(19) **RU** (11) **2 220 143** (13) **C2**

(51) МПК[7] **C 07 D 405/12, 311/60, A 61 K 31/445, 31/353, 31/4025, A 61 P 35/00**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 97115713/04, 20.02.1996

(24) Дата начала действия патента: 20.02.1996

(30) Приоритет: 21.02.1995 US 08/388,207

(43) Дата публикации заявки: 10.07.1999

(46) Дата публикации: 27.12.2003

(56) Ссылки: SU 243618 A, 05.10.1976. SU 827489 A, 19.12.1981. WO 9310741 A2, 10.06.1993. EP 470310 A1, 12.02.1992.

(85) Дата перевода заявки PCT на национальную фазу: 22.09.1997

(86) Заявка PCT:
CA 96/00097 (20.02.1996)

(87) Публикация PCT:
WO 96/26201 (29.08.1996)

(98) Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3, ООО "Юридическая фирма Городисский и Партнеры", пат.пов. Н.Г.Лебедевой

(72) Изобретатель: ЛЯБРИ Фернан (CA), МЕРАН Ив (CA), ГОТЬЕ Сильван (CA)

(73) Патентообладатель:
АНДОРЕШЕРШ, ИНК. (CA)

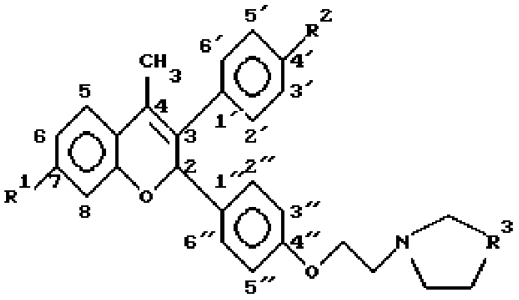
(74) Патентный поверенный:
Лебедева Наталья Георгиевна

RU 2220143 C2

(54) ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗОПИРАНА, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ НА ИХ ОСНОВЕ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К ЭСТРОГЕНАМ ЗАБОЛЕВАНИЙ

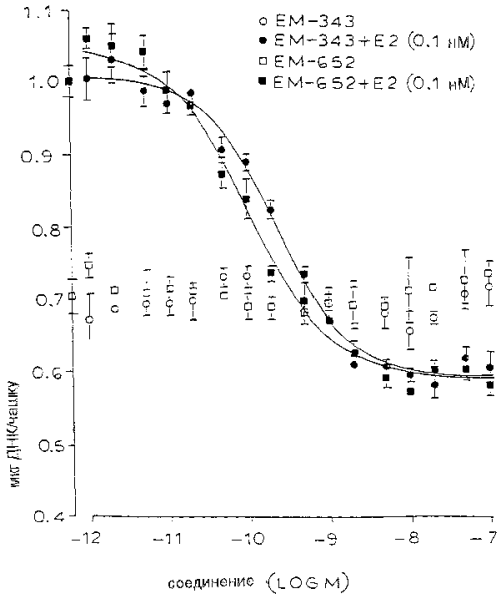
(57)

Изобретение относится к новым оптически активным производньм бензопирана формулы



где R и R независимо выбраны из группы, состоящей из гидроксила и радикала, который может преобразовываться in vivo в гидроксил, такой как ацилокси, $-OR^4$, $-OC(O)R^7$ или $-OC(O)OR^4$ (где R^4 представляет собой алкил, алкенил, алкинил или арил; и R^7 представляет собой амино, алкиламино, аминоалкил и алкилсульфанил); и R^3 представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2-$; или его фармацевтически приемлемая соль, где указанное соединение или соль являются оптически активными, поскольку содержат более 50% (по массе относительно всех стереоизомеров) 2S стереоизомеров. Эти соединения обладают ингибирующей активностью в отношении полового стероида и могут использоваться при лечении чувствительных к эстрогенам заболеваний, таких как рак молочной железы и рак эндометрия. Изобретение относится также к фармацевтической композиции на основе этих соединений и способу лечения чувствительных к эстрогенам заболеваний. Технический результат - хорошая устойчивость при хранении и биодоступность полученных стереоизомеров по сравнению с их рацемическими смесями. 3 с. и 14 з.п. ф-лы, 3 табл., 5 ил.

RU 2220143 C2



ФИГ. 1

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

(19) **RU** (11) **2 220 143** (13) **C2**

(51) Int. Cl.[7] **C 07 D 405/12, 311/60, A 61 K 31/445, 31/353, 31/4025, A 61 P 35/00**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 97115713/04, 20.02.1996

(24) Effective date for property rights: 20.02.1996

(30) Priority: 21.02.1995 US 08/388,207

(43) Application published: 10.07.1999

(46) Date of publication: 27.12.2003

(85) Commencement of national phase: 22.09.1997

(86) PCT application:
CA 96/00097 (20.02.1996)

(87) PCT publication:
WO 96/26201 (29.08.1996)

(98) Mail address:
129010, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery", pat.pov. N.G.Lebedevoj

(72) Inventor: LJaBRI Fernan (CA),
MERAN Iv (CA), GOT'E Sil'van (CA)

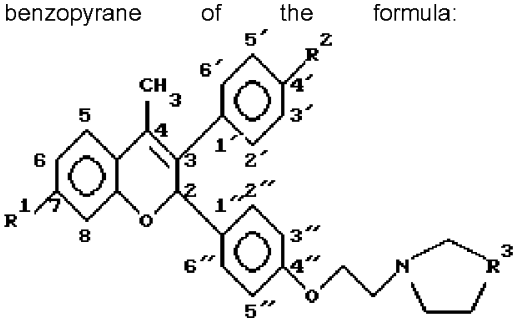
(73) Proprietor:
ANDOREShERSh, INK. (CA)

(74) Representative:
Lebedeva Natal'ja Georgievna

(54) OPTICALLY ACTIVE DERIVATIVES OF BENZOPYRANE, PHARMACEUTICAL COMPOSITION BASED ON THEREOF AND METHOD FOR TREATMENT OF ESTROGEN-SENSITIVE DISEASES

(57) Abstract:

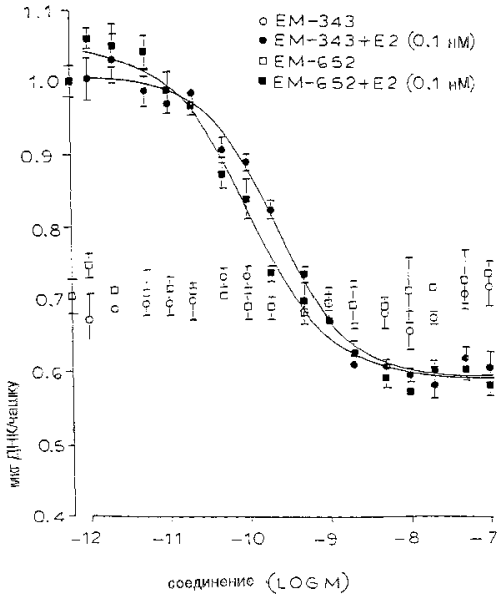
FIELD: organic chemistry, medicine, pharmacy. SUBSTANCE: invention relates to new optically active derivatives of benzopyrane of the formula:



wherein R^1 and R^2 are taken independently among group consisting of hydroxyl and radical that can be transformed to hydroxyl in vivo, such as acyloxy-group, $-OR^4$,$-OC(O)R^7$ or $-OC(O)OR^4$ (wherein R^4 represents alkyl, alkenyl, alkynyl or aryl; and R^7 represents amino-, alkylamino-group, aminoalkyl and alkylsulfanyl); and R^3 represents $-CH_2-$ or $-CH_2CH_2-$; or its pharmaceutically acceptable salt wherein indicated compound or salt are optically active since they comprise above 50% (by mass relatively all stereoisomers) of 2S stereoisomers. These compounds elicit inhibitory activity with respect to sexual steroid and can be used in treatment of estrogen-sensitive diseases, such as mammary gland cancer and endometrial cancer. Prepared stereoisomers show good stability in storage and bioavailability as compared with their racemic mixtures. EFFECT: improved treatment method, valuable medicinal properties of compounds. 17 cl, 5 dwg, 3 tbl, 23 ex

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2



ФИГ. 1

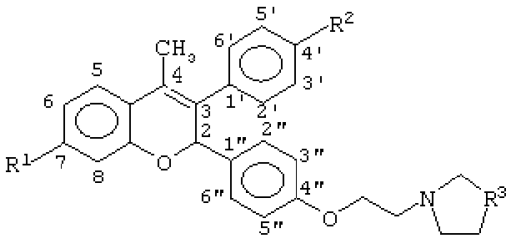
RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Текст описания в факсимильном виде (см. графическую часть).

Формула изобретения:

1. Оптически активное производное бензопирана общей формулы



где R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, состоящей из гидроксила и радикала, который может преобразовываться in vivo в гидроксил, такой как ацилокси, $-OR^4$, $-OC(O)R^7$ или $-OC(O)OR^4$ (где R^4 представляет собой алкил, алкенил, алкинил или арил; и R^7 представляет собой амино, алкиламино, аминоалкил или алкилсульфанил); и

R^3 представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2-$;

или его фармацевтически приемлемая соль,

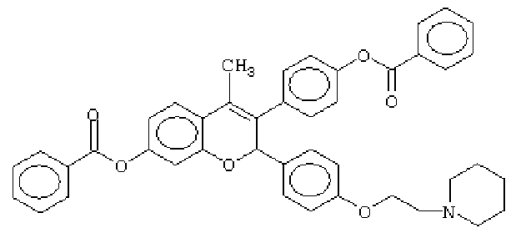
где указанное соединение или соль являются оптически активными, поскольку содержат более 50% (по массе относительно всех стереоизомеров) 2S стереоизомеров.

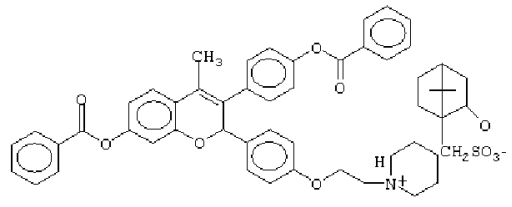
2. Оптически активное соединение по п.1, где, по крайней мере, один R^1 и R^2 представляет собой стерически затрудненный алифатический ацилокси.

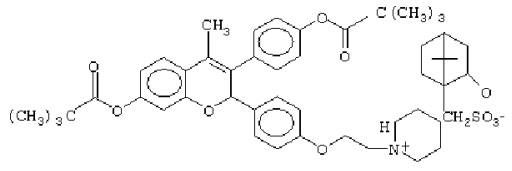
3. Оптически активное соединение по п.1, где, по крайней мере, один из R^1 и R^2 не представляет собой гидрокси.

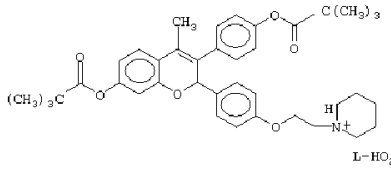
4. Оптически активное соединение по п.1, где, по крайней мере, один из R^1 и R^2 представляет собой пивалоилокси.

5. Оптически активное соединение по п.1, выбранное из группы, включающей

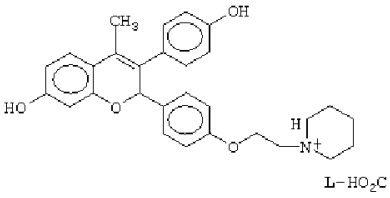




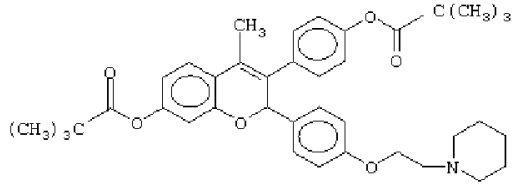


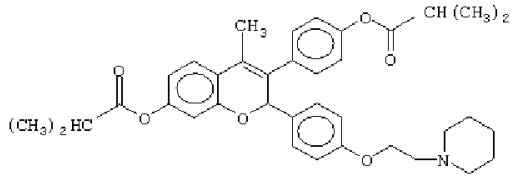


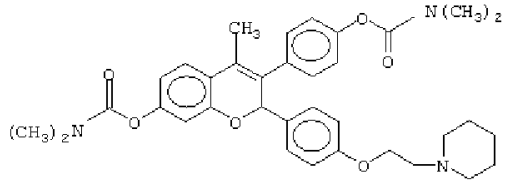
L-$HO_2C(CHOH)_2CO_2^-$,



L-$HO_2C(CHOH)_2CO_2^-$,

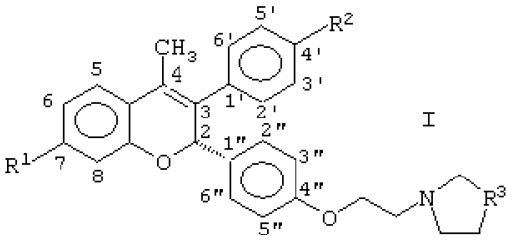






или его фармацевтически приемлемая соль.

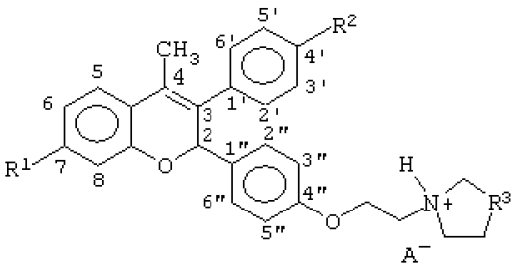
6. Оптически активное соединение по п.1, где соединение достаточно свободно от его 2-бета стереоизомера, с преобладанием молекулярной структуры I



I

или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Оптически активное соединение по п.6, представленное следующей структурной формулой:



где A^- представляет собой анион фармацевтически приемлемой кислоты,

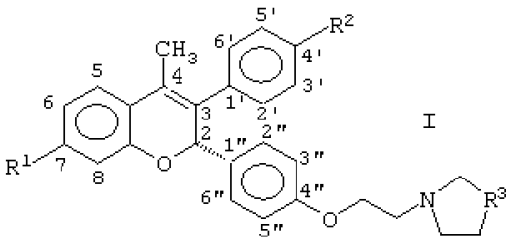
или его фармацевтически приемлемая

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

соль.

8. Оптически активное соединение по п.1, представленное следующей структурной формулой:

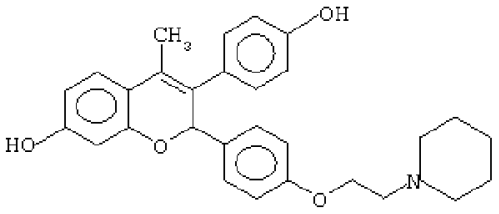


I

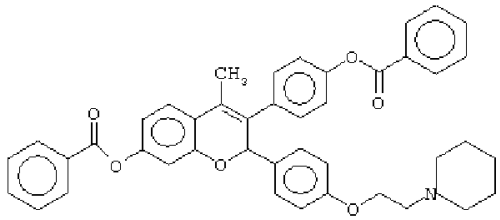
где R^3 представляет собой $-CH_2CH_2-$;

или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Оптически активное соединение по п.8, выбранное из группы, включающей

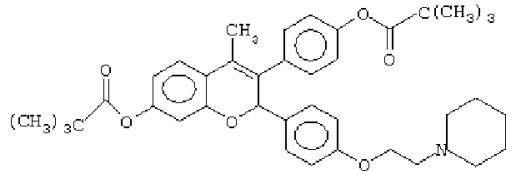


и



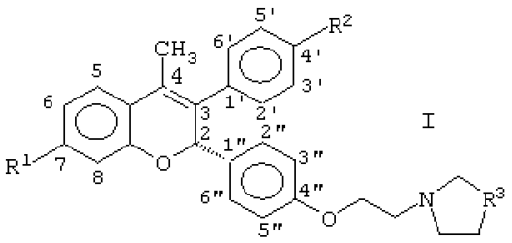
или его фармацевтически приемлемая соль.

10. Оптически активное соединение по п.8, представленное формулой



или его фармацевтически приемлемая соль.

11. Оптически активное соединение по п.1 представленное следующей структурной формулой:

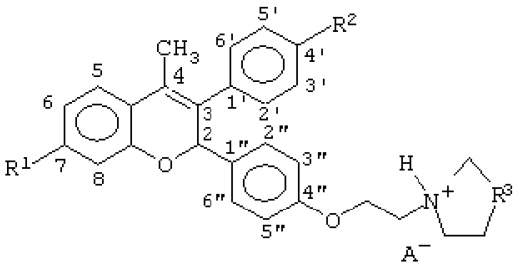


I

где R^3 представляет собой $-CH_2-$;

или его фармацевтически приемлемая соль.

12. Оптически активное соединение по п.1, представленное следующей структурной формулой:

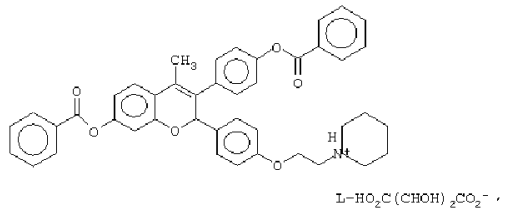


где A^- представляет собой анион фармацевтически приемлемой кислоты,

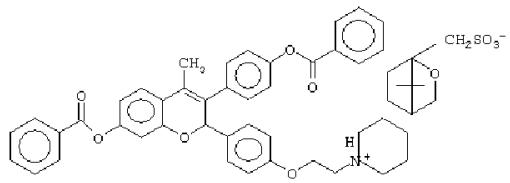
или его фармацевтически приемлемая соль.

13. Оптически активное соединение по п.12 или его соль, где указанное соединение или его соль содержит более 50% (от массы всех стереоизомеров) 2S стереоизомеров.

14. Оптически активное соединение по п.13, выбранное из группы, включающей следующие соединения:



и



15. Фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующей в отношении полового стероида активностью, содержащая активный ингредиент и носитель или растворитель, отличающаяся тем, что в качестве активного ингредиента она содержит оптически активное соединение по любому из пп.1-14 или его фармацевтически приемлемую соль.

16. Способ лечения чувствительных к эстрогенам заболеваний, включающий введение нуждающемуся в таком лечении пациенту вместе с растворителем-носителем или без него терапевтически эффективного количества соединения или соли по любому из пп.1-14.

17. Способ по п.16, где указанное чувствительное к эстрогенам заболевание представляет собой рак молочной железы или рак эндометрия.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Изобретение относится к новым ингибиторам активности половых стероидов, таких как антиэстрогенные соединения, обладающим эффективной антагонистической способностью, в то

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

же время в целом не оказывающие агонистические эффекты. Более конкретно, определенные предпочтительные варианты реализации изобретения относятся к определенным замещенным соединениям бензопирана, в частности, к определенным видам предшественников лекарственных средств и определенным стереоспецифическим видам, и к их применению при лечении заболеваний, чувствительных к эстрогенам.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Во время лечения определенных зависимых от половых стероидов заболеваний важно существенно снизить или, если возможно, исключить определенные эффекты, вызванные половыми стероидами. Для этой цели желательно как блокировать рецепторные участки, стимулируемые половыми стероидами, так и также снижать количество доступных половых стероидов, действующих в этих участках. Например, альтернативная или одновременная с введением антиэстрогенов терапия может включать попытки блокировать выработку эстрогенов (например, с помощью овариэктомии) таким образом, чтобы они были менее доступны для активации рецепторных участков. Однако известные способы блокировки выработки эстрогенов недостаточно подавляют функции, вызванные эстрогенами. Действительно возможно, что даже при полном отсутствии половых стероидов некоторые рецепторы могут быть активированными. См. статью Simrad and Labrie "Keoxifene shows pure antiestrogenic activity in pituitary gonadotrophs", Mol. Cell. Endocrinol. 39: 141-144 (1985), в частности стр. 144.

Следовательно, антагонисты половых стероидов могут дать более существенные терапевтические результаты, чем терапия,

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

которая только подавляет выработку половых стероидов. Однако известные антагонисты часто имеют недостаточное сродство к рецепторам, а некоторые, хотя и способны связываться с рецепторами, могут сами действовать как агонисты и оказывать нежелательное активирующее воздействие на те же рецепторы, которые они должны защищать от активации. Поэтому в этой области есть необходимость в антиэстрогенах, которые эффективно блокируют рецепторы эстрогенов, с минимальным или отсутствующим агонистическим эффектом. Истинная эффективность соединения определяется как его агонистической (нежелательной), так и антагонистической (желательной) активностью. В статье Wakeling and Bowler "Steroidal Pure Antiestrogens", J. Endocrinol. 112: R7-R10 (1987), указано, что определенные производные стероидов действуют как антиэстрогены.

В патенте США 4094994 описано, что применение определенных антиэстрогенов может подавить определенные клетки опухолей молочной железы человека.

H. Mouridsen et al., Cancer Treatm. Rev. 5: 131-141 (1978) показали, что антиэстроген тамоксифен эффективен при ремиссии запущенного рака молочной железы приблизительно у 30 процентов получавших лечение женщин-пациентов.

Комбинированное применение антиэстрогена тамоксифена и агониста гормона, высвобождающего лютеинизирующий гормон, бусерелина, также известно для лечения рака молочной железы. См., например, статью Klijn et al. J. Steroid Biochem. 420: no 6B, 1381 (1984). Однако объективная ремиссия таких форм рака остается неприемлемо низкой.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Было обнаружено, что определенные 7α-замещенные производные эстрадиола, например, замещение 7α-$(CH_2)_{10}$CONMeBu, обладают антиэстрогенной активностью (Bowler et al., 1985; Eur. Patent Application 0138504; Wakeling and Bowler, J. Steroid Biochem. 30: 141-147 (1988). См. также патент США 4659516. Применялось также замещение $(CH_2)_9SOC_5H_6F_5$ (Wakeling et al., Cancer Res. 51: 3867-3873, 1991).

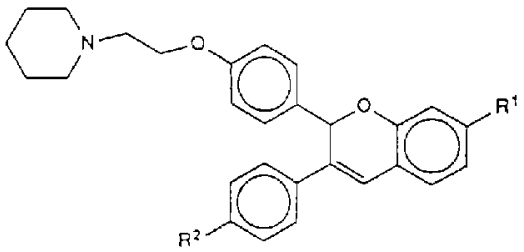
Некоторые -$(CH_2)_{10}$CONMeBu замещенные соединения также описаны в патенте США 4732912 (см., например, пример 5 и 16). См. также патент ЕР № 166509, патент ЕР № 124369, патент ЕР № 160508, патент ЕР № 163416, патент США № 4760061, патент США № 4751240 и Wakeling A.E. and Bowler J., J. Endocrinol. 112: R7-R10 (1987).

Von Angere et al. обсуждают другие антиэстрогены в статье "1-(aminoalkyl)-2-phenylindoles as Novel Pure Estrogen Antagonists"' J. Med. Chem. 1990; 33: 2635-2640. В патенте США 4094994, где сказано, что применение определенных антиэстрогенов подавляет определенные клетки опухолей молочной железы человека. См. также DE 3821148.

A. Saeed et al., J. Med. Chem. 33: 3210-3216, 1990; A.P.Sherma et al., J. Med. Chem. 33: 3216-3222 и 3222-3229 (1990) описали синтез и биологическую активность определенных аналогов 2,3-диарил-2H-1-бензопирана, имеющих следующую молекулярную структуру:

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2



для применения в качестве антиэстрогенов. В статье N. Durani et al., J. Med. Chem. 32: 1700-1707 (1989) описаны синтез и биологическая активность аналогов бензофурана и триарилфурана в качестве антиэстрогенов.

В описании Европейского Патента 0470310 (Kapil) раскрыты определенные соединения бензофурана, которые, как указано, применялись "при лечении зависимого от эстрогенов заболевания, такого как рак молочной железы".

В упоминаемой заявителем поданной ранее приоритетной заявке, международный вариант которой в настоящее время опубликован под обозначением WO 93/10741, описан класс усовершенствованных ингибиторов активности эстрогенов, включающий ингибитор EM-343, т.е., 7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил-2H-бензопиран и его предшественники. Настоящее изобретение частично относится к особым типам бензопирановых антиэстрогенов и к определенным модифицированным бензопирановым антиэстрогенам, все из которых обеспечивают дополнительные улучшенные характеристики. В настоящее время было установлено, что определенные предшественники препарата EM-343 обеспечивают преимущества, которые особенно эффективны. EM-343 может действовать в виде любого из двух энантиомеров или в виде их смеси . В настоящее время установлено, что один из двух энантиомеров более эффективен, чем другой. Этот более

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

эффективный энантиомер и его предшественники также являются объектом настоящего изобретения.

Известны производные активных лекарственных препаратов, которые с помощью ферментативных или спонтанных реакций in vivo преобразованы в активные лекарственные препараты (см. H. Bundgaard, Design and Application of Prodrugs. In A textbook of Drug Design and Development; Edited by P. Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard; Harwood Academic Publishers GmfH, Chur, Switzerland, 1991, pp. 113-191). Например, Druzgala et al. (J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 38, 149-154, 1991) в группе стероидов описали предшественники глюкокортикоидов. Bodor et al. в заявке на Патент США № 4213978 и в материалах заявки на Патент Германии № DE 2948733 описывает применение тиазолидиновых производных прогестерона в качестве лекарственных препаратов для местного применения. Friend D.R. in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, vol. 7 (2), pp. 149-186, 1990 сообщают о чрескожном всасывании предшественников производных эстрогенов и прогестинов.

ОБЪЕКТЫ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Объектом изобретения являются соединения и композиции для снижения активации рецепторов эстрогенов, включая определенные предшественники лекарственных средств и оптически активные виды.

Другим объектом является нестероидный антиэстроген, имеющий хорошее сродство к рецепторам эстрогена, но по существу не имеющий нежелательную агонистическую активность в

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

отношении этих рецепторов и по существу не обладающий гормональной активностью.

Еще одной целью изобретения являются терапевтические соединения и композиции, которые можно использовать при лечении связанных с эстрогенами заболеваний (например, заболеваний, началу или развитию которых способствует активация рецепторов эстрогенов). Эти заболевания включают, но не ограничиваются ими, рак молочной железы, рак матки, рак яичников, эндометриоз, фиброму матки, преждевременное половое созревание и доброкачественную гиперплазию предстательной железы.

Еще одной целью являются предшественники лекарственных средств, которые легко синтезировать и очищать и которые имеют хорошую устойчивость при хранении, в то же время легко подвергаясь превращению в желательный активный ингредиент in vivo.

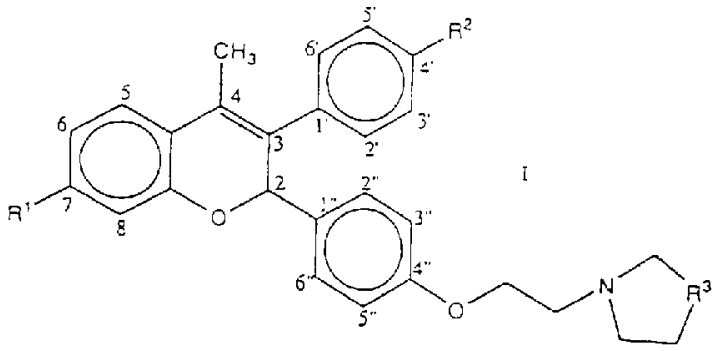
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Указанные выше и другие цели достигаются рассматриваемыми здесь соединениями, их фармацевтическими композициями и применением соединений по изобретению (или фармацевтических композиций, содержащих их) при лечении заболеваний, зависимых от половых стероидов. Например, считается, что рак молочной железы, рак эндометрия и другие зависимые от эстрогенов заболевания, началу или развитию которых способствует активность эстрогенов, благоприятно реагируют на лечение соединениями и композициями изобретения.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

В одном варианте реализации, изобретение относится к соединению или его фармацевтически приемлемой соли, причем указанное соединение имеет молекулярную структуру:

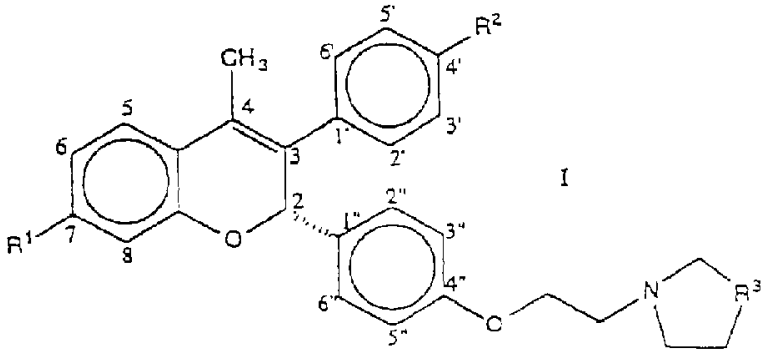


I

где R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, состоящей из гидроксила и радикала, который может преобразовываться in vivo в гидроксил;

где R^3 представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2-$; и

где указанное соединение или соль включает более 50% (относительно массы всех стереоизомеров) стереоизомеров, которые имеют следующую абсолютную конфигурацию:



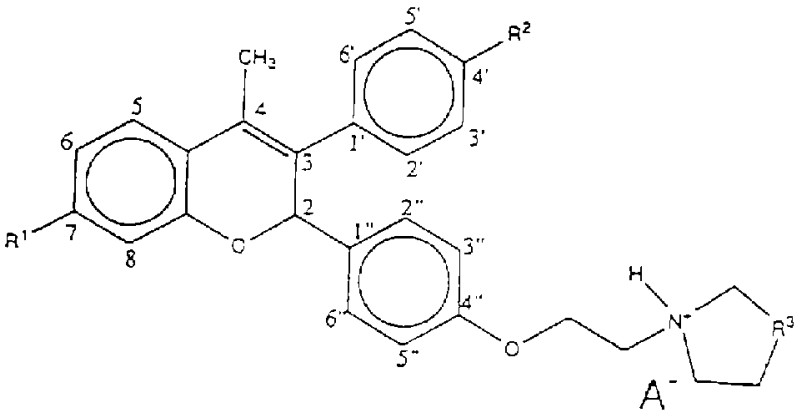
I

метил-2-(4″-(2‴-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопиран) имеет в своем положении 2 углерод.

В другом варианте реализации, изобретение относится к соединению или его фармацевтически приемлемой соли, причем указанное соединение имеет молекулярную структуру:

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

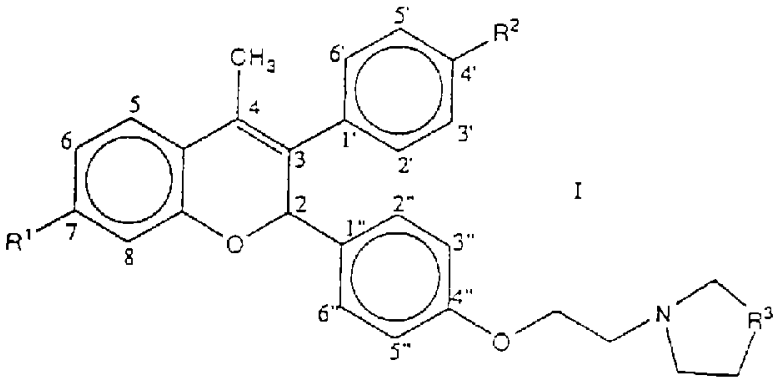


где A^- представляет собой анион фармацевтически приемлемой кислоты;

где R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, состоящей из гидроксила и радикала, который может преобразовываться in vivo в гидроксил;

где R^3 представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2-$.

В другом варианте реализации, изобретение относится к соединению или его фармацевтически приемлемой соли, причем указанный ингибитор имеет молекулярную структуру:



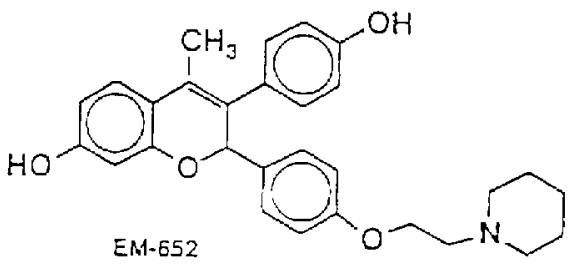
I

где R^3 представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2-$; и где, по крайней мере, один из R^1 или R^2 представляет собой радикал, способный преобразовываться in vivo в гидроксил.

В другом варианте реализации, изобретение относится к оптически активному соединению следующей молекулярной структуры:

RU 2220143 C2

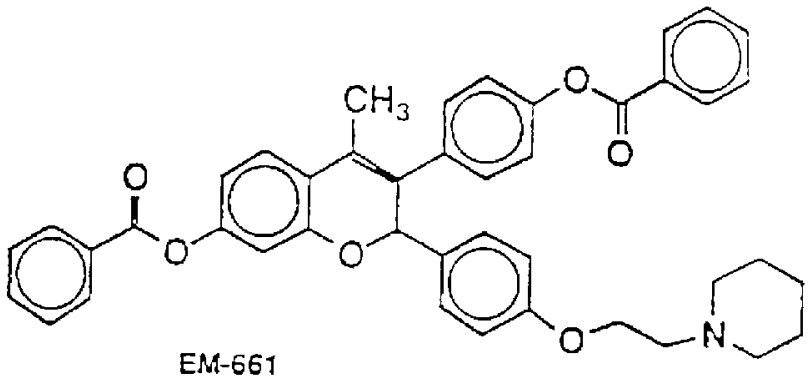
RU 2220143 C2



EM-652

или его фармацевтически приемлемой соли.

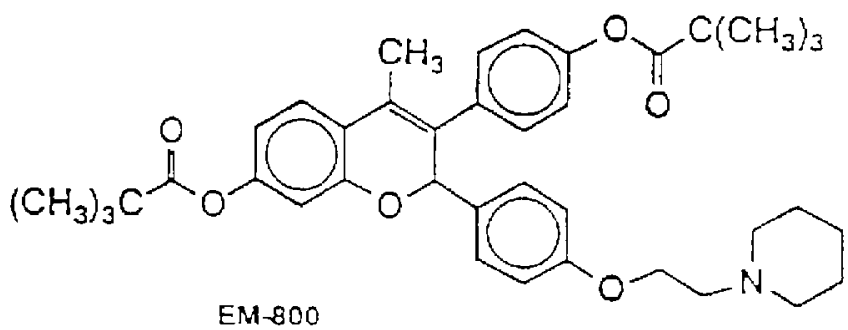
В другом варианте реализации, изобретение относится к оптически активному соединению следующей молекулярной структуры:



EM-661

или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте реализации, изобретение относится к оптически активному соединению следующей молекулярной структуры:



EM-800

или его фармацевтически приемлемой соли.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

В другом варианте реализации, любое из рассматриваемых здесь соединений составлено вместе с фармацевтически приемлемым растворителем или носителем в виде фармацевтических композиций, содержащих активные соединения изобретения.

В другом варианте реализации, любое из соединений или фармацевтических композиций изобретения вводятся пациентам как способ лечения рака молочной железы, рака эндометрия или других чувствительных к эстрогенам заболеваний, начало и развитие которых обусловлено или усиливается эстрогенной активностью.

"Радикал, преобразуемый in vivo в гидроксил" представляет собой группу, которая расщепляется и замещается гидроксильной группой или соответствующим анионом под влиянием химических или ферментативных процессов в организме. Многие такие группы известны из предшествующего уровня техники (см., например, Textbook of drugs Basics and Development; (Edited by P. Krogrgaard-Garsen and H. Bundgaard), Harwood Academic Publishers, GmfH, Chur, Switzerland, 1991, в частности, стр. 154). Не ограничивающими примерами таких групп являются алкилокси, алкенилокси, арилокси, алкилкарбоксил, алкоксикарбоксил, диалкиламино-карбоксил и силилокси, которые (когда они расположены, как показано для соединений по изобретению) преобразуются в гидроксил.

Особенно предпочтительными являются предшественники лекарственного средства рацемического варианта ЕМ-343 ((±)-7-гидрокси-3-(4'гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидин-

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

этокси)фенил-2Н-бензопиран) и правовращающие энантиомерные виды ЕМ-343, обозначенные здесь как "ЕМ-652", ((±)-7-гидрокси-3-(4'гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидин-этокси)фенил-2Н-бензопиран), хотя изобретение не ограничивается этими видами.

Изобретение включает соли (в том числе комплексные соли) и пролекарственные формы рассматриваемых здесь соединений. За исключением случаев, когда дается иное определение, следующие условия относятся к представленным здесь молекулярным структурам и формулам. Заместители могут иметь стереохимию либо R, либо S. если не указано иного, любой радикал молекулы из более, чем двух атомов, может иметь прямую или разветвленную цепь.

Рассматриваемые здесь соединения могут существовать либо в виде рацемических смесей, либо в оптически активной форме, кроме случаев, когда указано иное. Термин "антиэстроген", используемый здесь для описания соединений изобретения, не предназначен для указания, что соединения не имеют других благоприятных функций, кроме антагонистической активности (например, подавление ферментов, как обсуждено выше), и термин также включает как биологически активные соединения и их пролекарственные формы, которые могут превращаться in vivo в биологически активные виды.

Без намерения связывать себя теорией, заявители полагают, что новые соединения и фармацевтические композиции по изобретению могут использоваться при лечении связанных с эстрогеном заболеваний вследствие их способности подавлять активацию рецепторов эстрогенов. Считается, что активные

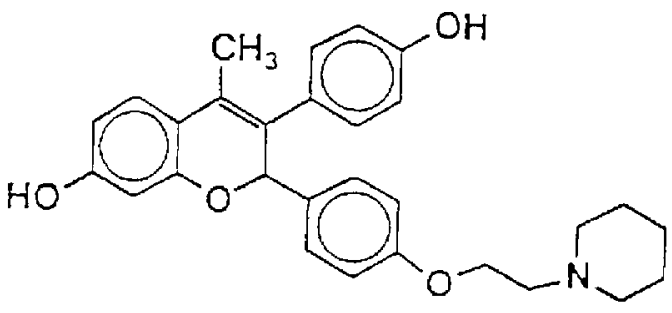
RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

формы соединений по изобретению снижают активацию рецепторов эстрогенов с помощью множества механизмов. Одним вероятным механизмом является "антиэстрогенная" функция, при которой соединения по изобретению связывают рецепторы эстрогенов и блокируют доступ эстрогенов к этим рецепторам. Считается также, что соединения по изобретению в основном не обладают присущей им эстрогенной активностью. Другими словами, полагают, что соединения изобретения имеют небольшую, если вообще имеют, присущую им способность активировать рецепторы эстрогенов, с которыми они связываются, и не легко превращаются in vivo в соединения, имеющие значительную свойственную эстрогенную активность. Другой механизм, с помощью которого могут функционировать многие соединения по изобретению, заключается в подавлении действия ферментов, которые вырабатывают половые стероиды, или их предшественников. Примеры таких ферментов, которые могут ингибироваться соединениями по изобретению, включают, но не ограничиваются ими, ароматазу, 17β-гидроксистероид дегидрогеназу, 3β-гидроксистероид дегидрогеназу и им подобные.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фиг.1 иллюстрирует сравнительную подавляющую активность возрастающих концентраций ЕМ-343

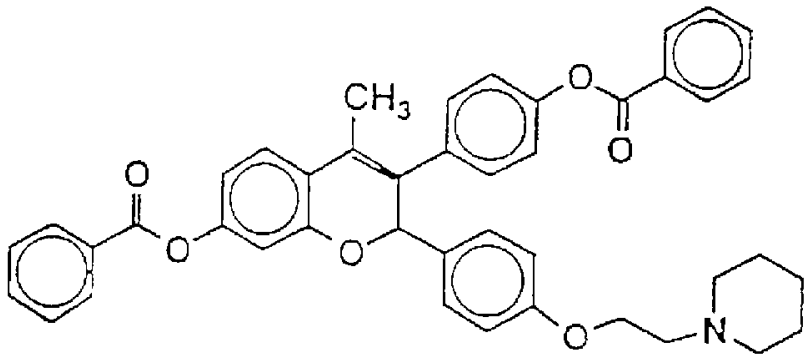


RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

и его правовращающего энантиомера ЕМ-652 по влиянию на вызванную эстрадиолом клеточную пролиферацию клеток ZR-75-1 рака молочной железы человека. Рассчитываются соответствующие значения IC_{50} (концентрации, подавляющей пролиферацию на 50%) при 2,4 x 10^{-10} М для ЕМ-343 и 1,1 x 10^{-10} М для ЕМ-652, показывающие таким образом вдвое более высокую активность ЕМ-652. Используемый здесь термин "ЕМ-343" (за исключением того, когда он специальнс списывается как рацемическая смесь) включает любой энантиомер, имеющий молекулярную структуру, представленную вьше, и включает их смеси, включая рацемическую смесь. Термины "ЕМ-651" и "ЕМ-652" зарезервированы для оптически активных вариантов ЕМ-343, с увеличенной концентрацией соответственно левовращающего или правовращающего энантиомера.

Фиг.2 иллюстрирует сравнительную подавляющую активность возрастающих концентраций рацемического варианта ЕМ-612, дибензоата ЕМ-343, имеющего следующую структуру:

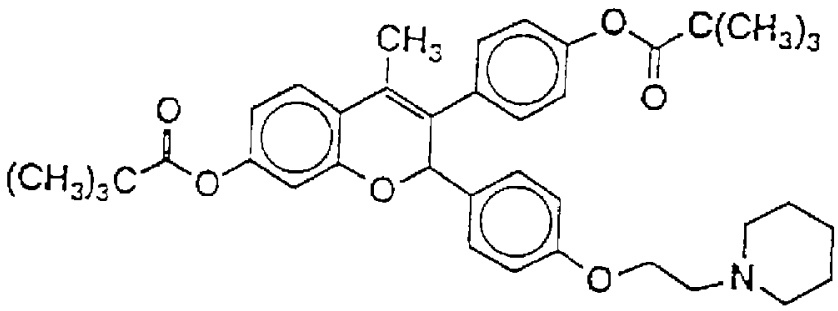


в сравнении с ЕМ-661 (оптически активным и обогащенным правовращающим энантиомером ЕМ-612) и ЕМ-658 (оптически активным и сбогащенным левовращающим энантиомером ЕМ-612), на вызванную эстрадиолом клеточную пролиферацию клеток ZR-75-1

RU 2220143 C2
RU 2220143 C2

рака молочной железы человека. Рассчитываются соответствующие значения IC_{50} при 5,76 x 10^{-10} М для ЕМ-612, 4,37 x 10^{-10} М для ЕМ-661, и 3,01 x 10^{-8} М для ЕМ-658 показывающие таким образом в 69 раз более высокую активность правовращающего энантиомера ЕМ-658.

Фиг.3 иллюстрирует сравнительную подавляющую активность возрастающих концентраций рацемического варианта ЕМ-762, дипивалата ЕМ-343, имеющего следующую структуру:



в сравнении с ЕМ-800 (оптически активным и обогащенным правовращающим энантиомером ЕМ-762) и ЕМ-776 (оптически активным и обогащенным левовращающим энантиомером ЕМ-762), на вызванную эстрадиолом клеточную пролиферацию клеток ZR-75-1 рака молочной железы человека. Рассчитываются соответствующие значения IC_{50} при 6,47 x 10^{-10} М для ЕМ-762, 4,37 x 10^{-10} М для ЕМ-800, и 1,9 x 10^{-8} М для ЕМ-776 показывающие таким образом в 43 раза более высокую активность правовращающего энантиомера ЕМ-800 в сравнении с левовращающим энантиомером ЕМ-776.

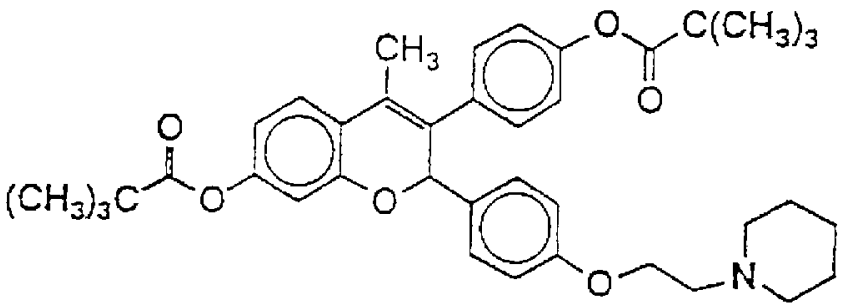
Фиг.4 аналогичным образом иллюстрирует влияние рацемического ЕМ-343 в сравнении с его левовращающим энантиомером ЕМ-651 и его правовращающим энантиомером ЕМ-652, вводимых один раз в день указанным образом и в указанной

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

дозировке, на массу (мг) матки у взрослых самок мышей Balb/C после овариэктомии, получавших в течение 9 дней (с 3 по 11 день после овариэктомии) лечение в указанном присутствии или отсутствии одновременного лечения эстроном (0,06 мкг п/к, два раза в день, с 6 по 11 день после овариэктомии). Эстрон является предшественником мощного эстрогена эстрадиола. Поэтому представленные данные указывают на способность соединения блокировать рецепторы эстрогена (т.е., действуют в качестве антиэстрогена), и вероятно также указывают на способность соединения подавлять превращение эстрона в эстрадиол.

Фиг.5 иллюстрирует влияние указанных доз рацемического варианта ЕМ-762, дипивалата ЕМ-343, имеющего следующую молекулярную структуру:



в сравнении с левовращающим энантиомером ЕМ-776 и его правовращающим энантиомером ЕМ-800, вводимых однократно внутрь, на массу (мг) матки у взрослых самок мышей Balb/C после овариэктомии, получавших в течение 9 дней (с 3 по 11 день после овариэктомии) лечение в указанном присутствии или отсутствии одновременного лечения эстроном (0,06 мкг п/к, два раза в день, с 6 по 11 день после овариэктомии).

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Далее изобретение иллюстрируется подробным описанием предпочтительных вариантов реализации, которые приводятся ниже только в целях иллюстрации. Изобретение не ограничивается этими предпочтительными вариантами реализации.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ РЕАЛИЗАЦИИ

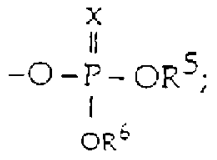
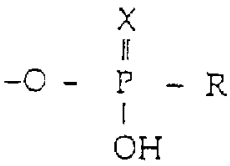
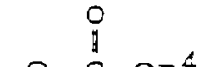
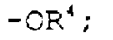
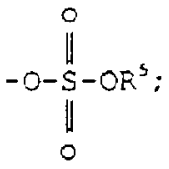
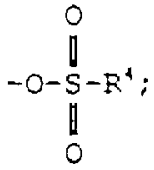
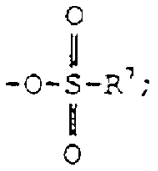
Предпочтительные пролекарства по изобретения включают такие, в которых, по крайней мере, один из гидрокси заместителей фенильных групп бензопирана активных видов (например, гидроксильных групп ЕМ-343 или его правовращающего энантиомера ЕМ-652) замещен заместителем, который преобразуется in vivo в гидроксил. Из предшествующего уровня техники известно множество таких частей молекул, способных превращаться in vivo в гидроксил (см. стр. 154 Bundgaard H., Design and Application of Prodrugs, A textbook of Drug Design and Development; Bundgaard & Krogsgaard-Larsen, Ed., (Harwood Academic Publishers GmfH, Chur, Switzerland), 1991. Теперь заявителем были разработаны пролекарства, которые (1) имеют хорошую кристалличность, и поэтому их легче синтезировать и очищать; (2) имеют хорошую стойкость при хранении, при этом будучи достаточно неустойчивыми in vivo и, что желательно, могут преобразовываться в предпочтительное активное соединение; (3) хорошую биодоступность (например, способность проходить через мембраны или другим образом достигать желательные участки после введения); и (4) низкую токсичность метаболитов.

Заявителями в настоящее время обнаружено, что пролекарственные формы, которые обеспечивают лучшее сочетание хороших результатов в условиях указанных выше параметров,

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

представляют собой пролекарства, в которых одна или более из указанных выше гидроксильных групп активных соединений замещены в пролекарственной форме ацилокси группами, предпочтительно алифатическим или ароматическим ацилокси и, наиболее предпочтительно, имеющим пониженную реакционную способность (например, разветвленный или алициклический) алифатический ацилокси, особенно, пивалоилокси. В других вариантах реализации, гидроксильный заместитель активного вида может быть замещен, наряду с другими, радикалом, выбранными из группы, включающей:


где X представляет собой серу или кислород;

R^4 выбран из группы, включающей алкил, алкенил, алкинил и арил;

R^5 и R^6 выбраны из группы, включающей водород, алкил, алкенил, алкинил, арил и катион; и

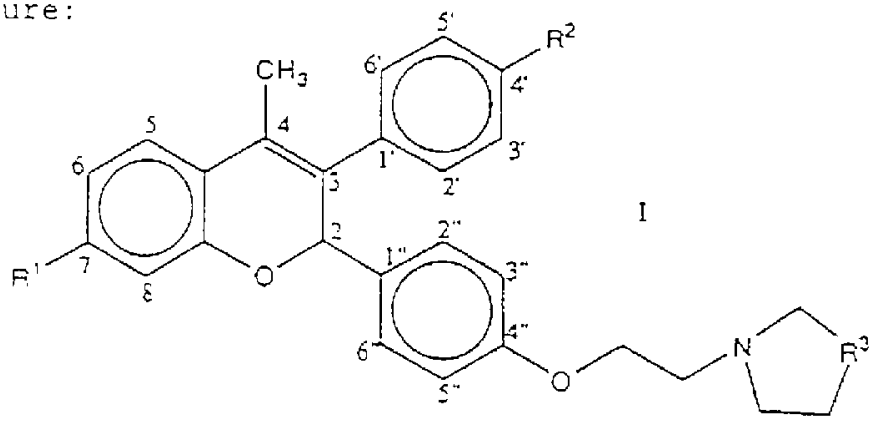
R^7 выбран из группы, включающей амино, алкиламино, аминоалкил и алкилсульфанил.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

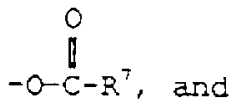
В одном варианте реализации, изобретение относится к соединению или его фармацевтически приемлемой соли (вместе или без растворителя или носителя), и указанное соединение имеет молекулярную структуру:

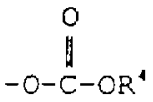
cture:



I

где R^3 представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2CH_2-$; и где R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей гидрокси, ацилокси,





(R^4 представляет собой алкил, алкенил, алкинил или арил; а R^- представляет собой амино, алкиламино, аминоалкил и алкилсульфанил),

и где, по крайней мере, один из R^1 или R^2 не является гидрокси.

Когда абсолютная конфигурация молекулярных структур, рассматриваемых здесь, не определена, эти молекулярные

RU 2220143 C2

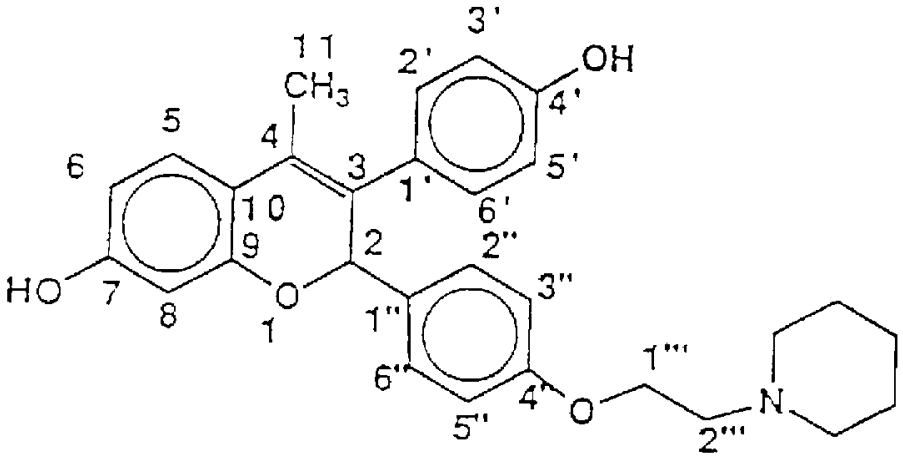
RU 2220143 C2

структуры могут включать один или несколько стереоизомеров, происходящих из любых присутствующих хиральных центров, могут включать рацемические смеси или могут быть оптически активными. В настоящее время изобретатели установили, что некоторые энантиомеры соединений изобретения более эффективны, чем другие при лечении связанных с эстрогенами заболеваний, и при желательном подавлении активации рецепторов эстрогенов. Настоящее изобретение охватывает повышение эффективности с помощью избирательного увеличения концентрации более мощных энантиомеров относительно менее мощных энантиомеров и, таким образом, с помощью обеспечения оптически активных продуктов для применения при лечении связанных с эстрогенами заболеваний. В предпочтительных вариантах реализации, оптически активные антиэстрогены по изобретению включают, по крайней мере, 90% более мощных энантиомеров и являются предпочтительно в целом чистыми по этому энантиомеру.

Все обсуждаемые здесь соединения имеют хиральный центр у их углерода во втором положении. Было установлено, что наиболее мощными стереоизомерами среди антиэстрогенов изобретения являются те, которые имеют такую же абсолютную конфигурацию у их хирального углерода во втором положении, как и ЕМ-652, правовращающий энантиомер следующего антиэстрогена:

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2



(+)-7-гидрокси-3-(4'гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил-2Н-бензопиран.

Предпочтительные стереоизомеры всегда имеют такую же абсолютную конфигурацию у их хирального углерода во втором положении, как и ЕМ-652,но могут не обязательно быть правовращающими, когда хиральный центр оказывается где-то еще в их молекулярной структуре. Однако когда имеется только один хиральный центр, предпочтительным энантимером будет правовращающий. Предпочтительные пролекарства, которые включают второй хиральный центр, в части молекулярной структуры, которая удаляется in vivo, еще имеют такую же предпочтительную абсолютную конфигурацию у углерода во втором положении, что и у ЕМ-652. Таким образом, активные формы, в которые пролекарства преобразуются in vivo, не будут содержать второй хиральный центр и будут правовращающими (даже в случаях, когда пролекарственная форма вследствие ее временного второго хирального центра может быть левовращающей). Для подтверждения того, что данный оптически активный вид имеет предпочтительную абсолютную конфигурацию, можно определить осуществляемое видом вращение плоскости

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

поляризованного света с помощью методик, хорошо известных в предшествующем уровне техники. Когда в пролекарственной форме по изобретению имеются другие хиральные центры, пролекарства перед измерением вращения поляризованного света полученным в результате активным соединением, должны быть сначала преобразованы в активные виды с помощью мягких методов, известных из предшествующего уровня техники, с тем, чтобы не рацемизировать или не инвертировать остающийся хиральный центр активного вида (см., например, пример 8), или необходимо другим способом избавиться от хиральных центров, иных, чем по углероду во втором положении. Если это вращение указывает на правовращающее активное соединение (после удаления любого второго хирального центра, который мог существовать у пролекарственной формы), то и пролекарственная форма, и полученная активная форма находятся в предпочтительной абсолютной конфигурации по углероду во втором положении.

Соединения по изобретению содержат азот гетерокольца. В некоторые, но не во все варианты реализации, включаются соли, в которых азот гетерокольца представляет собой заряженный четвертичный азот, связанный с анионом фармацевтически приемлемой кислоты. Изобретение также охватывает комплексные соли, в которых азот гетерокольца представляет собой не единственное заряженное "солевое" положение в общей молекулярной структуре. Предпочтительными вариантами реализации являются оптически активные соединения и они имеют абсолютную конфигурацию ЕМ-652 у углерода во втором положении (что можно подтвердить с помощью экстракции соли в щелочных

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

условиях с получением таким образом свободного основания с только одним хиральным центром у углерода во втором положении, чья абсолютная конфигурация затем может быть подтверждена с помощью определения желаемой правовращающей оптической активности).

При системном введении предпочтительные способы применения фармацевтических композиций и соединений по изобретению включают, но не ограничиваются ими, лечение рака молочной железы, рака эндометрия, рака матки, рака яичников, эндометриоза, фибромы матки, преждевременного полового созревания и доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Другие чувствительные к эстрогенам заболевания, началу и развитию которых способствует активность эстрогена, могут благоприятно реагировать на лечение в соответствии с изобретением.

Особенно в течение раннего курса лечения, предпочтительно периодически брать образцы крови и изменять по мере необходимости дозировку для поддержания сывороточной концентрации активного соединения по изобретению или суммы активных соединений (когда вводится более одного) около от 0,2 мкг/мл до 10 мкг/мл. В зависимости от наблюдаемой реакции пациента, лечащий врач может принять решение изменить эту целевую концентрацию.

Соединения, вводимые в соответствии с изобретением, предпочтительно вводятся в диапазоне доз от 0,01 до 10 мг/кг массы тела в сутки (предпочтительно, от 0,05 до 1,0 мг/кг) при 5 мг в сутки, в частности, 10 мг в сутки, двумя порозну разделенными дозами, которые предпочтительны при введении

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

внутрь лицу со средней массой тела, или в диапазоне доз от 0,003 до 3,0 мг/кг массы тела в сутки (предпочтительно, от 0,015 до 0,3 мг/кг) при 1,5 мг в сутки, в частности, 3,0 мг в сутки, двумя поровну разделенными дозами, которые предпочтительны при введении лицу со средней массой тела парентерально (т.е., внутримышечном, подкожном или чрескожном введении). Предпочтительно, соединения вводятся вместе с фармацевтически приемлемым растворителем или носителем, как описано ниже.

Предпочтительные фармацевтические композиции включают терапевтически эффективные количества, по крайней мере, одного из рассматриваемых здесь соединений, в которых фармацевтически приемлемый растворитель или носитель включен с активным соединением (соединениями). Концентрация активного соединения (этот термин включает рассматриваемые здесь пролекарства) в указанном растворителе или носителе будут изменяться в соответствии с известными методиками в зависимости от способа предполагаемого введения фармацевтической композиции.

Композиция, пригодная для введения внутрь, может предпочтительно содержать, по крайней мере, один описанный здесь ингибитор активности половых стероидов, и общая концентрация всех таких ингибиторов в указанной фармацевтической композиции составляет от около 0,2% до около 95% композиции (от общей массы), и предпочтительно от около 1% до около 10%. Предпочтительно содержится фармацевтически приемлемый растворитель, например, крахмал или лактоза вместе или без тартразина.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

При приготовлении к парентеральной инъекции, ингибитор активности половых стероидов предпочтительно добавляется в концентрации от около 0,5 мг/мл до около 100 мг/мл (предпочтительно, от около 1 мг/мл до около 5 мг/мл) к носителю, предпочтительно содержащему, по крайней мере, одно вещество, выбранное из группы, включающей солевой раствор, воду, водный этанол, водный диметилсульфоксид и масло.

Композиция, пригодная для продолжительного парентерального введения, предпочтительно содержит носитель и антиэстроген в соответствии с изобретением в концентрации, достаточной для введения от около 0,5 мг до около 500 мг (предпочтительно, ст 2,5 до 50) антиэстрогена на 50 кг массы тела в сутки в используемой объемной скорости потока. Таким образом, объем жидкости должен изменяться в зависимости от концентрации для достижения желаемого результата. При более высоких концентрациях требуется меньший объем жидкости, а при более низких концентрациях - больший.

В некоторых альтернативных вариантах реализации, фармацевтическая композиция по изобретению может быть составлена для поддерживаемого высвобождения в соответствии с известными методиками. Эти композиции с поддерживаемым высвобождением предпочтительно готовятся соответствующим образом или для перорального, или внутримышечного, или подкожного введения. Соединения могут также вводиться с помощью трансдермальной накладки в соответствии с известными методиками. Эти композиции с поддерживаемым высвобождением, в соответствии с изобретением, должны быть составлены для

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

введения около от 0,5 мг до 500 (предпочтительно, от 2,5 до 50) мг антиэстрогена на 50 кг массы тела в сутки.

Ниже представлены некоторые схемы последовательности операций, описания и иллюстрации ряда предпочтительных схем синтеза определенных предпочтительных соединений в соответствии с изобретением. Представленные ниже стадии приводятся просто в качестве примера. Специалисты в данной области легко найдут альтернативные пути и варианты синтеза, способные дать множество соединений, которые можно использовать в соответствии с изобретением.

ПРИМЕРЫ СИНТЕЗА ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ АКТИВНОСТИ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ

Приборы и материалы

Инфракрасные (ИК) спектры здесь исследовали с помощью спектрофотометра Perkin-Elmer 1600 Series FT-IR. Протонные ЯМР спектры регистрировали на приборе Brucker AC-F 300. Использовали следующие сокращения: с, синглет; д, дублет; дд, дублет дублета; т, триплет; кв, квадруплет; и м, мультиплет. Химические сдвиги (δ)относительно к хлороформа (7,26 мкг/мг для ^{1}H и 77,00 мкг/мг для ^{13}C) и выражались в мкг/мг. Оптические вращения измеряли при комнатной температуре на поляриметре Jasco DIP 360. Масс спектры (МС) получали на аппарате V.G. Micromass 16F. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) выполняли в чашках 0,25 мм Kieselgel 60F254 (E. Merck, Darmstadt, FRG). Для флэш-хроматографии использовали прибор Merck-Kieselgel 60 (сетка 230-400 A.S.T.M.). При отсутствии других указаний, исходный материал и реактив приобретали и использовали как таковые или очищали с помощью стандартных

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

средств. Все очищенные и высушенные растворители и реактивы хранили в атмосфере аргона. Безводные реакции проводили в условиях инертной атмосферы, установку собирали и охлаждали в атмосфере аргона. Органические растворы высушивали над сульфатом магния, выпаривали на роторном испарителе и в условиях пониженного давления.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДГП	3,4-дигидро-2Н-пиран
ЭДТК	Этилендиаминтетрауксусная кислота
ВЭЖХ	Высоко эффективная жидкостная хроматография
РТСК	п-толуолсульфоновая кислота
ТГФ	Тетрагидрофуран
ТГП	Тетрагидропиранил
ТМС	Тетраметилсилил

RU 2220143 C2

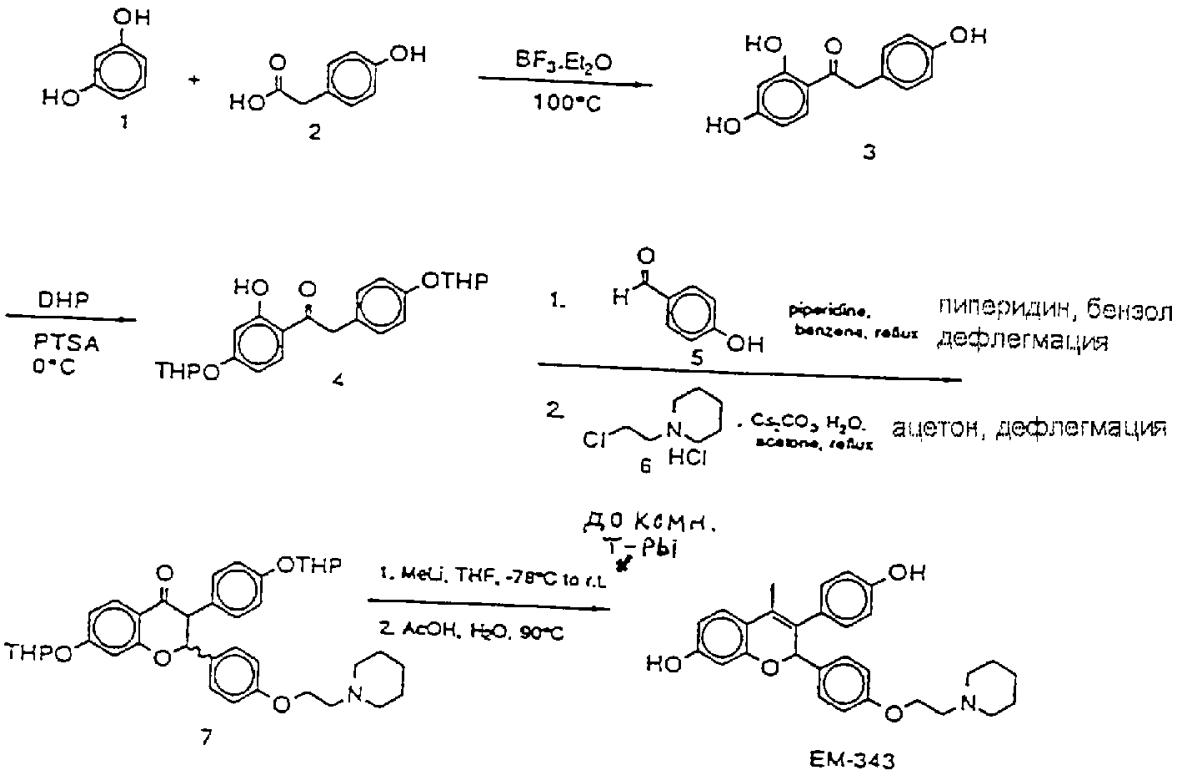
RU 2220143 C2

ПРИМЕР 1

Синтез 7-гидрокси-3-(4'гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопирана (ЕМ-343)

СИНТЕЗ А (Этот синтез описан ниже на Схеме 1)

СХЕМА 1



Указанный выше синтез проводили следующим образом:

Трифенол 3

Суспензию резорцинола 1 (89,2 г, 0,810 моль) и кислоту 2 (135,4 г., 0,890 моль)(оба соединения имеются в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.) в эфирате трифторида бора (300 мл) и толуоле (240 мл) нагревают при 100°С в течение 3 ч и затем дают остыть до комнатной температуры. Полученную в результате суспензию перемешивают в течение ночи с 12% водным раствором ацетата натрия (400 мл).

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Полученный в результате осадок фильтруют, промывают дистиллированной водой (2 х 1 л) и 12% водным раствором ацетата натрия (400 мл). Твердое вещество затем перемешивают в течение ночи с 12% водным раствором ацетата натрия (1,2 л). Осадок фильтруют, промывают дистиллированной водой (500 мл) и повторно кристаллизуют (этанол:вода; 0,75:3 л) с получением трифенола 3 (160,2 г, 81%), который высушивают в течение одной недели под вакуумом (точка плавления 180-185°C).

Дитетрагидропираниловый эфир 4

Суспензию трифенола 3 (164 г, 0,672 моль) в 3,4-дигидро-2H-пиране (600 мл)(имеются в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.) обрабатывают моногидратом п-толуолсульфоновой кислоты (2 х 10 мг) при 0°C. Реакционную смесь перемешизают в течение 1,5 ч при 0°C и затем в течение 1 ч после удаления ледяной бани (реакцию контролируют с помощью ТСХ; моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты добавляют до тех пор, пока не исчезнут исходный материал и монотетрагидропираниловый эфир). Смесь затем обрабатывают насыщенным бикарбонатом натрия (250 мл) и этилацетатом (1 л). Органическую фазу промывают насыщенным бикарбонатом натрия (250 мл) и насыщенным раствором соли (250 мл), высушивают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении. Неочищенное соединение растирают в порошок с гексаном (2 л) в течение 3 ч с перемешиванием. Полученную в результате суспензию оставляют стоять при 0°C в течение 5 ч и затем при -20°C в течение 18 ч. Твердое вещество фильтруют и снова обрабатывают гексанами (1 л) с перемешиванием в течение 1 ч с получением соединения 4, которое фильтруют и высушивают (190

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

г, 69%), точка плавления 109-112°C: H^1-ЯМР δ (300 МГц: $CDCl_3$), 1,5-2,1 (12H, м, O-CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-O), 3,55-3,65 (2H, м O-CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-O), 4,16 (2H, с, Ph-CH_2-C=O), 5,40 (1H, т, J = 3 Гц O-CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-O), 5,49 (1H, т, J = 3 Гц O-CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-O), 6,55 (1H, дд, J = 2,5 Гц и 8,5 Гц, CH фенил), 6,61(1H, д, J = 2,5 Гц, CH фенил), 7,03 и 7,17 (2H, система AB J = 8,5 Гц, CH фенил), 7,77(1H, д, J = 8,5 Гц, CH фенил), 12,60 (1H, с, Ph OH).

Амин 7

Раствор дитетрагидропиранилового эфира 4 (150 г, 0,364 моль), 4-гидроксибензальдегида 5 (46 г, 0,377 моль (имеются в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.) (4-гидроксибензальдегид обрабатывают активированным углем и повторно кристаллизуют из дистиллированной воды) и пиперазин (11 мл) в бензоле (3,7 л) перемешивают и нагревают до температуры дефлегмации с помощью прибора Dean-Stark в течение 60 ч. Растворитель удаляют при пониженном давлении. Сырые промежуточные продукты, 1-(2-хлорэтил) пиперидин моногидрохлорид 6 (80 г, 0,435 моль), карбонат цезия (282 г, 0,866 моль) и дистиллированную воду (50 мл) в ацетоне (3,7 л) механически перемешивают и нагревают до температуры дефлегмации в течение 19 ч, а затем охлаждают до комнатной температуры. Смесь фильтруют и промывают ацетоном (100 мл). Фильтрат затем удаляют при пониженном давлении с получением остатка, который очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (10 л) (этилацетат, затем этилацетат:метанол; 9:1) с получением соединения 7 (148 г, 65%).

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

ЕМ-343

В раствор амина 7 (200 г, 0,319 моль) в сухом тетрагидрофуране (3 л) добавляют метиллитий (1,4 М раствор в эфире, 685 мл, 0,959 моль, имеющийся в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.) при -78°С на 45 мин в атмосфере аргона. Холодную баню затем удаляют и реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры в течение 3 ч. Смесь снова охлаждают до -78°С и обрабатывают насыщенным хлоридом аммония (1 л). Водный раствор экстрагируют этилацетатом (2 х 1 л). Объединенные органические фазы промывают насыщенным раствором соли (1 л), высушивают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении. Остаток разделяют на две части и обрабатывают следующим образом: остаток растворяют в смеси уксусной кислоты (1,6 л) и дистиллированной воды (0,2 л) и нагревают при 90°С в течение 30 мин в токе аргона, после чего его охлаждают до комнатной температуры, выпаривают при пониженном давлении с получением остатка, основность которого повышают 15% водным карбонатом натрия (900 мл). Декантация дает неочищенный продукт, который затем перемешивают со смесью 15% водного карбоната натрия (300 мл) и этилацетата (500 мл) в течение 30 мин. Водную фазу отделяют и экстрагируют этилацетатом (500 мл). Объединенные органические фазы промывают дважды 15% водным карбонатом натрия (300 мл) и насыщенным раствором соли (500 мл), высушивают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении с получением продукта, который очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (6 л) (дихлорметан: этанол; 9:1) и получают ЕМ-343 7-гидрокси-3-(4'-гидрокси-

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

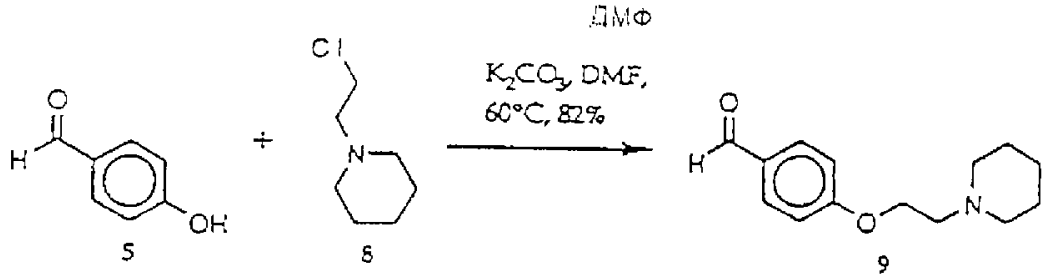
фенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопирана (44 г, 60%): H^1-ЯМР δ (300 МГц: CD_3OD), 1,46 (12H, м, цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2), 1,60 (4H, м цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-), 2,02 (3H, с, CH_3-C=O), 2,56 (4H, м, цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-), 2,76 (2H, т, J = 5 Гц O-CH_2-CH_2-N), 4,06 (2H, т, J = 5 Гц и 8,5 Гц, O-CH_2-CH_2-N), 5,77(1H, с, O-CH-Ph), 6,12 (1H, д, J = 2,5 Гц, CH фенил), 6,35(1H, дд, J = 2,5 Гц, 8 Гц, CH фенил), 6,98 (2H, д, J = 8,5 Гц, CH фенил), 7,12 (1H, д, J = 8 Гц, CH фенил), 7,19(2H, д, J = 8,5 Гц, CH фенил). C^{13}-ЯМР δ (75 МГц: CD_3OD), 160,0, 159,3, 157,5, 154,6, 133,2, 131,6, 130,5, 125,8, 118,7, 116,1, 115,2, 109,2, 104,5, 81,5, 66,1, 58,8, 55,8, 26,3, 24,9, и 14,9; ИК ($CHCl_2$) ν_{max} $см^{-1}$: 3330, 1607, 1508 и 1231. Масс спектроскопия: M+457.

СИНТЕЗ B, Альтернативный синтез EM-343 (Этот синтез описан на схемах 2 и 3 ниже)

Указанный выше синтез проводили следующим образом:

Альдегид 9

Это приготовление описано ниже на схеме 2.



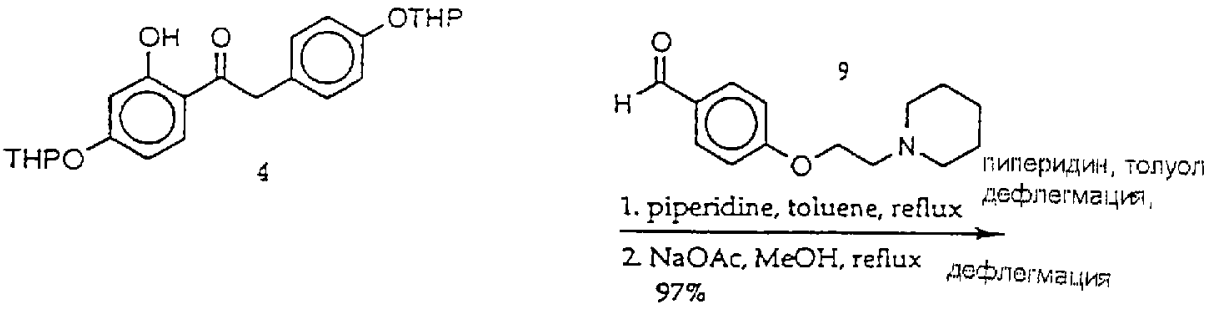
Суспензию гидроксибензальдегида 5 (10,0 г, 0,0819 моль), карбоната калия (22,6 г, 0,164 моль) и 1-(2-хлорэтил) пиперидина 8 (18,1 г, 0,123 моль), полученного с выходом 65% из 100 г моногидрохлорида 1-(2-хлорэтил) пиперидина 6 в безводном ДМФ (40 мл) нагревают при 60°C в течение 16 ч.

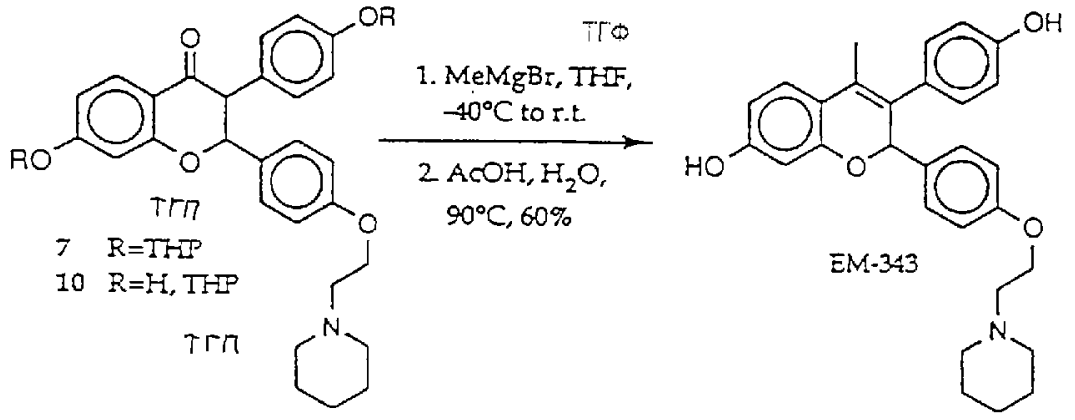
RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Реакционной смеси дают остыть до комнатной температуры, выливают в дистиллированную воду (200 мл) и экстрагируют этилацетатом (3 x 150 мл). Полученную в результате суспензию перемешивают в течение ночи с 12% водным раствором ацетата натрия (400 мл). Объединенные органические фазы промывают насыщенным бикарбонатом натрия (2 x 100 мл) и насыщенным раствором соли (3 x 100 мл) и высушивают над сульфатом магния. Неочищенное масло (18 г) перегоняют в вакууме [см. (Hugues et al., J. Med. Chem. 7, 511, 1964), точка кипения 147-148°C (0,05 мм)] с получением желтого масла (15,7 г, 82%), которое после отстаивания становится оранжевым.

СХЕМА 3





RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Смесь аминов 7 и 10 (Это приготовление описано выше на схеме 3)

Раствор дитетрагидропиранилового эфира 4 (5,00 г, 0,0121 моль), альдегида 9 (2,92 г, 0,0125 моль) и пиперидина (0,36 мл, 0,0036 моль) в толуоле (120 мл), перемешивают и нагревают до температуры дефлегмации с помощью прибора Dean-Stark в течение 48 ч в атмосфере аргона. Растворитель удаляют при пониженном давлении. Сырые промежуточные продукты растворяют в метаноле (400 мл), обрабатывают ацетатом натрия (49 г, 0,60 моль), перемешивают и нагревают до температуры дефлегмации в течение 18 ч и затем охлаждают до комнатной температуры. Растворитель удаляют при пониженном давлении. Смесь обрабатывают этилацетатом (500 мл) и дистиллированной водой (500 мл). Водную фазу экстрагируют этилацетатом (2 x 100 мл), и объединенную органическую фазу промывают дистиллированной водой (2 x 100 мл), высушивают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении. Сырые продукты очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (этилацетат, затем этилацетат:метанол; 9:1) с получением смеси аминов 7 и 10 (6,8 г, 97%) (точка плавления 78-85°C).

EM-343 (Это приготовление описано выше на схеме 3)

В раствор аминов 7 и 10 (73,0 г, 126 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (1,5 л) добавляют при -40°C на 5 мин в атмосфере аргона раствор метилмагнийбромида (3,0 М в эфире, 210 мл, 630 ммоль) (образование светлого осадка). Холодную баню удаляют и реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры в течение 3 ч. Смесь снова охлаждают до -40°C и обрабатывают насыщенным хлоридом аммония (1 л) и

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

дистиллированной водой (500 мл). Водный раствор экстрагируют этилацетатом (2 x 1 л). Объединенные органические фазы промывают насыщенным раствором соли (1 л), высушивают над сульфатом магния и упаривают при пониженном давлении. Остаток разделяют в смеси уксусной кислоты (1,05 л) и дистиллированной воды (117 мл) и нагревают от 23°C до 80°C в течение 45 мин в токе аргона. Смесь затем охлаждают до комнатной температуры и выпаривают при пониженном давлении (одна четверть первоначального объема) с получением остатка, который обрабатывают насыщенным водным карбонатом натрия (550 мл) (образование смолы). Декантация дает неочищенный продукт, который затем перемешивают со смесью насыщенного водного карбоната натрия (400 мл) и этилацетата (600 мл) в течение 15 мин до полного растворения. Водную фазу отделяют и экстрагируют этилацетатом (500 мл). Объединенные органические фазы промывают дважды насыщенным водным карбонатом натрия (200 мл) и насыщенным раствором соли (300 мл), высушизают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении с получением продукта, который очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (6 л) (дихлорметан:этанол; 9:1) и получают ЕМ-343 с выходом 62,5%.

ПРИМЕР 2

Выделение (+)-7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопирана (ЕМ-652).

Разделение энантиомеров ЕМ-343 (209 г) (см. Схему 4 ниже) выполнялось в несколько сеансов на колонке Diacel Chiralpak® AD™ (которую можно приобрести у Chiral Technologies, Inc., Extons, P.A.) при комнатной температуре.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Подвижная фаза представляла собой гексан/этанол/диэтиламин : 80/20/0,02 (по объему). Конечные продукты высушивают выпариванием при 40°C в условиях вакуума. Чистоту энантиомеров контролируют с помощью аналитической ВЭЖХ с использованием колонки Diacel Chiralcel AD™ (которую можно приобрести у Chiral Technologies, Inc., Exton, P.A.) при комнатной температуре и УФ детекции при 254 нм. Подвижная фаза представляла собой гексан/этанол/диэтиламин : 80/20/0,2 при скорости потока 1,0 мл/мин. В порядке элюирования получают:

Фракцию 1 (первая элюированная фракция)

(+)-7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопиран (EM-652) (92 г, 99,4% исключая ошибки). H^1-ЯМР δ (300 МГц: ДМСО-d_6), 1,33 (2H, м, цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2), 1,44 (4H, м цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-), 2,00 (3H, с, CH_3-C=C), 2,35 (4H, м, цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-), 2,56 (2H, т, J = 5,8 Гц O-CH_2-CH_2-N), 3,94 (2H, т, J = 5,8 Гц, O-CH_2-CH_2-N), 5,87(1H, с, O-CH-Ph), 6,06 (1H, д, J = 2,4 Гц, CH фенил), 6,31(1H, дд, J = 2,4 Гц и 8,5 Гц, CH фенил), 6,69 (2H, д, J = 8,3 Гц, CH фенил), 6,77 (2H, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 7,04(2H, д, J = 8,5 Гц, CH фенил), 7,09(1H, д, J = 8,5 Гц и 8,5 Гц, CH фенил). C^{13}-ЯМР δ (75 МГц: ДМСО-d_6), 158,4, 158,1, 156,3, 152,5, 131,0, 130,3, 129,3, 128,9, 128,2, 124,8, 116,6, 115,0, 114,3, 108,1, 103,1, 78,7, 65,4, 57,3, 54,4, 30,6, 25,5, и 23,9; ИК ($CHCl_2$) ν_{max} $см^{-1}$: 3372, 1609, 1508 и 1238; $[\alpha]_D^{28}$ + 129° (c=1,46 ТГФ).

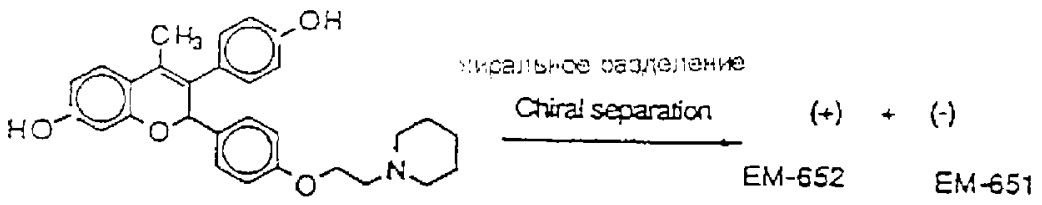
RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Фракция 2

(-)-7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопиран (ЕМ-651) (96 г, 98,4% ее) $[\alpha]_D^{25}$ -127° (с 1,08, ТГФ).

СХЕМА 4



Racemic EM-343

ПРИМЕР 3

Разделение энантиомеров ЕМ-343 с помощью химического расщепления

Раствор (1S)-(+)-10-камфорсульфоновой кислоты (466 мг, 2,00 моль) в метаноле (20 мл) добавляют к раствору ЕМ-343 (918 мг, 2,00 ммоль) в метаноле (5 мл). Полученный раствор оставляют при комнатной температуре на один день и при -20°С на два дня. Для способствования кристаллизации время от времени производят трение поверхности сосуда. Кристаллы фильтруют, промывают минимальным количеством метанола, сушат и измеряют удельное вращение ($[\alpha]_D^{25}$ +41°, метанол) с получением 507 мг соли. Если необходимо, кристаллы подвергают повторной кристаллизации один или более раз в минимальном количестве горячего метанола в тех же условиях, как указано выше, с получением 100 мг соли ($[\alpha]_D^{25}$ +99°, метанол).

RU 2220143 C2

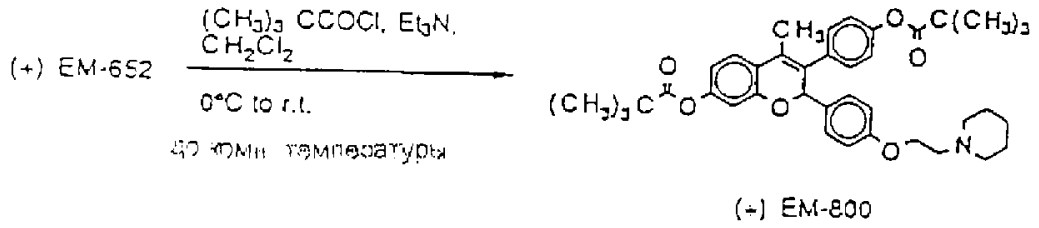
RU 2220143 C2

Маточные растворы дают дополнительные 129 мг соли ($[\alpha]_D^{25}$ +115°).

ПРИМЕР 4

Синтез (+)-7-пивалоилокси-3-(4'-пивалоилоксифенил)-4-метил-2-(4'' - (2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопирана (EM-800)

СХЕМА 5



Указанный выше синтез проводили следующим образом:

Раствор EM-652 (со Схемы 4((+)-7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопиран) (30,8 г, 67,3 ммоль) и триэтиламин (23,3 мл, 0,168 моль) в дихлорметане (685 мл) обрабатывают триметилацетилхлоридом (18,1 мл, 0,147 моль, имеется в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.) при 0°C в атмосфере аргона. Холодную баню удаляют и реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры в течение 2 ч. Смесь обрабатывают насыщенным бикарбонатом натрия (1 л). Водный раствор экстрагируют дихлорметаном (2 x 1 л). Объединенную органическую фазу высушивают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении с получением продукта, который очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (3 л) (этилацетат:гексан 1:1 к этилацетату) с получением после повторной кристаллизации (изопропанол 2,5

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

л), ЕМ-800 (37,6 г, 79%) точка плавления 167-169°С, $[\alpha]_D^{25}$ +87,0° (с=1,0, CH_2Cl_2); H^1-ЯМР δ (300 МГц: $CDCl_3$): 1,31 и 1,34 (18Н, 2с, трет-Bu), 1,42 (2Н, м, цикло-N-$(CH_2)_2$-CH_2-$(CH_2)_2$-), 1,58 (4Н, м цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-), 2,07 (3Н, с, CH_3), 2,47 (4Н, т, def, цикло-N-CH_2-$(CH_2)_3$-CH_2-), 2,72 (2Н, т, J = 6,0 Гц N-CH_2-CH_2-O), 4,03 (2Н, т, J = 6,0 N-CH_2-CH_2-O), 5,85(1Н, с, OCH), 6,48 (1Н, д, J = 2,3 Гц, CH фенил), 6,64(1Н, дд, J = 2,2, 8,2 Гц, CH фенил), 6,75 (2Н, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 6,99 (2Н, д, J = 8,4 Гц, CH фенил), 7,14(2Н, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 7,20 (2Н, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 7,28 (1Н, д, J = 8,2 Гц, CH фенил); C^{13}-ЯМР δ (75 МГц: $CDCl_3$), 177,0, 176,7, 159,0, 152,8, 151,6, 150,1, 136,0, 130,8, 130,7, 130,2, 129,3, 125,8, 124,3, 122,1, 121,3, 114,5, 113,9, 109,9, 80,1, 77,2, 65,9, 57,9, 55,0, 39,1, 27,1, 26,0, 24,2, 14,7; ИК ($CHCl_3$) ν_{max} $см^{-1}$: 2938, 1746, 1608, 1508, 1125; анал. вычисл. для $C_{39}H_{47}NO_6$: С, 74,85; Н, 7,57; N, 2,24; найдено: С, 74,67; Н, 7,58; N, 2,34.

ПРИМЕР 5

Синтез 7-пивалоилокси-3-(4'-пивалоилокси фенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопирана (ЕМ-762).

Способ аналогичен синтезу ЕМ-800, описанному в Примере 4, за исключением того, что, вместо оптически чистого варианта, обозначенного ЕМ-652, используют рацемический вариант ЕМ-343.

ПРИМЕР 6

Синтез 7-пивалоилокси-3-(4'-пивалоилокси фенил)-4-метил-2-4"-(2"'-пирролидиноэтокси)фенил)-2Н-бензопирана (ЕМ-810).

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Способ аналогичен синтезу ЕМ-762, описанному в Примерах 1 и 5, за исключением того, что, вместо соединения 6 используют 1-(2-хлорэтил) пирролидон.

ПРИМЕР 7

Синтез (+)-7-ацилокси-3-(4′-ацилоксифенил)-4-метил-2-(4′′ -(2′′′-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопирана.

Способ аналогичен синтезу ЕМ-800, описанному в Примере 4, за исключением того, что, вместо триметилацетилхлорида используют различные ациловые галиды (выбранные в зависимости от желаемых 7 и 4′-заместителей в продукте).

ПРИМЕР 8

Преобразование ЕМ-661 в ЕМ-652. (Пример преобразования предшественника лекарственного средства в его активную форму, т.е., в форму, которая получается в результате in vivo, может в последующем тестироваться, например, с помощью поляриметра, на истинное оптическое вращение (+), показывающее желательную абсолютную конфигурацию у хирального углерода 2).

Раствор ЕМ-661 (22,5 мг, 0,034 ммоль) в безводном ТГФ (1,0 мл) добавляют при -78°С в атмосфере аргона в 1,5 М раствор метиллития в диэтиловом эфире (0,155 мл, 0,24 ммоль) и смесь перемешивают в течение 40 мин. Реакционную смесь затем обрабатывают насыщенным NH_4Cl (2 мл), дают нагреться до комнатной температуры и обрабатывают водой (2 мл) и этилацетатом (5 мл). Водную фазу экстрагируют этилацетатом (2 х 5 мл) и объединенную органическую фазу промывают насыщенным раствором соли, высушивают, фильтруют и выпаривают досуха. Остаток хроматографируют на силикагеле с использованием

RU 2220143 C2

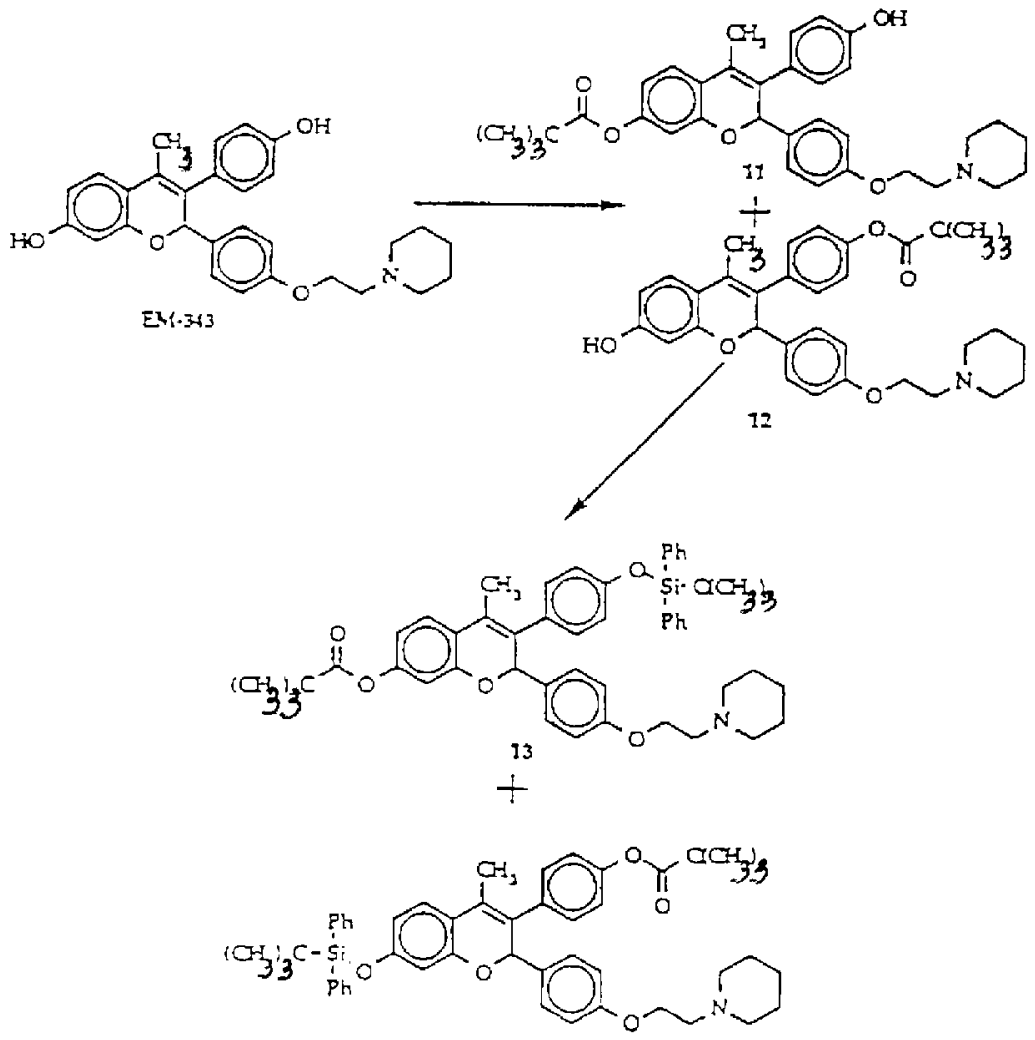
RU 2220143 C2

смесей этанола и метиленхлорида (0:1000 к 1:9) в качестве элюента и получают ЕМ-652 (15,5 мг) с выходом 100%. Аналогичным образом могут быть преобразованы другие предшественники лекарственных средств карбоксильного эфира.

ПРИМЕР 9

Получение монопивалатов ЕМ-343.

Эти процедуры описаны на схемах 6 и 7.



Суспензию ЕМ-343 (со Схемы 1) (7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопиран) (114,4 г, 0,25 ммоль) и триэтиламин (43,6 мкл, 0,313 ммоль) в дихлорметане (3,0 мл) обрабатывают

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

триметилацетилхлоридом (33,9 мкл, 0,275 ммоль, имеющимся в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.) при -78°C в атмосфере аргона в течение 20 мин. Холодную ванну затем удаляют и реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры в течение 90 мин. Смесь обрабатывают насыщенным бикарбонатом натрия (5 мл) и дихлорметаном (10 мл). Органическую фазу промывают насыщенным бикарбонатом натрия (5 мл). Водный раствор экстрагируют этилацетатом (10 мл). Объединенную органическую фазу промывают насыщенным раствором хлорида натрия (10 мл), высушивают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении с получением остатка, который очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (чистый дихлорметан к 7% метанолу в дихлорметане) с получением 52 мг (выход 34%) смеси соединений 11 и 12.

Силилирование смеси монопивалатов ЕМ-343.

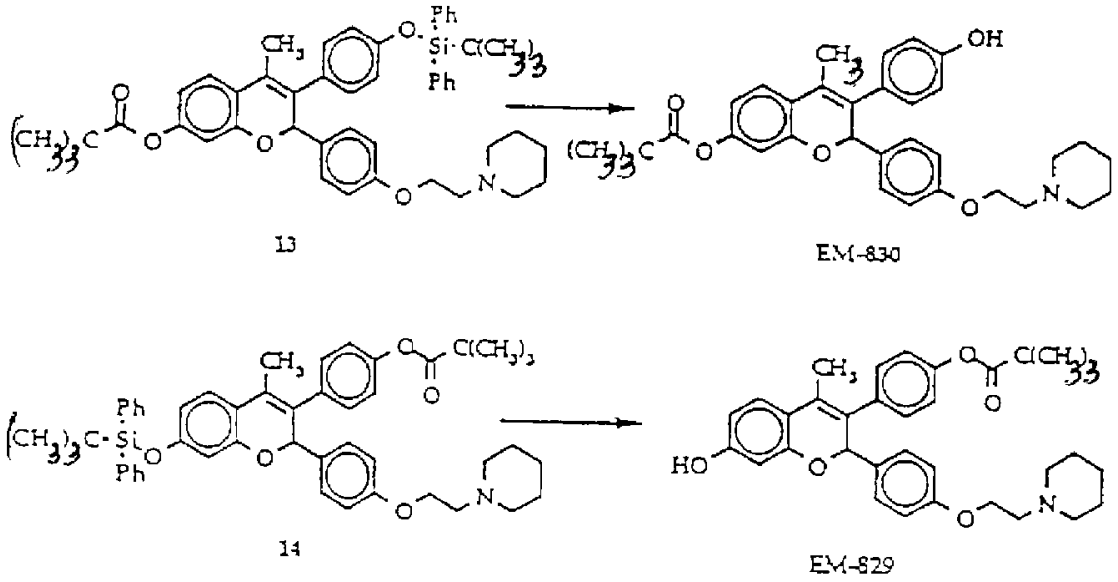
Раствор смеси соединений 11 и 12 (50,2 мг, 0,093 ммоль), имидазола (7,6 мг, 0,11 ммоль) и трет-бутилдиметилсилил-хлорида (15,4 мг, 0,102 ммоль (имеющихся в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.)) в безводном ДМФ (1,0 мл) перемешивают при комнатной температуре в атмосфере аргона. Через 3 часа и 20 часов добавляют имидазол (22,9 мг) и трет-бутилдиметилсилилхлорид (46,2 мг). Через 24 часа смесь обрабатывают дистиллированной водой (10 мл) и этилацетатом (10 мл). Водный раствор экстрагируют этилацетатом (5 мл). Объединенную органическую фазу промывают насыщенным раствором хлорида натрия (3 х 5 мл), высушивают над сульфатом магния и выпаривают при пониженном давлении с получением остатка, который очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

(чистый дихлорметан в 3% метанол в дихлорметане) с получением смеси соединений 13 и 14 (50 мг, выход 82%). Смесь разделяют с помощью препаративной ВЭЖХ с использованием колонки С-18 NOVA-PAK 6мкм, 60А (40 х 100 мм, имеющейся в продаже у Waters, Mississauga, Ont. Canada) и УФ детектора при 214 нм. Элюентом является смесь (90:10) раствора А (10 мМ аммоний ацетат в метаноле) и раствора В (10 мМ 5 аммония ацетата в воде) при скорости потока 13,0 мл/мин. Первый элюированный пик после выпаривания был пиком растворителя, соединения 14, а второй - соединения 13.

СХЕМА 7



EM-829 (Эта процедура описана выше на Схеме 7)

Раствор соединения 14 (8,4 мг) в 10% HCl в ТГФ (1 мл) перемешивают в течение 4 часов и смесь обрабатывают 10% раствором карбоната натрия (4 мл) и этилацетата (4 мл). Водный раствор экстрагируют этилацетатом (4 мл). Объединенную органическую фазу промывают насыщенным раствором хлорида натрия (4 мл), высушивают над сульфатом магния и выпаривают

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

при пониженном давлении с получением остатка, который очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (чистый дихлорметан к 5% метанолу в дихлорметане) с получением ЕМ-829 (7-гидрокси-3-(4′-пивалоилоксифенил)-4-метил-2-(4′′-(2′′′-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопиран) (2,7 мг); H^1-ЯМР δ (300 МГц: CD_3OD): 1,32 (9Н, с, трет-Bu), 1,47 (2Н, м, цикло-N-$(CH_2)_2$-CH_2-$(CH_2)_2$-), 1,61 (4Н, м, цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-), 2,05 (3Н, с, CH_3), 2,54 (4Н, т, def, цикло-N-CH_2-$(CH_2)_3$-CH_2-), 2,75 (2Н, дд, J=5,5 и 5,7 Гц -N-CH_2-CH_2-O-), 4,06(2Н, дд, J = 5,5 Гц и 5,7 Гц, -N-CH_2-CH_2-O-), 5,82 (1Н, с, OCH), 6,13 (1Н, д, J = 2,5 Гц, CH фенил), 6,36 (2Н, д, J = 2,5 и 8,5 Гц, CH фенил), 6,78 (2Н, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 6,98 (2Н, д, J = 8,5 Гц, CH фенил), 7,18 (5Н, м, CH фенил).

ЕМ-830

Аналогичным образом из соединения 13 получают ЕМ-380 ЕМ-829 (7-пивалоилокси-3-(4′-гидроксифенил)-4-метил-2-(4′′-(2′′′-пиперидинэтокси)фенил)-2Н-бензопиран) (3 мг); H^1-ЯМР δ (300 МГц: CD_3OD): 1,30 (9Н, с, трет-Bu), 1,47 (2Н, м, цикло-N-$(CH_2)_2$-CH_2-$(CH_2)_2$-), 1,61 (4Н, м, цикло-N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-), 2,08 (3Н, д, J=0,8 Гц, CH_3), 2,54 (4Н, м, цикло-N-CH_2-$(CH_2)_3$-CH_2-), 2,75 (2Н, т, J=5,6 Гц -N-CH_2-CH_2-O-), 4,06(2Н, т, J = 5,6 Гц , -N-CH_2-CH_2-O-), 5,87 (1Н, с, OCH), 6,37 (1Н, д, J = 2,1 Гц, CH фенил), 6,61 (1Н, дд, J = 2,5 и 8,5 Гц, CH фенил), 6,72 (2Н, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 6,78 (2Н, д, J = 8,8 Гц, CH фенил), 7,02 (2Н, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 7,21 (2Н, д, J = 8,6 Гц, CH фенил), 7,32 (1Н, д, J = 8,3 Гц, CH фенил).

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

ПРИМЕР 10

Синтез 7-этилоксикарбонилокси-3-(4′-тилоксикарбонилокси-фенил)-4-метил-2-(4′′-(2′′′-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопирана (CS-119).

В перемешанный раствор EM-343 (250 мг, 0,55 ммоль) в метиленхлориде (5 мл) и пиридине (130 мкл) по каплям добавляют этилхлорформиат (120 мкл) в течение 30 мин, следуя известной процедуре (F. Reber и Reichstein, Helv. Chim. Acta, 28, 1164, 1945). После перемешивания в течение 24 ч, снова добавляют этилхлорформиат (120 мкл) и пиридин (130 мкл) для завершения реакции и затем смесь промывают насыщенным раствором $NaHCO_3$ и экстрагируют метиленхлоридом. Органическую фазу промывают насыщенным раствором соли, высушивают и выпаривают досуха. Остаток очищают с помощью хроматографии на силикагелевой колонке с использованием смеси CH_2Cl_2 : EtOH (9,75:0,25) в качестве элюента.

ПРИМЕР 11

Синтез 7-мезилокси-3-(4′-мезилоксифенил)-4-метил-2-(4′′-(2′′′-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопирана (CS-120).

Процедура аналогична синтезу EM-800, описанному в Примере 4, за исключением того, что, вместо триметилацетилхлорида используют мезилхлорид и рацемический EM-343 вместо оптически активного EM-652.

ПРИМЕР 12

Синтез 7-мезилокси-3-(4′-мезилоксифенил)-4-метил-2-(4′′-(2′′′-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопирана (CS-120).

Синтез этого соединения аналогичен процедуре, описанной в Примере 1, за исключением того, что, вместо кислоты 2,

RU 2220143 C2

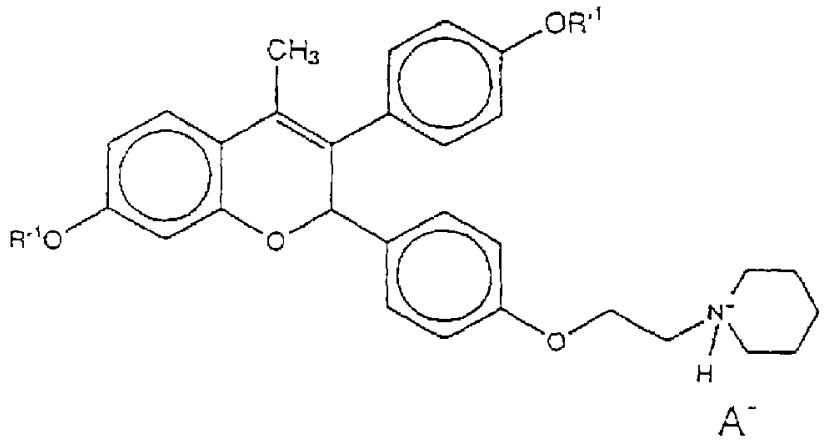
RU 2220143 C2

используют 4-этоксифенилуксусную кислоту (имеющуюся в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.).

ПРИМЕР 13

Пример синтеза солей предпочтительных антиэстрогенных соединений.

С помощью способа, описанного ниже, были синтезированы соединения следующей структуры:



Ссылаясь на представленную ниже таблицу, раствор свободного амина (1 равная часть) и кислоты (1 равная часть) в указанном растворителе перемешивают в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь выпаривают и повторно кристаллизуют для получения желаемой соли.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Соль	Свободный амин (количество, мг)	Кислота	R^1	Растворитель	Концентрация амина (ммоль/л)	Растворитель повторной кристаллизации	Выход (%)
EM-769	EM-661 (99,9)	A	b	ацетон CH_2Cl_2 (1:1)	0,050	-	100
EM-767	EM-661 (33,3)	B	b	ацетон CH_2Cl_2 (1:1)	0,050	-	100
EM-778	EM-661 (33,3)	C	b	ацетон CH_2Cl_2 (1:1)	0,050	-	100
EM-792	EM-800 (150)	B	c	ацетон	0,034	этил-ацетат	33
EM-793	EM-800 (150)	C	c	ацетон	0,050	изопропанол	27
CS-143	EM-652 (150)	C	a	ацетон	0,050	этанол	66
EM-796	EM-652 (150)	B	a	ацетон	0,050	-	100

A (1R)-(-)-10-камфорсульфоновая кислота

B L-винная кислота

C (1S)-(+)-10- камфорсульфоновая кислота

a H

b C_6H_5CO

c трет-BuCO

ПРИМЕР 14

Синтез (+)-7-гидрокси-3-(4' -гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопиран-4',7-сульфата натрия.

В раствор триоксида серы в пиридине (полученный из 0,4 мл SO_3 и 20 мл пиридина и смешанный при -20°C) добавляют при комнатной температуре в атмосфере аргона раствор EM-652 (1,9 г, 4 ммоль) в пиридине (10 мл). Смесь перемешивают в течение 7 часов и затем добавляют воду (0,8 мл) и метанол (45 мл). При добавлении метанольного раствора метилата натрия, устанавливают pH 10,5 и смесь затем перемешивают в течение

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

еще 7 часов, нейтрализуют раствором HCl в метаноле, фильтруют и выпаривают при 55°C. Остаток растворяют в пиридине и осаждают эфиром с получением натрий-сульфатного производного ЕМ-652.

ПРИМЕР 15

Синтез (+)-7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопирана-4',7-дисульфамата

В перемешиваемый раствор ЕМ-652 (1,9 г, 4 ммоль) в безводном ДМФ при 0°C добавляют гидрид натрия (9 ммоль, 60% дисперсию) и сульфамоилхлорид (1 г, 9 ммоль). Реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры и затем перемешивают в течение 24 часов. Затем реакционную смесь заливают в холодный насыщенный раствор бикарбоната натрия и соединение экстрагируют этилацетатом. Объединенные органические экстракты высушивают, фильтруют и выпаривают досуха. Остаток дополнительно очищают с помощью флэш-хроматографии на силикагеле с использованием смесей гексана, этилацетата и метанола в качестве растворителя для элюирования.

ПРИМЕР 16

Синтез (+)-7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопиран-4',7-ди(метил-фосфоната), натриевой соли.

В перемешиваемый раствор ЕМ-652 (1,9 г, 4 ммоль) в безводном пиридине (10 мл) по каплям добавляют метилфосфоновый дихлорид (1,2 г, 9 ммоль)(имеющийся в продаже у Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wis.) в безводном пиридине (20 мл) при 0°C в атмосфере аргона. Реакционной

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

смеси дают нагреться до комнатной температуры и перемешивание продолжают дополнительно в течение 24 часов. Смесь затем охлаждают до 0°C и по каплям добавляют воду (10 мл). Реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры и перемешивание продолжают дополнительно в течение 12 часов. С помощью добавления метанольного раствора метилата натрия, получают pH 10,5 и смесь затем перемешивают в течение еще 7 часов, нейтрализуют раствором HCl в метаноле, фильтруют и выпаривают при 55°C. Остаток растворяют в пиридине и осаждают эфиром с получением натрий-фосфонатного производного ЕМ-652.

ПРИМЕР 17

Синтез (+)-7-гидрокси-3-(4'-гидроксифенил)-4-метил-2-(4''-(2'''-пиперидинэтокси)фенил)-2H-бензопиран-4',7-ди(метилтиофосфоната), натриевой соли.

В перемешиваемый раствор ЕМ-652 (1,9 г, 4 ммоль) в безводном пиридине (10 мл) по каплям добавляют метилтиофосфоновый дихлорид (0,94 мл)(имеющийся в продаже у CN Biochemicals Ltd., High Wycombe, Bucks, U.K.) в безводном пиридине (20 мл) при 0°C в атмосфере аргона. Реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры и перемешивание продолжают дополнительно в течение 24 часов. Смесь затем охлаждают до 0°C и по каплям добавляют воду (10 мл). Реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры и перемешивание продолжают дополнительно в течение 12 часов. С помощью добавления метанольного раствора метилата натрия, получают pH 10,5, и смесь затем перемешивают в течение еще 7 часов, нейтрализуют раствором HCl в метаноле, фильтруют и выпаривают при 55°C. Остаток растворяют в пиридине и осаждают

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

эфиром с получением натрий-тиофосфонатного производного ЕМ-652.

Другие соединения в рамках изобретения можно синтезировать с помощью способов, аналогичных описанным в примерах 1-17, и примеры 1-17 могут быть модифицированы с помощью методик, которые известны из предшествующего уровня техники, с получением других соединений в рамках изобретения.

Ниже в качестве примера, но не ограничения, представлены несколько фармацевтических композиций, где используется предпочтительное активное соединение ЕМ-800. Вместо (или в дополнение) к ЕМ-800 могут использоваться другие соединения изобретения или их сочетание. Концентрация и идентичность ингредиентов может варьировать в широком диапазоне, известном из предшествующего уровня техники.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

ПРИМЕР 18

Композиция, подходящая для инъекций

Ингредиент	Масс. % (от общей массы композиции)
ЕМ-800	0,4
Этанол	6,4
NaCl	0,8
Вода	91,5
Бензиловый спирт	0,9

ПРИМЕР 19

Композиция, подходящая для использования в качестве лосьона для наружного применения

Ингредиент	Масс. % (от общей массы композиции)
ЕМ-800	1,0
Этанол	70,0
Пропилен гликоль	29,0

ПРИМЕР 20

Композиция, подходящая для использования в качестве геля для наружного применения

Ингредиент	Масс. % (от общей массы композиции)
ЕМ-800	1,0
Куцел	1,5
Этанол	70,0
Пропилен гликоль	27,5

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

ПРИМЕР 21

Таблетка

Ингредиент	Масс. % (от общей массы композиции)
ЕМ-800	1,0
Желатин	5,0
Лактоза	67,5
Крахмал	26,5

ПРИМЕР 22

Желатиновая капсула

Ингредиент	Масс. % (от общей массы композиции)
ЕМ-800	2,0
Водная лактоза	80,0
Крахмал	4,8
Микрокристаллическая целлюлоза	12,8
Стеарат магния	0,4

ПРИМЕР 23

Композиция, подходящая для использования в качестве геля для наружного применения

Ингредиент	Масс. % (от общей массы композиции)
ЕМ-800	1,0
Этанол	4,0
Полиэтилен гликоль	4,0
Желатин	1,0
Na Cl	0,9
Бензиловый спирт	1,0
Вода по Фармакопее США	88,1

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ

Антиэстрогенная активность некоторых предпочтительных соединений измеряли с использованием линии клеток ZR-75-1 рака молочной железы человека как подробнее описано ниже.

Поддержание исходных клеточных культур

Клетки ZR-75-1(83-й пересев) были получены из American Type Culture Collection (Rockville, MD) и культивировались обычным способом в свободной от фенола красного среде RPMI 1640 с добавлением 1нМ эстрадиола ("E_2"), 2 ммоль L-глютамина, 1 ммоль пирувата натрия, 15 ммоль N-2-гидроксиэтил пиперазин-N'-этансульфоновой кислоты, 100 МЕ пенициллина/мл, 100 мкг стрептомицина/мл и 10% (об./об.) бычьей плодной сыворотки (Hyclone, Logan, UT) в условиях увлажненной атмосферы 95% воздуха, 5% CO_2 при 37°C. Все среды и добавки для сред приобретались у компании Sigma. Еженедельно клетки субкультивировали с помощью обработки панкреатическим раствором, содержащим ЭДТК (0,2 г/л). Клеточные культуры, используемые для описанных здесь экспериментов, были получены между посевами 89 и 94.

Измерения клеточной пролиферации

Клетки собирают на стадии их логарифмического роста, быстро центрифугируют и ресуспензируют в среде RPMI 1640. Затем клетки в трех экземплярах высевают на 24-ячеечные пластиковые культуральные чашки LIMBRO (2 $см^2$/ячейку). Поскольку плотность посева влияет на эффект гормонов на рост клеток ZR-75-1, клетки высевают при плотности 1 x 10^4 клеток/ячейку. Через 72 ч среду замещают свежей средой идентичного состава, за исключением того, что она содержит

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

возрастающие концентрации ингибиторов (например, ЕМ-343 в виде рацемической смеси и ЕМ-652 на фиг. 1; ЕМ-612, ЕМ-658 и ЕМ-661 на фиг. 2; и ЕМ-762, ЕМ-800 и ЕМ-776 на фиг. 3) как показано по оси X. В контрольные культуры вводят только этанольный растворитель. Затем клеткам дают расти при 37°C в течение 10 дней с заменой среды (идентичного состава) каждые 2 дня. В отсутствии ингибиторов, в среде, содержащей 0,1 нМ эстрадиола (E_2) клетки ZR-75-1 имеют время удвоения около 48ч.

После обработки E_2 и/или антиэстрогеном клетки собирают с помощью добавления 0,5 мл панкреатического раствора (Sigma) на 5-10 мин при 37°C перед добавлением среды RPMI 1640, содержащей покрытую 5% декстраном смесь активированного угля-бычьей плодной сыворотки для блокировки ферментативного действия. Количество клеток (аликвотные объемы по 0,1 мл) определяют с помощью измерения содержания ДНК, как описано ранее (Simard et al., Endocrinilogy 126: 3223-3231, 1990). Значения IC_{50}, которые представляют собой концентрации антиэстрогенов, необходимые для уменьшения на 50% стимулированного эстрадиолом увеличения роста клеток, были рассчитаны и представлены здесь. Таким образом, чем более эффективным является антиэстроген, тем ниже его IC_{50}. Как видно из фиг.1, правовращающий энантиомер ЕМ-343, а именно ЕМ-652, оказывает лучший эффект на рост клеток ZR-75-1 рака молочной железы человека, чем рацемический ЕМ-343, причем величина IC_{50} ЕМ-652 в 2 раза ниже, чем для ЕМ-343 (соответственно, 2,4 x 10^{-10} М в сравнении с 1,1 x 10^{-10} М).

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Как видно из фиг.2, правовращающий энантиомер, ЕМ-661, также оказывает лучший эффект на рост клеток ZR-75-1 рака молочной железы человека, чем рацемический ЕМ-612. Левовращающий энантиомер ЕМ-658 обладает лишь слабой эффективностью, причем IC_{50} от ЕМ-658 более, чем в 69 раз выше. На фиг.3 правовращающий энантиомер ЕМ-800 также более активен, чем рацемический ЕМ-762, а левовращающий энантиомер ЕМ-776 обладает лишь слабой эффективностью.

Антиэстрогенную активность предпочтительных антиэстрогенов in vivo измеряли с помощью определения способности испытуемого соединения подавлять вызванную эстрадиолом стимуляцию массы матки у взрослых самок мышей Balb/C после овариэктомии (масса тела = 19-20 г), забиваемых через пять дней после овариэктомии. Предпочтительные антиэстрогены, растворенные в этаноле, вводили внутрь соответствующим группам в растворе хлорида натрия (9 г/л), желатина (10 г/л), 4% (об./об.) этанола и 4% полиэтилен гликоля (PEG600) в указанных концентрациях. Дозу 0,2 мл указанного выше препарата вводили один раз в день с 3 по 11 день после овариэктомии. Эстрон инъецировали в дозе 0,06 мкг в 0,2 мл дважды в день, начиная с 6 дня после овариэктомии, всего производя 12 инъекций. После умерщвления матки быстро удаляли, освобождали от жира и соединительной ткани и взвешивали.

Как показано на фиг.4, антиэстрогенная активность ЕМ-343 (при использовании рацемической формы), его правовращающего энантиомера ЕМ-652 и его левовращающего энантиомера ЕМ-651, представлены в виде средней величины ± стандартное отклонение

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

у групп из 9-10 мышей. ЕМ-652 был в 2 раза эффективнее, чем рацемический ЕМ-343 в плане снижения вызванной эстрадиолом прибавки маточной массы, тогда как левовращающий энантиомер ЕМ-651 имел лишь слабую активность.

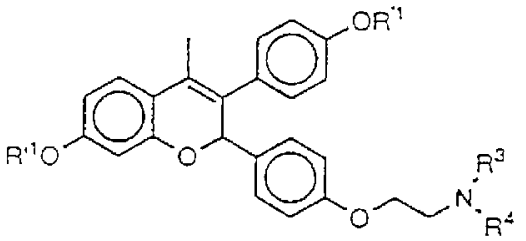
Как показано на фиг.5, антиэстрогенная активность рацемической формы ЕМ-762, его правовращающего энантиомера ЕМ-800 и его левовращающего энантиомера ЕМ-776, представлены в виде средней величины ± стандартное отклонение у групп из 9-10 мышей. ЕМ-800 был более эффективен, чем рацемический ЕМ-762 в плане снижения вызванной эстрадиолом прибавки маточной массы. Левовращающий энантиомер ЕМ-776 имел лишь слабую активность.

Дополнительные данные об эффективности представлены ниже в таблице 1 и таблицах 2 и 3 Процентное подавление представлено для различных соединений, испытанных с использованием описанных выше методик.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

ТАБЛИЦА 1



Name of Compounds название соединения	R'1	R3,R4	[α]D (Temp., Conc. % Solvant) Темп. Конц % Раствор.	% of inhib. on mice uteri (7.5 nmol, per os, i.d.)
EM-612	C_6H_5CO	-$(CH_2)_5$-	dl	62.0 ± 6.3
EM-611	o-MeOΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	71.8 ± 8.2
EM-617	o-ClΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	63.5 ± 5.2
EM-618	p-ClΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	74.9 ± 6.1
EM-622	o-AcOΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	66.6 ± 6.6
EM-626	p-MeOΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	65.5 ± 4.3
EM-628	m-MeOΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	81.3 ± 7.9
EM-753	R-camphor-sulfonate	-$(CH_2)_5$-	n/a	6.5 ± 0.3
EM-757	p-NO_2ΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	60.8 ± 2.2
EM-758	p-CNΦCO	-$(CH_2)_5$-	dl	65.5 ± 4.9
EM-762	t-BuCO	-$(CH_2)_5$-	dl	63.5 ± 3.7
EM-773	CH_3CO	-$(CH_2)_5$-	dl	n/a
EM-770	$C_2H_5SO_2$	-$(CH_2)_5$-	dl	1.05 ±0.04

% подавлен. на матку мышей (7,5 нмоль, внутрь, 1 р/день)

R-камфор сульфонат

RU 2220143 C2

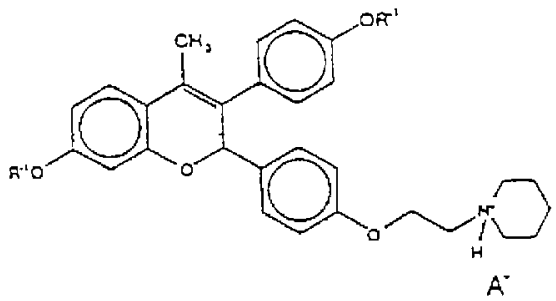
RU 2220143 C2

EM-771	i-C_3H_7CO	-$(CH_2)_5$-	dl	61.8 ± 2.4
EM-772	$(CH_3)_2NCO$	-$(CH_2)_5$-	dl	55.1 ± 2.4
EM-652	H	-$(CH_2)_5$-	+129° ТГФ (28, 1.46, THF)	68.1 ± 6.5
EM-651	H	-$(CH_2)_5$-	-127° ТГФ (26, 1.08, THF)	0
EM-658	C_6H_5CO	-$(CH_2)_5$-	-82°	0
EM-661	C_6H_5CO	-$(CH_2)_5$-	+81° (25, 0.14, $CHCl_3$)	38.7 ± 2.5
CS-119	C_2H_5OCO	-$(CH_2)_5$-	dl	60.7 ± 6.3
CS-120	CH_3SO_2	-$(CH_2)_5$-	dl	1.9 ± 0.1
CS-121	CH_3OCO	-$(CH_2)_5$-	dl	58.4 ± 4.3
CS-122	C_2H_5SCO	-$(CH_2)_5$-	dl	71.5 ± 3.5
EM-800	t-BuCO	-$(CH_2)_5$-	+87° (25, 1.0, CH_2Cl_2)	81.1 ± 7.4
EM-776	t-BuCO	-$(CH_2)_5$-	-93° (26, 1.0, CH_2Cl_2)	4.5 ± 0.3
EM-775	$CF_3ΦCO$	-$(CH_2)_5$-	dl	73.1 ± 5.1
EM-801	cyclo C(CH_3)-C_2H_4CO	-$(CH_2)_5$-	-	
EM-810	t-BuCO	-$(CH_2)_4$-	-	

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

ТАБЛИЦА 2



Где "А" представляет собой соответствующий анион альтернативного углеводорода кислоты

Name of Compounds название соединения	R'1	AH	[α]D (Temp., Conc. % Solvant) Темп. Конц. % Раствор.	% of inhib. on mice uteri (7.5 nmol, per os, i.d.)
EM-767	C_6H_5CO	L-tartaric L-винная	+76° ТГФ (26, 0.21, THF)	61.9 ± 1.2
EM-769	C_6H_5CO	R-camphorsulfonic R-камфор сульфоновая	+57.8° (26, 0.8, CH_2Cl_2	78.6 ± 3.2
EM-778	C_6H_5CO	S-camphorsulfonic S-камфор сульфоновая	+92° ТГФ (26, 0.48, THF)	73.1 ± 6.7
EM-792	t-BuCO	L-tartaric L-винная	+89° ТГФ (26, 1.0, THF)	63.6 ± 1.6
EM-793	t-BuCO	R-camphorsulfonic R-камфор сульфоновая	+88° ТГФ (26, 1.17, THF)	77.2 ± 4.1
EM-796	H	L-tartaric L-винная	-	75.8 ± 6.5
CS-143	H	S-camphorsulfonic S-камфор сульфоновая	+120° ТГФ (26, 1.0, THF)	-

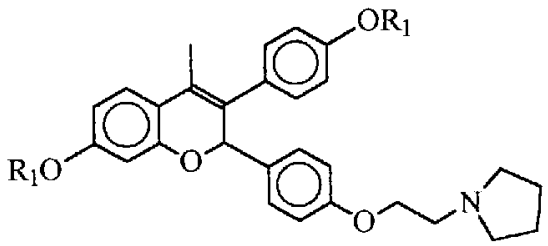
% подавлен. на. матку мышей (7, нмоль, внутрь, 1 р/день)

Используемые здесь термины и описания представляют собой предпочтительные варианты реализации, представлены только в порядке иллюстраций и не намерены ограничивать многие возможные изменения, которые будут понятны специалистам в этой области при реализации настоящего изобретения по определению в формуле изобретения.

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2

Таблица 3
СОЕДИНЕНИЯ ПИРРОЛИДИНА



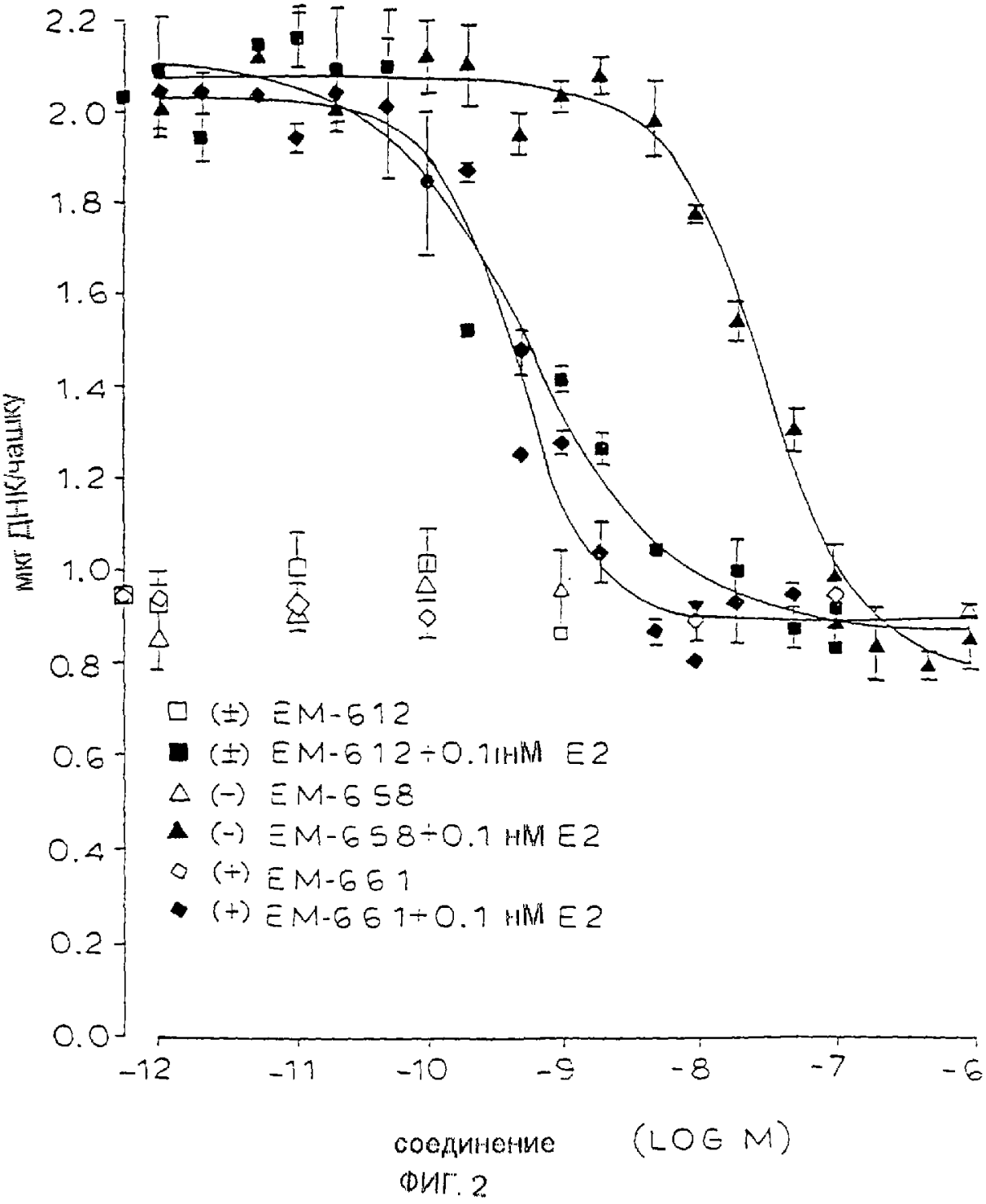
Название соединения	R^1	Состояние в твердом виде и стабильность#	ПИК$_{0-24}$* для ЕМ-652 (1 мг/крыса)[a] 1мкмоль/крыса[b,c,d]	% ингибир. веса матки мыши (7,5 нмоль, перорально, внутрикожно)	Антиэстрогенная активность в присутсвии 0,1 нМ Е2		% ингибирования связывания на эстрогенном рецепторе крысы $1E^{-8}$М $1E^{-6}$М
					Ki (нМ)	% ингибирования при 30 нМ и 1000нМ соединения	
ЕМ-810 рацемическое	t-BuCO	Белые кристаллы	но	но	T-47-D: 0,019	98 (30нМ) 102 (1000нМ)	но
ЕМ-824 рацемическое	Смесь моно t-BuCO	Оранжевые кристаллы	но	но	T-47-D: но	95 (30нМ) 105 (1000нМ)	но
ЕМ-1363-CS чистый энантиомер	H	аморфное	но	но	T-47-D: 0,01 0,004	но	97 98
ЕМ-1363-CS чистый энантиомер	H	Красные кристаллы	но	но	T-47-D: 0,49 0,38	но	14 97

Стабильность приводится как % химической чистоты при следующих условиях: 4°C в течение по крайней мере 2 лет: в скобках; 50°C в течение 28 дней: жирным шрифтом; 50°C в течение 6 месяцев: жирным шрифтом в скобках; Цвет при визуальном наблюдении; *Ж нг.час/мл (среднее значение ±стандартная девиация); a: Эксперимент URMA-r-37-97; b: Эксперимент URMA-r-41-97; c: Эксперимент URMA-r-45-97; d: Эксперимент URMA-r-56-97

Продолжение таблицы 3

Название соединения	R^1	Состояние в твердом виде и стабильность#	$ППК_{0-24}$* для ЕМ-652 (1 мг/крыса)[a] 1мкмоль/крыса[b,c,d]	% ингибир. веса матки мыши (7,5 нмоль, перорально, внутрикожно)	Антиэстрогенная активность в присутсвии 0,1 нМ Е2		% ингибирования связывания на эстрогенном рецепторе крысы $1E^{-8}M$ $1E^{-6}M$
					Ki (нМ)	% ингибирования при 30 нМ и 1000нМ соединения	
ЕМ-01423-CS ЕМ-1362 пивалоил	t-BuCO	Белый порошок	но	но	T-47-D: но	но	14 94
ЕМ-01925-В рацемическое	4'-H; 7-SO_3Na	Красный порошок	но	но	T-47-D: но	-4 (30нМ) 37 (1000нМ)	но

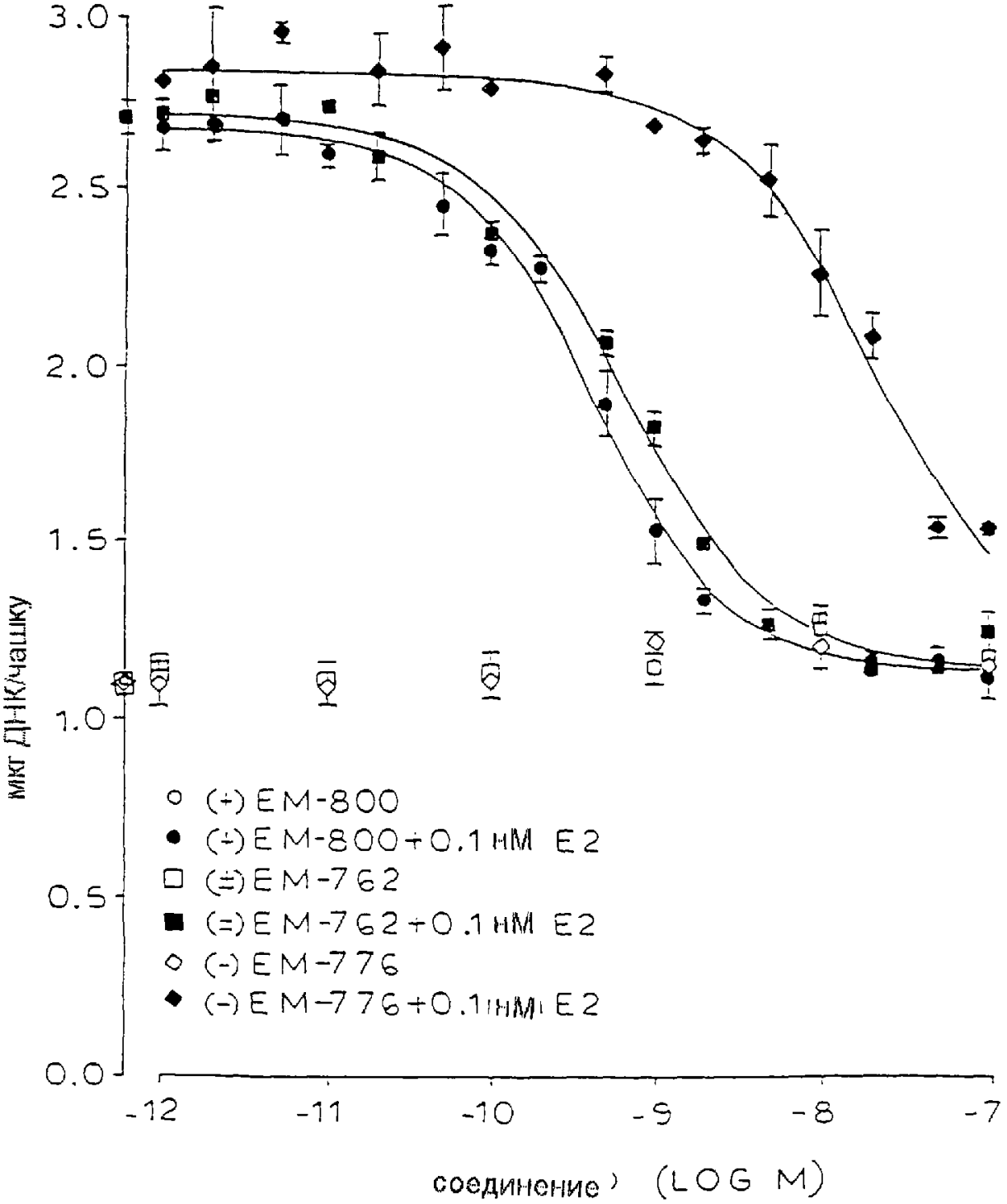
Стабильность приводится как % химической чистоты при следующих условиях: 4°С в течение по крайней мере 2 лет: в скобках; 50°С в течение 28 дней: жирным шрифтом; 50°С в течение 6 месяцев: жирным шрифтом в скобках; Цвет при визуальном наблюдении; *Ж нг.час/мл (среднее значение ±стандартная девиация); a: Эксперимент URMA-r-37-97; b: Эксперимент URMA-r-41-97; c: Эксперимент URMA-r-45-97; d: Эксперимент URMA-r-56-97



ФИГ. 2

RU 2220143 C2

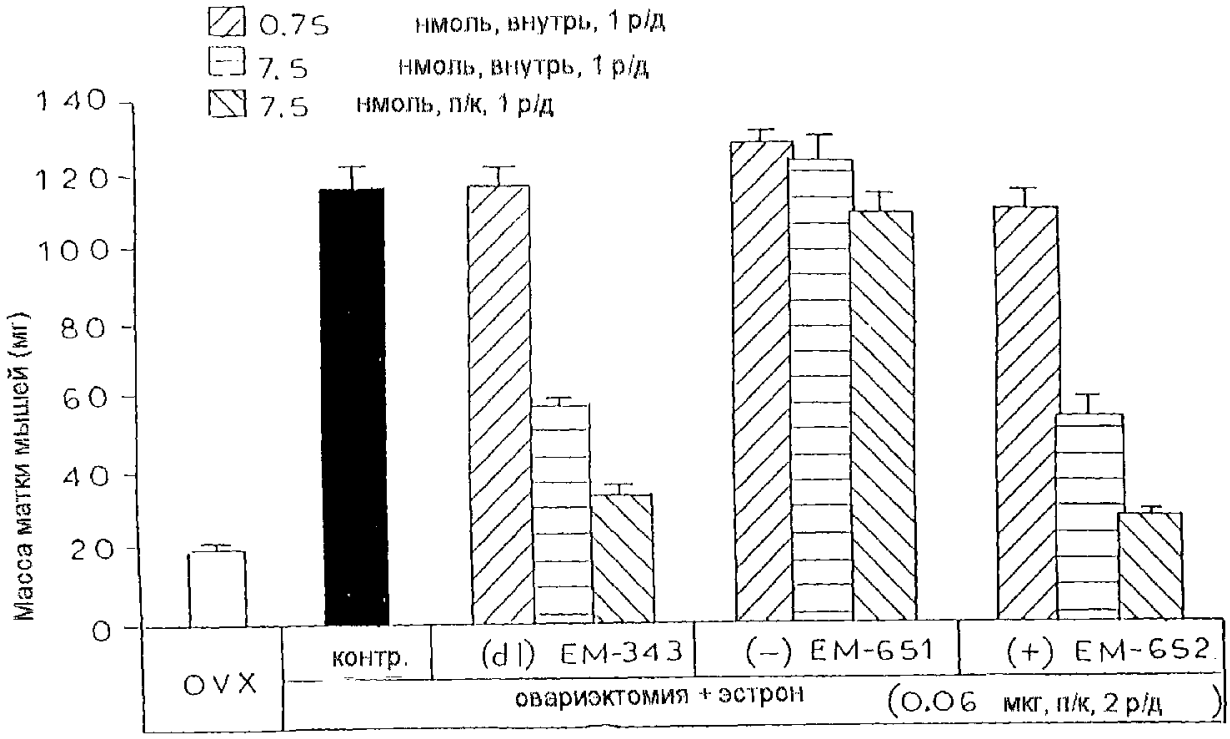
RU 2220143 C2



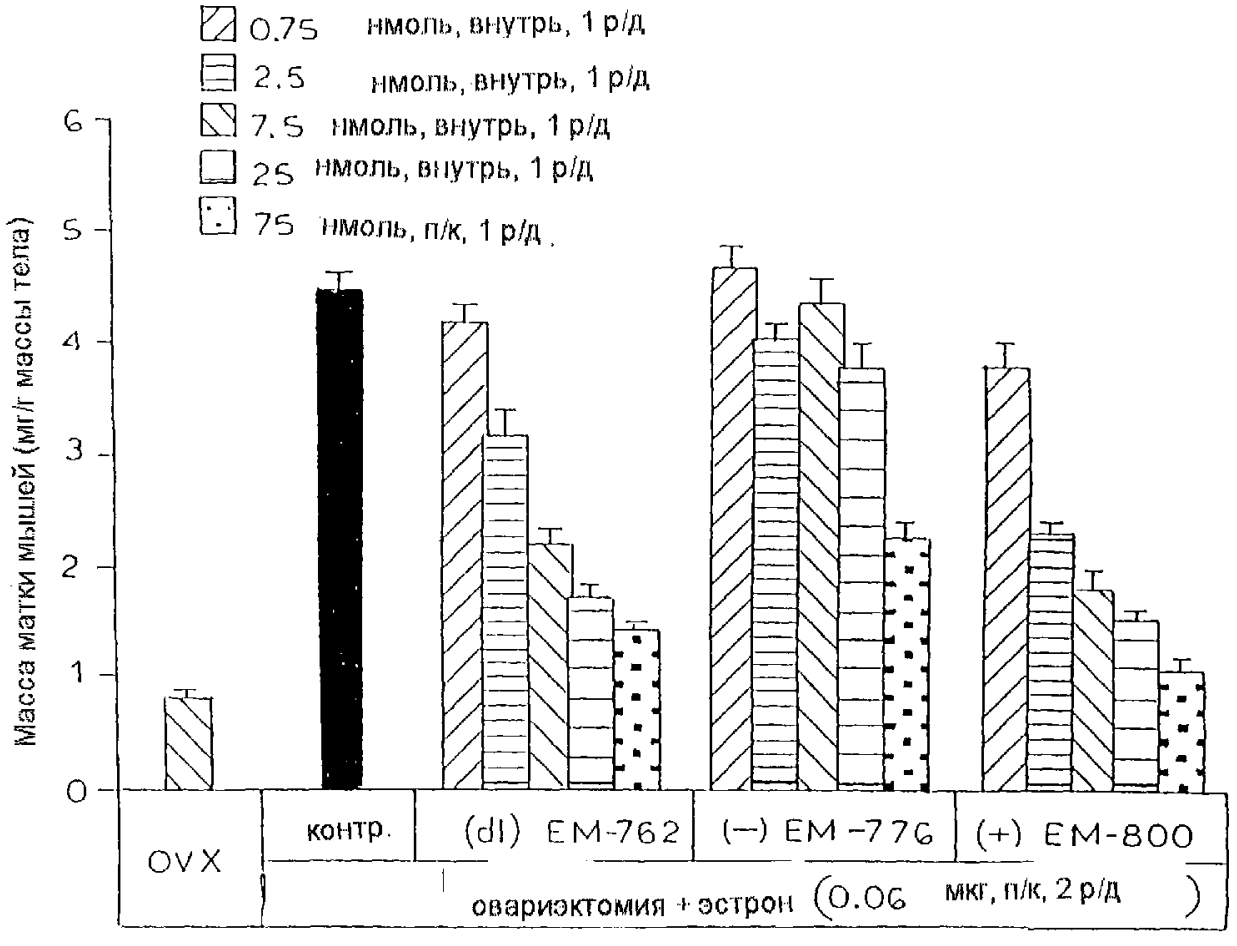
ФИГ. 3

RU 2220143 C2

RU 2220143 C2



ФИГ. 4



ФИГ. 5

RU 2220143 C2