

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **11.09.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **13.09.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/394240**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15.01.2003**
(Věstník č. 1/2003)

(86) PCT číslo: **PCT/US00/24738**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/019839**

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 881

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 H 17/02

A 61 K 31/7056

A 61 P 5/30

A 61 P 5/32

(71) Přihlašovatel:

WYETH, Madison, NJ, US;

(72) Původce:

Miller Christopher Paul, Wayne, PA, US;
Collini Michael David, Clifton Heights, PA, US;
Tran Bach Dinh, Baltimore, MD, US;
Chan Anita Wai-Yin, Fort Lee, NJ, US;
Rubezhov Arkadiy Zinoviy, West Nyack, NY, US;

(74) Zástupce:

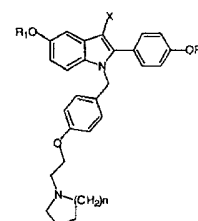
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

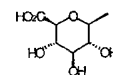
Estrogenová sloučenina

(57) Anotace:

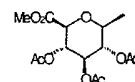
Tkáňově selektivní estrogeny vzorce I, kde R_1 a R_2 jsou nezávisle vodíkový atom, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku, benzyl, acyl o 2 až 7 atomech uhlíku, benzoyl, (1) nebo (2); X je vodík, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku, CN, halogen, trifluormethyl nebo thioalkyl o 1 až 6 atomech uhlíku; n je 1 až 3; s výhradou, že alespoň 1 ze substituentů R_1 a R_2 je (1) nebo (2). Sloučeniny jsou vhodné k léčbě stavů jako je úbytek kostí, osteoporóza, osteoartritida, hypokalcinémie, Pagetovy nemoci, měknutí kostí, osteoklastické a mnohočetného myelomu. Sloučeniny jsou též vhodné kantiestrogenové léčbě.



(1)



(1)



(2)

Estrogenová sloučenina

Oblast techniky

Vynález se týká glukopyranosidových konjugátů 2-(4-hydroxy-fenyl)-1-[4-(2-amin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-5-olů, které jsou vhodné jako tkáňově selektivní estrogení agens. Vynález také poskytuje způsoby výroby těchto sloučenin a farmaceutické prostředky s jejich obsahem.

Použití terapie náhrady hormonů k prevenci úbytku kostní hmoty u žen po menopauze má mnoho precedentů. Normální způsob podávání vyžaduje k doplňování estrogenu použití takových prostředků, které obsahují estron, estriol, ethynylestradiol nebo konjugované estrogeny, izolované z přírodních zdrojů (tj. Premarin; konjugované koňské estrogeny). U některých pacientů může být léčba kontraindikována vzhledem k tomu, že proliferativní účinky neprotikladných estrogenů (estrogenů, které nejsou podávány v kombinaci s progestiny) se projevují na děložní tkáni. Tato proliferace je spojena se zvýšeným rizikem endometriózy a/nebo rakoviny endometria. Účinky neprotikladných estrogenů na prsní tkáň jsou méně jasné, ovšem existují.

Zcela zřejmá je tedy potřeba estrogenů, které mohou udržovat účinek šetřící kostní hmotu při minimalizování proliferativních účinků v děloze a prsní tkáni. Bylo prokázáno, že určité nesteroidní antiestrogeny udržují kostní hmotu u modelu potkanů po odnětí vaječníků, stejně jako klinických pokusech u lidí. Tamoxifen (prodáváný jako NOVALDEX, citrát tamoxifenu) je například vhodný jako utišující prostředek k léčbě rakoviny prsa a bylo prokázáno, že u lidí vykazuje v kostech účinek podobný agonistům estrogenu. Působí ovšem také jako částečný agonista v děloze, což je důvodem určitého znepokojení. Bylo

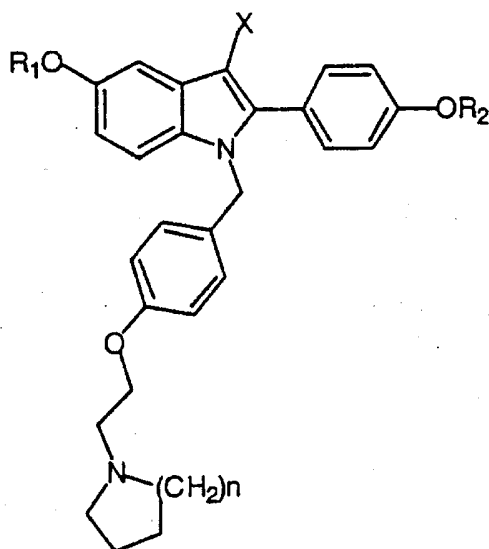
prokázáno, že EVISTA (raloxifen), benzothiofenový antiestrogen, stimuluje růst děložní tkáně u potkanů po ovarioktomii v menším rozsahu než Tamoxifen, přičemž si udržuje schopnost šetřit kostní hmotu. Vhodný souhrn tkáňově selektivních estrogenů je poskytnut v článku "Tissue-Selective Action of Estrogen Analogs", Bone, díl 17, č. 4, říjen 1995, 181S-190S.

Použití indolů jako antagonistů estrogenu bylo popsáno Von Angererem, viz J. Med. Chem. 33, 2635-2640, 1990; J. Med. Chem. 30, 131-136, 1987. Rovněž viz Ger. Offen., DE 38211148 A1 891228 a WO 96/03375.

WO A 95 17383 (Kar Bio AB) popisuje indolové antiestrogeny s dlouhými rovnými řetězci. Jiný příslušný patent WO A 93 10741 popisuje 5-hydroxyindol s všeobecným druhovým deskriptorem, začleňujícím jiné vedlejší řetězce. WO 93/23374 (Otsuka Pharmaceuticals, Japonsko) popisuje sloučeniny, které se od předkládaného vynálezu liší; kde OR_2 ve zde zmíněném vzorci 1, viz níže, je definován jako thioalkyl a odkazy neudávají žádné takové sloučeniny, mající řetězce z indolového dusíku o stejné struktuře jako ty, které jsou popsány v předkládaném vynálezu. Pokud je nárokován vedlejší řetězec podobný zde popsanému řetězci, sloučeninami jsou amidy: acylované indoly nejsou v předkládaném vynálezu nárokovány. Již dříve byly popsány konjugáty selektivního modulátoru estrogenového receptoru, raloxifenu (benzothiofenu) a kyseliny glukuronové (EP 683170 A1 951122).

Podstata vynálezu

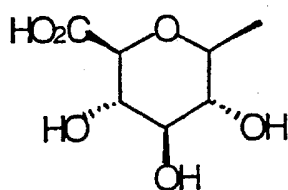
Tento vynález poskytuje sloučeniny o vzorci I, mající strukturu



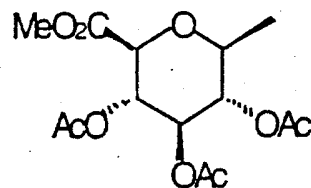
I

kde:

R_1 a R_2 jsou nezávisle vodíkový atom, alkylový řetězec o 1 až 6 atomech uhlíku, benzyl, acyl o 2 až 7 atomech uhlíku, benzoyl,



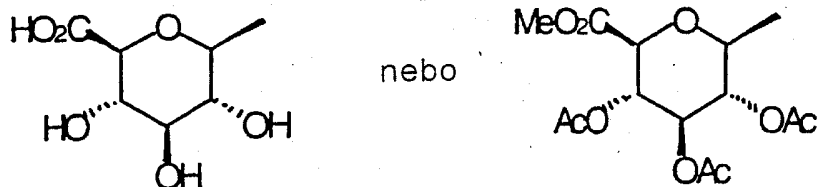
nebo



X je vodíkový atom, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku, CN, halogen, trifluormethyl, nebo thioalkyl o 1 až 6 atomech uhlíku;

$n = 1$ až 3;

s tou výhradou, že alespoň 1 ze substituentů R_1 a R_2 je



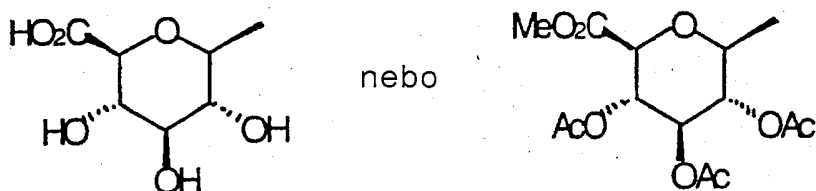
nebo farmaceuticky přijatelná sůl těchto sloučenin, které jsou vhodné jako tkáňově selektivní estrogény.

Výraz alkyl zahrnuje jak rovný řetězec, tak i větvené částice. Příklady zahrnují alkyl o 1 až 4 uhlíkových atomech, jako je methyl, ethyl, n-propyl, izopropyl, butyl a t-butyl. Halogenem je myšlen brom, chlor, fluor a jod. Výraz acyl zahrnuje alkanoylové skupiny, zvláště ty, v nichž je alkylovou částí alkyl, který byl popsán výše, například acetyl.

Příkladem X jsou alkylové skupiny o 1 až 4 atomech uhlíku, například methyl.

Příklady n jsou 2 a 3.

Příklady R_1 a R_2 jsou nezávisle vodíkový atom, benzyl a pivaloyl, jiné R_1 a R_2 mohou být jednou ze sloučenin



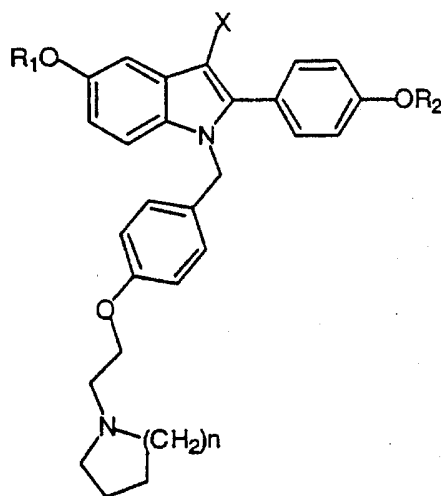
Tento vynález poskytuje jak L, tak i D formu glukopyranosidů, přičemž přednost se dává formě D.

Farmaceuticky přijatelné sole zahrnují sole, vytvářené adiční reakcí s anorganickými nebo organickými solemi. Vhodné jsou anorganické kyseliny, jako kyseliny chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná a kyselina dusičná. Vhodné jsou rovněž organické kyseliny, jako kyselina octová, kyselina propionová, kyselina citronová, kyselina

maleinová, kyselina jablečná, kyselina vinná, kyselina ftalová, kyselina jantarová, methansulfonová kyselina, toluensulfonová kyselina, naftalensulfonová kyselina, kafrsulfonová kyselina benzensulfonová kyselina. Farmaceuticky přijatelné sole podle tohoto vynálezu také zahrnují kvarterní amonné sole, které mohou být připraveny kvarterizací zásaditého aminu sloučenin podle tohoto vynálezu s elektrofilním organickým halogenidem, mesylátem, tosylátem a podobně. Sloučeniny podle tohoto vynálezu, obsahující karboxylovou kyselinu, mohou vytvářet farmaceuticky přijatelné zásadité adiční sole ovlivněním neutrálního výchozího materiálu vhodnými anorganickými zásadami, jako jsou hydroxidy nebo uhličitany alkalických kovů, jako je lithium, sodík, draslík, cesium, hořčík, vápník nebo barium. Jinou možností je úprava kyseliny organickou zásadou (jako jsou různé organické primární včetně amonných, sekundární nebo terciární aminy) k vytvoření amonných solí.

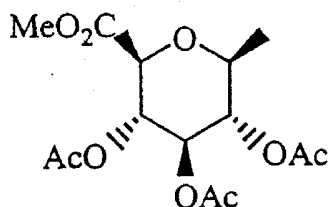
Tento vynález rovněž poskytuje způsoby výroby sloučenin o vzorci I. Poskytnut je tedy způsob výroby sloučeniny o vzorci I, zahrnující jeden z následujících postupů:

a) reakci sloučeniny o vzorci Ia

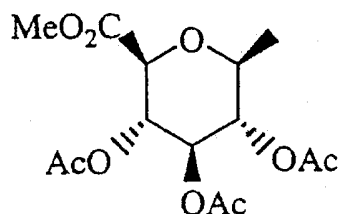


Ia

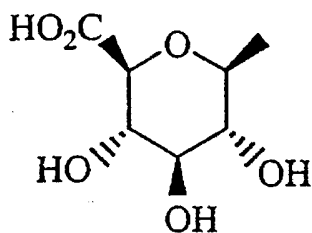
kde X a n odpovídají dříve uvedené definici a jeden ze substituentů R_1 a R_2 je



ten druhý je chránicí skupinou, za podmínek vhodných k odstranění chránicí skupiny, k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde jeden ze substituentů R_1 a R_2 je

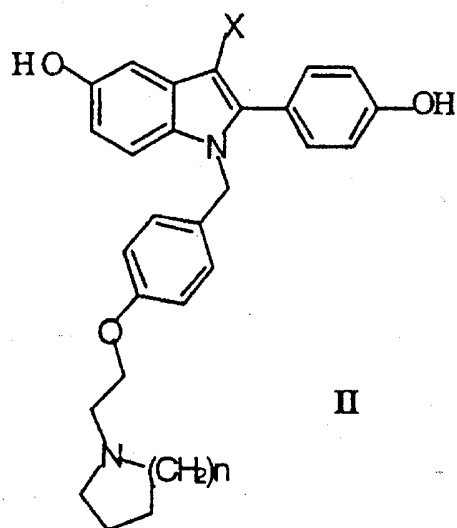


ten druhý z R_1 a R_2 je vodíkový atom; tato sloučeniny může být hydrolyzována, souběžně s odstraněním chránicí skupiny, nebo následně, k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde jeden ze substituentů R_1 a R_2 je vodík a ten druhý je

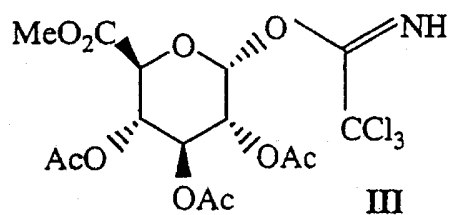


nebo

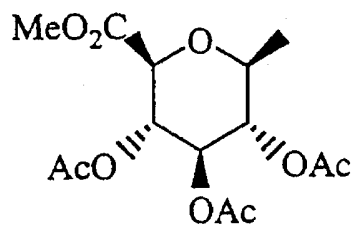
b) reakci sloučeniny o vzorci II



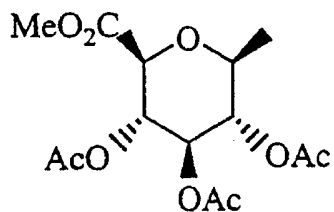
kde X a n odpovídají výše uvedené definici, se sloučeninou o vzorci III



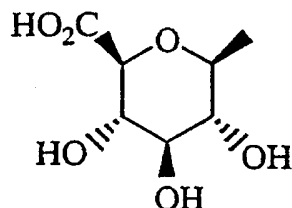
k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde R_1 a R_2 oba představují



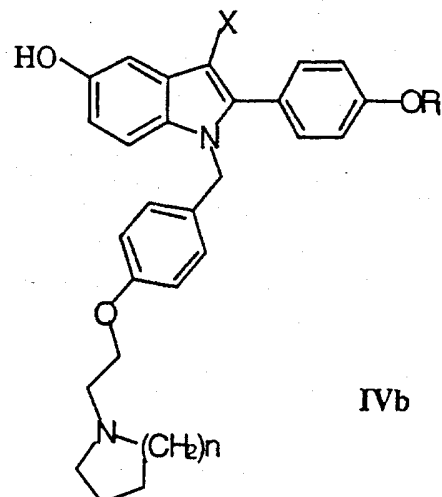
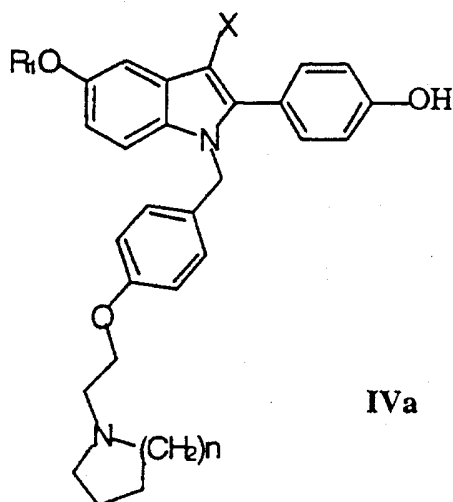
nebo c) hydrolýzu sloučeniny o vzorci I, kde R_1 a R_2 oba představují



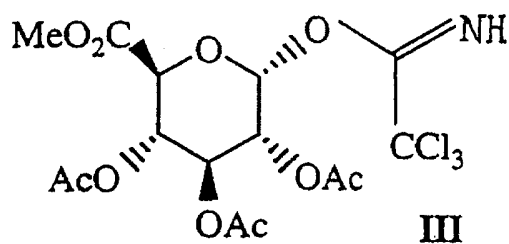
k poskytnutí sloučeniny o vzorci I, kde jeden nebo oba substituenty R_1 a R_2 jsou



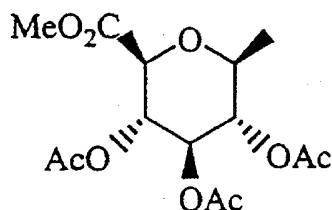
nebo d) reakci sloučeniny o vzorci IVa nebo IVb



kde X a n odpovídají výše uvedené definici a substituenty R_1 a R_2 jsou každý zvolen z alkylu o 1 až 6 uhlíkových atomech, benzylu, acylu o 2 až 7 uhlíkových atomech nebo benzoylu, se sloučeninou o vzorci III:



k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde R_1 nebo R_2 je



Pokud se týká postupu a) ochrannou skupinou může být jakákoli vhodná chránicí skupina známá v oboru, kterou lze odstranit (i) za podmínek, jež nemohou ovlivnit zbytek molekuly, například benzylové skupiny, které lze odstranit hydrogenolýzou nebo (ii) za podmínek, při nichž se současně odstraní acetylové skupiny, například kde samotnou chránicí skupinou je acylová skupina jako pivaloyl nebo odpovídající hydrolyzovatelná skupina.

Pokud se týká postupu b) a postupu d) může být reakce s trichloracetimidátem o vzorci III výhodně prováděna ovlivněním etherátem BF_3 v aprotickém rozpouštědle, například CH_2Cl_2 .

Pokud se týká postupu c) mohou být acetylové skupiny odstraněny hydrolyzou za použití LiOH jako vhodného rozpouštědla.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou být vhodně syntetizovány podle všeobecných metod, znázorněných na schématu 1. Orthogonálně chráněný indol je vytvářen modifikovaným Bischlerovým postupem, kde hydroxypropiofenon nebo acetofenon chráněný -bromo-4-pivaloylem reaguje s 4-benzyloxyanilinem v dimethylformamidu (DMF) v přítomnosti triethylaminu. Reakce je sledována prostřednictvím chromatografie na tenké vrstvě (TLC) vzhledem k úbytku výchozích materiálů. Anilinem substituovaný materiál nemusí být izolován, ale místo toho je ve stejné baňce ovlivněn přidáním 1,25 až 1,5 ekvivalentu hydrochloridu 4-benzyloxyanilinu a zahříván na 120 až 160 °C, dokud není předchozí meziprodukt zcela

spotřebován. Chráněný indol **2** je následně ovlivněn vhodnou zásadou, jako je hydrid sodný v DMF a poté reaguje s vhodným benzylchloridem typu **3**. Indol **4** pak může být zbaven ochrany (mono-deprotektce) buď hydrogenací benzylové skupiny z polohy **5** indolu nebo hydrolýzou pivaloylové skupiny v poloze 4' 2-fenylové skupiny indolu. Odstraněná skupina je určena polohou požadovaného konjugátu kyseliny glukuronové. Odstranění benzylové skupiny nebo pivaloylového esteru poskytuje sloučeniny typu **5**, respektive typu **6**. Reakce sloučeniny **5** nebo **6** s trichloracetimidátem CAS č. [150607-95-7] chráněného glukopyranosidu v přítomnosti etherátu BF_3 v polárním aprotickém rozpouštědle jako je dichlormethan poskytuje glukopyranisodované sloučeniny **7** nebo **8**.

Autoři tohoto vynálezu zjistili, že reakce sloučeniny **5** nebo **6** s trichloracetimidátem popsáným výše v CH_2Cl_2 za použití molekulárních sít o velikosti 3 L umožnilo syntézu glukopyranosidů s velmi dobrým výtěžkem. Sloučeniny jsou výhradně formovány jako β -glukopyranosidy (ekvatoriálně substituované). Pivaloylovaná sloučenina **7** pak může být ovlivněna LiOH v THF/ H_2O /MeOH (nebo v soustavě dioxan/MeOH/ H_2O) k tomu, aby byla tato sloučenina zcela zbavena ochrany, a po zpracování poskytla kyselinu mono glukuronovou **9**. Monobenzylether **8** může být hydrogenován přenosem vodíku mezi cyklohexadienem a paladiem na uhlíku (Pd/C) a poté hydrolyzován pomocí LiOH v THF/ H_2O /MeOH (nebo v soustavě dioxan/MeOH/ H_2O k poskytnutí monoglukuronové kyseliny **10**. Pro hydrogenaci ve větším měřítku se upřednostňují podmínky, při nichž se používá 10% Pd/C katalyzátor, vodík a systém rozpouštědla sestává z THF/EtOH (tetrahydrofuran/ethanol).

Schéma 1

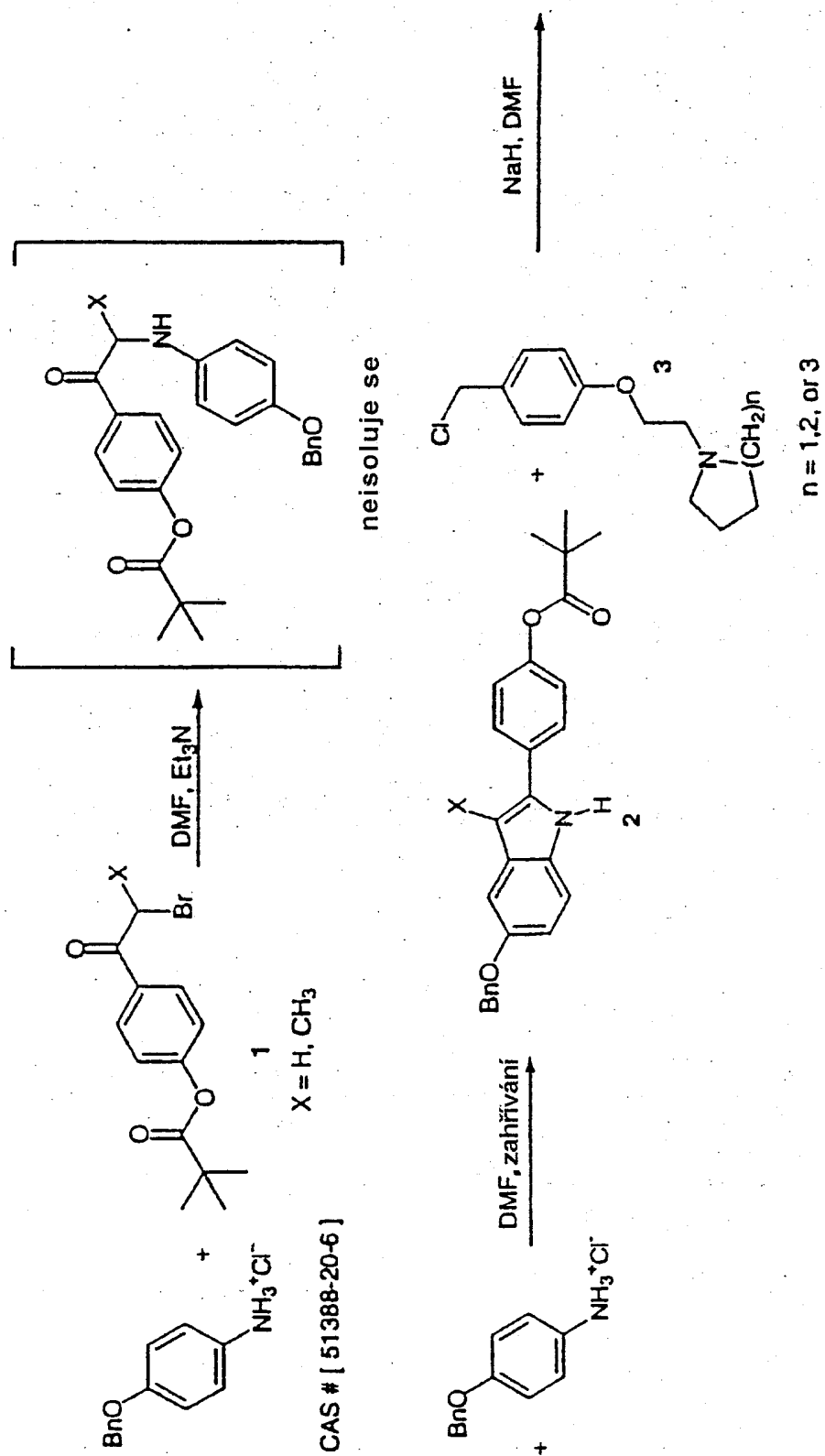


Schéma 1 - pokračování

- 12 -

11.03.02

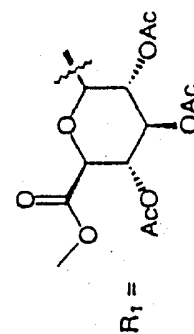
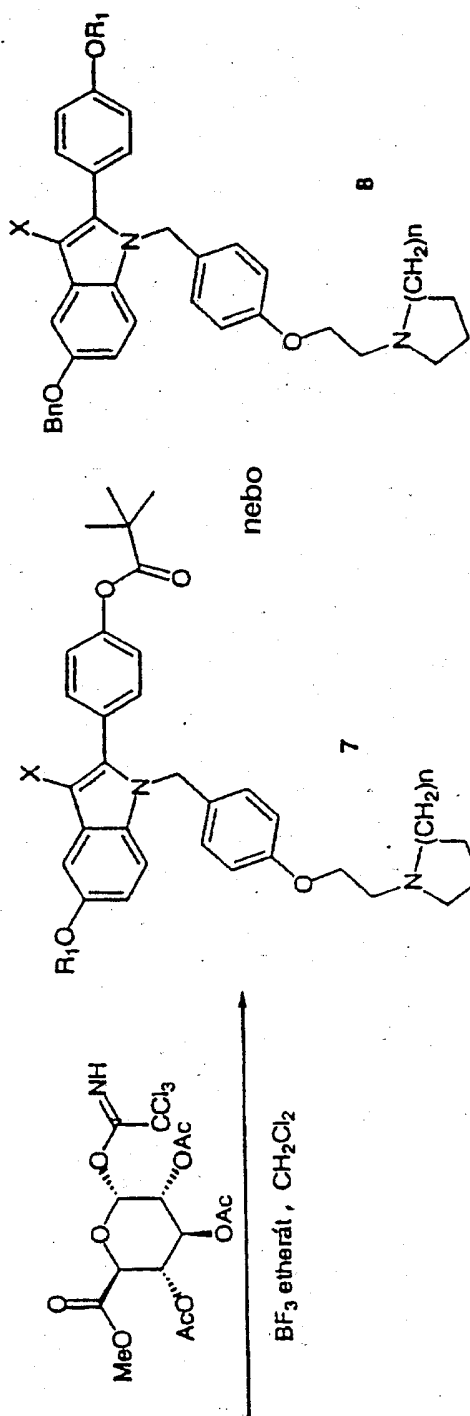
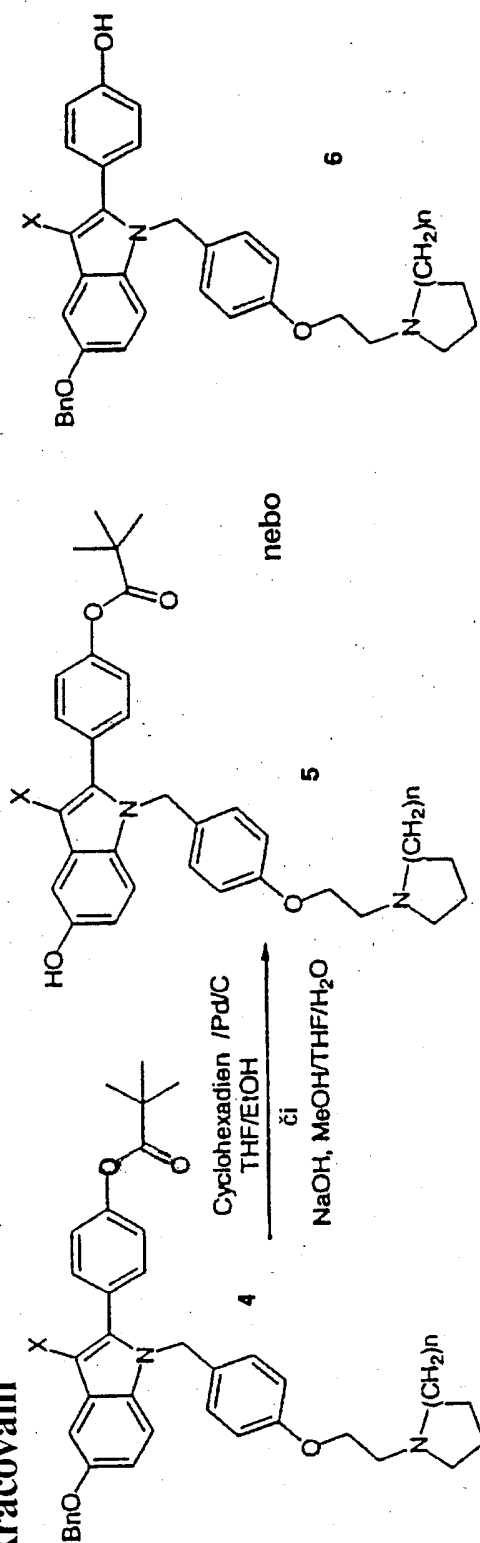
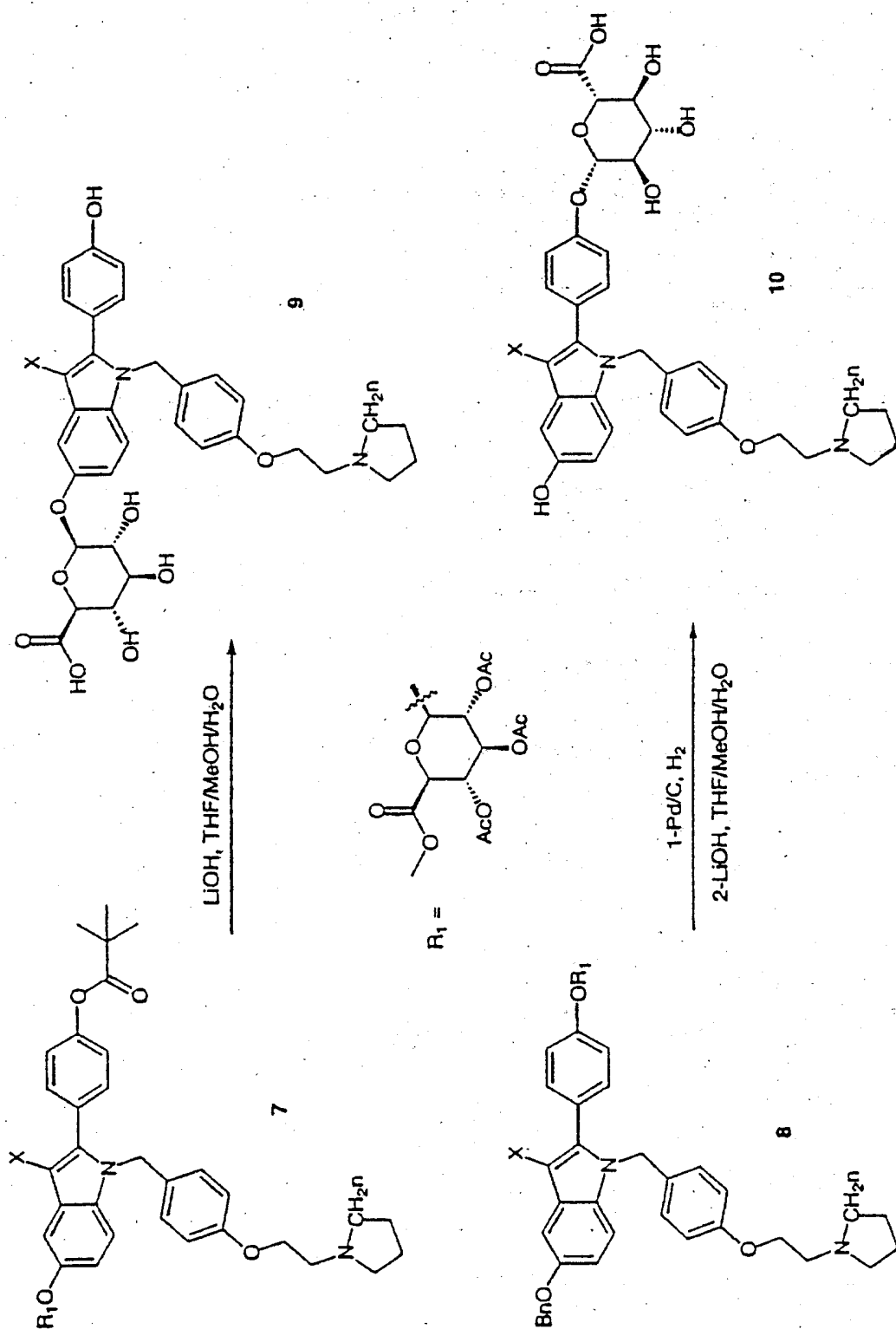


Schéma 1 - pokračování

- 13 -

11.03.02



Sloučeniny, v nichž jsou oba fenoly glukuronidovány, mohou být připraveny podle schématu 2. Bis-benzylem chráněný indol **12** se připravuje modifikovanou Bischlerovou reakcí analogicky postupu popsanému pro indol **2** na schématu 1. Poté může být indol následně alkylován s vedlejším řetězcem **3** (tak, jak je uvedeno na schématu 1). Substituovaný indol **13** pak může být zbaven ochrany hydrogenací benzyletherů k vytvoření nechráněné sloučeniny **14**. Nechráněná sloučenina je poté bis-glukuronidována ovlivněním sloučeniny, která obsahuje volný fenol, působením trichloracetimidátu chráněného glukopyranosidu CAS č. [150607-95-7] (stejně činidlo jako na schématu 1) k zisku sloučeniny **15**. Konečná nechráněná kyselina bis-glukuronová je získána zásaditou hydrolýzou prekursoru **15** za vzniku produktu **16**. Vedlejší řetězce mohou být připraveny obecným způsobem, znázorněným na schématu 3.

Schéma 2

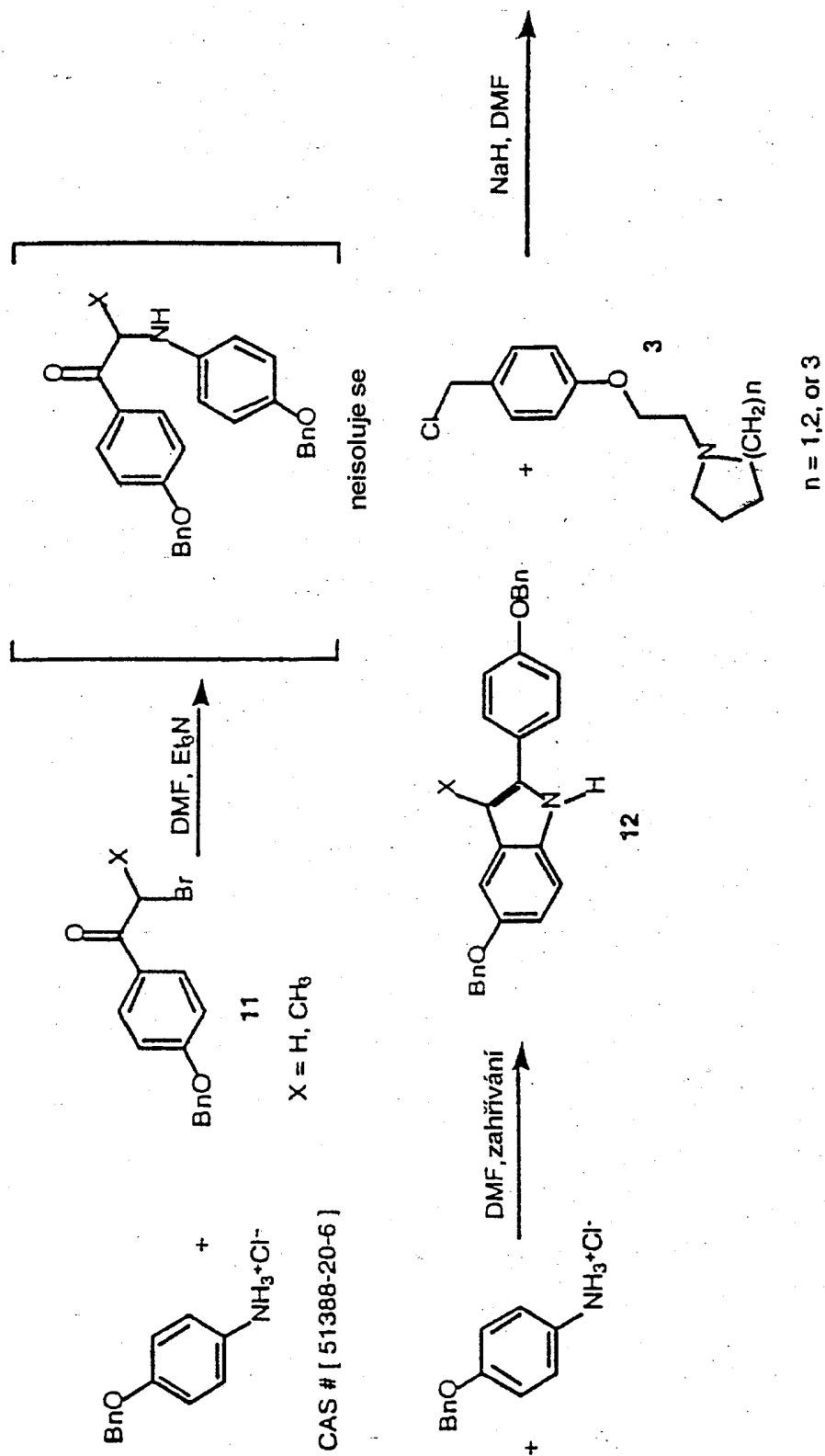


Schéma 2 - pokračování

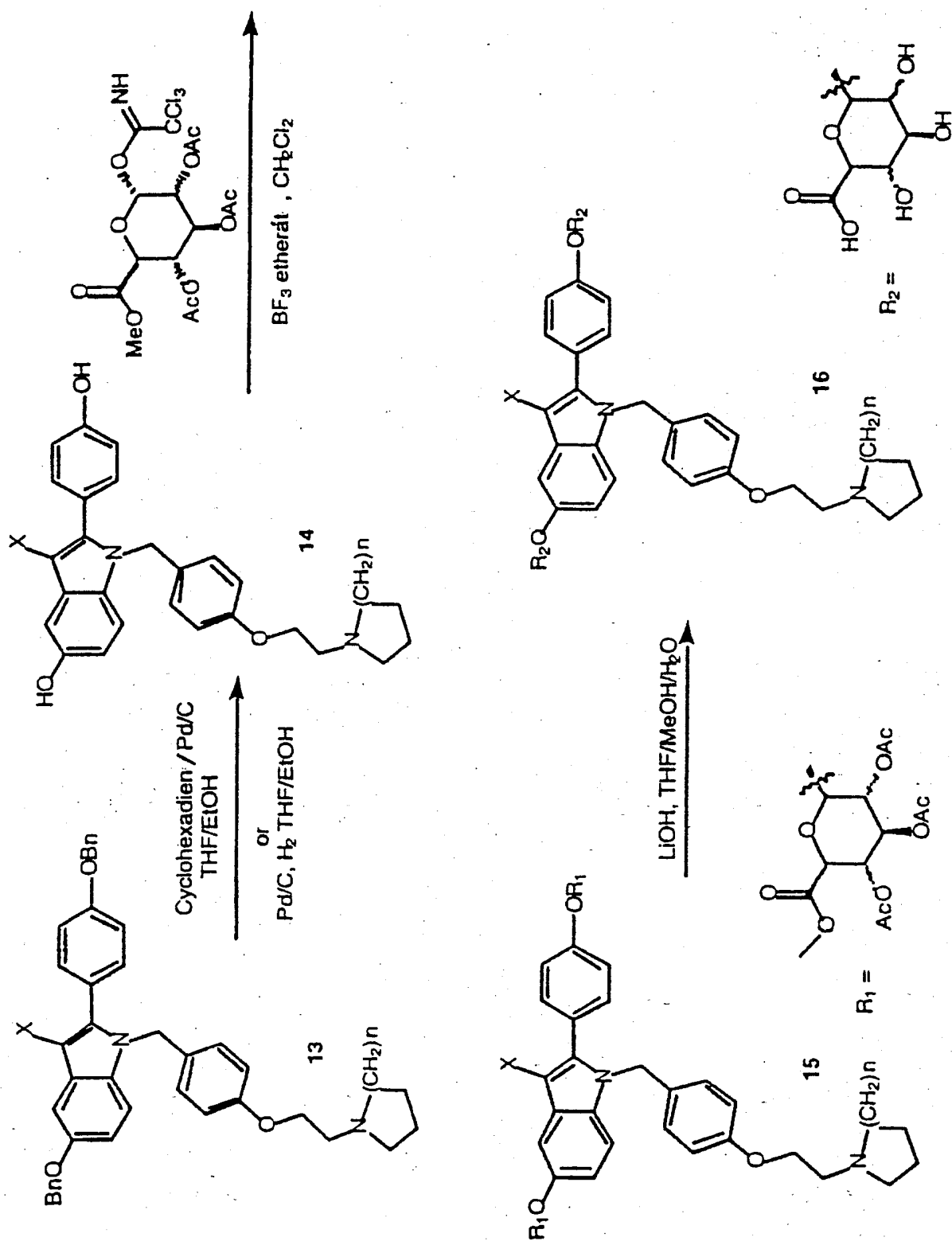
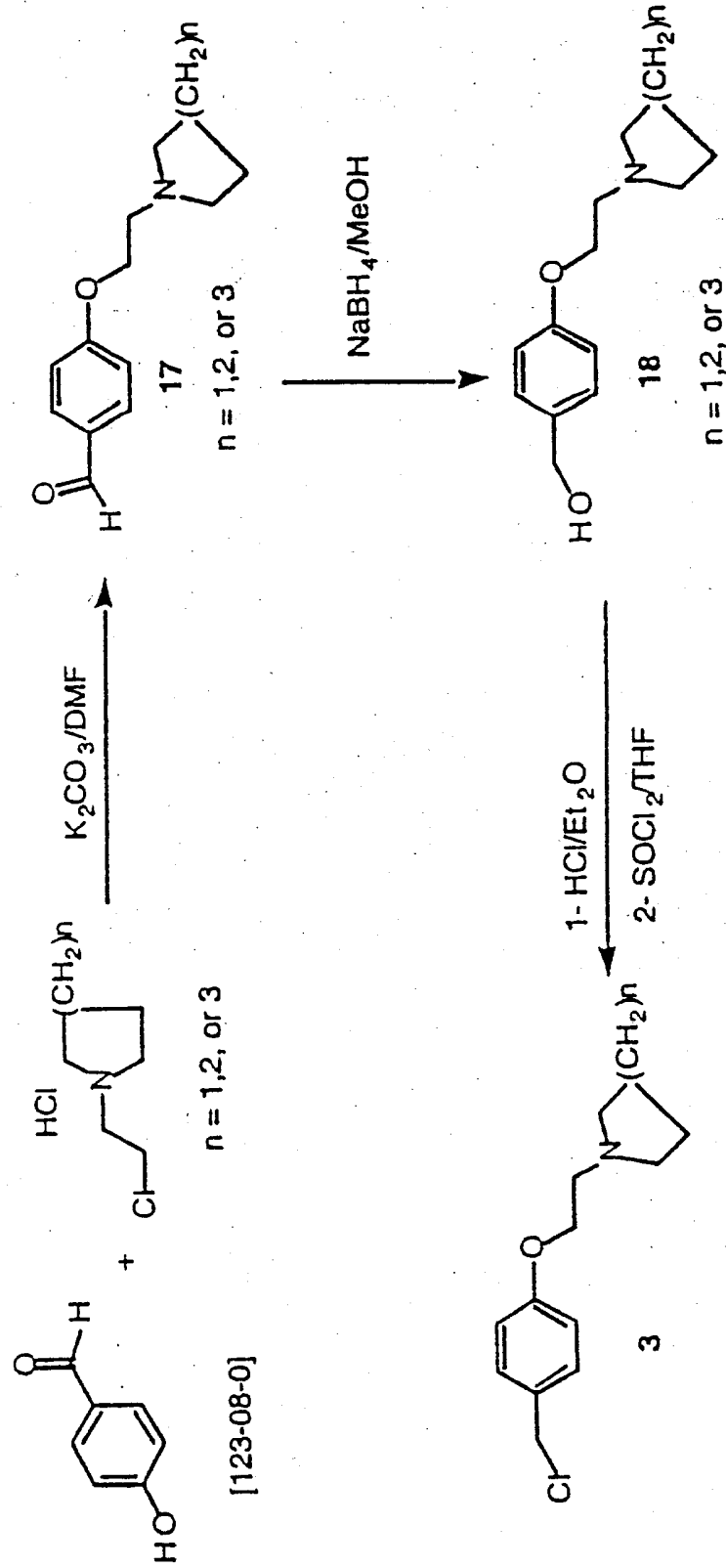


Schéma 3



Aktivita estrogenového antagonisty byla prokázána u reprezentativních sloučenin podle tohoto vynálezu ve standardním farmakologickém testu, který využíval buňky MCF-7 po transfekci estrogenovým receptorem. Pokud jsou podávány orálně, působí sloučeniny podle tohoto vynálezu alespoň částečně jako prekursorů odpovídajících hydroxylovaných sloučenin, uvedených v EP 802183. Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou tedy tkáňově selektivními estrogeny, čímž se myslí to, že v určitých tkáních, obsahujících estrogenové receptory, působí tyto sloučeniny jako agonisté estrogenu a v jiných tkáních, obsahujících estrogenové receptory, působí tyto sloučeniny jako antagonisté. Postup, použitý k prokázání aktivity estrogenového antagonisty v rakovinných buňkách MCF-7, je krátce shrnut níže a získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Příprava buněk:

Buňky MCF-7 byly dvakrát týdně pasážovány v růstovém mediu [mediu D-MEM/F-12, obsahujícím 10% (objem/objem) tepelně inaktivované fetální hovězí sérum, 1% (objem/objem) penicilin-streptomycin a 2 mmol . l⁻¹ glutaMax-1]. Buňky byly udržovány ve větraných lahvích při 37°C uvnitř inkubátoru s 95% vlhkostí vzduchu a 5% obsahem CO₂. Jeden den před ovlivněním byly buňky v množství 25 000/jamku umístěny spolu s růstovým mediem do 96 jamkových destiček a byly inkubovány přes noc při 37 °C.

Testovací podmínky

Buňky byly po dvě hodiny při teplotě 37 °C vystaveny infikování 5-ERE-tk-luciferázou adenoviru ve zředění 1:10 a v množství 50 µl/jamku v pokusném mediu [mediu D-MEM/F-12 bez přítomnosti fenolu, obsahujícím 10% (objem/objem) tepelně inaktivované fetální hovězí sérum, čištěné na aktivním uhlí, 1% (objem/objem)

penicilin-streptomycin, 2 mmol . l⁻¹ glutaMax-1 a 1 mmol . l⁻¹ pyruvát sodný]. Jamky byly jednou promyty 150 µl pokusného media. Nakonec byly buňky 24 hodin při 37 °C ovlivňovány, v osmi souběžných stanoveních, 150 µl vehikula na jamku (≤ 0,1 % DMSO, objem/objem,) nebo sloučeninou, která byla do pokusného média naředěna tisícinásobně či více.

Pokusy, týkající se dávkově závislé odpovědi, byly prováděny s aktivními sloučeninami vzhledem k jejich působení jako agonisté nebo antagonisté při logaritmu, rostoucím od 10⁻¹⁴ do 10⁻⁵ mol . l⁻¹. Z těchto křivek dávkově závislé odpovědi byly odečteny hodnoty EC₅₀ a IC₅₀. Poslední jamka v každé testované skupině obsahovala 5 µl 3 . 10⁻⁵ ICI-182 780 (konečná koncentrace 10⁻⁶ mol . l⁻¹) jako kontrolu ER antagonisty.

Po ovlivnění byly buňky po dobu 15 minut lyzovány na třepačce za přítomnosti 25 µl reakčního činidla pro lyzi buněčné kultury (Promega Corporation) na jamku . Tyto buněčné lyzáty (20 µl) byly převedeny do 96 jamkové luminometrické destičky a aktivita luciferázy byla měřena luminometrem MicroLumat LB 96 P (EG a G Berthold) za použití luciferázového substrátu (Promega Corporation) v množství 100 µl/jamku. Před injikováním substrátu bylo pro každou jamku provedeno jedno měření druhotného pozadí. Po injikaci substrátu byla luciferázová aktivita následně po prodlevě jedné sekundy měřena v průběhu 10 sekund. Naměřené hodnoty byly z luminometrů přeneseny do osobního počítače Macintosh a analyzovány za použití software JMP (SAS institute); tento program odečítá hodnoty pozadí od měření luciferázy v každé jamce a poté stanoví průměrnou hodnotu a standardní odchylku každého měření.

Analýza výsledků

Hodnoty, naměřené pro luciferázu, byly transformovány prostřednictvím logaritmů a pro snížení důležitosti okrajových transformovaných pozorování byl použit Huberův M-odhad. K analýze transformovaných a zvažovaných údajů pro jednocestný test ANOVA (Dunnetův test) byl použit JMP software. Ovlivnění sloučeninami podle vynálezu bylo srovnáno s výsledky kontrolního vehikula ($0,1 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ 17 β -estradiol) při antagonistickém působení. Pokud byly u výchozího pokusu používajícího jednu dávku, výsledky ovlivnění sledovanou sloučeninou významně odlišné od příslušné kontroly ($p < 0,05$), byly tyto výsledky udávány v procentech vzhledem ke kontrole 17 β -estradiolu [tj. $((\text{sloučenina} - \text{kontrolní vehikulum})/(\text{kontrola 17 } \beta\text{-estradiolu} - \text{kontrolní vehikulum})) \times 100$]. Software JMP byl rovněž použit pro určení hodnot EC_{50} a/nebo IC_{50} z nelineárních křivek závislosti odpovědi na dávce.

Konjugáty kyseliny monoglukuronové byly testovány ve stanovení MCF-7 jako agonisté i jako antagonisté (společné dávkování s 17 β -estradiolem v dávce $10 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$). Všechny čtyři testované sloučeniny vykazaly antiestrogenní aktivitu v tomto buněčném systému a žádná z nich nevykázala v těchto buňkách významnou aktivitu agonisty. To je žádoucí výsledek, neboť buněčná linie MCF-7 je získána z lidské tkáně prsní žlázy a tyto výsledky ukazují, že sloučeniny působily proti proliferativním účinkům estrogenní aktivity v těchto buňkách. Je to také pozitivním ukazatelem toho, že tyto sloučeniny vykazují buněčnou permeabilitu a vazebnou afinitu k receptoru (neboť buňky MCF-7 vykazují estrogenní receptory). Údaje, týkající se těchto sloučenin, jsou uvedeny níže v tabulce 1.

Tabulka 1

č. sloučeniny	IC ₅₀ MCF-7
29 (schéma 5)	230 nmol . l ⁻¹
30 (schéma 5)	210 nmol . l ⁻¹
37 (schéma 6)	1 200 nmol . l ⁻¹
38 (schéma 6)	1 100 nmol . l ⁻¹

Jak bylo uvedeno výše, sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou tkáňově selektivní estrogeny: působící v určité tkáni jako agonisté estrogeneru a v jiných tkáních jako antagonisté. Sloučeniny podle tohoto vynálezu zejména působí jako agonisté estrogenového receptoru tím, že poskytují ochranu vůči osteoporóze, snižují hladiny tuků a zvyšují hladiny HDL. Sloučeniny podle tohoto vynálezu působí jako antagonisté estrogenového receptoru tím, že inhibují děložní růst (jako možný vedlejší účinek při podávání estrogenních sloučenin), poskytují ochranu vůči rakovině prsu, poskytují antikoncepci, inhibují demence a poskytují zlepšení rozpoznávací schopnosti.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou tedy vhodné k léčbě určitých stavů, vyplývajících z nedostatku estrogenů, jako jsou úbytek kostí nebo osteoporéza, které mohou být výsledkem nerovnováhy vytvářením nových kostních tkání jedince a úbytku jeho starších kostních tkání, což vede k výsledné ztrátě kostní tkáně. Takový úbytek nastává u celé řady jedinců, zvláště u žen po menopauze, u žen, které podstoupily oboustranné odnětí vaječníků, u jedinců kteří podstupují nebo dříve podstoupili širokou kortikosteroidní léčbu, prodělali vadný vývoj gonád a u jedinců, kteří trpí Cushingovým syndromem. Tyto sloučeniny mohou být také zaměřeny na jedince se speciálními potřebami, týkajícími se kostí, včetně zubů a kostí úst, kostních náhrad, fraktur kostí, poškozených kostních struktur, jedinců po chirurgických

výkonech, týkajících se kostí a/nebo implantace protéz. Kromě výše uvedených problémů, mohou být tyto sloučeniny použity při léčbě osteoartritidy, sníženého množství vápníku v krvi (hypokalcinémie), Pargetovy choroby, měknutí kostí (osteomalcie), osteomalisterézy, mnohočetného myelomu a jiných forem rakovinného bujení, majícího zhoubné účinky na kostní tkáň. Sloučeninami podle tohoto vynálezu mohou být ovlivňovány i jiné stavy, vyplývající z nedostatku estrogenu, včetně hypertrofie prostaty, vaginální a kožní atrofie, akné, kardiovaskulárního onemocnění, antikoncepce u žen před menopauzou, stejně jako doplňovací hormonální léčba u žen po menopauze nebo při jiných stavech nedostatku estrogenu, kde může být vhodné doplnění estrogenů.

Vzhledem k tomu, že sloučeniny podle tohoto vynálezu působí také jako antagonisté estrogenu v určitých tkáních, jsou vhodné k antiestrogenové léčbě, zvláště k léčbě mužské plešatosti, dysfunkčního děložního krvácení, endometriálních polypů, benigního onemocnění prsu, děložních nádorů hladké svaloviny (leiomyomů), adenomyózy, k léčbě nádorového bujení jako je rakovina vaječníků, rakovina prsu, rakovina endometria, melanomy, rakovina prostaty, rakoviny střeva a rakoviny centrální nervové soustavy, k léčbě endometriózy, syndromu polycystického vaječníku, neplodnosti, Alzheimerovy choroby, slábnutí rozpoznávací schopnosti a jiných poruch centrální nervové soustavy a při poskytování antikoncepce. Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou rovněž vhodné k léčbě takových stavů, kde je výhodné vynechání menstruace (amenorea), jako je leukemie, odnětí endometria, chronické ledvinové nebo jaterní onemocnění, nebo onemocnění či poruchy srážlivosti krve.

Navíc jsou sloučeniny 27, 28, 33 a 34 meziprodukty, vhodné k přípravě sloučenin 29, 30, 35, 36, 37 a 38, jak je znázorněno na schématech 5 a 6, viz níže.

Účinné podávání těchto sloučenin může být prováděno v dávce přibližně od 0,1 mg/den do 1 000 mg/den. Podávání bude s výhodou prováděno v dávce přibližně 10 mg/den až 600 mg/den a ještě lépe přibližně od 50 mg/den do 600 mg/den; v jedné dávce a/nebo ve dvou či více dělených dávkách. Takové dávky mohou být podávány jakýmkoliv způsobem, vhodným k uvedení aktivních sloučenin do krevního oběhu příjemce, včetně orálního podání, prostřednictvím implantátů, parenterálně (včetně intravenosních, peritoneálních a subkutáních injekcí), rektálně, vaginálně a transdermálně. Pro účely tohoto vynálezu se transdermálním podáváním rozumí veškerá podání procházející povrchem těla a vnitřními hranicemi tělních otvorů, včetně eptiteliálních a mukosních tkání. Takové podávání se může provádět za použití předkládaných sloučenin, nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí, v lotionech, krémech, pěnách, náplastech, suspenzích, roztocích a čípcích (rektálních a vaginálních).

Orální prostředky obsahující aktivní sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou představovat jakékoli běžně používané orální formy, včetně tablet, tobolek, lícních forem, pastilek a ústních vod, jako jsou suspenze nebo roztoky. Tobolky mohou obsahovat směsi aktivní sloučeniny či sloučenin s inertními plnivy a/nebo ředidly, jako jsou farmaceuticky přijatelné škroby (například kukuřičný, bramborový nebo tapiokový škrob), cukry, umělá sladidla, práškové celulózy, jako jsou krystalické a mikrokrytalické celulózy, želatiny, gumy a podobně. Vhodné tabletové přípravky mohou být vyrobeny obvyklým lisováním, granulací za vlhka nebo granulací za sucha a používají farmaceuticky přijatelná ředidla, pojiva, kluzná činidla, činidla napomáhající rozpadávání, suspenzní nebo stabilizační činidla, včetně, ne však výhradně, stearátu hořečnatého, kyseliny stearové, talku, laurylsulfátu sodného, mikrokrytalické celulózy, vápenaté karboxymethylcelulózy, polyvinylpyrrolidonu, želatiny, alginové kyseliny, klovatiny, xanthanové

gumy, citrátu sodného, komplexních křemičitanů, uhličitanu vápenatého, glycinu, dextrinu, sacharózy, sorbitolu, fosforečnanu vápenatého, síranu vápenatého, laktózy, kaolinu, mannitolu, chloridu sodného, talku, suchých škrobů a práškového cukru. Tyto orální přípravky mohou používat standardní dobu rozpadávání nebo opožděnou dobu rozpadávání ke změně absorpčních podmínek aktivní sloučeniny či sloučenin. Prostředky ve formě čípků mohou být vyrobeny z konvenčních materiálů, včetně kakaového másla, za přídavku vosků pro změnu teploty tání čípku nebo bez takového přídavku, a glycerin. Použity mohou být také vodou rozpustné základy čípků, jako jsou polyethylenglykoly o různých molekulových hmotnostech.

Je zřejmé, že dávkování, režim a způsob podávání těchto sloučenin budou proměnlivé v závislosti na onemocnění na léčeném jedinci a budou záviset na posouzení příslušného praktického lékaře. Přednost se dává tomu, aby podávání jedné nebo více ze zde uvedených sloučenin započalo nízkou dávkou a poté bylo zvyšováno až do dosažení požadovaných účinků.

Následující postupy popisují přípravu reprezentativních vzorků podle tohoto vynálezu.

Veškeré reakce byly prováděny pod dusíkovou atmosférou. Chromatografie byla prováděna za použití oxidu křemičitého (silikagelu) o velikosti 230 až 400 ok sítě /25 mm (mesh). Chromatografie na tenké vrstvě byla prováděna na deskách silikonagelu.

^1H NMR spektra byla získána na přístroji Bruker AM-400, GE QE 300, Bruker DPX-300 nebo DPX 301 a chemické posuny jsou uváděny v dílech z milionu (ppm). Teploty tání byly stanoveny na Thomas-Hooverově přístroji a nejsou upravovány. Infračervená spektra

byla naměřena pomocí mřížkového spektrofotometru Perkin-Elmer, spektrofotometru Mattson 5020FT-IR nebo Perkin-Elmer 784.

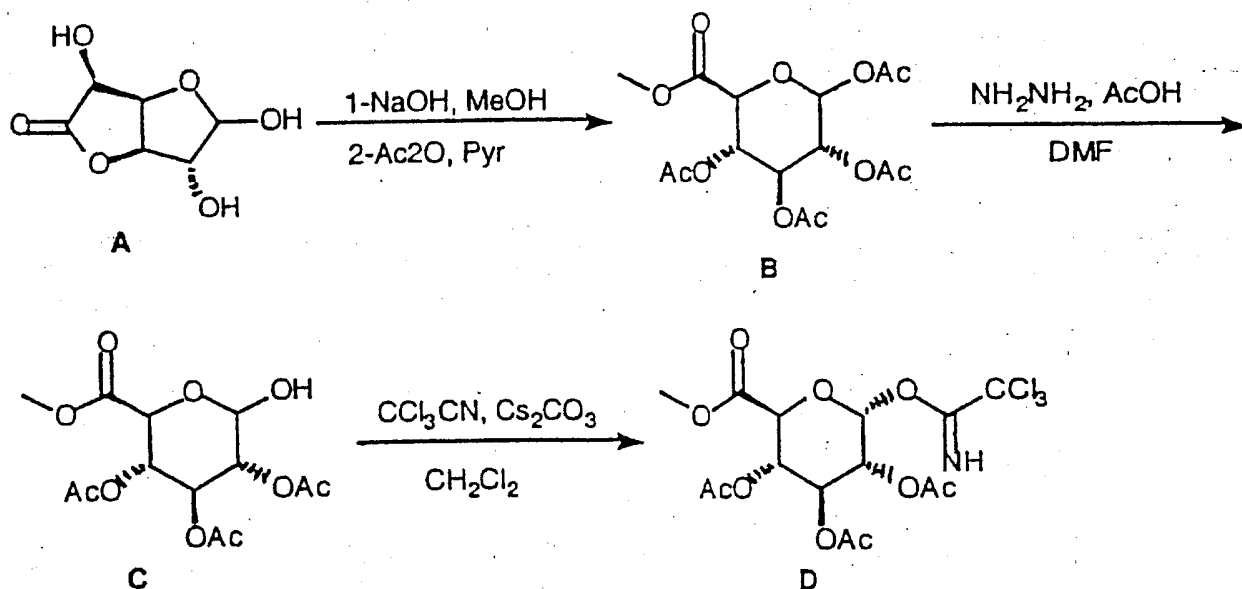
Hmotnostní spektra byla zaznamenána na hmotových spektrometrech Kratos MS 50 nebo Finnigan 8230. Údaje LC/MS byly získány za použití přístroje Micromass system, Model Platform LC, se systémem HP 1100 LC, a diodového detektoru (Diode Array detector). Použitou kolonou byla kolona C18 o rozměru 2,0 x 50 mm a velikosti částic 3 μm . Mobilní fáze byla použita následovně: A = 950 (10 mmol $\cdot$ l^{-1} , NH_4OAc) : 50 (CH_3CN); B = 50 (10 mmol $\cdot$ l^{-1} , NH_4OAc) : 950 (CH_3CN). Gradient byl používán následovně: t = 0, 100 % A, 0 % B; t = 15, 0 % A, 100 % B.

Vysoce účinná kapalinová chromatografie HPLC byla odečítána na systému Waters 60F Pump s kolonou C18 o rozměru 4,6 mm x 15 cm LUNA, o velikosti částic 3 μm , doplněném diodovým detektorem 996 (při vlnové délce 300 nm nebo 220 nm). Rychlost toku byla 1,0 ml/minutu. Teplota byla 30 °C. Použita byla následovná mobilní fáze: A = 950 H_2O : 50 CH_3CN , 20 mmol $\cdot$ l^{-1} $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$; B = 300 H_2O : 700 CH_3CN , 20 mmol $\cdot$ l^{-1} $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$. Použitý gradient byl následovný: t = 0, 100 % B, 0 % C; t = 55, 0 % B, 100 % C.

Analýza prvků byla provedena na analyzátoru Perkin-Elmer 2 400. Pokud není uvedeno jinak jsou sloučeniny, pro něž jsou udány CHN, v rozmezí 0,4 % teoretické hodnoty uvedeného vzorce.

Podle schématu 4, jak je uvedeno níže, byly připraveny následující sloučeniny (příklady 1 až 3).

Schéma 4

Příklady provedení vynálezu**Příklad 1****Tvorba tetraacetylglukuronového esteru B**

K suspenzi D-glukuronolaktonu A (100 g, 56,8 mmol, dostupného od firmy Aldrich Chemical) v methylnalkoholu (750 ml) byly přidány pelety NaOH (0,4 g, 0,01 mmol) pod argonovou atmosférou. Suspenze pomalu přecházela na čistý žlutý roztok během dvou hodin za stálého míchání. Po 16 hodinách byla reakční směs zahuštěna pod vakuem k poskytnutí hnědé pěny. Surový produkt byl rozpuštěn v pyridinu (200 ml, a před přidáním acetanhydridu (375 ml) po 50 ml částech byl ochlazen v ledové lázni. Během přidávání získala reakční směs tmavě hnědou barvu. Po skončení přidávání byla reakční směs propláchnuta argonem a poté byla uchovávána v chladničce. Po 36 hodinách se vytvořila na dně

baňky hnědavá sraženina. Reakční směs byla zfiltrována a promyta horkým ethanolem (100 ml), pak byla ponechána vysušit vzduchem přes noc k poskytnutí sloučeniny **B**; 78,5 g, 37 % bělavé pevné látky:

$R_f = 0,65$ (EtOAc); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 5,77 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 5,12 - 5,35 (m, 3H), 4,18 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 3,75 (s, 3H), 2,04-2,12 (m, 12H).

Příklad 2

Tvorba hydroxyglukuronového esteru **C**

K roztoku tetraacetylglukuronového esteru **B** v DMF (90 ml) byl při teplotě místnosti a pod argonovou atmosférou přidán pevný acetát hydrazinu (3 g, 32,6 mmol). Suspenze byla zahřívána pod argonovou atmosférou na 65 °C. Po jedné hodině byla reakční směs ochlazená na teplotu místnosti, vlita do H_2O (200 ml) a ethylacetátu (200 ml). Vzniklé dvě vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla extrahována vodou (2 x 150 ml), vysušena síranem sodným, zfiltrována a zahuštěna pod vakuem. Vyčištění bylo provedeno za pomoci oxidu křemičitého a eluce soustavou hexan : ethylacetát (2:1) poskytla 4,1 g, 46% výtěžek hydroxyglukuronového esteru **C** ve formě žlutého sirupu.

$R_f = 0,65$ (EtOAc); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 4,58-5,63 (m, 4H), 3,75 (s, 3H), 1,97 - 2,22 (m, 9H).

Příklad 3

Tvorba trichloracetimidátu **D**

K roztoku hydroxyglukuronového esteru **C** (11,1 g, 33,3 mmol) v CH_2Cl_2 (100 ml) byly při teplotě místnosti a pod argonovou atmosférou

přidány uhličitan cesia (1,5 g, 4,7 mmol) a trichloracetonitril (10 ml, 63 mmol). Po čtyřech dnech míchání byly k suspenzi přidány H₂O (200 ml) a CHCl₃ (100 ml). Vzniklé dvě vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla extrahována vodou (2 x 100 ml), vysušena síranem sodným zfiltrována a zahuštěna pod vakuem. Vyčištění bylo provedeno za pomoci oxidu křemičitého a eluce soustavou hexan : ethylacetát (1:1) poskytla 8,9 g, 58% výtěžek trichloracetimidátu **D** jako bělavé pevné látky.

$R_f = 0,65$ (EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃) : 8,78 (s, N-H), 6,63 (m, 1H), 5,63 (t, 1H, J = 9,86 Hz), 5,27 (t, 1H, J = 10,0 Hz), 5,15 (dd, J = 3,54, 10,2 Hz), 4,40 (d, 1H, J = 10,2), 3,68 (s, 3H), 2,02-2,12 (m, 9H).

Následující 5-glukopyranosidové konjugáty a meziprodukty (příklady 4 až 21) byly připraveny podle schémat 5 a 6, znázorněných níže.

Schéma 5

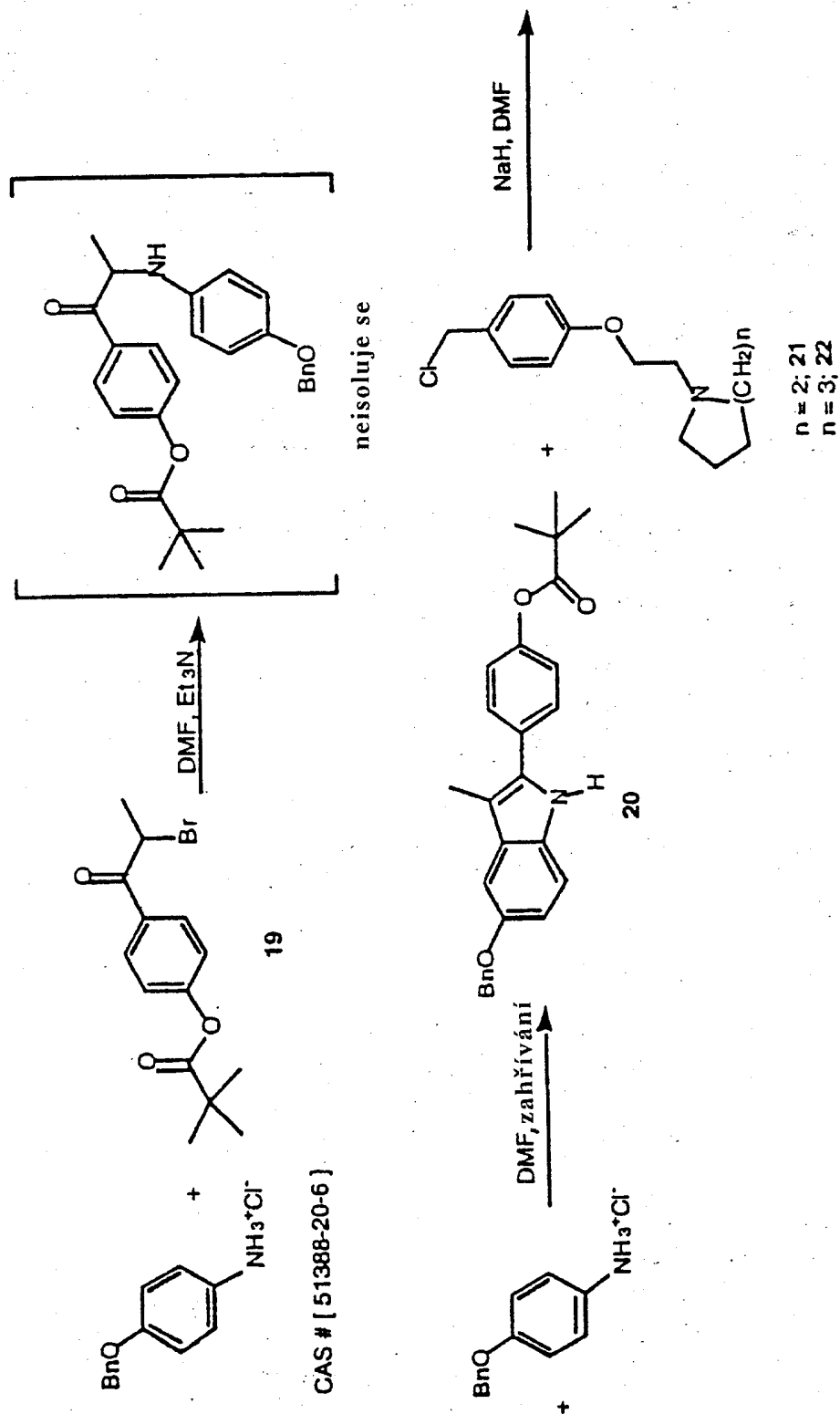
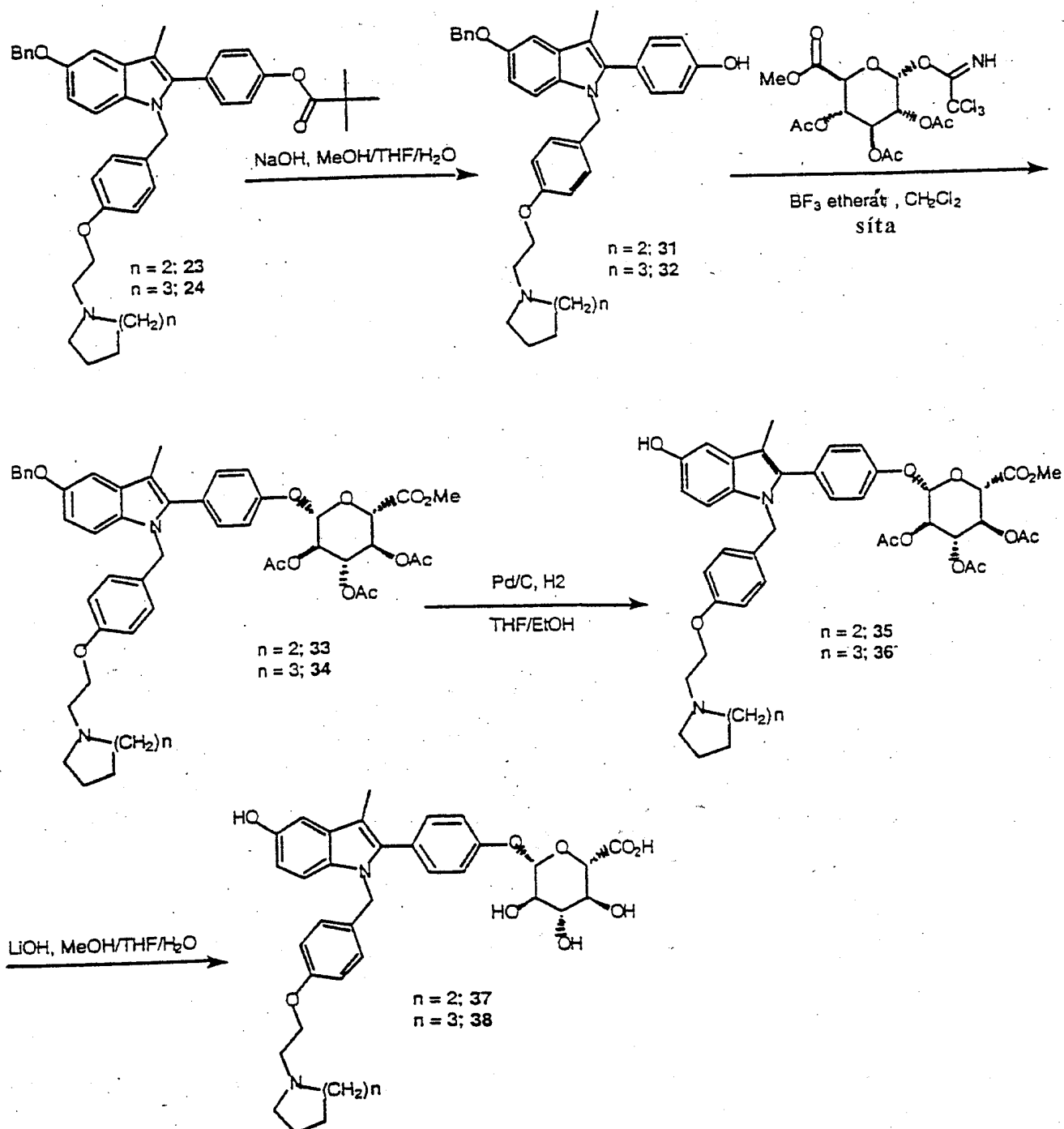


Schéma 6



Příklad 4

2,2-dimethyl-4-(1-oxo-2-bromopropyl)fenylester kyseliny propanové
(19)

K naředění roztoku 4'-pivaloylpropiofenonu (22,4 g, 95,6 mmol) v etheru (1,2 l) byl při 0 °C pomalu přidáván Br₂ (16,7 g, 105,2 mmol). Reakce probíhala 20 minut při 0 °C a poté 45 minut při teplotě místnosti. Při oteplování reakční směsi na teplotu místnosti byl pozorován postupný úbytek bromového zbarvení. Výsledný produkt měl stejnou hodnotu R_f jako výchozí materiál v systému tenkovrstevné chromatografie: 10% ethylacetát/hexan. Reakce byla zastavena přidavkem 10% roztoku Na₂SO₃, promyta vodou, solným roztokem a reakční směs byla vysušena za pomoci síranu hořečnatého. Produkt byl voskovitá pevná látka, která byla použita bez dalšího čištění pro další reakční krok (výtěžek = 30 g, 100 %). Teplota tání = 40 až 45 °C.

Příklad 5

4-(5-benzyloxy-3-methyl-1H-indol-2yl)-fenylester kyseliny
2,2-dimethylpropionové (20)

Roztok dimethylformamidu (350 ml), obsahující bromoketon 19 (44,82 g, 143 mmol), hydrochlorid para-benzyloxyanilinu (37,1 g, 157,4 mmol, 1,1 ekviv.), Et₃N (31,85 g, 314,8 mmol, 2,2 ekviv.), byl zahříván po dobu 1,5 hodiny na teplotu 130 °C a následně byl čištěn pomocí tenkovrstevné chromatografie (15% ethylacetát/hexan). Vzniklý meziprodukt α-anilinpropiofenonu bylo možné sledovat jako mnohem polárnější skvrnu než α-brom-4'-pivaloylpropiofenon. Poté, co byl spotřebován veškerý výchozí materiál, byla reakční směs při 130 °C upravena přidavkem hydrochloridu parabenzoyloxyanilinu (42 g, 177 mmol). Reakční směs byla poté zahřívána další 3,5 hodiny na teplotu 130 °C. Následně byla ponechána zahřát na teplotu místnosti, byla promyta vodou (800 ml), extrahována ethylacetátem (3 x 300 ml),

promyta solným roztokem a vysušena za pomoci síranu hořečnatého. Zahuštěním organické vrstvy byl získán surový produkt, který byl rozmělněn s methylalkoholem (3x) k poskytnutí bílé pevné látky (38 g, 64% výtěžek): teplota tání = 156 až 158 °C;

^1H NMR (DMSO): 11,0 (s, 1H), 7,67 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,49 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz), 7,43 - 7,29 (m, 3H), 7,28 - 7,19 (m, 3H), 7,12 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 6,83 (dd, 1H, $J = 8,7$ Hz, 2,3 Hz), 5,13 (s, 2H), 2,37 (s, 3H), 1,33 (s, 9H); MS 414 (M+H) $^+$; IR (KBr) 3380, 2970, 1745 cm^{-1} .

Příklad 6

4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1-H-indol-2-yl}-fenylester kyseliny 2,2-dimethylpropionové (**23**)

Ke kašovité směsi NaH (11,7 g, 60% disperze v minerálním oleji, 0,292 mol, 2,5 ekviv.) v DMF (500 ml) byl v průběhu 50 minut a při teplotě - 25 °C po kapkách přidáván roztok 1-nesubstituovaného indolového prekursoru **20** (48,3 g, 0,17 mol, 1 ekviv.) v DMF (500 ml). Reakce byla ponechána probíhat při teplotě -25 °C po dobu další jedné hodiny. Poté byl indolový anion ovlivněn přikapáváním roztoku, sestávajícího z vedlejšího řetězce **21** (51,0 g, 0,176 mol, 1,5 ekviv.) v DMF (500 ml) v průběhu 55 minut, kdy byla teplota roztoku udržována na - 25 °C. Reakce byla míchána po dobu další jedné hodiny při teplotě - 25 °C a následně 24 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs byla naředěna ethylacetátem (1,2 l), promyta solným roztokem (8 x 300 ml), vysušena pomocí síranu sodného a zahuštěna k poskytnutí 92,8 g hnědého oleje, který byl rozpuštěn v minimálním množství CH_2Cl_2 a podroben chromatografii na silikagelu (1 kg) za použití CH_2Cl_2 , poté soustavy CH_2Cl_2 /methylalkohol (98:2) a konečně soustavy CH_2Cl_2 /methylalkohol (96:4). Podíl, eluovaný CH_2Cl_2 , obsahoval nezreagovaný

výchozí materiál (14,5 g) a eluent z podílů CH_2Cl_2 /methylalkohol byl zahuštěn k poskytnutí požadovaného produktu (36,7 g, 70% výtěžek).

^1H NMR (DMSO) : 7,52 - 7,45 (m, 2H), 7,43 - 7,36 (m, 4H), 7,35 - 7,31 (m, 1H), 7,28 - 7,20 (m, 3H), 7,15 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 6,84 (dd, 1H, $J = 8,9$ Hz, 2,4 Hz), 6,73 (s, 4H), 5,18 (s, 2H), 5,13 (s, 2H), 3,94 (t, 2H, $J = 5,9$ Hz), 2,56 (t, 2H, $J = 5,9$ Hz), 2,41 - 2,35 (m, 4H), 2,18 (s, 3H), 1,51 - 1,42 (m, 4H), 1,32 (s, 11H); IR (KBr) 3410 (H_2O), 2930, 1750; MS 631.

Příklad 7

4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-hexamethylenamin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenylester HCl kyseliny 2,2-dimethylpropionové (**24**)

Indol **20** (2,0 g, 4,84 mmol) byl rozpuštěn v DMF, ochlazen na 0°C a ovlivněn působením NaH (0,13 g, 5,32 mmol v podobě 60% disperse v minerálním oleji). Samostatná baňka, obsahující benzylchlorid **22** (2,0 g, 6,57 mmol) v DMF byla ovlivněna působením NaH (0,17 g, 7,22 mmol v podobě 60% disperse v minerálním oleji) při 0°C . Poté byl roztok, obsahující benzylchlorid, pomocí injekční stříkačky přenesen do roztoku, obsahujícího indolový anion. Reakce byla po dobu 30 minut udržována při teplotě 0°C , poté byla ponechána ohřát na teplotu místnosti a byla míchána po dobu dalších pěti hodin. Reakční směs byla zpracována rozdělením mezi vodu a ethylacetát a promyta ethylacetátem se solným roztokem a následně vysušena za pomoci síranu hořečnatého. Roztok byl zahuštěn a chromatografován na oxidu křemičitém (methylalkohol/ CH_2Cl_2 ; 5 : 95) k poskytnutí požadovaného produktu ve formě pěny (0,41 g). Pěna byla upravena 1N roztokem HCl v Et_2O za vzniku produktu jako světle žluté pevné látky.

Teplota tání = 222 - 225 °C; ^1H NMR (DMSO) : 10,17 (br s, 1H), 7,95 - 7,22 (m, 10 H), 7,16 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 6,87 - 6,76 (m, 5H), 5,22 (s, 2H), 5,13 (s, 2H), 4,27 (t, 1H, $J = 4,6$ Hz), 3,47 - 3,37 (m, 4H), 3,20 - 3,16 (m, 2H), 2,19 (s, 3H), 1,85 - 1,73 (m, 4H), 1,66 - 1,53 (m, 4H), 1,32 (s, 9 H); MS (+) APCI 645 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Příklad 8

4-{5-hydroxy-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenylester 2,2-dimethylpropionové kyseliny (**25**)

Chráněný indol **23** (61,8, 0,098 mol) byl rozpuštěn v soustavě THF/ethanol (0,35 l/0,35 l) a přidáno bylo 10% Pd/C (7,0 g). Poté byla směs hydrogenována při teplotě místnosti v Parrově zařízení při tlaku 344 kPa (50 psi) po dobu 30 hodin. Pak byla reakce zfiltrována přes Siluflock a pro minimalizaci jakékoliv možné oxidace bylo k filtrátu přidáno 0,62 g kyseliny askorbové. Koláč Siluflocku byl promyt THF a spojené filtráty byly zahuštěny k poskytnutí bílé pevné látky, která byla promyta hexanem a vysušena k poskytnutí 44,5 g sloučeniny **25** (84% výtěžek) jako pevné bílé látky.

^1H NMR (DMSO) : 8,76 (s, 1H), 7,40 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,22 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 7,14 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 6,84 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 6,76 - 6,72 (m, 4H), 6,63 (dd, 1H, $J = 8,7$ Hz, 1,4 Hz), 5,14 (s, 2H), 3,94 (t, 2H, $J = 5,8$ Hz), 2,57 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz), 2,42 - 2,33 (m, 4H), 2,14 (s, 3H), 1,50 - 1,39 (m, 4H), 1,32 (s, 11H); IR (KBr) 3 400, 2 900, 1750 cm^{-1} ; MS 540.

Příklad 9

Fenylester 4-{5-hydroxy-3-metyl-1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-2,2-dimethylpropionové kyseliny (**26**)

Sloučenina **26** byla připravena postupem z příkladu 25, ve formě pěny. IR (KBr) = 3 410, 2 920, 1 750 cm^{-1} ; MS = 555.

Příklad 10

Methylester 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-[4-(2,2-dimethylpropionyloxy)-fenyl]-3-methyl-1H-indol-5-yl}-glukuronové kyseliny (**27**)

Ke směsi 5-hydroxyindolu **25** (31,2 g, 0,058 mol, 1 ekviv.), trichloracetimidátu **D** [150607-95-7] (33,2 g, 0,069 mol, 1,2 ekviv.) a molekulárních sít (3 L , 28 g) v CH_2Cl_2 (0,5 l) byl při teplotě 0 °C po kapkách přidáván $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (16,5 g, 0,116 mol, 2 ekviv.). Směs byla při teplotě místnosti míchána 24 hodin. Směs byla zfiltrována, reakce byla zastavena koncentrovaným vodným roztokem NaHCO_3 (1 l), organická vrstva byla promyta vodou, solným roztokem, vysušena Na_2SO_4 a odpařena k poskytnutí 50,7 g žluté pěny. Materiál byl chromatografován na silikagelu (2 kg, kolona o $d = 15$ cm, eluent $\text{EtOAc}/\text{Et}_3\text{N}$ 9:1, 100 ml/3 min., frakce o objemu 125 ml) k poskytnutí požadovaného produktu **27** ve formě pěny.

^1H NMR (DMSO) = 7,42 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,31 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 7,23 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,18 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz), 6,82 (dd, 1H, $J = 8,8$ Hz, 2,3 Hz), 6,79 - 6,68 (m, 4H), 5,59 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 5,47 (t, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,20 (s, 2H), 5,15 - 5,03 (m, 2H), 4,67 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 3,94 (t, 2H, $J = 5,9$ Hz), 3,65 (s, 3H), 2,58 (t, 2H, $J = 5,7$ Hz), 2,43 - 2,35 (m, 4H), 2,18 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 2,0 (s, 3H), 1,51 - 1,42 (m, 4H), 1,32 (s, 11H); IR (KBr) = 2 910, 1 752 cm^{-1} ; MS = 857 ($\text{M} + \text{H}^+$).

Příklad 11

Methylester 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-[4-(2,2-dimethylpropionyloxy)-fenyl]-3-methyl-1H-indol-5-yl}-glukuronové kyseliny (**28**)

Pro přípravu sloučeniny **28** byl použit stejný postup jako pro sloučeninu **27**, viz výše. Čištění prostřednictvím SiO_2 a eluce soustavou (20:1) CHCl_3 : CH_3OH poskytly 1,2 g 82% glykosidu **6** v podobě hnědé pěny.

R_f = 0,21 (20:1, CHCl_3 : CH_3OH); ^1H NMR (CDCl_3) = 6,6 - 7,4 (m, 11H), 5,0 - 5,4 (m, 6H), 4,0 - 4,2 (m, 3H), 3,8 (s, 3H), 2,8 - 3,2 (m, 6H), 2,2 (s, 3H), 2,0 - 2,2 (m, 9H), 1,4 - 1,8 (m, 8H), 1,4 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3) = 176,9, 170,1, 170,0, 169,9, 169,6, 169,3, 169,2, 168,5, 167,0, 157,6, 151,1, 150,8, 138,1, 133,7, 131,3, 130,4, 129,1, 128,9, 127,1, 121,5, 114,6, 113,7, 110,7, 109,2, 107,2, 101,1, 90,2, 72,6, 72,1, 71,7, 71,0, 69,7, 69,3, 67,8, 65,5, 56,0, 55,5, 52,8, 52,6, 47,1, 39,1, 27,0, 26,9, 26,6, 20,6, 20,5, 20,4, 9,3; LC/MS (ESI) retenční čas = 15,9, $\text{M}+\text{H}^+$ = 871,4.

Příklad 12

Triethylamonná sůl 5-O-glukuronidu 1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-1H-indol-5-olu (**29**)

Roztok, sestávající z prekursoru indolu **27** (29,8 g, 0,0385 mol) v soustavě dioxan/ $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (200 ml/100 ml/100 ml) a $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (12,95 g, 0,31 mol, 8 ekviv.), byl míchán 2 hodiny při teplotě 60 °C. Po přidání AcOH (18,5 ml) byla směs odpařena k poskytnutí 53,6 g surové pevné látky. Materiál byl na kašovitou směs zředěn vodou (500 ml) během 2 hodin, zfiltrován, promyt vodou a vysušen k poskytnutí 24,1 g surového produktu. Tento materiál byl rozpuštěn v soustavě $\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$ (100 ml/5,3 ml) a k vysrážení soli jako bílé pevné látky byl použit ether (2 l);

sůl byla po promytí etherem vysušena pod vakuem k poskytnutí sloučeniny **29** (27 g, 99 %):

^1H NMR (DMSO - d_6) δ 6,99 (m, 11 H), 5,11 (br s, 1H), 5,00 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz), 3,99 (t, 2H), 3,66 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz), 3,26 (m, 2H), 2,92 (q, 6H), 2,74 (t, 2H), 2,52 (br s, 4H), 2,1 (s, 3H), 1,50 (br s, 4H), 1,32 (br s 2H), 1,08 (t, 9H).

Příklad 13

5-O-glukuronid 1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-(4-hydroxy-fenyl)-3-methyl-1H-indol-5-olu (**30**)

K roztoku prekursoru indolglykosidu **28** (2,8 g, 3,3 mmol) v soustavě p-dioxan/MeOH/H₂O (2:1:1, 52 ml) byl při teplotě místnosti a pod argonovou atmosférou přidán pevný LiO.H₂O (1,5 g, 36 mmol). Suspenze byla zahřívána na 65 °C. Po 90 minutách byla přidána ledová kyselina octová (1,5 ml) a reakční směs byla zahuštěna pod vakuem. Čištění prostřednictvím SiO₂ a eluce soustavou CH₃CN/HOAc/H₂O (20:1:2) a následně CH₃CN/HOAc/H₂O (10:1:2) poskytly hnědý sirup. Přidáním H₂O (30 ml) a následně MeOH (10 ml) byla z hnědého sirupu získána světle hnědá suspenze. Ta byla zfiltrována a vysušena vzduchem k poskytnutí 840 mg 40% glukuronidu **30** jako světle hnědé pevné látky.

$R_f = 0,24$ (10:1:2, CH₃CN/HOAc/H₂O); retenční čas HPLC = 23,2 min. s 95 % plochy, při 220 nm; ^1H NMR (DMSO) = 6,8 - 7,2 (m, 7H), 6,7 (s, 4H), 5,1 (br s, OH), 4,8 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz), 3,9 (t, 2H, $J = 4,5$ Hz), 3,1 - 3,6 (m, 8H), 2,77 (t, 2H, $J = 4,5$ Hz), 2,5 - 2,7 (m, 4H), 2,1 (s, 3H), 1,5 (s, 8H); ^{13}C NMR (DMSO) = 172,3, 157,5, 157,4, 151,7, 138,5, 132,2, 131,3, 130,4, 128,6, 127,2, 121,7, 115,4, 114,3, 112,9, 110,5, 107,2, 105,6, 102,3, 76,6, 73,9, 73,3, 72,1, 66,1, 56,0, 55,1, 40,1, 39,9, 39,7,

39,5, 39,3, 39,1, 38,9, 27,8, 26,5, 9,4; IR (KBr) $\nu_{\max}$ = 3 424, 2928, 1 612, 1510, 1475, 1444, 1238, 1099, 1065, 1039, 1020, 917, 840 cm^{-1} ; LC/MS (ESI) retenční čas = 9,0, $M+H^+$ = 647,3.

Příklad 14

4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenol (**31**).

Směs substituovaného indolu **23** (61,8 g, 0,098 mol, 1 ekviv.) a LiOH.H₂O (8,5 g, 0,202 mol, 2,1 ekviv.) v soustavě dioxan/MeOH/H₂O (300 ml, 150 ml, 150 ml) byla míchána 2 hodiny při 60 °C. Poté byla ochlazená na teplotu místnosti a přidáno bylo 12,1 ml AcOH k úpravě pH na hodnotu přibližně 7. Po přidání H₂O (600 ml) byla směs extrahována CH₂Cl₂ (6x 150 ml). Organická fáze byla promyta koncentrovaným vodným roztokem Na₂CO₃, H₂O, solným roztokem, vysušena síranem sodným a odpařena k poskytnutí sloučeniny **31** (51,6 g, 97 %) ve formě žluté pěny:

¹H NMR (CDCl₃) δ =7,07 (m, 19H), 6,10 (s, 2H), 5,03 (s, 2H), 4,03 (t, 2H), 2,8 (t, 2H), 2,53 (br s, 4H), 2,21 (s, 3H), 1,63 (t, 4H), 1,43 (br s, 2H).

Příklad 15

4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenol (**32**)

Sloučenina **32** byla syntetizována analogicky sloučenině **31**:

¹H NMR (CDCl₃) δ = 9,83 (br s, 1H), 7,49-7,29 (m, 5H), 7,2-7,09 (m, 4H), 6,89-6,73 (m, 7H), 5,15 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 4,04 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 2,77 (t, 2H, J = 6,0 Hz), 2,65-2,60 (m, 4H), 2,15 (s, 3H), 1,51 (br s, 8H).

Příklad 16

Methylester 2,3,4-O-triacetyl-1-O-(4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-glukuronové kyseliny (**33**)

Ke směsi indolu **31** (35,6 g, 0,065 mol, 1 ekviv.), trichloracetimidátu D [150607-95-7] (37,4 g, 0,078 mol, 1,3 ekviv.) a molekulárních sít (3 $\text{\AA}$, 28 g) v CH_2Cl_2 (500 ml) byl při teplotě 0 °C po kapkách přidán $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (18,45 g, 0,13 mol, 2 ekviv.). Směs byla při teplotě místnosti míchána po dobu 48 hodin. Poté byla zfiltrována a reakce byla zastavena koncentrovaným vodným roztokem NaHCO_3 (1 l). Organická vrstva byla promyta vodou, solným roztokem, vysušena síranem sodným a odpařena k poskytnutí 65,4 g žluté pěny. Pěna byla bleskově chromatografována na silikagelu (2 kg, kolona o d = 15 cm) za použití soustavy $\text{EtOAc}/\text{Et}_3\text{N}$ (9:1) s výtěžkem 34,5 g 59% sloučeniny **33**: MS = 863 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Příklad 17

Methylester 2,3,4-O-triacetyl-1-O-(4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-glukuronové kyseliny (**34**)

Sloučenina byla připravena podobným způsobem, jaký byl popsán výše pro sloučeninu **33**:

R_f = 0,21, (20:1 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$); ^1H NMR (CDCl_3) = 6,6 - 7,7 (m, 16H), 5,1 - 5,5 (m, 8H), 4,2 - 4,4 (m, 3H), 3,8 (s, 3H), 3,0 - 3,4 (m, 6H), 2,23 (s, 3H), 2,0 - 2,2 (m, 8H), 1,9 (m, 4H), 1,7 (m, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3) = 170,1, 169,4, 169,3, 166,9, 156,9, 156,3, 153,3, 137,7, 132,2, 131,8, 131,4, 128,5, 127,7, 127,6, 127,3, 116,9, 114,7, 112,6, 110,9, 108,8, 102,5, 98,9, 72,7, 71,8, 71,1, 71,0, 69,1, 64,1, 55,9, 55,2, 53,0,

47,0, 26,9, 24,8, 20,6, 20,5, 20,4, 9,5; IR (KBr): $\nu_{\max}$ = 3 435, 2934, 2862, 1756, 1612, 1510, 1372, 1226, 1176, 1041, 828 cm^{-1} ; LC/MS (ESI) retenční čas = 16,1, $\text{M}+\text{H}^+$ = 877.

Příklad 18

Methylester 2,3,4-O-triacetyl-1-O-(4-{5-hydroxy-3-methyl-1-[4-2-piperidin-1-yl-ethoxy]-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-glukuronové kyseliny (**35**)

Glykosidovaný indol **33** (34 g, 0,039 mol) v 400 ml THF/MeOH (1:1) byl ovlivněn 10% Pd/C (5,4 g) a hydrogenován v Parrově zařízení při tlaku 344 kPa (50 psi) po dobu 30 hodin. Směs byla zfiltrována přes Siluflock a k filtrátu bylo přidáno 0,34 g kyseliny L-askorbové. Koláč Siluflocku byl promyt THF a spojené filtráty byly zahuštěny k poskytnutí produktu **35** (29,8 g, 98 %) jako žlutobílé pevné látky:

^1H NMR (CDCl_3) δ = 6,95 (m, 11H), 5,34 (m, 2H), 5,14 (d, 1H, J = 2 Hz), 5,01 (s, 2H), 4,21 (m, 1H), 4,06 (t, 2H), 2,83 (t, 2H), 2,62 (br s, 4H), 2,13 (s, 3H), 1,65 (t, 4H), 1,44 (br s, 2H).

Příklad 19

Methylester 2,3,4-O-triacetyl-1-O-(4-{5-hydroxy-3-methyl-1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-glukuronové kyseliny (**36**)

Glykosilovaný indol **34** (3,7 g, 4,2 mmol) v 60 ml THF/MeOH (1:1) byl ovlivněn 10% Pd/C (1,5 g) a hydrogenován v Parrově zařízení při tlaku 275 kPa (40 psi) po dobu 23 hodin. Reakční směs byla zfiltrována přes celitové lože a filtrační koláč byl promyt THF (20 ml) a ethanolem (20 ml). K zabránění jakékoliv oxidace vzduchem byla do filtrovaného roztoku přidána kyselina L-askorbová (0,37 g). Roztok byl zahuštěn a

chromatografován na silakagelu za použití soustavy CHCl_3 /isopropanol (7:1) k poskytnutí produktu **35** (1,6 g, 48%) jako hnědé pěny:

$R_f = 0,20$ (7:1 CHCl_3 /isopropanol); ^1H NMR (DMSO) = 6,5 - 7,5 (m, 11H), 5,7 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 5,5 (t, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,9 - 5,2 (m, 4H), 4,7 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 3,6 (s, 3H), 3,3 (s, 8H), 2,1 (s, 3H), 1,9 - 2,2 (m, 9H), 1,5 - 1,9 (m, 8H); ^{13}C NMR (CDCl_3) = 170,0, 169,0, 167,0, 157,0, 156,5, 150,0, 138,0, 131,7, 131,6, 130,0, 127,3, 116,9, 114,7, 112,0, 111,0, 108,0, 104,5, 98,8, 72,6, 71,8, 71,1, 69,1, 64,4, 55,0, 55,2, 53,0, 47,0, 26,7, 23,6, 20,6, 20,5, 9,5; IR (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3427, 3037, 2935, 2612, 1757, 1612, 1510, 1462, 1374, 1227, 1040$ cm^{-1} ; LCMS (ESI) retenční čas = 13,0, $\text{M}+\text{H}^+ = 787$.

Příklad 20

Triethylamonná sůl 2-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-5-ol-4O-glukuronidu (**37**)

Glykosilovaný indol **35** (25 g, 0,029 mol, 1 ekviv.) a LiOH. H_2O (12,3 g, 0,29 mol, 10 ekviv.) ve 300 ml soustavy dioxan/MeOH/ H_2O (2:1:1) byly míchány po dobu 2 hodin při 60 °C. Poté byla směs ponechána ochladit na teplotu místnosti a bylo přidáno 13,5 ml AcOH. Roztok byl zahuštěn k poskytnutí 44,3 g žluté pěny. Tato pěna byla promyta vodou, zbytek byl vysušen a poté rozpuštěn ve 160 ml MeOH/ Et_3N (15:1). Výsledný roztok byl zahuštěn k poskytnutí surového materiálu, který byl opětne rozpuštěn v MeOH (100 ml) při 40 °C, z něhož téměř okamžitě vypadla bílá sraženina. Tato sraženina byla zfiltrována, promyta MeOH a vysušena pod vakuem k poskytnutí 9,7 g sloučeniny **37** (78%) jako bílé pevné látky:

^1H NMR (DMSO) $\delta = 7,16$ (m, 4H), 6,86 (d, 2H, $J = 2,8$ Hz), 6,81 (m, 1H), 6,74 (s, 4H), 5,15 (s, 2H), 4,90 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 3,98 (m,

2H), 3,70 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 3,32 (m, 3H), 2,78 (t, 2H, 2,58 (br s, 4H), 2,14 (s, 3H), 1,51 (br s, 4H), 1,38 (br s, 2H).

Příklad 21

1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-(4-hydroxyfenyl)-
3-methyl-1H-indol-5-ol 4-O-glukuronidu (**38**)

K roztoku indolglykosidu **36** (2,8 g, 3,3 mmol) v soustavě dioxan/MeOH/ H₂O (2:1:1, 52 ml) byl přidán pevný LiOH.H₂O (1,5 g, 36 mmol) při laboratorní teplotě a pod argonovou atmosférou. Suspenze byla zahřívána na 65 °C. Po 1,5 hodině byla přidána ledová kyselina octová (1,5 ml). Reakční směs byla zahuštěna pod vakuem. Čištění prostřednictvím SiO₂ a eluce soustavou CH₃CN/HOAc/H₂O (20:1:2) a následně soustavou CH₃CN/HOAc/H₂O (10:1:2) poskytly hnědý sirup. Přidáním H₂O (30 ml) a následně MeOH (10 ml) k hnědému sirupu vznikla světle hnědá suspenze. Ta byla filtrována a vysušena vzduchem k poskytnutí 840 mg 40% glukuronidu **38** jako světle hnědé pevné látky.

$R_f = 0,24$ (CH₃CN/HOAc/H₂O, 10:1:2); HPLC retenční čas = 23,2 min. s 95 % plochy, při 220 nm; ¹H NMR (DMSO) = 6,8 - 7,2 (m, 7H), 6,7 (s, 4H), 5,1 (br s, OH), 4,8 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz), 3,9 (t, 2H, $J = 4,5$ Hz), 3,1 - 3,6 (m, 8H), 2,77 (t, 2H, $J = 4,5$ Hz), 2,5 - 2,7 (m, 4H), 2,1 (s, 3H), 1,5 (s, 8H); ¹³C NMR (DMSO) = 172,3, 157,5, 157,4, 151,7, 138,5, 132,2, 131,3, 130,4, 128,6, 127,2, 121,7, 115,4, 114,3, 112,9, 110,5, 107,2, 105,6, 102,3, 76,6, 73,9, 73,3, 72,1, 66,1, 56,0, 55,1, 40,1, 39,9, 39,7, 39,5, 39,3, 39,1, 38,9, 27,8, 26,5, 9,4; IR (KBr): $\nu_{\max} = 3424, 2928, 1612, 1510, 1475, 1444, 1238, 1099, 1065, 1039, 1020, 917, 840$ cm⁻¹; LC/LS (ESI) retenční čas = 9,0, M+H⁺ = 647,3.

Bis-glukuronidové sloučeniny **46** a **47** (příklady 22 až 26) byly připraveny podle schématu 7, znázorněného níže.

Schéma 7

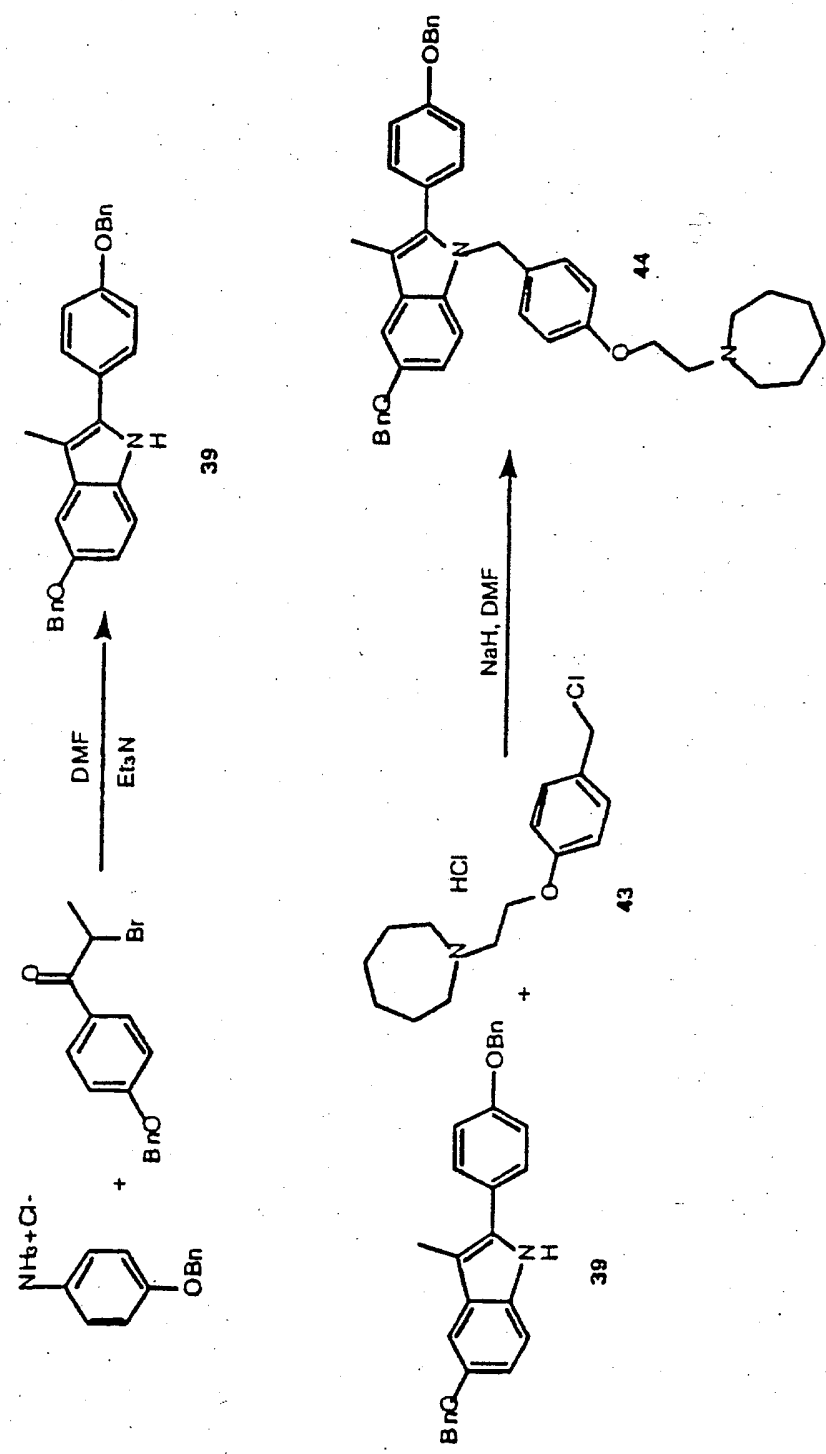
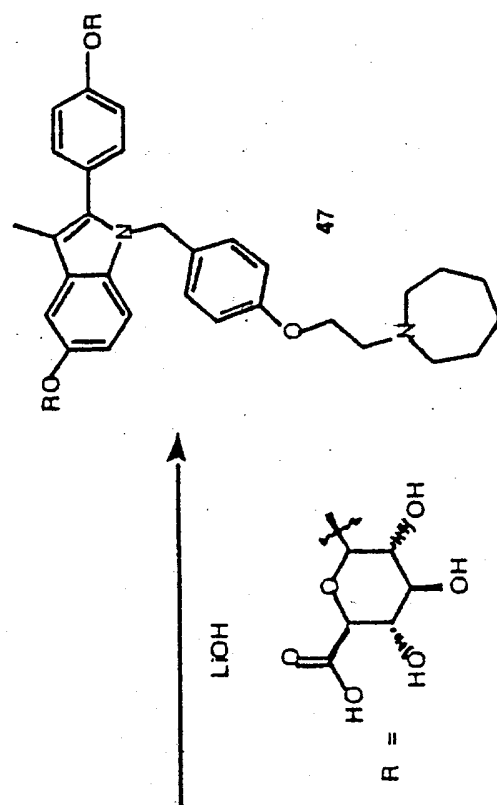
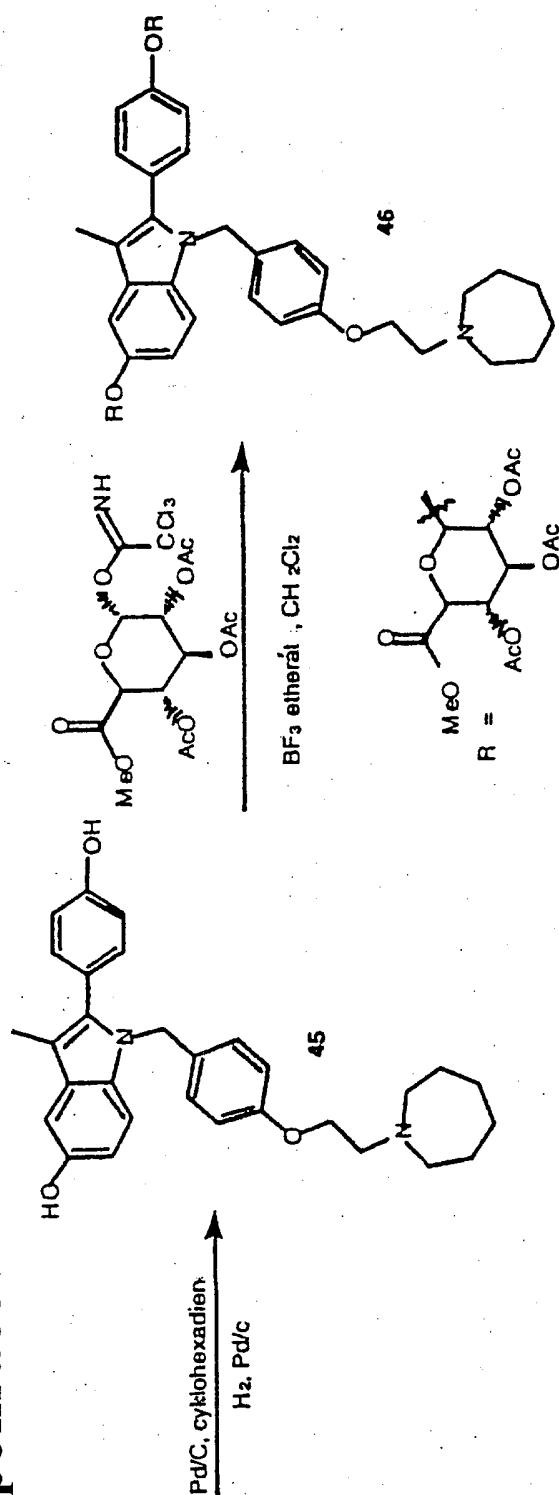


Schéma 7 - pokračování



Příklad 22**5-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-methyl-1H-indol (39)**

Bromketon CAS č. [66414-19-5] (50,0 g, 0,16 mol) v 200 ml DMF byl ovlivněn hydrochloridem 4-benzyloxyanilinu CAS č. [51145-58-5] (44 g, 0,22 mol) a reakce byla proplachována dusíkem po dobu přibližně 10 minut. Po přidavku triethylaminu (54,6 ml) byla reakce zahřívána 2 hodiny na teplotu 120 °C. Analýza chromatografií na tenké vrstvě (EtOAc/hexany) ukázala, že výchozí materiál vymizel za vzniku polárnější skvrny. Reakční směs byla ponechána zchladnout a poté bylo přidáno dalších 48 g hydrochloridu anilinu. Reakce byla zahřívána 2 hodiny na teplotu 150 °C. Po přidavku dalších 5 g hydrochloridu anilinu byla reakce zahřívána dalších 30 minut při teplotě 150 °C. Reakční směs byla ponechána zchladit na teplotu místnosti, byla vlita do přibližně 1,5 l vody a extrahována 2 l ethylacetátu. V případě potřeby byly pevné složky rozpuštěny přidavkem dalšího ethylacetátu. Ethylacetátová vrstva byla promyta jedním litrem 1 N vodného roztoku NaOH, jedním litrem vody, solným roztokem a poté byla vysušena síranem hořečnatým a zfiltrována. Organické vrstvy byly zahuštěny k poskytnutí surové pevné látky, která byla míchána s 500 ml methanolu a zfiltrována. Získaná pevná látka byla poté míchána s 500 ml ethyletheru a zfiltrována. Výsledná pevná látka byla míchána buď s methanolem nebo s etherem, dokud nenabyla bělavé barvy. Reakce poskytla 36 g produktu: teplota tání = 150 až 152 °C;

^1H NMR (DMSO) δ = 10,88 (s, 1H), 7,56 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,48 (d, 4H, J = 7,9 Hz), 7,42 - 7,29 (m, 6H), 7,21 (d, 1H, J = 7,0 Hz), 7,13 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,08 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 6,94 (dd, 1H, J = 8,8, 2,4 Hz), 5,16 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 2,33 (s, 3H); IR (KBr) = 3470, 2880, 2820, 1620 cm^{-1} ; MS el m/z 419.

Příklad 23

5-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-methyl-1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol (**44**)

Ke kašovitě směsi NaH (20,0 g, 60% olejová disperse, 0,5 mol, 2,5 ekviv.) byl v průběhu jedné hodiny při teplotě 0/10 °C přidán roztok 5-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-methyl-1H-indolu (84 g, 0,2 mol, 1,0 ekviv.) v DMF (100 ml). Reakční směs byla míchána po dobu 30 minut. Po té byl při teplotě 0/10 °C v průběhu 2 hodin po kapkách přidán roztok benzylchloridu (syntéza znázorněna na schématu 7 a podrobnosti jsou uvedeny v následujícím popisu) (67 g, 0,22 mol, 1,1 ekviv.) v DMF (200 ml). Reakční směs byla míchána 2 hodiny při teplotě 25 °C. Chromatografie na tenké vrstvě (TLC) v tomto okamžiku nevykázala žádný výchozí materiál, ale většinou pouze produkt (EtOAc/hexan 1:5). Reakční směs byla zředěna vodou (1 l), extrahována EtOAc (3 x 1 l) a poté byla vysušena síranem hořečnatým. Roztok byl zahuštěn na 150 ml, vlit do MeOH (750 ml) a míchán přes noc. Sraženina byla zfiltrována a vysušena k poskytnutí sloučeniny uvedené v nadpisu (99 g, 76 % výtěžku): bod tání = 106 - 107 °C;

¹H NMR (DMSO) δ = 7,47 (d, 4H, J = 8,3 Hz), 7,41 - 7,36 (m, 4H), 7,36 - 7,30 (m, 2H), 7,29 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,19 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,14 - 7,10 (m, 3H), 6,80 (dd, 1H, J = 8,8 Hz), 6,73 (s, 4H), 5,15 (s, 2H), 5,13 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 3,90 (t, 2H, J = 5,9 Hz), 2,76 (t, 2H, J = 5,9 Hz), 2,64 - 2,56 (m, 4H), 2,15 (s, 3H), 1,58 - 1,44 (m, 8H); MS FAB m/z 651 (M+H⁺).

Příklad 24

1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-1H-indol-5-ol (**45**)

Roztok, sestávající z indolu **44** (17,5 g, 26,9 mmol) v THF/EtOH (1:1) byl hydrogenován pod vodíkovou atmosférou za použití 10% Pd/C jako katalyzátoru. Chromatografie na silikagelu za použití eluentu CH₂Cl₂/MeOH (gradient od 100/0 do 85/15) poskytla požadovaný produkt v podobě 8,5 g bílé pěny spolu s 2,5 g podílu, obsahujícího malé nečistoty. Ačkoli volnou bází je materiál, používaný v dalším kroku (bis-glukuronidace), pro účely charakterizace a prodloužení skladovací doby sloučenin může být vytvořena kyselá adiční sůl s HCl rozpuštěním sloučeniny v MeOH a působením 1,1 ekvivalentu 2 N vodného roztoku HCl. Sloučenina se pomalu vysráží v podobě bílých krystalů. Fyzikální údaje uvedené níže popisují HCl sůl indolu **45**: teplota tání = 172 - 174 °C;

¹H NMR (DMSO) = 10,11 (br s, 1H), 9,70 (s, 1H), 8,71 (s, 1H); 7,15 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 7,05 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 6,85 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 6,80 - 6,77 (m, 5H), 6,56 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, 2,2 Hz), 5,11 (s, 2H), 4,26 (t, 2H, J = 4,6 Hz), 3,48 - 3,30 (m, 4H), 3,22 - 3,08 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,83 - 1,76 (m, 4H), 1,67 - 1,48 (m, 4H); IR (KBr) = 3500 br, 3250 br, 2900, 1610; MS FAB m/z 471 (M+H⁺).

Příklad 25

Methylester 2,3,4-O-triacetyl-1-O-[4-[1-[4-[2-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)ethoxy]benzyl]-3-methyl-5-[(2,3,4-O-triacetyl-6-O-methyl-beta-D-glukopyranuronylosyl)oxy]-1H-indol-2-yl]fenyl]-beta-D-glukopyranosiduronové kyseliny (**46**)

Směs, sestávající z bis-fenolového indolu **45** (2,5 g, 5,3 mmol) a glukuronylimidátu **D** (5,60 g, 11,7 mmol, 2,2 ekviv.) v CH₂Cl₂ (25 ml) byla upravena pomalým přidáním BF₃.OEt₂ (1,43 ml, 11,7 mmol, 2,2 ekviv.) za důkladného míchání reakční směsi. Po přidavku byla reakce zahřívána do varu pod zpětným chladičem (při refluxu) po dobu 2,5

hodin. Část výchozího materiálu zůstala přilepena na dno baňky během celé reakce. Reakce byla dokončena přidáním dalšího CH_2Cl_2 a malého množství MeOH a organická vrstva byla promyta vodou, solným roztokem a vysušena síranem hořečnatým. Surový materiál byl vyčištěn chromatografií na silikagelu za použití $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95:5) k získání chráněného bis-glukuronidu **46** (0,95 g): teplota tání = 110 - 116 °C;

^1H NMR (DMSO-d_6) δ = 7,36 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,25 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,16 - 7,10 (m, 3H), 6,79 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, 2,0 Hz), 6,75 (br s, 4H), 5,74 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 5,58 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 5,47 (dt, 2H, J = 9,5 Hz, 2,3 Hz), 5,18 (br s, 2H), 5,15 - 5,04 (m, 2H), 4,73 (d, 1H, J = 9,9 Hz), 4,66 (d, 1H, J = 10,0 Hz), 3,93 (t, 2H, J = 5,8 Hz), 3,64 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 2,81 - 2,60 (m, 6H), 2,16 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,00 (br s, 9H), 1,61 - 1,47 (m, 8H); MS 1103,7 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Příklad 26

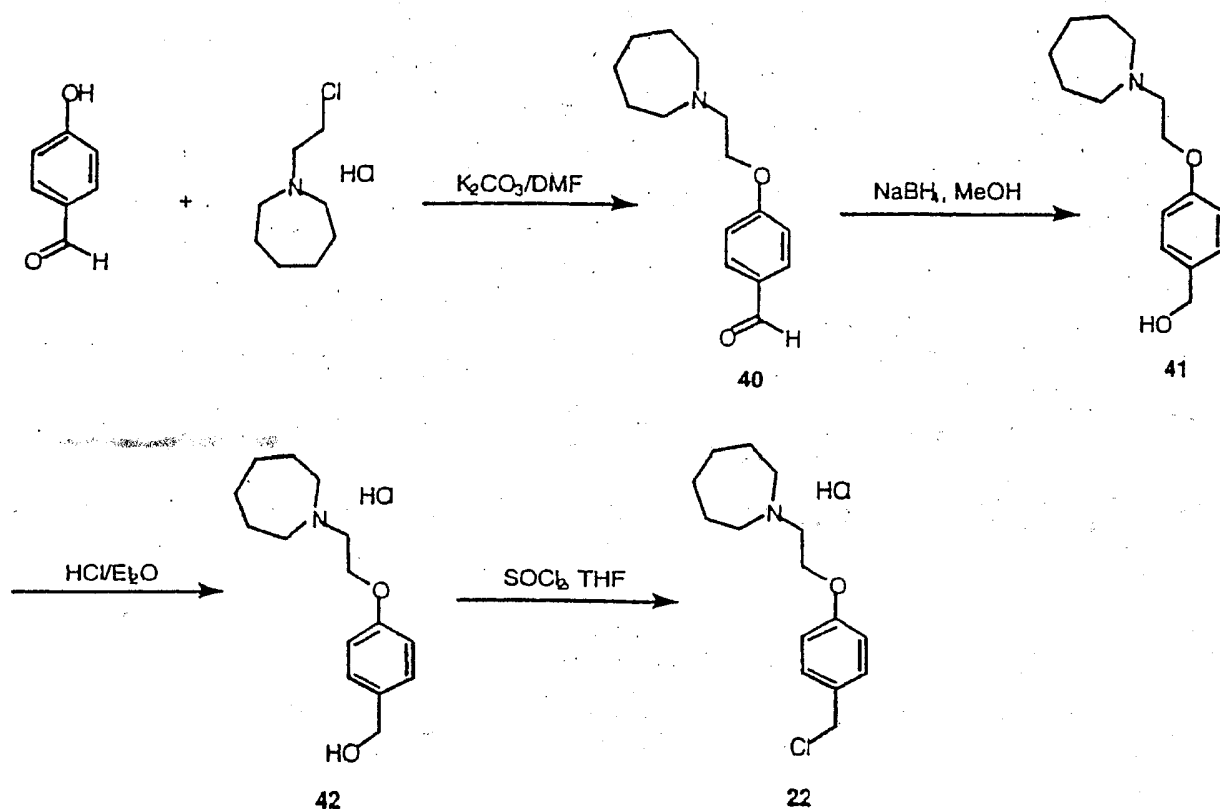
4-[5-(beta-D-glukopyranuronosylosy)-1-[4-[2-(hexahydro-1H-azepin-1-yl) ethoxy]-benzyl]-3-methyl-1H-indol-2-yl]fenyl-beta-D-glukopyranosiduronová kyselina (**47**)

Chráněný indol bis-glukuronid **46** (0,89 g, 0,81 mmol, 1 ekviv.) byl rozpuštěn ve 24 ml p-dioxan/MeOH (5:1) a ovlivněn pomalým přidáváním 24 ml vodného roztoku LiOH (0,31 g, 12,9 mmol, 12 ekviv.). Reakce byla zahřívána 2 hodiny na teplotu 60 °C, poté byla ponechána zchladit na teplotu místnosti, byl přidán AcOH (0,97 g, 16,1 mmol, 20 ekviv.) a roztok byl zahuštěn za sníženého tlaku. Po přidavku benzenu byl tento postup několikanásobně opakován k převedení jakékoliv zbývající vody v reakční směsi do azeotropní směsi. Surový zbytek byl čištěn pomocí HPLC na reversní fázi k poskytnutí požadovaného produktu **47** (0,294 g):

^1H NMR (DMSO- d_6) δ = 7,31 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,22 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,19 (br s, 1H), 7,09 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 6,90 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 6,75 - 6,64 (m, 4H), 5,45 - 5,35 (m, 2H), 5,28 - 5,10 (m, 4H), 4,99 - 4,93 (m, 2H), 4,87 - 4,83 (m, 2H), 4,10 - 3,00 (několik protonů bylo schováno v maximu H_2O), 2,13 (s, 3H), 1,70 (br s, 4H), 1,56 (br s, 4H); MS 823 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Příprava vedlejšího řetězce **22** je znázorněna na schématu 8, uvedeném níže. Vedlejší řetězec **21** byl připraven analogicky.

Schéma 8



Příklad 27**4-(2-hexamethylenimin-1-yl-ethoxy)-benzylaldehyd (40)**

K dobře míchané kašovitě směsi NaH (65 g, 60% olejová disperze, 1,6 mol, 2,2 ekviv.) v DMF (500 ml) byl po kapkách při 0 °C přidán roztok hydrochloridu p-hydroxybenzaldehydu 90 g, 0,74 mol, 1,0 ekviv.). Reakční směs byla míchána 30 minut a poté byl po částech přidán 4-[2-(hexamethylenimino)]ethylchlorid (153 g, 0,77 mol, 1 ekviv.). Reakční směs byla míchána 1 hodinu; TLC v tomto okamžiku vykazovala malé množství výchozího materiálu, většinou produkt (EtOAc/hexan 1:1). Reakční směs byla zředěna vodou (1 l) a extrahována etherem (5 l). Organická vrstva byla vysušena pomocí síranu hořečnatého a zahuštěna na rotační odparce k poskytnutí 176,8 g (97% výtěžek) aldehydu **40** v podobě žlutého oleje.

^1H NMR (CDCl_3/TMS) δ = 9,87 (s, 1H), 7,81 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 7,02 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 4,14 (t, 2H, J = 6,09 Hz), 2,98 (t, 2H, J = 6,14 Hz), 2,78 (m, 4H), 1,66 - 1,61 (m, 8H).

Příklad 28**4-(2-hexamethylenimin-1-yl-ethoxy)-benzylalkohol (41)**

K míchanému roztoku aldehydu **40** (200 g, 0,72 mol, 1,0 ekviv.) v methanolu (400 ml) byl po částech přidán při teplotě 0/5 °C borohydrid sodný (15,6 g, 0,41 mol, 0,57 ekviv.). Reakce byla míchána po dobu 30 minut, TLC v tomto okamžiku nevykázala žádný výchozí materiál, ale většinou produkt (EtOAc/hexan/triethylamin 3:7:1). Reakční směs byla zředěna vodou (400 ml, extrahována methylenchloridem (3 x 400 ml) a vysušena pomocí síranu hořečnatého. Roztok byl zahuštěn na rotační

odparce k poskytnutí 201 g (100% výtěžek) alkoholu **41** v podobě hustého oleje:

^1H NMR (CDCl_3/TMS): 7,27 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 6,87 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 4,60 (s, 2H), 4,05 (t, 2H, $J = 6,21$ Hz), 2,93 (t, 2H, $J = 6,15$ Hz), 2,77 (m, 4H), 1,7 - 1,5 (m, 8H).

Příklad 29

Hydrochlorid (4-chlormethylfenoxy)-ethyl-hexamethylenimin-1-ylu (**22**)

K roztoku alkoholu **41** (179 g, 0,72 mol, 1 ekviv.) v THF 300 ml byl po kapkách, při teplotě 0/10 °C přidán roztok HCl (26,3 g HCl v 263 ml THF, 0,72 mol, 1,0 ekviv.). Vytvořila se bílá sraženina. K husté kašovitě směsi hydrochloridu **42** byl přidán thionylchlorid (80 ml, 1,1 mol, 1,5 ekviv.) a směs byla zahřívána na teplotu 50 °C dokud se nestala čirou. Reakční směs byla zahuštěna na 350 ml a přes noc byla uchovávána v ledničce. Získaná bílá pevná látka byla zfiltrována, promyta studeným THF (100 ml) a vysušena k poskytnutí 147 g (67% výtěžek) chloridu **22**:

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 11(br s, HCl), 7,40 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,00 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 4,74 (s, 2H), 4,44 (t, 2H, $J = 5,25$ Hz), 3,64 - 3,39 (m, 4H), 3,25 - 3,17 (m, 2H), 1,84 - 1,54 (m, 8H).

Příklad 30

Hydrochlorid (4-chlormethylfenoxy)-ethyl-piperidin-1-ylu (**21**)

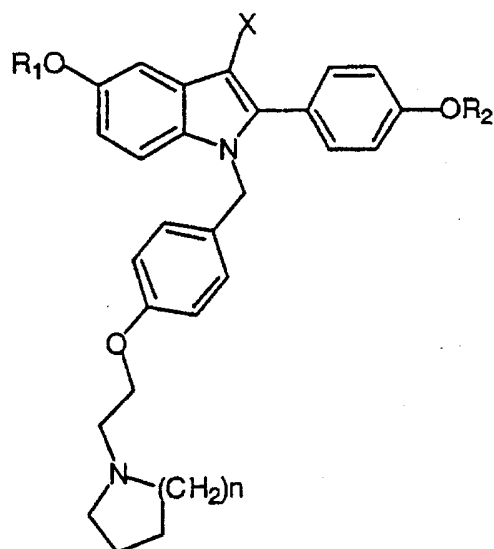
Vedlejší řetězec **21** byl připraven analogicky jako vedlejší řetězec **22**, popsáný výše:

^1H NMR (DMSO- d_6): 11(br s, HCl), 7,39 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 6,99 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 4,74 (s, 2H), 4,46 (m, 2H), 3,45 (m, 4H), 2,69 (m, 2H) a 1,9 - 1,2 (m, 6H).

Zastupuje:

PATENTOVÉ NÁROKY

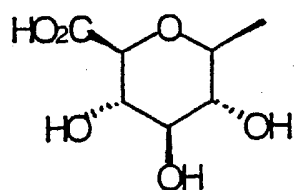
1. Estrogenová sloučenina o vzorci I, mající strukturu:



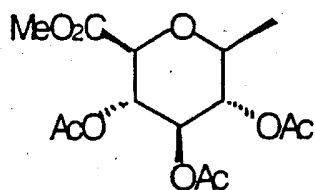
I

kde:

R_1 a R_2 jsou nezávisle vodíkový atom, alkylový řetězec o 1 až 6 atomech uhlíku, benzyl, acyl o 2 až 7 atomech uhlíku, benzoyl,



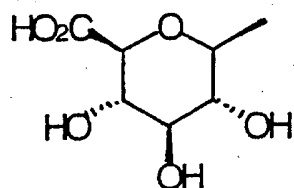
nebo



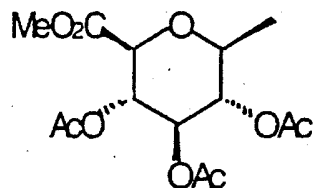
X je vodíkový atom, alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku, CN, halogen, trifluormethyl, nebo thioalkyl o 1 až 6 atomech uhlíku;

$n = 1$ až 3;

s tou výhradou, že alespoň 1 ze substituentů R_1 a R_2 je



nebo



nebo farmaceuticky přijatelná sůl takové sloučeniny.

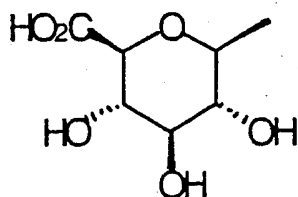
2. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, kde X je alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku.

3. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, kde X je methyl.

4. Estrogenová sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, kde n je 2 nebo 3.

5. Estrogenová sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, kde R_2 je vodíkový atom.

6. Estrogenová sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, kde R_1 je



7. Estrogenová sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, mající konfiguraci D.

8. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je methylesterem kyseliny 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-

-benzyl]-2-[4-(2,2-dimethylpropionyloxy)-fenyl]-3-methyl-1H-indol-5-yl}-glukuronové, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

9. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je methylesterem kyseliny 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-[4-(2,2-dimethylpropionyloxy)-fenyl]-3-methyl-1H-indol-5-yl} -glukuronové, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

10. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je triethylamonnou solí 5-O-glukuronidu 1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-1H-indol-5-olu.

11. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je 1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-1H-indol-5-olem 5-O-glukuronidu, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

12. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je methylesterem kyseliny 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-glukuronové, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

13. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je methylesterem kyseliny 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-{5-benzyloxy-3-methyl-1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-glukuronové, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

14. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je methylesterem kyseliny 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-{5-hydroxy-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-glukuronové, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

15. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je methylesterem kyseliny 2,3,4-triacetyl-{1-O-[4-{5-hydroxy-3-methyl-1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-2-yl}-fenyl)-beta-D-gluku - ronové, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

16. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je 2-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-5-olem 4-O-glukuronidu, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

17. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je triethylamonnou solí 2-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)-benzyl]-1H-indol-5-olu 4-O-glukuronidu.

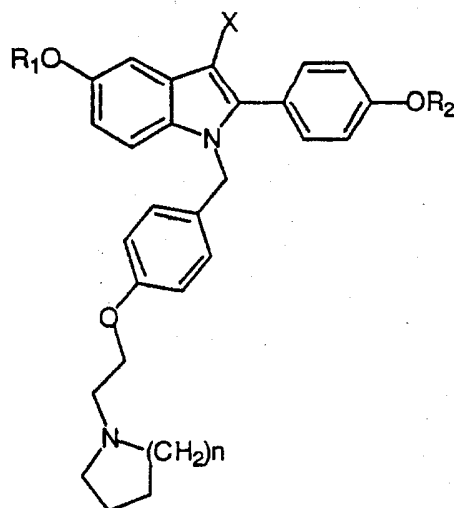
18. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je 1-[4-(2-azepan-1-yl-ethoxy)-benzyl]-2-(4-hydroxyfenyl) - 3 - methyl - 1H-indol-5-olem 4-O-glukuronidu, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

19. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je methylesterem kyseliny 2,3,4-O-triacetyl-1-O-[4-[1-[4-[2-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)ethoxy]benzyl]-3-methyl-5-[(2,3,4-O-triacetyl-6-O-methyl-beta-D-glukopyranuronylosyl)oxy]-1H-indol-2-yl]fenyl]-beta-D-glukopyranosiduronové, nebo farmaceuticky přijatelnou solí takové sloučeniny.

20. Estrogenová sloučenina podle nároku 1, která je 4-[5-(beta-D-glukopyranuronosyloxy)-1-[4-[2-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)-ethoxy]benzyl]-3-methyl-1H-indol-2-yl]fenyl-beta-D-glukopyranosiduronovou kyselinou.

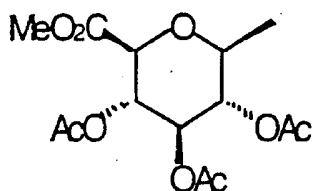
21. Způsob výroby sloučeniny o vzorci I, vyznačující se tím, že zahrnuje kroky, v nichž se

a) ponechá reagovat sloučenina o vzorci Ia:

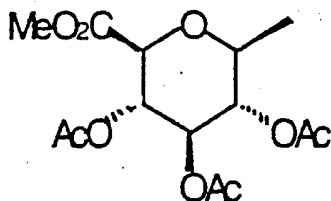


Ia

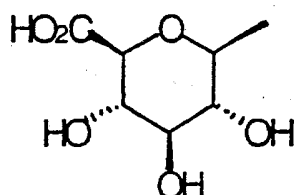
kde X a n odpovídají definici v nároku 1 a jeden ze substituentů R_1 a R_2 je



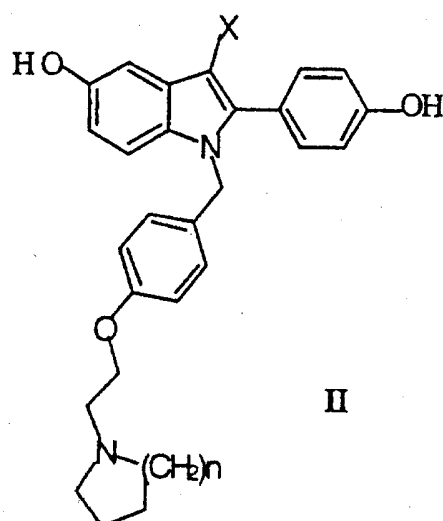
a druhý je chránicí skupinou, za podmínek vhodných pro odstranění chránicí skupiny, k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde jeden ze substituentů R_1 a R_2 je



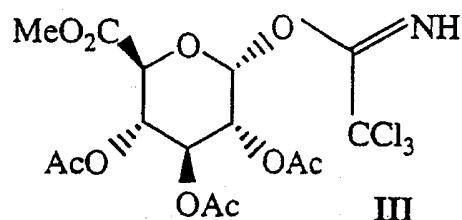
a druhý z R_1 a R_2 je vodíkový atom; přičemž se tato sloučenina může hydrolyzovat, současně se zbavením ochranné skupiny nebo následně poté, k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde jeden ze substituentů R_1 a R_2 je vodíkový atom a druhý je



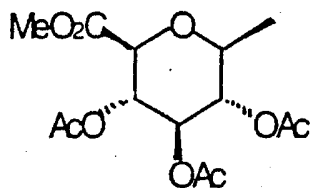
b) ponechá reagovat sloučenina o vzorci II



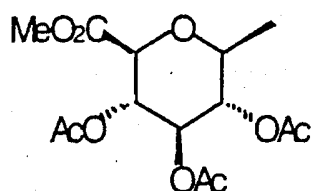
kde X a n odpovídají definici v nároku 1, se sloučeninou o vzorci III



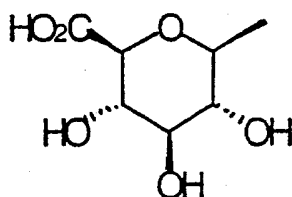
k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde R_1 a R_2 oba představují



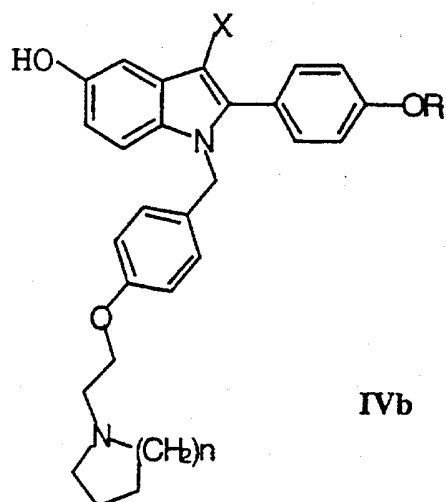
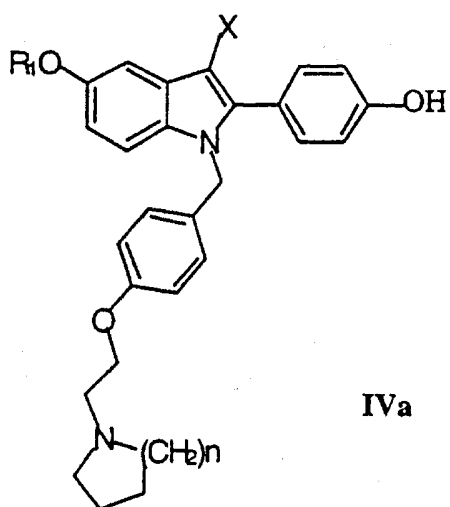
nebo c) hydrolyzuje sloučenina o vzorci I, kde jeden nebo oba ze substituentů R_1 a R_2 představují



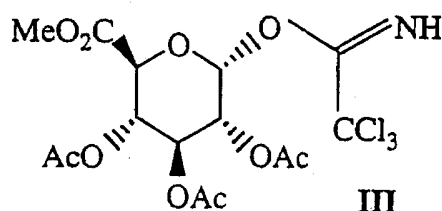
k poskytnutí sloučeniny o vzorci I, kde jeden nebo oba ze substituentů R_1 a R_2 jsou



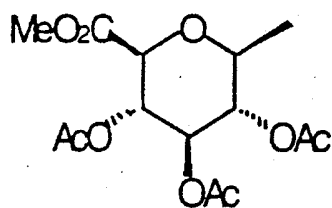
nebo d) ponechá reagovat sloučenina o vzorci IV či IVb



kde X a n odpovídají definici v nároku 1 a R_1 a R_2 jsou každý zvolen z alkyly o 1 až 6 uhlíkových atomech, benzylu, acylu o 2 až 7 uhlíkových atomech nebo benzoylu, se sloučeninou o vzorci III:



k poskytnutí odpovídající sloučeniny o vzorci I, kde R_1 nebo R_2 je



22. Způsob léčby nebo inhibování kardiovaskulárního onemocnění, snížení hladin krevních tuků, nebo zvýšení hladin lipoproteinů o vysoké hustotě u savců, kteří to potřebují, v y z n a č u j í - c í s e t í m , že zahrnuje kroky, v nichž se podává uvedenému savci sloučenina o vzorci I, jak je nárokována ve kterémkoli z nároků 1 až 20.

23. Způsob léčby nebo inhibování rakoviny plic u savce, který to potřebuje, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje kroky, v nichž se podává uvedenému savci sloučenina o vzorci I, jak je nárokována ve kterémkoli z nároků 1 až 20.

24. Způsob léčby nebo inhibování kostního úbytku nebo osteoporózy u savce, který to potřebuje, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje kroky, v nichž se podává uvedenému savci sloučenina o vzorci I, jak je nárokována ve kterémkoli z nároků 1 až 20.

25. Způsob poskytnutí terapie náhrady hormonů u savce, který to potřebuje, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje kroky, v nichž se podává uvedenému savci sloučenina o vzorci I, jak je nárokována ve kterémkoli z nároků 1 až 20.

26. Způsob zvýšení rozpoznávání nebo léčby či inhibování demence nebo Alzheimerovy choroby u savce, který to potřebuje, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje kroky, v nichž se podává uvedenému savci sloučenina o vzorci I, jak je nárokována ve kterémkoli z nároků 1 až 20.

27. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje sloučeninu o vzorci I, jak je nárokována ve kterémkoli z nároků 1 až 20 a farmaceutický nosič.

Zastupuje: