використовуються.

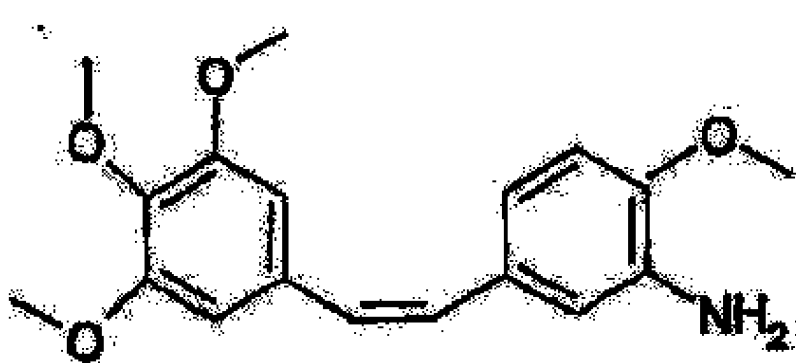
Температура реакції вибирається фахівцем в залежності від основи, що використовується; при використанні метилату вона складає переважно від 0 до 10°C. Після завершення реакції основу, що використовується, нейтралізують водним розчином кислоти, органічну фазу промивають, концентрують і в результаті хроматографії сирого концентрату отримують цільовий продукт.

Згідно з другим способом за шляхом V0 4 здійснення винаходу, в якому вводять в реакцію сіль (3-аміно-4-метоксибензил)-трифенілфосфонію і 3,4,5-триметоксибензальдегід, реакцію переважно здійснюють в присутності органічної основи, вибраної, зокрема, з трет-бутилату калію, трет-амілату натрію, гідриду натрію, бутиллітію, LDA, метилату натрію, карбонату калію або лужних похідних гексаметилдисиланів. Переважно використовують метилат натрію.

Цю реакцію проводять в різних розчинниках, таких як простий ефір (ТГФ), полярні апротонні розчинники (ацетонітрил, NMP, DMF, DMSO...), спирти, ароматичні розчинники або вода, при температурі, вибраній фахівцем в залежності від основи і розчинника, що використовуються.

Температура реакції вибирається фахівцем в залежності від основи, що використовується; при використанні метилату вона складає переважно від 0 до 10°C. Після завершення реакції основу, що використовується, нейтралізують водним розчином кислоти, органічну фазу промивають, концентрують і, в результаті хроматографії сирого концентрату, отримують цільовий продукт.

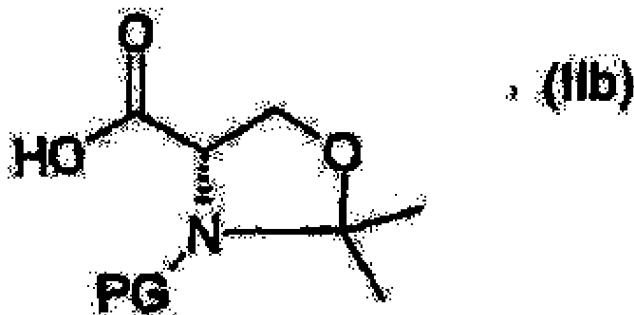
Похідне, що отримується згідно з другим способом за шляхом V0 3 або V0 4 або на другій стадії першого способу за шляхом V0 1 або V0 2, має наступну формулу:



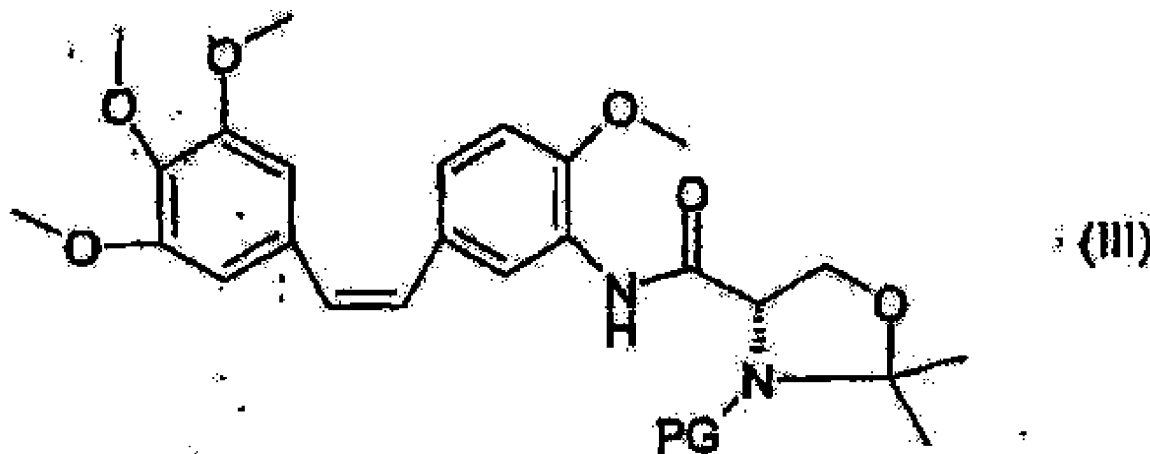
формула (IIa).

Коли потрібно поєднати серин із сполукою формули (IIa), переважно використати L-серин, який двічі захищений по атому азоту серину і по гідроксильній групі і має загальну формулу (IIb)

(IIb)



де PG означає захисну групу аміногрупи, відому будь-якому фахівцеві, з отриманням нового проміжного продукту наступної загальної формули:



(III)

яку потім розщеплюють, переважно одночасно з розкриттям циклу шляхом кислотного гідролізу, в реакції видалення захисної групи, відомій будь-якому фахівцеві. Переважно, група PG в формулах (IIb) або (III) являє собою захисну групу, вибрану з наступних груп: трет-бутоксикарбоніл, бензилоксикарбоніл (CBZ) або 9-флуоренілметилоксикарбоніл (Fmoc).

Сполука наведеної вище формули (III) є новим і заявлена як така.

Конденсацію переважно здійснюють в присутності EDCI (хлориду 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду) або в присутності DCC (дициклогексилкарбодііміду) і HOBT (гідроксибензотриазолу), або в присутності DCC (дициклогексилкарбодііміду) і HOSU (N-гідроксисукциніміду), або, нарешті, в присутності TOTU (O-[(етоксикарбоніл)ціанометиленаміно]-N,N,N',N'-тетраметилуронійтетрафторборату) або HBTU (O-бензотриазол-і-іл-N,N,N',N'-тетраметилуронійгексафторфосфату) або N,N-карбонілдіімідазолу. Реакцію переважно проводять в розчиннику, інертному по відношенню до реакції, вибраному, зокрема, з полярних апротонних розчинників, таких як ацетонітрил, диметилформамід, тетрагідрофуран, або хлоровмісних аліфатичних розчинників, таких як дихлорметан, або з складних ефірів.

Зв'язування з похідним формули (IIa) може бути також здійснене дією змішаного ангідриду, синтезованого *in situ* на основі хлорформіату або хлорангідриду карбонової кислоти, наприклад, пивалоїлу, і двічі захищеного L-серину формули (IIb) в присутності третинної основи типу NMM (N-метилморфоліну) в різних розчинниках, інертних по відношенню до реакції: складних ефірах, простих ефірах, хлоровмісних розчинниках, ацетонітрилі і т.д. Змішаний ангідрид отримують переважно при температурі від 0 до 10°C, потім реакцію проводять при температурі навколишнього середовища. Після завершення реакції реакційне середовище гідролізують за допомогою водного розчину, потім середовище декантують і отриману органічну фазу промивають гідроксильованою основою.

Зняття подвійного захисту із сполуки формули (III) здійснюють дією органічної або неорганічної кислоти; переважно, використовують концентрований водний розчин соляної кислоти в спиртовому середовищі. Згідно з найбільш переважним варіантом здійснення винаходу, температура реакції складає від 50 до 70°C.

Винахід буде більш повно розкритий за допомогою наступних прикладів, які не повинні вважатися такими, що мають обмежувальний характер.

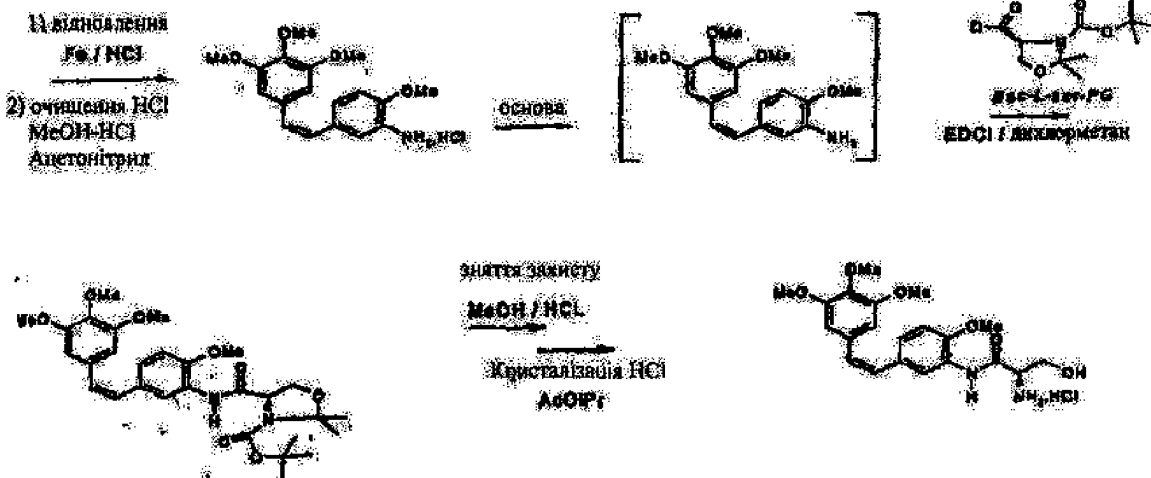
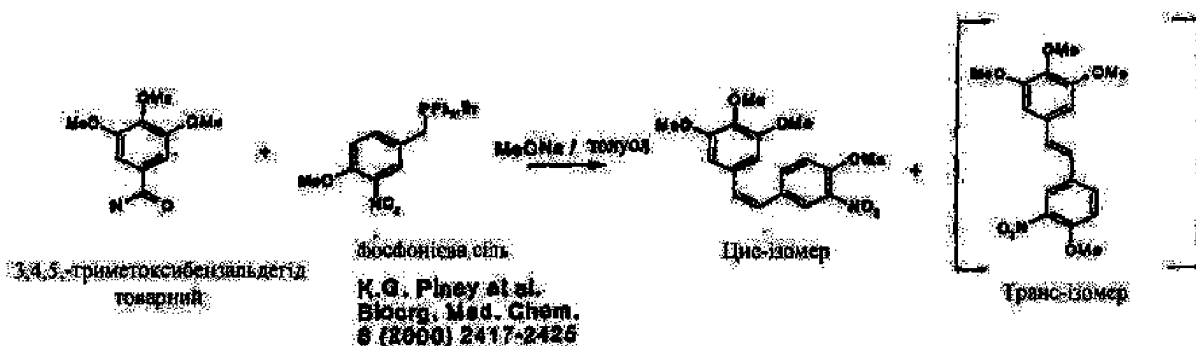
Склад сумішей, послідовність і хід реакцій, а також вихід не виділених продуктів/проміжних сполук і їх титри визначали шляхом ВЕРХ (високоєфективної рідинної хроматографії).

Приклад 1 - перший спосіб за шляхом V0 2 згідно з винаходом

Гідрохлорид (Z)-N-[2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)вініл]феніл]-L-серинамід

Загальна схема синтезу

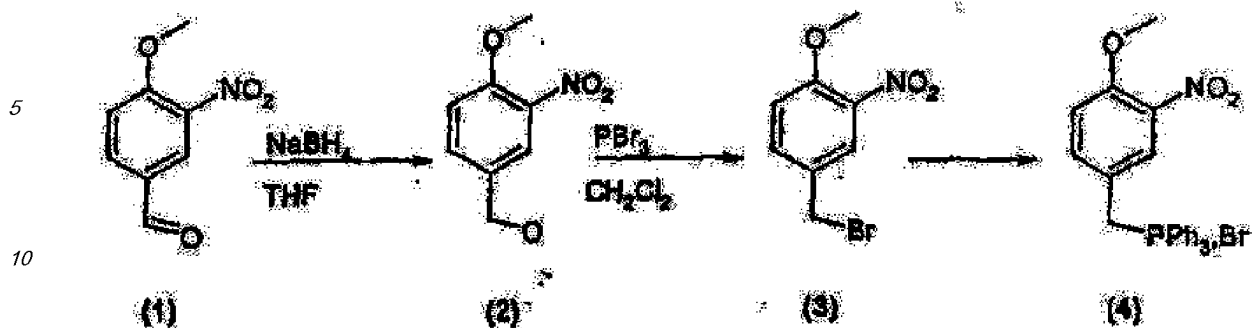
Реакція Віттіга



Новий спосіб, т.зв. "зворотний Віттіг", виходячи з броміду (4-метокси-3-нітробензил)-трифенілфосфонію і 3,4,5-триметоксibenзальдегіду дозволяє отримати суміш ізомерів Z і E 2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-нітрофенілу з відношенням Z/E=75/25.

Це відношення відображає досить високу частку ізомеру Z для того, щоб суміш Z/E можна було безпосередньо піддати відновленню з отриманням шляхом кристалізації гідрохлориду ізомеру Z аміно з титрів ВЕРХ 97% (внутрішній стандарт).

Отримання броміду (4-метокси-3-нітробензил)-трифенілфосфонію (4) здійснюють згідно з наступним прикладом:



3-нітро-4-метоксибензиловий спирт (2):

У тригорлу посудину місткістю 2 літри, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, завантажувальною лійкою для твердих речовин і охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху, завантажують 90,5г 3-нітро-4-метоксибензальдегіду (1), потім 450мл ТГФ і 90мл етанолу. Отриманий блідо-жовтий розчин охолоджують до 10°C, потім вносять 10г боргідриду натрію протягом 40хв. при 10/15°C (ця реакція є сильно екзотермічною і температуру необхідно підтримувати за допомогою крижаної бані з ацетоном); в кінці додавання розчин змінює колір з коричневого на колір морської хвилі. Розчин перемішують протягом 30хв. при 10°C, закінчення реакції відстежують за допомогою тонкошарової хроматографії і перемішують ще 1 годину при 10°C, потім температуру дають піднятися до температури навколишнього середовища.

Завантажувальну лійку замінюють ізобарною крапельницею місткістю 500мл, через яку по краплях підливають 300мл дистильованої води протягом 30 хв., підтримуючи температуру середовища 20°C. На початку доливання спостерігають виділення газу.

Середовище концентрують до 2/3 в ротаційному випарнику (50°C/20ммHg); у водному концентраті кристалізується продукт білого кольору в формі блоків.

Охолоджену водну фазу екстрагують за допомогою 250мл, потім 150мл дихлорметану, об'єднані органічні фази промивають 250мл дистильованої води, потім висушують над сульфатом магнію.

Після фільтрації хлорметиленовий розчин використовують таким, який він є в наступній реакції бромовання.

Вихід цієї стадії вважають таким, що дорівнює 100%.

Примітка: спирт (2) є промисловим, але малодоступним продуктом.

3-нітро-4-метоксибромбензил (3):

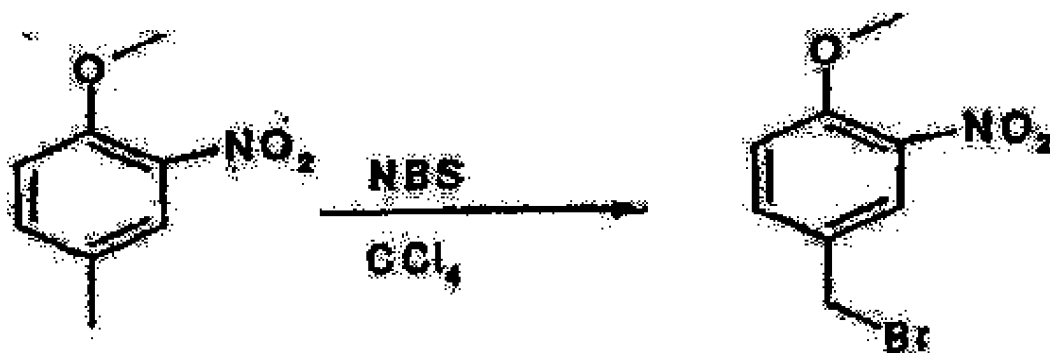
У тригорлу посудину місткістю 1 літр, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, крапельницею і охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху, завантажують хлорметиленовий розчин 3-нітро-4-метоксибензилового спирту (2) і додають 100мл дихлорметану. Розчин при перемішуванні охолоджують до 5°C, потім підливають по краплях, підтримуючи температуру середовища рівною 5°C, 135,4г триброміду фосфору.

Розчин перемішують протягом 1год. 30хв. при 5 °C; закінчення реакції відстежують за допомогою тонкошарової хроматографії, потім підливають по краплях, підтримуючи температуру 15°C, 250мл насиченого розчину гідрокарбонату натрію; в процесі додавання з невеликою затримкою відбувається дуже інтенсивне виділення газу.

Середовище декантують в колбі і промивають послідовно за допомогою 250мл дистильованої води і 200мл насиченого розчину гідрокарбонату натрію. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують в ротаційному випарнику (50°C/20ммHg).

Отримують 119г твердої речовини в формі ворсистих голок жовто-зеленого кольору з хімічним виходом на 2 стадіях 97%.

Примітка: Цей продукт (3) може також бути отриманий за наступною схемою, [описаною в публікації K.G. Piney et al. Bioorg. Med. Chem. 8(2000) 2417-2425].



Бромід (3-нітро-4-метоксибензил)-трифеніл фосфонію (4):

У тригорлу посудину місткістю 2 літри, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, завантажувальною лійкою для твердих речовин і охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху,

завантажують 119г 3-нітро-4-метоксибромбензилу (3) на перемішуваний шар 1000мл толуолу; при легкому нагріванні до 25°C середовище стає розчином. Додають 126,5г трифенілфосфіну, отриманий розчин поступово нагрівають до 60°C; починаючи з температури 30°C, формується осад. Середовище витримують протягом 4 годин при 60/65°C, потім охолоджують до 30°C, фільтрують через скляний фільтр, промивають на фільтрі 2 рази за допомогою 300мл толуолу, віджимають і висушують в сушильній шафі (35°C/20ммHg/20год.).

Отримують 217г броміду (4-метокси-3-нітробензил)-трифенілфосфонію з хімічним виходом 88%.

Синтез описаний в публікації: (розчинник, що використовується: дихлорметан) [K. G. Piney et al. Bioorg. Med. Chem. 8(2000) 2417-2425].

Спектр $\nu=4$ 865-V

^1H ЯМР (300МГц, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}-d_6$, μ ч/млн): 3,90 (с, 3H), 5,26 (д, $J=15\text{Гц}$, 2H), 7,33 (м, 2H), 7,41 (м, 1H), 7,65-8,05 (м, 15H).

Мас-спектр ν 212217, $m=428$

El $m/z=262$ $[\text{PPh}_3]^+$ пік молекулярного іона

DCI $m/z=445$ MNH_3^+

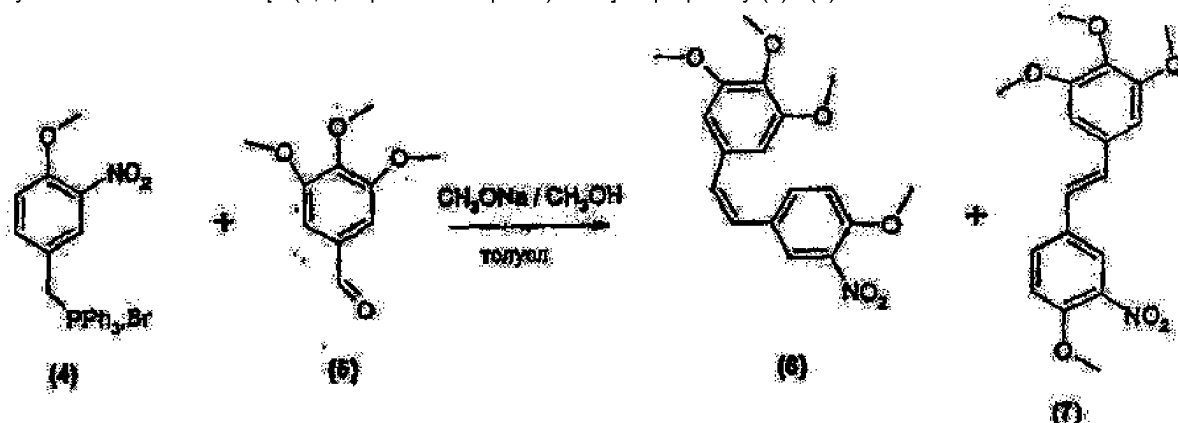
$m/z=428$ M^+

$m/z=263$ $[\text{PPh}_3\text{H}]^+$ пік молекулярного іона

Інфрачервоний спектр 426469 KBr

2869; 2843; 2776; 1619; 1527; 1438; 1362; 1287; 1270; 1111; 752; 692 і 502 cm^{-1}

Суміш Z і E 2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-нітрофенілу (6) і (7):



У тригорлу посудину місткістю 2 літри, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, крапельницею і охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху, завантажують при 20°C і в атмосфері азоту 54,7г 3,4,5-триметоксibenзальдегіду (5), 148,6г броміду (4-метокси-3-нітробензил)-трифенілфосфонію (4) і 1300мл толуолу.

Суспензію при перемішуванні охолоджують до 5°C на крижаній бані, потім за 40хв. при 5°C підливають 63,2г 25%-ого (по масі) розчину метилату натрію в метанолі.

У міру доливання колір суспензії міняється з брудно-білого на жовтий і далі на коричневий.

Перемішують 1 годину при 5°C, закінчення реакції відстежують за допомогою ВЕРХ (загальне споживання альдегіду), після чого додають 3г (0,05моль) оцтової кислоти.

Суспензію нагрівають до 40°C і підтримують 30хв. при 40°C; при цій температурі нерозчинними залишаються тільки солі; середовище фільтрують при 40°C через скляний фільтр №3 і солі промивають на фільтрі 3 рази за допомогою 100мл толуолу.

Фільтрат завантажують назад в посудину з 250мл дистильованої води, цю двофазну суміш перемішують 20хв. при 40°C, потім декантують в колбі. Фазу, що містить толуол, промивають двічі з 250мл дистильованої води, потім концентрують досуха в ротаційному випарнику.

Осад вміщують в 600мл ізопропілового спирту і 12мл толуолу з температурою 40°C, починається кристалізація, при повільному перемішуванні дають температурі опуститися до кімнатної і залишають до наступного ранку.

Суспензію при перемішуванні охолоджують і витримують 1 годину при 5°C, потім фільтрують через скляний фільтр, осад промивають двічі з 125мл ізопропілового спирту, віджимають і висушують в сушильній шафі у вакуумі (35°C/30ммHg/18годин).

Отримують 91,7г суміші ізомерів Z і E (6) і (7) в співвідношенні Z/E=75/25 (ВЕРХ внутрішній стандарт) і з виходом 95%.

Синтез описаний в публікації: (розчинник, що використовується: дихлорметан: основа, що використовується: NaH) [K. G. Piney et al. Bioorg. Med. Chem. 8(2000)2417-2425].

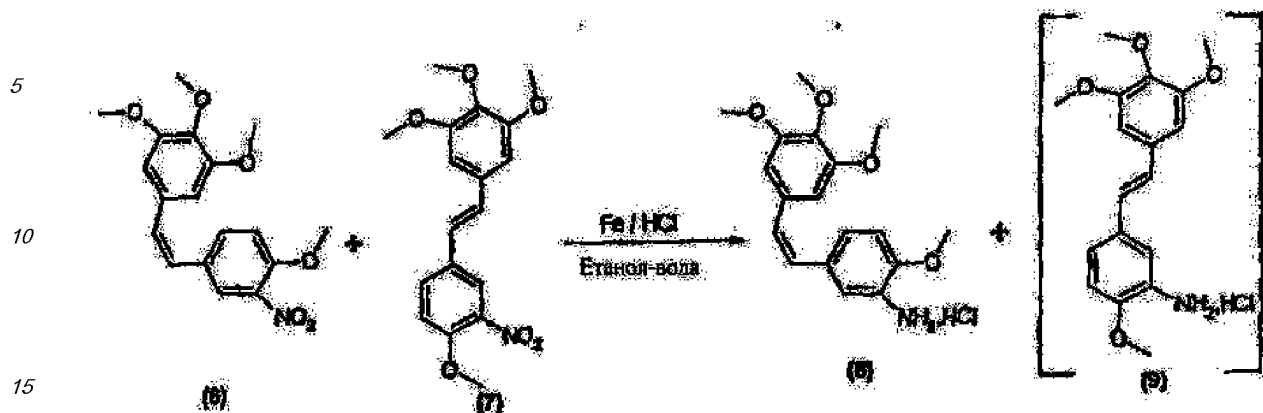
Примітка: Були випробувані різноманітні робочі умови, такі як:

Розчинники: ТГФ, ацетонітрил, метанол і інші спирти, дихлорметан, NMP, DMF, DMSO і т.д.

Основи: трет-бутилат калію, трет-амілат натрію, гідроксид натрію. NaH, BuLi/LDA, карбонат калію і т.д.

Температури: від -10°C до температури кипіння деяких розчинників

Гідрохлорид 2-2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-феніламіну (8):



У тригорлу посудину місткістю 2 літри, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, завантажувальною лійкою для твердих речовин, охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху і банею з підігріванням, завантажують при 20 °C і в атмосфері азоту 80г суміші Z і E 75/25 2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-нітрофенілу (6) і (7), 640мл абсолютного етанолу і 160мл дистильованої води.

Швидко перемішують і нагрівають на масляній бані, при 50°C до суспензії додають 7,8мл 6N соляної кислоти, потім температуру середовища підвищують до 77±2°C; середовище стає практично повністю розчинним.

Протягом 5 хвилин порціями додають 52г порошкового заліза. Починаючи з першого додання середовище перетворюється в розчин, потім на стінках посудини формується чорнуватий осад.

Середовище витримують 2 години при 77±2°C, за допомогою ВЕРХ контролюють зникнення вихідних нітропохідних (6) і (7).

Середовищу дають охолонути до 40°C і фільтрують через скляний фільтр з фільтруючим матеріалом Clarcel, осад промивають двічі з 160мл суміші етанол/вода 80/20.

Фільтрат, маточні і промивальні розчини концентрують в ротаційному випарнику; з моменту зникнення азеотропу починається осадження масла в залишковій водній фазі.

Цю водну фазу екстрагують в колбі двічі за допомогою 300мл дихлорметану, потім промивають органічну фазу двічі з 300мл напівнасиченого водного розчину хлориду натрію і з 300мл дистильованої води.

Органічну фазу концентрують досуха в ротаційному випарнику; отримують 76г олії, що має співвідношення Z/E=80/20 згідно з даними ВЕРХ. Цю олію розчиняють в 591мл метанолу і переливають в посудину місткістю 1 літр при перемішуванні, потім додають 100мл 2,32N розчину соляної кислоти в метанолі, запускають реакцію і залишають на ніч при перемішуванні для осадження.

Кількість метанол + розчин соляної кислоти в метанолі таке, що кінцева концентрація ізомеру Z (визначена за допомогою ВЕРХ) становить 8,8% вага/об'єм.

На наступний ранок середовище фільтрують через скляний фільтр; висушений осад має масу 8,2г і складається виключно з ізомеру E (ВЕРХ).

Фільтрат (693г) з співвідношенням Z/E=86/14 (ВЕРХ, внутрішній стандарт) концентрують наполовину в ротаційному випарнику, додають до 347г концентрату 400мл ацетонітрилу і знов концентрують до отримання маси концентрату 347г. Додають 1000мл ацетонітрилу і концентрують до початку кристалізації, потім концентрат переливають в посудину місткістю 4 літри, що містить 1500мл ацетонітрилу, при перемішуванні; при 60°C спостерігається рясне випадання осаду з середовища.

Середовище підтримують 2,5 години при 60°C і при перемішуванні, дають охолонути до 30°C приблизно за 1 годину, кашку фільтрують через скляний фільтр, ізомер E (9) розчинений в фільтраті, осад промивають двічі з 200мл ацетонітрилу і висушують в сушильній шафі (35°C/30ммHg/18год.).

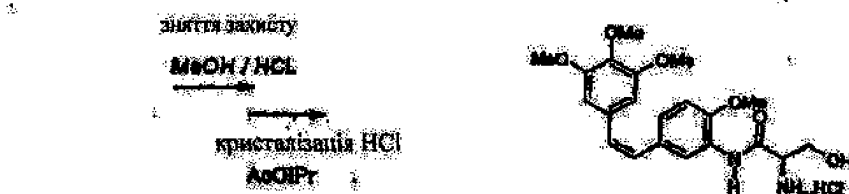
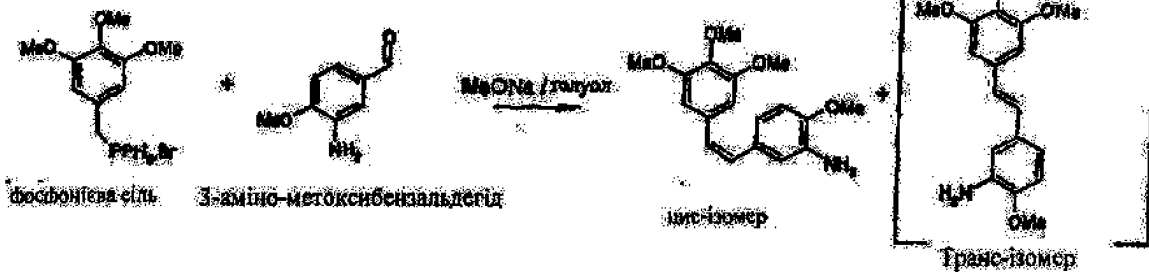
Отримують 45,7г E-2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-феніламіну (8) з титром по ВЕРХ, внутрішній стандарт, складаючий 97% і виходом тель-кель 56%, що відповідає виходу ізомеру Z отриманого по відношенню до ізомеру Z вихідному 72%.

ПРИКЛАД 2 - Синтез згідно з другим способом за шляхом V0 3 згідно з винаходом

Перевагою другого способу за шляхом V0 3 в порівнянні з першим способом за шляхом V0 2, який називається "зворотний Bittir", є проведення реакції Bittіра між вже відновленим продуктом, аміноальдегідом (1a) і фосфонієм (2a) і, отже, виключення хімічної стадії з використанням продуктів CMR.

Гідро хлорид (Z)-N-[2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)вініл]феніл]-L-серинаміду
Загальна схема синтезу

Реакція Вітігі



3-аміно-4-метоксибензальдегід (1a):



У тригорлу посудину місткістю 2 літри, заповнену аргонем і забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, завантажувальною лійкою для твердих речовин, охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху і банею з підігріванням, завантажують 20г 3-нітро-4-метоксибензальдегіду (1) і 350мл абсолютного етанолу, перемішують, нагрівають до 60°C; середовище перетворюється в розчин.

При 60°C додають по краплях 115мл дистильованої води, потім 14мл 2Н соляної кислоти. Потім маленькими порціями додають 24,7г порошкового заліза.

Протягом 2 годин дають температурі середовища охолонути до температури навколишнього середовища. Реакція є повною (за результатами тонкошарової хроматографії).

Середовище фільтрують через целіт і концентрують у вакуумі, осад вміщують в дихлорметан і промивають органічний розчин двічі дистильованою водою, потім висушують над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують досуха у вакуумі.

Отримують 16г сирого продукту (1a), який піддають хроматографії на колонці з силікагелем, використовуючи як елюент дихлорметан.

Отримують 2 фракції, що містять чистий цільовий продукт, які після концентрації дають 11,5г чистого продукту (1a), що відповідає виходу 69%.

Спектр н°2810-V ЯМР ¹H (300МГц, (CD₃)₂SO d₆, μ ч/млн): 3,88 (с, 3H), 5,11 (масив, 2H), 7,01 (д, J=8Гц, 1H), 7,14 (д, J=2Гц, 1H), 7,18 (д, J=8Гц, 1H), 9,53 (с, 1H).

Мас-спектр н°210112, m=151

El m/z=151 M⁺пик молекулярного іона

m/z=136 [M-CH₃]⁺

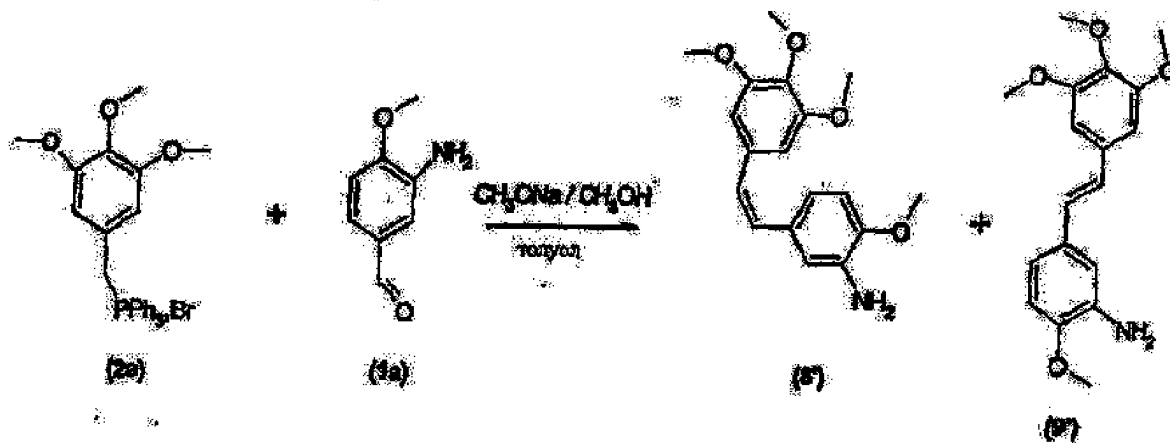
m/z-108 [136-CO]⁺

m/z-80 [108-CO]⁺

Інфрачервоний спектр: 425135 KBr

3464; 3437; 3367; 3349; 1675; 1655; 1582; 1513; 1293; 1241; 1139; 1023; 803 і 640см⁻¹

Z і E -2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-феніламін (8') і (9'):



Примітка: Фосфоній (2a) є сировиною, [описаною в патенті Ajinomoto Co., Ltd US 5 525 632 і WO 01/12579 A2].

У тригорлу посудину місткістю 250мл, заповнену азотом і забезпечену магнітною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, крапельницею, охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху і банею, що охолоджується, завантажують 8,0г фосфонію (2a), потім 2,20г амінобензальдегіду (1a) і 100мл толуолу. Суспензію охолоджують при перемішуванні до 5°C і підливають за 15хв. 3,51мл 25%-ого (по вазі) розчину метилату натрію в метанолі. Після витримування протягом 2,5год. при 5 °C реакція залишається неповною ((коефіцієнт перетворення: 45%), але далі не розвивається ВЕРХ) і відношення Z/E становить 61/39. Підливають 0,2мл оцтової кислоти, розбавленої 50 мл води, підвищують температуру до 13°C, перемішують 30хв., потім переливають в колбу, концентрують органічну фазу у вакуумі в ротаційному випарнику і отримують 8г олії жовтого кольору.

За результатами ВЕРХ, ця олія містить вихідний альдегід, фосфіноксид і цільову суміш Z/E з співвідношенням 61/39.

Олію хроматографують на колонці з силікагелем (40 частин мас/мас). використовуючи як елюент суміш циклогексан/етилацетат/триетиламін (50/50/2).

2 серії фракцій об'єднують і концентрують досуха, перший сухий екстракт масою 360мг містить 93% ізомери Z+ неідентифіковані домішки, другий, масою 2,09г, містить вихідний альдегід і суміш Z/E, що складають 39 і 37,5% за результатами ВЕРХ (внутрішній стандарт).

Підсумкова кількість ізомеру Z (8'), що визначається за допомогою ВЕРХ (внутрішній стандарт), становить 1,15г на 2,20г використаного альдегіду, що відповідає виходу 24%.

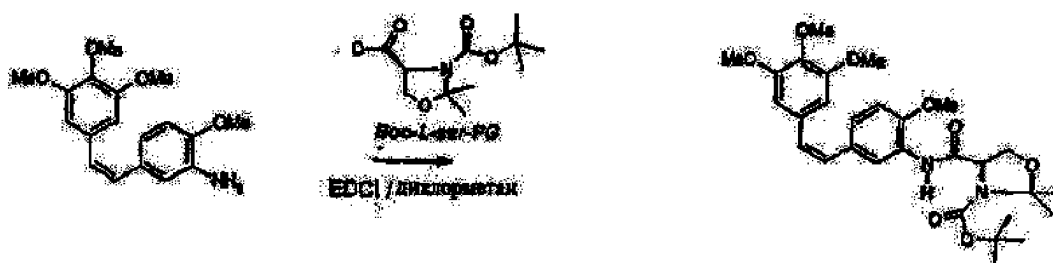
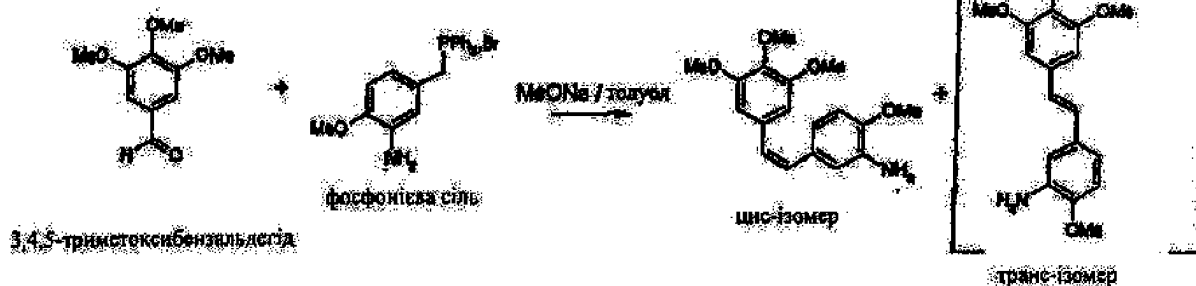
ПРИКЛАД 3 - Синтез згідно з другим способом за шляхом V0 3 згідно з винаходом

Як і для шляху V0 2, перевагою шляху V0 3 в порівнянні з першим способом за шляхом V0 2, який називається "зворотний Віттіг", є проведення реакції Віттіга між вже відновленим продуктом, бромідом (3-аміно-4-метоксибензил)-трифенілфосфонієм (1b) і 3,4,5-триметоксибензальдегідом (5) і, отже, відсутність хімічної стадії з використанням продуктів CMR.

Гідрохлорид (Z)-N-[2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)вініл]феніл]-L-серинаміду

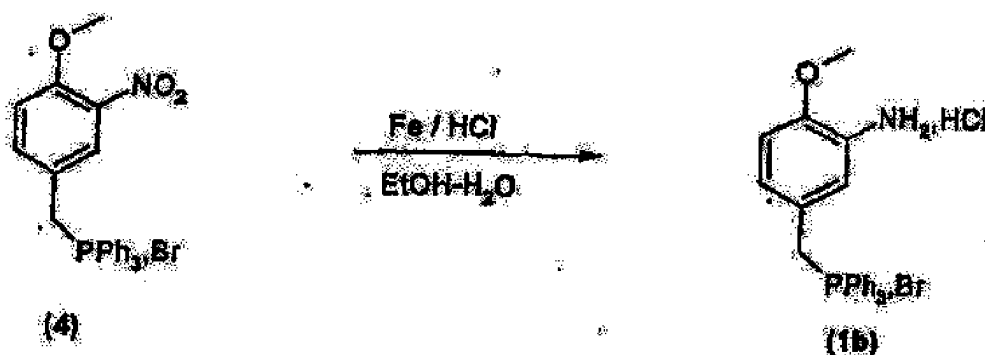
Загальна схема синтезу

Реакція Віттігі



Бромід (4-метокси-3-амінобензил)-трифенілфосфонію (1b)

Бромід (4-метокси-3-амінобензил)-трифенілфосфонію (1b)



У тригорлу посудину місткістю 1 літр, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, завантажувальною лійкою для твердих речовин, охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху і банею з підігріванням, завантажують 30г продукту (4), 240мл етанолу і 60мл дистильованої води.

До суспензії додають при перемішуванні 1,76мл 6Н соляної кислоти і нагрівають до 70°C.

Потім за 15 хвилин додають маленькими порціями 9,9г порошкового заліза; середовище залишається нерозчинним. Середовище витримують 2 години при 15°C, органічні речовини повільно розчиняються, паралельно формується коричневатий осад заліза і оксиду заліза.

За результатами ВЕРХ залишається ще 5% вихідних сполук; знов додають 2г заліза і продовжують нагрівання протягом 1год.; перетворення стає повним.

Середовище охолоджують до 40°C і фільтрують через Clarcel, промивають за допомогою 100мл 20%-ого водного розчину етанолу і концентрують фільтрат досуха у вакуумі в ротаційному випарнику.

Осад вміщують в 300мл ізопропілового спирту і кристалізують з середовища, перемішують і нагрівають до 50°C; при цьому середовище знов перетворюється в розчин. Потім підливають 14мл 5Н розчину соляної кислоти в ізопропіловому спирті; відбувається випадання осаду з середовища; середовище витримують 1 годину при 50°C, потім дають охолонути до температури навколишнього середовища.

Кашку фільтрують через скляний фільтр, осад промивають за допомогою 50мл ізопропілового спирту,

ретельно віджимають і висушують в сушильній шафі у вакуумі.

Отримують 27,3г (1b) як такої (не очищеної) з виходом 89,9%.

Спектр № 4584-V ЯМР ^1H (300МГц, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}-d_6$, μ ч/млн): 3,78 (с, 3H), 5,03 (д уш., $J=15\text{Гц}$, 2H), 6,43 (масив, 1H), 6,62 (суш., 1H), 6,82 (д уш., $J=8\text{Гц}$, 1H), 7,60-8,00 (м, 15H).

Мас-спектр №211915, $m=397$

EI $m/z=397\text{ M}^+$

$m/z=382\text{ [M-CH}_3\text{]}^+$

$m/z=262\text{ [PPh}_3\text{]}^+$ пік молекулярного іона

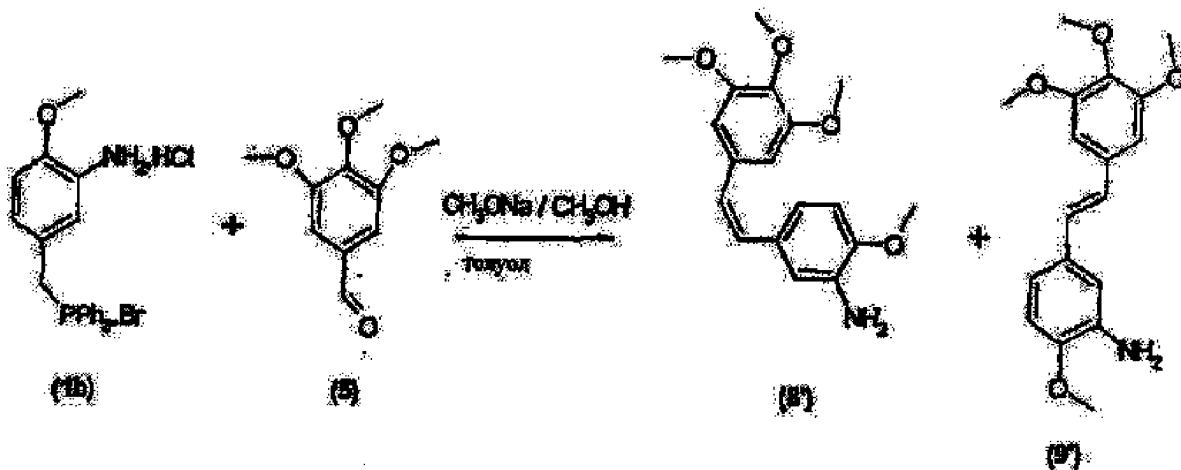
DCI $m/z=398\text{ MNH}_4^+$

$m/z=263\text{ [PPh}_3\text{H]}^+$ пік молекулярного іона

Інфрачервоний спектр 426386 КВг

3254; 2474; 1920; 1628; 1520; 1439; 1433; 1279; 1110; 736; 690; 527 і 511cm^{-1}

Z і E -2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-феніламін (8') і (9')



У тригорлу посудину місткістю 250мл, заповнену азотом і забезпечену магнітною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, крапельницею, охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху і банею, що охолоджується, завантажують 11,02г продукту (1b), 4г продукту (5) і 70мл толуолу.

Суспензію охолоджують при перемішуванні до 5°C і підливають за 15хв. 4,92мл 25%-ого (по масі) розчину метилату натрію в метанолі. Суспензію перемішують протягом 2,5год. при 5°C , потім підливають 0,2мл оцтової кислоти, розбавленої 50мл води, підвищують температуру до 14°C ; середовище стає дуже густим, його розбавляють 10мл толуолу і 10мл води; залишається нерозчинна частина коричневого кольору.

Суміш фільтрують через Celacel, осад промивають тричі за допомогою 50мл толуолу (промивальні розчини містять майже виключно вихідний альдегід і їх не з'єднують з двофазним фільтратом), прозорий фільтрат ($\text{pH}12$) переливають в колбу і органічну фазу концентрують досуха у вакуумі при 40°C ; відношення Z/E, визначене за допомогою ВЕРХ, становить 43/57.

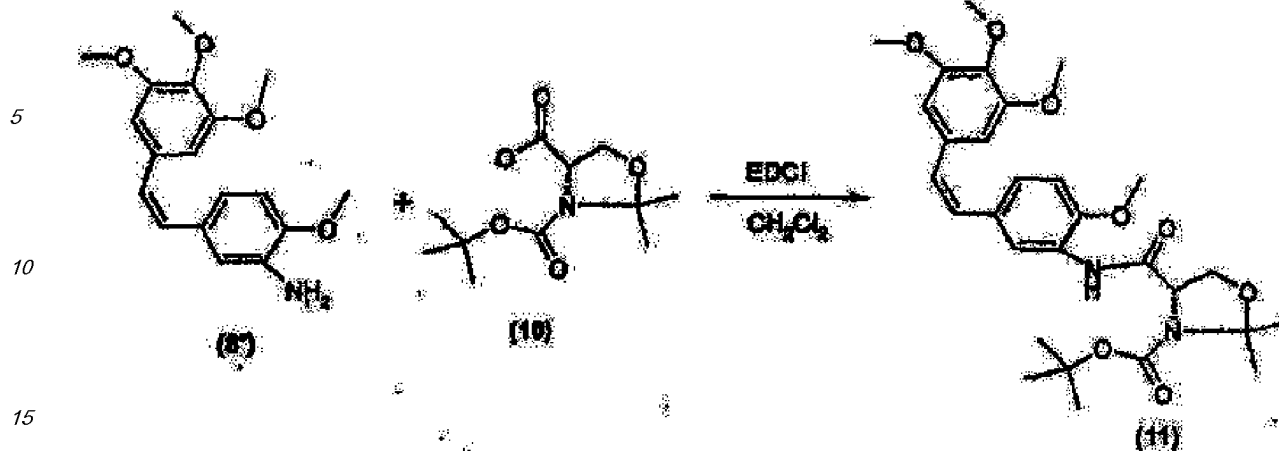
Отриману олію коричневого кольору піддають хроматографії на колонці з силікагелем (100 частин ваг./ваг.), використовуючи як елюент суміш циклогексан/етилацетат/триетиламін (50/50/2).

2 серії фракцій об'єднують і концентрують досуха; перший сухий екстракт масою 1,1г містить 14% ізомеру E і 59% Z, другий, масою 1,08г, містить 86% ізомеру E і 7% Z.

Підсумкова кількість ізомеру Z (8'), визначена за допомогою ВЕРХ (внутрішній стандарт), становить 0,725г на 4г використаного альдегіду, що відповідає як такому виходу 11,3%.

Трет-бутиловий ефір

Z-4-{2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)-вініл]-фенілкарбамоїл}-2,2-диметилוקсазолідин-3-карбонової кислоти (11):



Вивільнення основи (8') з гідрохлориду (8):

У колбу Ерленмейєра місткістю 1 літр завантажують 44г продукту (8), 16г гідрокарбонату натрію, потім 200мл дистильованої води і 375мл дихлорметану. Перемішують протягом 20хв. при температурі навколишнього середовища і отримують дві прозорі фази.

Органічну фазу відділяють декантацією, висушують над сульфатом натрію, потім фільтрують.

Отримують приблизно 400мл хлорметиленового розчину, що містить продукт (8').

Отримання 3-трет-бутилового ефіру 2,2-диметилоразолідин-3,4-дикарбонової кислоти (10)

Цей продукт, хоча і випускається серійно, зустрічається дуже рідко; його отримували омилюванням літином його метилового складного ефіру [згідно з J. ORG. CHEM. 63(12) P. 3983(1998)].

Спектр ЯМР ^1H (300МГц, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}-d_6$, μ ч/млн): 1,38 (с, 3H), 1,45 (с, 9H), 1,55 (с, 3H), 3,95 (м, 1H), 4,16 (м, 1H), 4,31 (м, 1H), 12,50-13,10 (масив уш., 1H).

Маса-спектр: $m/z=213$ 135, $m=245$

DCI $m/z=263$ MNH_4^+

$m/z=246$ MH^+

$m/z=207$ $[\text{MNH}_4-\text{tBu}]^+$ пік молекулярного іона

$m/z=146$ $[\text{MH}-\text{BOC}]^+$

Інфрачервоний спектр: 426759 KBr

1744; 1700; 1638; 1407; 1368; 1164; 1104; 856; 836 і 623cm^{-1}

Сполука

У тригорлу посудину місткістю 2 літри, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, завантажувальною лійкою для твердих речовин, охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху і крижаною банею, завантажують розчин продукту (8'), додають 600мл дихлорметану і охолоджують при перемішуванні.

При 5°C додають 42,9г 3-трет-бутилового ефіру 2,2-диметилоразолідин-3,4-дикарбонової кислоти (10), який розчиняється, потім додають порціями при температурі від 5 до 10°C 48г гідрохлориду 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-карбодііміду (EDCI).

Середовищу дають повільно нагрітися до температури навколишнього середовища в процесі танення льоду у водяній бані протягом ночі.

На наступний ранок додають 330мл дистильованої води і інтенсивно перемішують. Протягом 30хв. середовище стає каламутним (гідроліз EDCI); перемішування продовжують ще 30хв.

Середовище переливають в колбу і промивають органічну фазу послідовно двічі за допомогою 280мл $0,55\text{N}$ гідроксиду натрію, потім за допомогою 300мл дистильованої води.

Органічну фазу концентрують досуха в ротаційному випарнику ($50^\circ\text{C}/50\text{mmHg}$).

Отримують 79,4г клейкої олії (11), що твердне при 20°C , з виходом по вазі по відношенню до використаного продукту (8) 117%.

Спектр $n_D^{20}=1,578$ -V

^1H ЯМР (400МГц, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}-d_6$, при температурі 373 K, 6 ч/млн): 1,41 (с, 9H), 1,53 (с, 3H), 1,64 (с, 3H), 3,64 (с, 6H), 3,71 (с, 3H), 3,86 (с, 3H), 3,99 (д, $J=9$ і 3Гц, 1H), 4,19 (дд, $J=9$ і 7Гц, 1H), 4,52 (дд, $J=7$ і 3Гц, 1H), 6,48 (д, $J=12,5$ Гц, 1H), 6,55 (д, $J=12,5$ Гц, 1H), 6,58 (с, 2H), 7,02 (м, 2H), 8,13 (с уш., 1H), 8,82 (с уш., 1H).

Мас-спектр $m/z=213$ 565, $m=542$

DCI $m/z=560$ MNH_4^+ пік молекулярного іона

$m/z=543$ MH^+

$m/z=504$ $[\text{MNH}_4-\text{tBu}]^+$

$m/z=443$ $[\text{MH}-\text{BOC}]^+$

Інфрачервоний спектр 425857 CCl_4

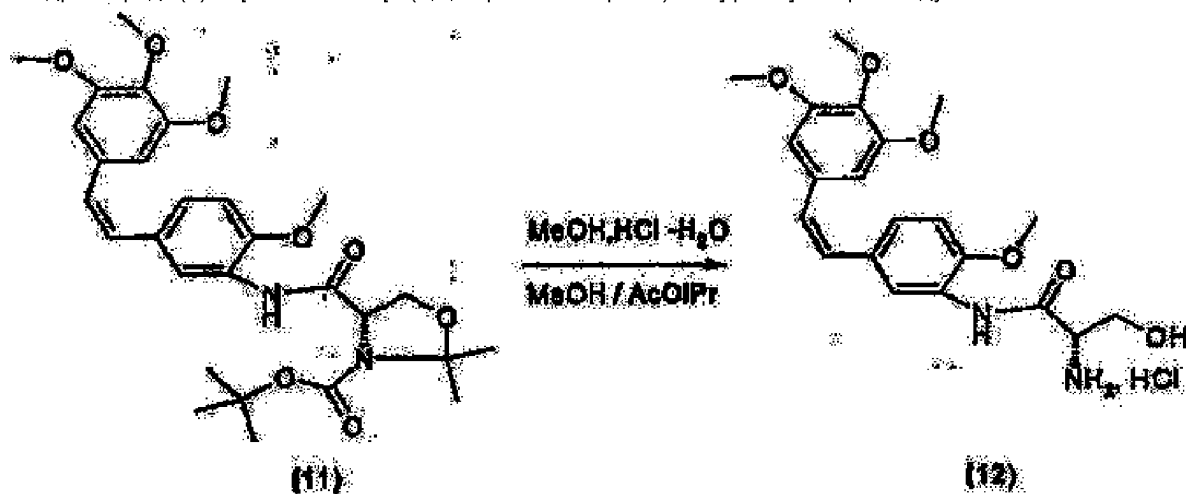
3409; 2982; 2938; 2837; 1712; 1698; 1534; 1363; 1249; 1133; 1092 і 851cm^{-1}

Були використані інші умови зв'язування, такі як:

- Змішаний ангідрид (півалоїлхлорид/(10))

- ОСС/НОВТ-ОСС/НОСУ-TOTU-N-N-карбонілдіімідазол і т.д.
 - В ацетонітрилі, DMF, ТГФ, дихлорметані, складному ефірі і т.д. EDCI, HCl в дихлорметані дає найкращий результат.

Гідрохлорид (Z)-N-[2-метокси-5-[2-(3,4,5-триметоксифеніл)вініл]феніл]-L-серинаміду



У тригорлу посудину місткістю 1 літр, забезпечену механічною мішалкою, термометром, Y-подібною трубкою, охолоджувачем з бульбашковим витратоміром зверху і банею з підігріванням, завантажують при 20°C 61,8г продукту (11) в розчині в 54мл метанолу, додають 150мл ізопропілацетату, 99мл 2,3Н розчину соляної кислоти в метанолі і 8,2мл дистильованої води. Перемішують і нагрівають до 60°C протягом 3 годин. Розчин охолоджують до 40°C і очищають фільтрацією через скляний фільтр №4, потім промивають фільтр 40мл метанолу. Фільтрат знов вміщують в тригорлу посудину при перемішуванні і додають 194мл ізопропілацетату, нагрівають до 40°C, додають 0,2г продукту (12), потім по краплях підливають протягом 1год. 194мл ізопропілацетату; в процесі доливання середовище повільно кристалізується.

Середовищу дають вихолонати до кімнатної температури, потім охолоджують до 5°C і залишають при цій температурі протягом ночі.

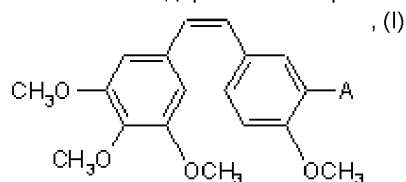
На наступний ранок кашку фільтрують через скляний фільтр, осад віджимають і промивають 4 рази по 50мл ізопропілацетату, ретельно віджимають, потім висушують в сушильному Шафі до постійної маси (35°C/10ммHg).

Отримують 28г продукту (12) з виходом за 2 стадії (сполука, потім зняття захисту) 56% і титром по ВЕРХ (внутрішній стандарт) >98%.

Цей показник відповідає загальному виходу як такому для синтезу, здійсненого згідно з першим способом за шляхом V0 2, що становить 30% (отриманий продукт (12) по відношенню до використаного продукту (5)).

Формула винаходу

1. Спосіб одержання комбретастаніну наступної загальної формули (I):

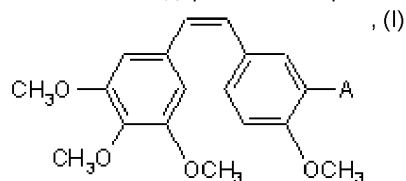


в якій А означає аміногрупу, який відрізняється тим, що після конденсації за методом Віттіга в присутності броміду або хлориду (3,4,5-триметоксифеніл)-трифенілфосфонію і 3-нітро-4-метоксибензальдегіду або 3,4,5-триметоксифеніл-3-нітро-4-метоксибензальдегіду з сіллю (4-метокси-3-нітробензил)-трифенілфосфонію проводять відновлення нітрогрупи в присутності заліза.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що залізо використовують в надлишку.

3. Спосіб за п. 2, який відрізняється тим, що вказаний надлишок перевищує 2 еквіваленти на моль вихідного нітропохідного.

4. Спосіб одержання комбретастаніну загальної формули (I):



в якій А означає аміногрупу, який відрізняється тим, що конденсують сіль (3,4,5-триметоксифеніл)-трифенілфосфонію з 3-аміно-4-метоксибензальдегідом або сіль

(3-аміно-4-метоксибензил)-трифенілфосфонію з 3,4,5-триметоксибензальдегідом, переважно в присутності основи.

5. Спосіб за п. 4, який відрізняється тим, що конденсують сіль (3,4,5-триметоксибензил)-трифенілфосфонію з 3-аміно-4-метоксибензальдегідом.

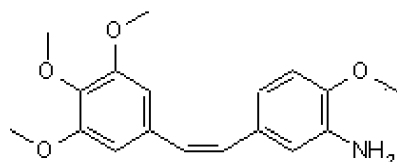
6. Спосіб за пп. 4 або 5, який відрізняється тим, що реакцію проводять переважно в присутності основи, вибраної з трет-бутилату калію, трет-амілату натрію, гідриду натрію, бутиллітію, літійдіізопропіламіну, метилату натрію, карбонату калію або лужних похідних гексаметилдисиланів.

7. Спосіб за пп. 4 або 5, який відрізняється тим, що використовують метилат натрію.

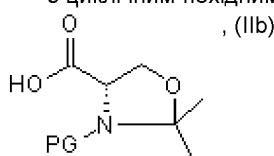
8. Спосіб за пп. 4 або 5, який відрізняється тим, що реакційний розчинник, інертний відносно реакції, вибирають з простих ефірів, зокрема, тетрагідрофурану, полярних апротонних розчинників, зокрема, ацетонітрилу, N-метилпіролідону, диметилформаміду, диметилсульфоксиду, спиртів, ароматичних розчинників або води.

9. Спосіб за п. 7, який відрізняється тим, що температура реакції переважно складає від 0 до 10°C.

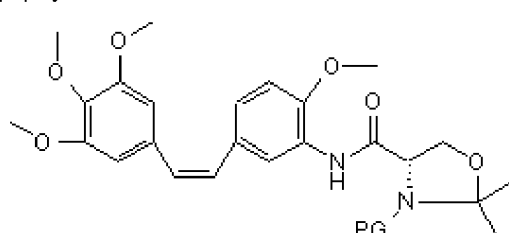
10. Спосіб одержання сполуки формули (I) в формі солі серину шляхом сполучення похідних формули (IIa)



з циклічним похідним захищеного серину формули (IIb)

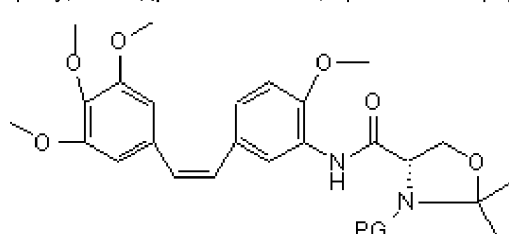


де PG означає захисну групу аміногрупи з одержанням нової проміжної сполуки наступної загальної формули:



яку потім піддають зняттю захисту.

11. Проміжна сполука, утворена поєднанням амінокмбретастатину і циклічного похідного захищеного серину, яка відрізняється тим, що вона має формулу:



в якій PG означає захисну групу.

12. Проміжна сполука за п. 11, яка відрізняється тим, що PG означає захисну групу, вибрану з наступних груп: трет-бутоксикарбоніл, бензилоксикарбоніл або 9-флуоренілметилоксикарбоніл.

Офіційний бюлетень "Промислова власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2006, N 6, 15.06.2006. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.