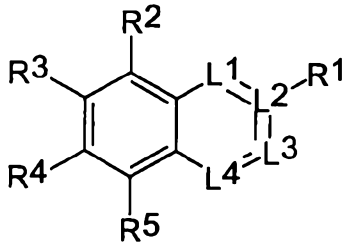
P0200740

KIVONAT

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Ösztrogén β-receptor ligandumok és alkalmazásuk

A találmány tárgya eljárás ösztrogén β-receptorral kapcsolatos betegségek kezelésére egy olyan



(I)

általános képletű vegyület — ahol bizonyos megkötésekkel

R^1 adott esetben szubsztituált fenil vagy heterociklusos csoport;

R^2, R^3, R^4 és R^5 egymástól függetlenül különféle szubsztituensek;

L^1, L^2, L^3 és L^4 különböző atomok vagy atomcsoportok, például -O-, -S-, $=NR^a$, =C=O, $=C(R^6)-$, $-CH(R^6)-$, =CH-, $-CH_2-$, amelyekben

R^a hidrogén vagy alkilcsoport; és

R^6 fenil- vagy trifkuor-metil-csoport —

vagy fiziológiásan elfogadható sója terápiásan hatásos mennyiségének alkalmazásával, amely kielégíti a

$$(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/\ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 1,$$

egyenlőtlenséget.

FK

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

73 536/RAZ

P0200740

Ösztrogén β-receptor ligandumok és alkalmazásuk

A találmány tárgyát ligandumok egy sorozata, pontosabban ösztrogén β-receptor ligandumok képezik, amelyek az ösztrogén α-receptoron túl az ösztrogén ß-receptorra az ösztrogénnél jobb szelektivitásúak, valamint eljárások ezek előállítására és alkalmazásuk az ösztrogén ß-receptorral kapcsolatos betegségek, speciálisan Alzheimer-kór, szorongásos zavarokk, csontritkulás, szív- és érbetegségek, arthritis deformans vagy prosztatarák kezelésében.

Az ösztrogén-helyettesítési terápia ("ERT") csökkenti az Alzheimer-kór gyakoriságát, és javítja az Alzheimer-kóros betegek felismerési funkcióját [Nikolov et al., Drugs of Today, 34(11), 927-933 (1998)]. Az ERT előnyös hatásokat mutat csontritkulásnál és szív- és érbetegségnél, és szorongás és depresszió ellenes terápiás tulajdonságokkal is rendelkezhet. Az ERT azonban méhre és emlőre káros mellékhatásokat mutat, amelyek korlátozzák alkalmazását.

A klimax utáni (postmenopausal) nőbetegeknél az ERT előnyös tulajdonságait az ösztrogénnek a modellekben a felismerési funkcióra, szorongásra, depresszióra, csontveszteségre és a szív és véredény károsodásra vonatkozó előnyös hatásai mutatják eltávolított petefészkű (ovariektomizált) patkányokban. Az ösztrogén az állatmodellekben méh és emlő hipertrófiát is létrehoz, mitogén hatásai emlékeztetnek az emberekben levő ilyen szövetekre.

A klimax utáni nőbetegeknél az ERT előnyös tulajdonságait az ösztrogénnek a modellekben a felismerési funkcióra, szorongásra,

depresszióra, csontveszteségre és a szív és véredény károsodásra vonatkozó előnyös hatásai mutatják eltávolított petefészkű patkányokban. A kísérleti vizsgálatok jellemzően azt mutatják, hogy az ösztrogén a kolinerg funkció növelésével, a neurotrophin/neurotrophin receptor kifejezés növelésével, az amiloid prekurzor fehérje kezelés megváltoztatásával befolyásolja a központi idegrendszert („CNS"-t), egyéb hatások között egy sor bántalommal szemben idegi védelmet biztosít, és növeli a glutamaterg szinaptikus transzmissziót. A preklinikai vizsgálatokban az ösztrogén teljes CNS profilja következetes a felismerési funkció javításánál és az Alzheimer-kór progressziójának késleltetésénél való klinikai használhatóságával. Az ösztrogén mitogén hatásokat is kifejt a méhben és emlőszövetben, jelezve káros mellékhatásait ezen szövetekre emberben.

Az ösztrogén receptor („ER") emberekben, patkányokban és egerekben két – ER-α és ER-β – altípusként létezik, amelyek körülbelül 50% identitással osztoznak a ligandum-kötő tartományon [Kuiper et al., Endocrinology, 139(10), 4252-4263 (1998)]. Az alcsoportok identitásában levő különbség annak a ténynek a számlájára írható, hogy néhány kis vegyület láthatóan előnyösebben köti az egyik altípust a másikhoz képest (Kuiper et al.).

Az ER-β a patkányoknál az ER-α-hoz képest az agyban, csontban és véredény hámszövetben erősen kifejeződik, a méhben és az emlőben viszont gyengén fejeződik ki. Az ER-α törléses (knockout) (ERKO-α) egerek továbbá sterilek, és a reproduktív szövetek hormonérzékenységének csak kevés vagy semmiféle bizonyítékát nem mutatják. Az ER-β törléses (ERKO-β) egerek ezzel szemben steri-

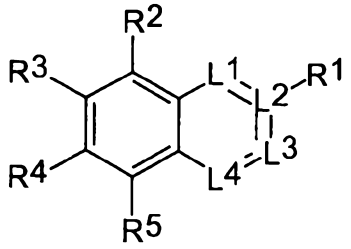
lek, és az emlő- és méhszövet normális fejlődését és működését mutatják. Ezek a megfigyelések azt sugallják, hogy az ER-β-nak az ER-α felett való szelektív megcélozása néhány fontos emberi betegségnél, például Alzheimer-kórnál, szorongásos rendellenességnél, depressziós rendellenességnél, csontritkulásnál és szív és véredény betegségnél, a reprodukciós rendszer mellékhatások terhe nélkül előnyös hatásokat adhat. A méhen és emlőn túl az ER-β-t kifejező szövetekre (CNS, csont, stb.) gyakorolt szelektív hatásokat az ER-α-n túl az ER-β-val szelektíven kölcsönhatásba lépő anyagokkal érhetjük el.

A találmány egyik célja az ER-β-ra szelektív olyan ligandumok azonosítása, amelyek olyan betegségek kezelésében alkalmazhatók, amelyekben az ERT terápiás előnyökkel rendelkezik.

A találmány másik célja az ER-β-ra szelektív olyan ligandumok azonosítása, amelyek utánozzák (mimizálják) az ERT-nek az agyra, csontra és kardiovaszkuláris funkcióra gyakorolt előnyös hatásait.

A találmány további célja az ER-β-ra szelektív olyan ligandumok azonosítása, amelyek növelik a kognitív (megértési) funkciót, és késleltetik az Alzheimer-kór progresszióját.

A találmány tárgyát az



általános képletű vegyületek ER-β-ra szelektív ligandumokként való alkalmazása képezi, amelyek utánozzák az ERT-t de nem rendel-

keznek az ERT nemkívánatos mellékhatásaival. Ezek a vegyületek különösen kielégítik a következő képletek követelményeit:

$(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 1$,

előnyösen:

$(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 30$,

előnyösebben:

$(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 100$,

amely képletekben

$K_{i\alpha A}$ jelentése a K_i érték a ligandumra ER-α-ban;

$K_{i\beta A}$ jelentése a K_i érték a ligandumra ER-β-ban;

$K_{i\alpha E}$ jelentése a K_i érték ösztrogénre ER-α-ban;

$K_{i\beta E}$ jelentése a K_i érték ösztrogénre ER-β-ban.

A találmány tárgya egy eljárás, ösztrogén β-receptorral kapcsolatos betegség kezelésére, amely egy olyan vegyület terápiásan hatékony mennyiségének beadásából áll, amely vegyület kielégíti a

$$(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 1$$

egyenlet követelményeit – amelyben

$K_{i\alpha A}$ jelentése a K_i érték az agonistára (kiváltó, serkentő anyag) ER-α-ban;

$K_{i\beta A}$ jelentése a K_i érték az agonistára ER-β-ban;

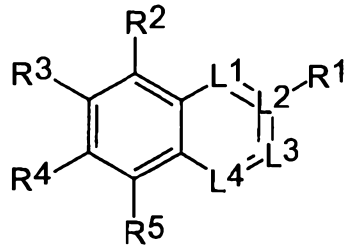
$K_{i\alpha E}$ jelentése a K_i érték ösztrogénre ER-α-ban;

$K_{i\beta E}$ jelentése a K_i érték ösztrogénre ER-β-ban.

Előnyösen a vegyület kielégíti a $(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 100$ egyenlőtlenséget. Az ösztrogén β-receptorral kapcsolatos betegségeket előnyösen az Alzheimer-kór, szorongásos zavarok, depresszsiós rendellenességek, csontritkulás, szív- és érbetegség,

arthritis deformans és prosztatarák közül választjuk ki. Még előnyösebben a betegség Alzheimer-kór vagy depressziós rendellenességek.

A találmány tárgyát képezik az



általános képletű, ER-β-ra szelektív vegyületek, amely általános képletben

L^1 jelentése karbonilcsoport, $=C(R^6)-$, $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport, előnyösen karbonilcsoport, $=C(R^6)-$, $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport vagy oxigénatom;

L^2 jelentése =C- vagy -CH- képletű csoport;

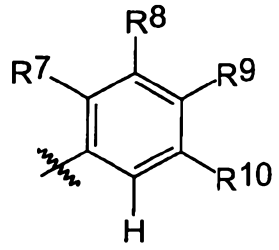
L^3 jelentése $=C(R^6)-$, $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport vagy karbonilcsoport; és

L^4 jelentése karbonilcsoport, metiléncsoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport, előnyösen karbonilcsoport, metiléncsoport vagy oxigénatom,

azzal a fenntartással, hogy amennyiben L^1 jelentése karbonil--csoport, akkor L^4 jelentése metiléncsoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport; amikor L^4 jelentése karbonilcsoport, akkor L^1 jelentése metiléncsoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport; és amikor L^3 jelentése karbonilcsoport, akkor L^1 jelentése $=C(R^6)-$ vagy $-CH(R^6)-$

általános képletű csoport, és L^4 jelentése oxigénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport. Továbbá, amikor L^1 jelentése $=C(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése =C- képletű csoport; amikor L^1 jelentése $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése metilidincsoport (=CH-); amikor L^3 jelentése $=C(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése =C- képletű csoport; és amikor L^3 jelentése $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése metilidincsoport. A _ _ jel egyes kötést vagy kettőskötést képvisel L^1-L^4 hibridizációjától függően. Az L^2 szerkezetek csak három kötéssel rendelkeznek, mivel a negyedik kötés egy R^1-hez kapcsolódó egyes kötés.

Az R^1 csoport egyes kötéssel kapcsolódik az L^2 csoporthoz, és jelentése fenilcsoport, szubsztituált fenilcsoport, heterociklusos vagy szubsztituált heterociklusos csoport, ahogy alább definiáljuk. R^1 jelentése előnyösen:



általános képletű csoport – amely képletben

R^7 jelentése hidrogénatom, klóratom vagy metilcsoport;

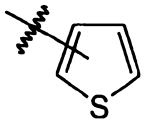
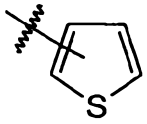
R^8 jelentése bróm-, klór-, fluoratom, R^a, OR^a általános képletű csoport vagy allilcsoport;

R^9 jelentése hidrogénatom, hidroxicsoport, aminocsoport, bróm-, klóratom; és

R^{10} jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport; vagy

az R^8 és R^9 csoport $-OCH_2O-$ csoporttá egyesül egy fenilcsoporton

kívüli szekunder, 5-tagú gyűrűszerkezetet képezve; vagy

R^1 jelentése  képletű, szubsztituált vagy szubsztituálatlan heterociklusos csoport; előnyösebben szubsztituálatlan  képletű csoport.

R^2, R^3, R^4 és R^5 jelentése egymástól függetlenül $-R^a$, $-OR^a$, $-SR^a$, $-NR^aR^a$, $-NC(=O)R^a$, $-NS(=O)R^a$, $-NS(=O)_2R^a$ általános képletű csoport, halogénatom, ciano-, trifluor-metil-csoport, $-CO_2R^a$, $-C(=O)R^a$, $-C(=O)NHR^a$ általános képletű csoport, nitrocsoport, $-S(=O)R^a$ vagy $-S(=O)_2R^a$ általános képletű csoport, és előnyösen $-R^a$, $-OR^a$, $-NR^a{}_2$, $-NC(=O)R^a$ általános képletű csoport, trifluor-metilcsoport vagy halogénatom, előnyösen hidrogénatom, hidroxicsoport vagy metilcsoport.

R^6 jelentése R^a általános képletű csoport, fenilcsoport vagy trifluor-metilcsoport.

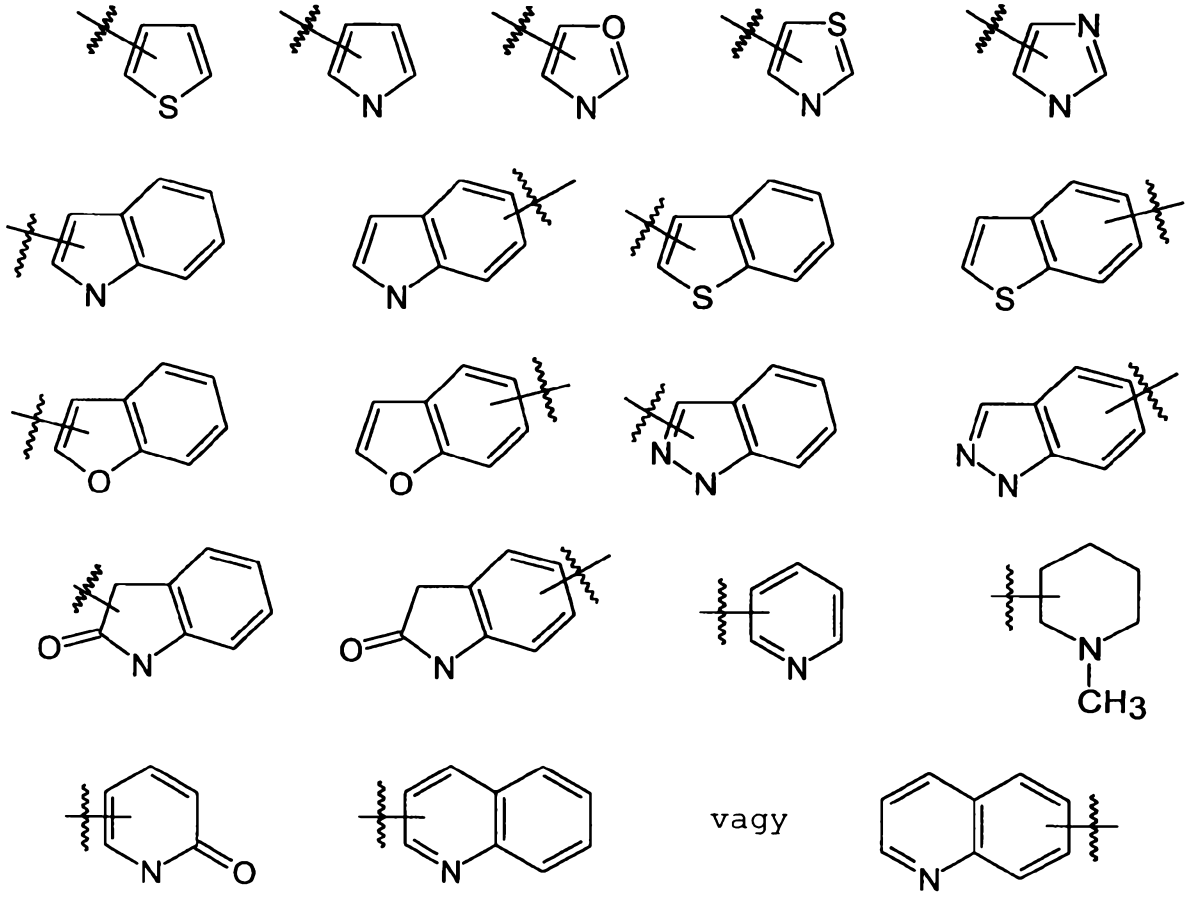
R^a jelentése az egyes előfordulásoknál egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-5 szénatomos alkilcsoport.

Amikor L^1 jelentése karbonilcsoport és R^2 jelentése hidroxi--csoport vagy hidrogénatom és R^3 jelentése hidrogénatom és R^4 jelentése hidroxicsoport és R^5 jelentése hidrogénatom és R^6 jelentése hidrogénatom, akkor R^1 jelentése para-feniltől eltérő csoport.

A találmány leírásábana a „szubsztituált" – amikor egy fenil vagy heteroatomos gyűrű módosítására alkalmazzuk – azt jelenti, hogy egy ilyen gyűrű egy vagy több helyen szubsztituált, egymástól függetlenül $-R^a$, $-OR^a$, $-SR^a$, $-NR^aR^a$, $-NC(=O)R^a$, $-NS(=O)R^a$, $-NS(=O)_2R^a$ általános képletű csoporttal, halogénatommal,

cianocsoporttal, trifluor-metilcsoporttal, $-CO_2R^a$, $-C(=O)R^a$, $-C(=O)NHR^a$ általános képletű csoporttal, nitrocsoporttal, $-S(=O)R^a$ vagy $-S(=O)_2R^a$ általános képletű csoporttal.

Szintén a találmány leírásában a „Het" (heterociklusos) kifejezés egy szubsztituált vagy szubsztituálatlan, egy vagy kétgyűrűs heterociklusos csoportot jelent a következő csoportok közül:



– amely képletekben az áthúzott kötés azt jelenti, hogy a heterogyűrű a gyűrűn rendelkezésre álló bármelyik helyhez kapcsolódhat, amelyet keresztez.

Ösztrogén receptor kötési mérések

Egy vegyületnek ER-hez való kötési képességét a radioaktív izotóppal jelzett ösztrogénnel — [^{125}I]-16α-jód-3,17β-ösztradiol (NEN, Cat.#NEX-144) — való kötésért versengési képességével mér-

jük. A radioligandumot a következőkben [^{125}I]-ösztradiolnak nevezzük.

Az ER-β (Gen Bank hozzáférés #X99101) vagy ER-α (Gen Bank hozzáférés #M12674) cDNS-eket egy *E. coli* DHαF'-be transzformált pSG5 expressziós vektorba (Stratagene) klónozzuk, és anion cserélő gyantaoszlopok (Qiagen Cat#12125) alkalmazásával tisztítjuk. A receptor fehérjét ezeknek a plazmidoknak *in vitro* átírásával és transzlációjával, a TNT T7 Quick-Coupled retikulocita (fiatal vörösvérsejt) sejtlizátum rendszer (Promega Cat.#L1170) alkalmazásával állítjuk elő. 12,5 ml retikulocita sejtlizátumot 90 percig inkubálunk 30°C-on 312,5 µg ER-α és 625 µg ER-β plazmiddal. A programozott sejtlizátumot azután alikvot részekre osztjuk, és -80°C-on fagyasztva tároljuk.

A vegyületeket két párhuzamosban vizsgáljuk 10 pM - 3 µM közötti fél-log koncentráció tartományban. A vegyületeket DMSO-val készült 1 mM koncentációjú törzsoldatokként készítjük elő, majd a kötésvizsgálati pufferben (20 mM HEPES, 150 mM nátrium-klorid, 1 mM EDTA, 6 mM monotio-glicerin és 10 mM nátrium-molibdenát; 10 tömeg/térf.% glicerin, és a pH érték = 7,9) háromszoros koncentráció sorozatra hígítjuk; 20 µl-es alikvot részek egy 96 vájatos lemezen. A receptor alikvot részeket jégen felengedjük, és a kötésvizsgálati pufferben megfelelően hígítjuk. (Lásd a következőkben). Egyenként 30 µl hígított receptort teszünk minden egyes mélyedésbe. Az [^{125}I]-ösztradiolt a gyártó etanolos törzsoldatából 900 pM-os munkaoldattá hígítjuk a kötésvizsgálati pufferben. A végső vizsgálati térfogat 60 µl, amely 20 µl találmány szerinti vegyületből, 30 µl programozott retikulocita sejtlizátumból

és 10 µl 900 pM-os [^{125}I]-ösztradiolból áll. A [^{125}I]-ösztradiol végső koncentrációja 150 pM. A végső vizsgálati elegyeket tartalmazó lemezeket 2 percig egy rázógépen keverjük, és egy éjszakán át (~16 óra), 4°C-on inkubáljuk.

A receptorhoz kötött és kötetlen radioligandumokat Sephadex oszlopokon végzett szűréssel választjuk el. Az oszlopokat (45 µl ágytérfogat) a száraz oszlop töltet (Pharmacia Cat#G-25) 96 vájatos oszlop sablonokba (Millipore MultiScreen Plates Cat. #MAHVN4510) való betöltésével készítjük el. Az oszlopokat azután 300 µl kötés-vizsgálati pufferrel telítjük, és 4°C-on tároljuk. Felhasználás előtt a tárolt oszlopokat 10 percig 2000 fordulat/perccel centrifugáljuk, majd 200 µl friss kötési pufferrel kétszer mossuk. A kötés-vizsgálati elegyeket (50-50 µl) ezután töltjük az oszlopokra, és utána azonnal 35 µl térfogatú eluenst töltünk közvetlenül az oszlopra. A receptorhoz kötött radioligandumot azután 10 perces, 2000 fordulat/perccel végzett centrifugálással eluáljuk az oszlopról. Az eluált radioligandum/receptor komplexhez 145 µl szcintillációs koktélt adunk, és a radioaktív jelzést folyadékszcintillációs számlálóval mérjük.

A nem-specifikus kötést 150 nM dietil-sztilbösztrollal (DES) való versengéssel (competition) definiáljuk. A kötési affinitásokat a Cheng-Prushoff képlet alkalmazásával számított K_i-ként fejezzük ki a koncentráció összefüggésnek a %-os specifikus kötésre (SB) illesztésével generált IC_{50} értékek szerint, a következő egyenlettel:

$$\% SB = maximum - (maximum - minimum)/(1+10(\log IC_{50} - \log[vegyület]).$$

Ennél a vizsgálatnál a standard ösztrogén receptor ligandum

ösztradiolt és DES-t az ER-α és ER-β nagy affinitású (K_i<1 nM), nem-szelektív ligandumaiként detektáljuk.

A kötési vizsgálatban az adagolandó receptor programozott retikulocita sejtlizátum térfogatot az előállított receptor minden egyes adagjánál, egymástól független két mérésben határozzuk meg. Először meghatározzuk a K_i-ket a standard vegyületekre a receptor készítmény sorozatos hígításaival. A ligandum kötési affinitás Scatchard analízisét azoknál a receptor hígításoknál végezzük el, amelyek az ezen vegyületekre közölt K_i-ket és elfogadható jel:zaj arányt (~10) produkálnak. Ezek a vizsgálatok [^{125}I]-ösztradiolra 0,1-1 nM K_D-t és 5-30 pmol B_{max} értéket jeleznek.

Beadás és alkalmazás

A találmány szerinti vegyületek az ER-α-hoz képest láthatóan nagy szelektivitásúak ER-β-ra, és méhre gyakorolt nemkívánatos hatások nélkül agonista aktivitással rendelkezhetnek ER-β-ra. Ezeket a vegyületeket és az ezeket tartalmazó készítményeket, így terápiás anyagokként alkalmazhatjuk ER-β-val kapcsolatos különböző CNS betegségek, például Alzheimer-kór kezelésénél.

A találmány tárgyát képezik olyan készítmények is, amelyek a találmány szerinti vegyületek hatékony mennyiségét tartalmazzák, beleértve nem-toxikus addíciós sóikat, amidjaikat és észtereiket, amelyek az előzőekben idézett terápiás előnyök biztosítására szolgálhatnak. Az ilyen készítmények fiziológiailag elviselhető folyékony, géles vagy szilárd hígítószerekkel, adjuvánsokkal és segédanyagokkal együtt is elkészíthetők. A találmány szerinti vegyületeket az előző vagy egyéb indikációkhoz terápiás

anyagokként alkalmazható ismert egyéb vegyületekkel is kombinálhatjuk.

Ezeket a vegyületeket és készítményeket képzett egészségondozási szakemberek az egyéb terápiás anyagokhoz hasonlóan embereknek és továbbá egyéb emlősöknek állatgyógyászati alkalmazásra beadhatják. Az ilyen készítményeket jellemzően injektálható anyagokként akár folyékony oldatokként, akár szuszpenziókként állítjuk elő; de injektálás előtt folyadékban való oldásra vagy szuszpendálásra alkalmas szilárd formákként is előállíthatóuk. A készítmény lehet emulgeálva is. A hatóanyagot gyakran fiziológiailag elviselhető és a hatóanyaggal kompatibilis oldószerekkel vagy kötőanyagokkal keverjük. Megfelelő hígítószerek és kötőanyagok például a víz, nátrium-klorid-oldat, glükóz, glicerin vagy hasonlók és ezek kombinációi. Kívánt esetben a készítmények ezenkívül kisebb mennyiségű segédanyagokat, például nedvesítő- vagy emulgeáló szereket, stabilizáló vagy pH pufferoló anyagokat és hasonlókat is tartalmazhatnak.

A készítményeket szokványosan parenterálisan, injekcióval, például szubkután vagy intravénásan adjuk be. Egyéb beadási módokra alkalmas további készítmények a végbélkúpok, intranazális aeroszolok és — néhány esetben — orális készítmények. A végbélkúpokhoz hagyományos kötőanyagok és hordozóanyagok lehetnek például a polialkilénglikolok vagy trigliceridek; ilyen végbélkúpokat a hatóanyagot tartalmazó keverékekből formázhatunk. Az orális készítmények olyan szokásosan alkalmazott hordozóanyagokat tartalmaznak, mint például a gyógyszer minőségű mannit, laktóz, keményítő, magnézium-sztearát, nátrium-szacharinát, cellulóz,

magnézium-karbonát és hasonlók. Ezek a készítmények oldatok, szuszpenziók, tabletták, pirulák, kapszulák, késleltetett kioldódású készítmények vagy porok formájában lehetnek.

A találmány szerinti készítményeket semleges vagy só formákként formázhatjuk készítményekké. Gyógyászatilag elfogadható nem-toxikus sók a szervetlen savakkal, például sósavval vagy foszforsavval vagy szerves savakkal, például ecetsavval, oxálsavval, borkősavval, fenil-glikolsavval és hasonlókkal képzett savaddíciós sók (amelyek a szabad aminocsoportokkal képződnek). A szabad karboxi-csoportokkal képzett sók származhatnak szervetlen bázisokból, például nátrium-, kálium-, ammónium-, kalcium- vagy ferri-hidroxidokból és olyan szerves bázisokból, mint az izopropil-amin, trimetil-amin, 2-(etil-amino)-etanol, hisztidin, prokain és hasonlók.

Az ER-β aktivitást mutató találmány szerinti vegyületeken kívül a találmány szerinti vegyületek köztitermékekként is alkalmazhatók az ilyen hasznos vegyületek szintézisében.

Szintézis

A találmány oltalmi körébe tartozó vegyületeket a szakterületen jól ismert eljárásokkal kémiailag szintetizálhatjuk. A következő példákat azoknak az általános szintézisvázlatoknak a szemléltetésére szánjuk, amelyeket a kereskedelemben kapható különböző kiindulási anyagok alkalmazásával számos különböző változat előállítására alkalmazhatunk. Ezeket a példákat csak útmutatásul szánjuk arra vonatkozóan, hogyan állítsunk elő a találmány oltalmi körébe tartozó néhány vegyületet, és nem értelmezhetők a találmány oltalmi körének korlátozásaként.

1. példa (A eljárás)

3-(3-Bróm-4-hidroxi-fenil)-5,7-dihidroxi-4H-1-benzopirán-4-on

1,01 g (6,25 mmol) 1,3,5-trihidroxi-benzaldehidet és 1,44 g (6,25 mmol) (3-bróm-4-hidroxi-fenil)-ecetsavat 4 ml foszforil-trikloridban szuszpendálunk. Egy perc múlva exoterm reakció megy végbe. Az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni. 4,7 mmol cink-kloridot (1 M dietil-éteres oldat) adunk hozzá, és az elegyet 1 órán át 75°C-on melegítjük. Lehűlés után az elegyet etil-acetát és 1M vizes sósavoldat között megoszlatjuk. A szerves réteget nátrium-klorid-oldattal mossuk és magnézium-szulfáttal szárítjuk. Szilikagélen tisztítva (metanol/metilén-diklorid gradiens) 390 mg 1-(2,4,6-trihidroxi-fenil)-2-(3-bróm-4-hidroxi-fenil)-etanont kapunk barna szilárd anyagként.

5 ml DMF-ben (dimetil-formamid) 370 mg 1-(2,4,6-trihidroxi-fenil)-2-(3-bróm-4-hidroxi-fenil)-etanonhoz nitrogén alatt cseppenként 0,83 ml (6,55 mmol) bór-trifluorid—dietil-éterátot, majd 0,507 ml (6,55 mmol) metánszulfonil-kloridot adunk. Az elegyet szobahőmérsékleten 10 percig keverjük, és 55°C-on 30 percig melegítjük. Lehűlés után az elegyet etil-acetát/1 M vizes sósavoldat között megoszlatjuk. A szerves réteget 1 M sósavoldattal és nátrium-klorid-oldattal mossuk, és C_{18} HPLC-vel tisztítva 55 mg címben közölt vegyületet nyerünk.

2. példa: (28. számú vegyület; B eljárás)

3-(4-Hidroxi-fenil)-7-hidroxi-4-metil-kumarin

1,1 g (7,24 mmol) 2,4-dhidroxi-acetofenon, 1,45 g (9,5 mmol) 4-hidroxi-fenil-ecetsav és 0,9 g (9,2 mmol) kálium-acetát 10 ml ecetsav-anhidrides oldatát visszafolyatással 18 órán át melegítjük. Lehűlés után az elegyet jég és víz kerékébe öntjük. A szi-

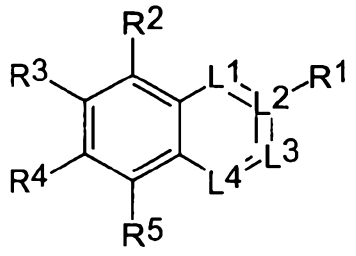
lárd anyagot szűrjük, dietil-éterrel mossuk, és vákuumban szárítva 1,83 g 3-(4-acetoxi-fenil)-7-acetoxi-4-metil-kumarint nyerünk.

500 mg 3-(4-acetoxi-fenil)-7-acetoxi-4-metil-kumarin 10 ml tetrahidrofuránnal (THF) készült szuszpenzióját és 10 ml 1 M vizes nátrium-hidroxid-oldatot 1 órán át keverünk. Az elegyet koncentrált sósavoldattal pH = 1-re savanyítjuk, és etil-acetát/víz eleggyel extraháljuk. A szerves réteget nátrium-klorid-oldattal mossuk, és magnézium-szulfát felett szárítjuk. Az oldószert elpárologtatjuk, és a maradékot dietil-éterrel triturálva (eldörzsölve) 140 mg címben közölt vegyületet nyerünk.

A (HPLC 4,6 x 250 mm C_{18} 5 µm Vydax 218TP54 oszlop, áramlási sebesség: 1,5 ml/perc, acetonitril/víz 0,1% TFA lineáris gradiens 10:90-től 50:50-ig 30 percen át, UV detektálás: 254 nm) HPLC-s körülményeket „A" körülményeknek nevezzük.

A (HPLC 2,1 x 30 mm C_{18} 3,5 µm Zorbax Rapid Resolution oszlop, áramlási sebesség: 0,7 ml/perc, víz - 0,05% TFA 0,5 percre, azután 90% vizes acetonitril/víz 0,05% TFA (trifluor-ecetsav) lineáris gradiens 0:100-től 80:20-ig 9,5 percen át, UV detektálás) HPLC-s körülményeket „B" körülményeknek nevezzük.

A következő vegyületeket állítjuk elő ezen munkamenetek szerint a megfelelő kiindulási anyagok alkalmazásával:



1. táblázat

Szám	L^1	L^2	L^3	L^4	R^1
1	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3,4-dihidroxi-fenil
2	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	2-klór-4-hidroxi-fenil
3	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	2-metil-4-hidroxi-fenil
4	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-fluor-4-hidroxi-fenil
5	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-klór-4-hidroxi-fenil
6	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-bróm-4-hidroxi-fenil
7	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-allil-4-hidroxi-fenil
8	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-propil-4-hidroxi-fenil
9	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-metoxi-4-hidroxi-fenil
10	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3,5-dimetil-4-hidroxi-fenil
11	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	4-fluor-fenil
12	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3,4-(OCH_2O)-fenil
13	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	4-amino-fenil
14	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	2-naftil
15	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-hidroxi-fenil
16	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	2-hidroxi-fenil
17	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	2-tienil
18	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-tienil
19	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	2-kinolinil
20	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	4-bróm-fenil
21	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	4-klór-fenil
22	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	4-hidroxi-fenil
23	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	4-hidroxi-fenil
24	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	3-fluor-4-hidroxi-fenil
25	C(=O)	=C-	$=CR^6-$	O	4-hidroxi-fenil

26	C(=O)	-CH-	-CHR^6-	O	4-hidroxi-fenil
27	C(=O)	-CH-	-CHR^6-	CH_2	4-hidroxi-fenil
28	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
29	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
30	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
31	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	2-tienil
32	C(=O)	=C-	=CR^6-	O	4-hidroxi-fenil
33	C(=O)	=C-	=CR^6-	O	2-fluor-fenil
34	C(=O)	=C-	=CR^6-	O	fenil
35	C(=O)	=C-	=CR^6-	O	fenil
36	O	=C-	=CR^6-	C(=O)	4-hidroxi-fenil
37	CH_2	-CH-	-CHR^6-	C(=O)	4-hidroxi-fenil
38	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
39	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
40	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
41	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
42	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-klór-fenil
43	=CR^6-	=C-	C(=O)	O	4-hidroxi-fenil
44	C(=O)	=C-	=CR^6-	O	4-izopropoxi-fenil
45	C(=O)	-CH-	-CHR^6-	CH_2	3-bróm-fenil
46	CH_2	-CH-	-CHR^6-	O	4-hidroxi-fenil

(Az 1. táblázat folytatása)

Szám	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6
1	OH	H	OH	H	H
2	OH	H	OH	H	H
3	OH	H	OH	H	H
4	OH	H	OH	H	H
5	OH	H	OH	H	H

6	OH	H	OH	H	H
7	OH	H	OH	H	H
8	OH	H	OH	H	H
9	OH	H	OH	H	H
10	OH	H	OH	H	H
11	OH	H	OH	H	H
12	OH	H	OH	H	H
13	OH	H	OH	H	H
14	OH	H	OH	H	H
15	OH	H	OH	H	H
16	OH	H	OH	H	H
17	OH	H	OH	H	H
18	OH	H	OH	H	H
19	OH	H	OH	H	H
20	OH	H	OH	H	H
21	OH	H	OH	H	H
22	OH	H	OMe	H	H
23	Me	H	OH	H	H
24	H	H	OH	H	H
25	H	H	OH	H	trifluor-metil
26	OH	H	OH	H	H
27	OH	H	OH	H	H
28	H	H	OH	H	metil
29H	H	H	OH	H	etil
30	H	H	H	H	H
31	H	H	OH	H	H
32	OH	H	OH	OMe	H
33	OH	H	OH	H	H

34	OH	H	OH	H	fenil
35	H	H	OH	H	fenil
36	H	H	OH	H	H
37	H	H	OH	H	H
38	H	H	OH	H	H
39	OH	H	OH	H	H
40	H	H	H	OH	H
41	H	OH	H	H	H
42	H	H	OH	H	Me
43	H	H	OH	Me	Me
44	H	H	OH	H	trifluor-metil
45	H	H	OH	H	H
46	H	H	OH	H	H

2. táblázat. Tisztítás, tulajdonságok és szintézis munkamenet

Szám	HPLC perc (eljárás)	MS (MH^+)	ER-ß K_inM	ER-α K_inM	Szintézis menet
1			2,15	605	*
2	5,76 (B)	305(^{35}Cl)	0,55	56	A
3	5,41(B)	285	1,2	61	A
4	5,62(B)	289	0,5	74	A
5	6,11(B)	305 (^{35}Cl)	1,2	1100	A
6	25,6(A)	349 (^{79}Br)	1,25	439	A
7	6,72(B)	311	3,2	>3000	A
8	7,08(B)	313	0,75	>3000	A
9			143	>3000	*
10	25,4(A)	299	25	>3000	A
11	6,93(B)	273	100	>3000	A
12			22	>3000	*

13			6	>3000	*
14	7,86(B)	305	150	>3000	A
15	5,39(B)	271	15	900	A
16	5,68(B)	271	110	>3000	A
17	^{1}H NMR (DMSO-d_6): 12,59 (s, 1H), 10,99 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 7,63 (m, 2H), 7,14 (m, 1H), 6,44 (s, 1H), 6,27 (s, 1H).		3,3	>3000	A
18	^{1}H NMR (DMSO-d_6): 12,29 (s, 1H), 10,93 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,64 (m, 1H), 7,53 (m, 1H), 6,42 (s, 1H), 6,24 (s, 1H).		17	>3000	A
19	5,26(B)	306	122	>3000	A
20	7,70(B)	333 (^{79}Br)	25	>3000	A
21	7,55(B)	289 (^{35}Cl)	42	>3000	A
22			50	>3000	*
23	5,20(B)	269	0,5	200	A
24	4,91(B)	273	3,3	>3000	A
25	6,07(B)	323	10	321	a) megjegyzés
26			3,7	1000	*
27	5,43(B)	271	5,7	3000	b) megjegyzés
28	^{1}H NMR (DMSO-d_6): 10,47 (s, 1H), 9,55 (m, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,1-6,7 (m, 6H), 2,22 (m, 3H); MS: 269		12	322	B
29	5,57(B)	283	4	80	B
30	6,01(B)	239	140	>3000	B
31	^{1}H NMR (DMSO-d_6): 10,68 (s, 1H),		108	>3000	B

	8,44 (s, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,60 (m, 1H), 6,87 (dd, 1H), 6,81 (m, 1H); MS: 245			
32		33	>3000	*
33	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 12,66 (s, 1H), 10,98 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,27 (m, 2H), 6,44 (d, 1H, J=2,1 Hz), 6,26 (d, 1H, J=2,1 Hz); MS: 273	50	>3000	A
34		9,5	95	*
35		19	50	*
36		0,33	88	*
37	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 9,61 (s, 1H), 9,52 (s, 1H), 7,26 (d, 1H, J=2,7 Hz), 7,21-7,13 (m, 3H), 6,99 (dd, 1H, J=8,1 Hz, J' =2,7 Hz), 6,71 (d, 1H, J=8,4 Hz), 3,26 (m, 1H), 3,07-2,80 (m, 3H), 2,64 (m, 1H); MS: 253 (M-H)	0,73	75	c) meg-jegyzés
38	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 10,52 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,55 (m, 3H), 6,85-6,70 (m, 4H); MS: 255	4,9	220	B
39	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 10,63 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 9,60 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,50 (d, 2H, J=8,4 Hz), 6,80 (d, 2H, J=8,4 Hz), 6,28 (s, 1H), 6,22 (s, 1H); MS: 271	79	>3000	B

40	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 10,18 (s, 1H), 9,73 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,60 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,17 (m, 2H), 7,06 (m, 1H), 6,85 (d, 2H, J=8,4 Hz); MS: 255	104	>3000	B
41	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 9,72 (s, 2H), 8,05 (s, 1H), 7,58 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,25 (d, 1H, J=8,7 Hz), 7,07 (d, 1H, J=8,7 Hz), 7,00 (dd, 1H, J=8,4 Hz, J' =2,7 Hz), 6,84 (d, 2H, J=8,4 Hz); MS: 255	4,6	3000	B
42	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 10,56 (s, 2H), 7,50 (d, 2H, J=7,8 Hz), 7,42 (d, 1H, J=8,7 Hz), 7,33 (d, 2H, J=7,8 Hz), 6,84 (dd, 1H, J=7,8 Hz, J' =2,1 Hz), 6,75 (d, 1H, J=2,1 Hz), 2,21 (s, 3H); MS: 287 (^{35}Cl)	51	>3000	B
43	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 10,36 (s, 1H), 9,55 (s, 2H), 7,49 (d, 1H, J=9 Hz), 7,08 (d, 2H, J=8,7 Hz), 6,87 (d, 1H, J=9 Hz), 6,81 (d, 2H, J=8,7 Hz), 2,21 (s, 3H), 2,19 (s, 3H); MS: 283	24	500	B
44	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 11,11 (s, 1H), 7,93 (d, 1H, J=8,7 Hz), 7,16 (d, 2H, J=8,4 Hz), 7,03-6,93 (m, 4H), 4,66 (m, 1H), 1,30 (d, 6H, J=6 Hz); MS: 365	118	3000	a) meg-jegyzés

45	^{1}H NMR (DMSO-d-6): 10,39 (s, 1H), 7,78 (d, 1H, J=8,4 Hz), 7,42 (m, 2H), 7,28 (t. 1H, J=7,8 Hz), 7,19(d, 1H, J=7,8 Hz), 6,75 (dd, 1H, J=8,4 Hz, J' =2,4 Hz), 6,69 (d, 1H, J=2,4 Hz), 3,86 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,85 (m, 1H), 2,4-2,1 (m, 2H); MS: 317 ^{79}Br	116	3000	b) megjegyzés
46		2	155	*

* a vegyület kereskedelemben beszerezhető.

a) Megjegyzés: Az A eljárás szerint állítjuk elő; a ciklizálási műveletet trifuor-ecetsavanhidrid alkalmazásával végezzük a J. Med. Chem., 35, 3519 (1992) szerint.

b) Megjegyzés: A megfelelő 2,4-diaril-vajsav foszforil-trikloriddal való ciklizálásával, majd azt követően a metoxi-étereknek a J. Org. Chem., 11, 34 (1946)-ban közölt eljárás szerinti demetilezésével állítjuk elő.

c) Megjegyzés: Az Aust. J. Chem., 31, 1011 (1978) szerint állítjuk elő.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás egy ösztrogén β-receptorral kapcsolatos betegség kezelésére, azzal jellemezve, hogy egy, a

$$(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/\ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 1$$

egyenlőtlenséget – amelyben

$K_{i\alpha A}$ jelentése a K_i érték az agonistára (kiváltó, serkentő anyag) ER-α-ban;

$K_{i\beta A}$ jelentése a K_i érték az agonistára ER-β-ban;

$K_{i\alpha E}$ jelentése a K_i érték az ösztrogénre ER-α-ban; és

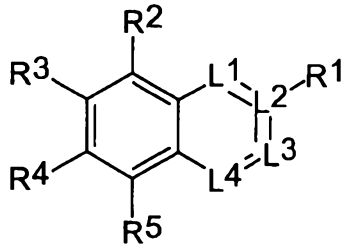
$K_{i\beta E}$ jelentése a K_i érték az ösztrogénre ER-β-ban —

kielégítő vegyület terápiásan hatékony mennyiségét adjuk be.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, amelyben a vegyület kielégíti a $(K_{i\alpha A}/K_{i\beta A})/\ (K_{i\alpha E}/K_{i\beta E}) > 100$ egyenlőtlenséget.

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, amelyben a kezelendő betegség az Alzheimer-kór, szorongásos zavar, arthritis deformans és prosztatarák által alkotott csoportba tartozik.

4. A 3. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy egy



általános képletű vegyületet — amely képletben

L^1 jelentése karbonilcsoport, $=C(R^6)-$, $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport;

L^2 jelentése =C- vagy -CH- képletű csoport;

L^3 jelentése $=C(R^6)-$, $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport vagy karbonilcsoport; és

L^4 jelentése karbonilcsoport, metiléncsoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport;

ahol

amikor L^1 jelentése karbonilcsoport, akkor L^4 jelentése metilén-csoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport;

amikor L^4 jelentése karbonilcsoport, akkor L^1 jelentése metilén-csoport, oxigénatom, kénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport;

amikor L^3 jelentése karbonilcsoport, akkor L^1 jelentése $=C(R^6)-$ vagy $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport, és L^4 jelentése oxigénatom vagy $=NR^a$ általános képletű csoport;

amikor L^1 jelentése $=C(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése $=C-$ képletű csoport;

amikor L^1 jelentése $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése metilidincsoport $(=CH-)$;

amikor L^3 jelentése $=C(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése $=C-$ képletű csoport; és

amikor L^3 jelentése $-CH(R^6)-$ általános képletű csoport, akkor L^2 jelentése metilidincsoport; és

R^a jelentése az egyes előfordulásoknál egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-5 szénatomos alkilcsoport

R^1 jelentése fenil-, szubsztituált fenil- vagy heterociklusos (Het) csoport;

R^2, R^3, R^4 és R^6 jelentése egymástól függetlenül $-R^a$, $-OR^a$,

$-SR^a$, $-NR^aR^a$, $-NC(=O)R^a$, $-NS(=O)R^a$, $-NS(=O)_2R^a$ általános képletű csoport, halogénatom, cianocsoport, trifluor-metil-csoport, $-CO_2R^a$, $-C(=O)R^a$, $-C(=O)NHR^a$ általános képletű csoport, nitrocsoport, $-S(=O)R^a$ és $-S(=O)_2R^a$ általános képletű csoport által alkotott csoportból kiválasztott csoport;

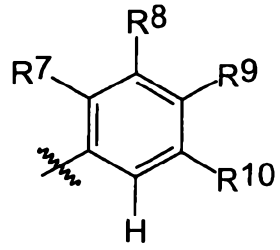
R^6 jelentése hidrogénatom, 1-5 szénatomos alkilcsoport, fenil-csoport vagy trifluor-metilcsoport; és

amikor L^1 jelentése karbonilcsoport és R^2 jelentése hidroxi-csoport vagy hidrogénatom és R^3 jelentése hidrogénatom és R^4 jelentése hidroxicsoport és R^5 jelentése hidrogénatom és R^6 jelentése hidrogénatom, akkor R^1 jelentése para-fenil-csoporttól eltérő —

vagy bármilyen gyógyászatilag elfogadható sóját adjuk be.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, amelyben R^1 jelentése heterociklusos (Het) csoport.

6. A 4. igénypont szerinti eljárás, amelyben R^1 jelentése



általános képletű csoport — amely képletben

R^7 jelentése hidrogénatom, klóratom vagy metilcsoport;

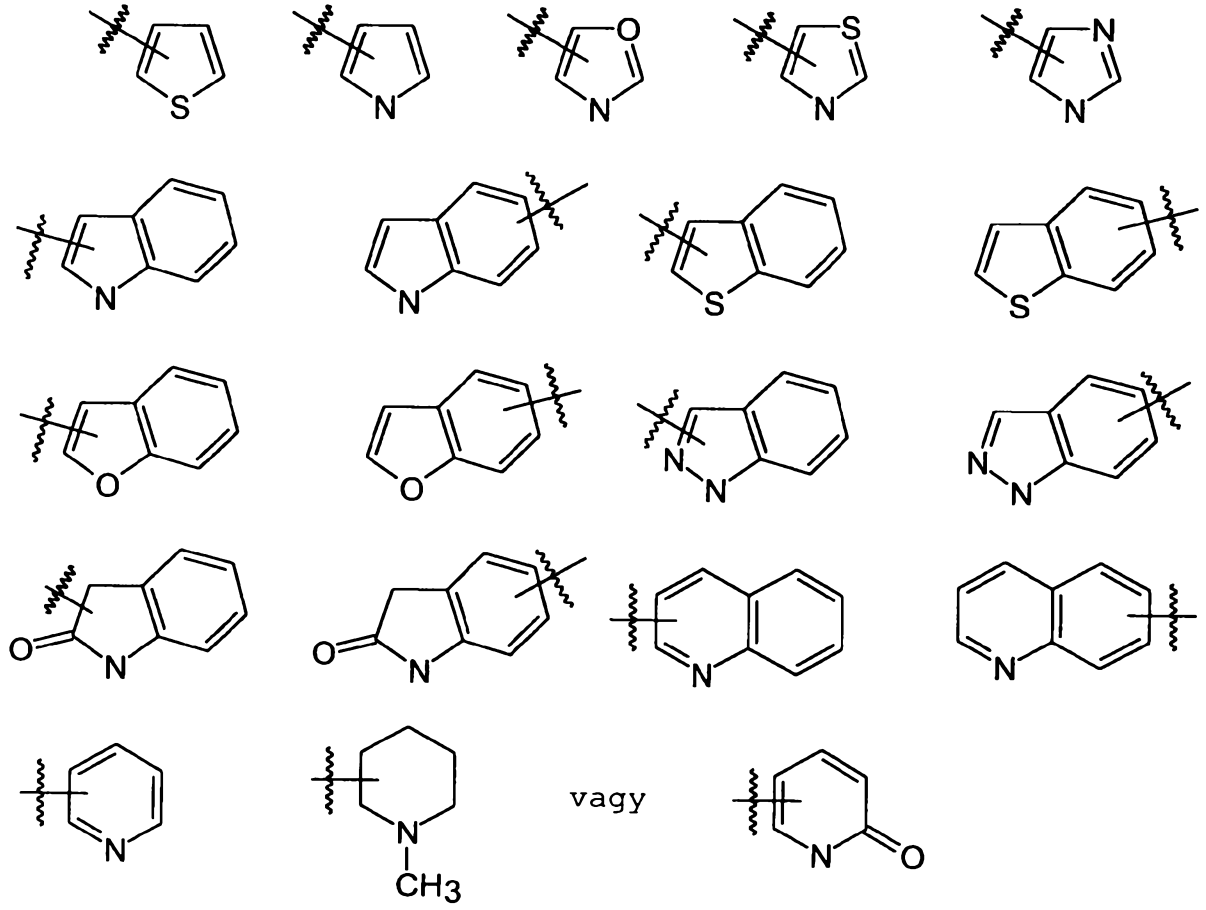
R^8 jelentése bróm-, klór-, fluoratom, $-R^a$, $-OR^a$ általános képletű csoport vagy allilcsoport;

R^9 jelentése hidrogénatom, hidroxicsoport, aminocsoport, bróm-, klóratom; és

R^{10} jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport; vagy

R^8 és R^9 $-OCH_2O-$ csoporttá egyesül; vagy

R^1 jelentése a következők egyikének szubsztituált vagy szubsztituálatlan változata:



7. A 6 igénypont bármelyike szerinti eljárás, amelyben a betegség Alzheimer-kór vagy szorongásos rendellenesség.

8. A 6. igénypont szerinti eljárás, amelyben R^2, R^3, R^4 és R^5 jelentése egymástól függetlenül $-R^a$, $-OR^a$, $-SR^a$, $-NR^a{}_2$, $-NC(=O)R^a$ általános képletű csoport, trifluor-metilcsoport és halogénatom által alkotott csoportból kiválasztott csoport.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás, amelyben

R^2 jelentése hidroxicsoport vagy hidrogénatom;

R^3 jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport;

R^4 jelentése hidroxicsoport vagy hidrogénatom; és

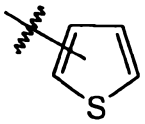
R^5 jelentése hidrogénatom vagy hidroxicsoport.

10. A 8. igénypont szerinti eljárás, amelyben L^4 jelentése karbonilcsoport.

11. A 8. igénypont szerinti eljárás, amelyben L^3 jelentése karbonilcsoport.

12. A 8. igénypont szerinti eljárás, amelyben L^1 jelentése karbonilcsoport.

13. A 9. igénypont szerinti eljárás, amelyben R^1 jelentése:



képletű csoport egy szubsztituálatlan változata.

Fuji Zrt.
2002. 04. 10.
TK

A meghatalmazott:

Ráthonyi Zoltán
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Szabadalmi Ügyvivői Iroda
tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 461-1000 Fax: 461-1099