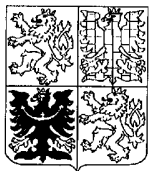


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 03.05.1999
(32) Datum podání prioritní přihlášky: 16.06.1998
(31) Číslo prioritní přihlášky: 1998/089424
(33) Země priority: US
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 13.06.2001
(Věstník č. 6/2001)
(86) PCT číslo: PCT/IB99/00796
(87) PCT číslo zveřejnění: WO99/65488

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 4680

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 31/40
A 61 K 31/444
A 61 P 19/00

(71) Přihlašovatel:

PFIZER PRODUCTS INC., Groton, CT, US;

(72) Původce:

Ke Hua Zhu, Ledyard, CT, US;
Li Mei, Westerly, RI, US;
Pan Lydia Codetta, Mystic, CT, US;
Thompson David Duane, Gales Ferry, CT, US;

(74) Zástupce:

Matějka Jan JUDr., Národní 32, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Terapeutické kombinace (selektivních)
modulátorů estrogenního receptoru (SERM) a
prostředků podporujících sekreci růstového
hormonu (GHS) pro léčbu muskuloskeletární
fragility**

(57) Anotace:

Řešení zahrnuje farmaceutické kombinované kompozice a způsoby zahrnující (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl a 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluorbenzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-yl-methyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl, způsoby použití uvedených kompozic a soupravy obsahující tyto kompozice. Uvedené kompozice jsou vhodné pro léčbu muskuloskeletární fragility zahrnující osteoporózu, frakturu při osteoporóze, úbytek kostní hmoty, fragilitu a nízké množství svalové hmoty.

Terapeutické kombinace (selektivních) modulátorů estrogenního receptoru (SERM) a prostředků podporujících sekreci růstového hormonu (GHS) pro léčbu muskuloskeletární fragility.

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutické kombinace selektivního modulátoru estrogenového receptoru (SERM) a prostředku podporujícího sekreci růstového hormonu (GHS), která stimuluje tvorbu kostí, zvyšuje množství kostní hmoty, snižuje koncentrace lipidů v séru a zvyšuje množství svalové hmoty. Vynález rovněž zahrnuje soupravy obsahující uvedené kombinace a použití těchto kombinací k léčbě stavů s výskytem muskuloskeletární fragility zahrnujících osteoporózu, frakturu při osteoporóze, úbytek kostní hmoty, křehkost, nízké množství svalové hmoty, a podobné stavy u savců včetně člověka. Zejména se vynález týká kombinace obsahující (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl a 2-amino-N-(1-(R)--(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo farmaceuticky přijatelnou sůl, souprav obsahujících uvedenou kombinaci a použití této kombinace k léčbě stavů s výskytem muskuloskeletární fragility zahrnujících osteoporózu, frakturu při osteoporóze, úbytek kostní hmoty, křehkost, a podobné stavy u savců včetně člověka.

Dosavadní stav techniky

Osteoporóza je systémové onemocnění kostry charakterizované nízkým podílem kostní hmoty a poškozením kostní tkáně a z toho vyplývající zvýšené lomivosti kostí a náchylnosti k frakturám. V USA tímto stavem trpí více než 25

milionů lidí a vyvolává více než 1,3 milionu fraktur zahrnujících 500 000 fraktur obratlů, 250 000 fraktur kyčle a 240 000 fraktur zápěstí. Nejvážnější následky mají fraktury kyčle, kde 5-20 % pacientů umírá do jednoho roku a více než 50 % přežívajících pacientů je invalidních.

Nejvyšší riziko osteoporózy je u starších lidí, a proto se předpokládá významné zvyšování problémů souvisejících s osteoporózou spojené se stárnutím populace. Ve světě se předpovídá trojnásobné zvýšení počtu fraktur během příštích 60 let a podle jedné studie se odhaduje, že v roce 2050 dojde k 4,5 milionům fraktur kyčle.

Ačkoliv náchylností na muskuloskeletární křehkost zahrnující osteoporózu trpí jak muži tak ženy, u žen je riziko osteoporózy vyšší než u mužů. U žen dochází k prudkému zrychlení úbytku kostní hmoty bezprostředně po menopauze. Další faktory které zvyšují úbytek kostní hmoty vedoucí k osteoporóze zahrnují kouření, požívání alkoholu, sedavý způsob života a nízký příjem vápníku.

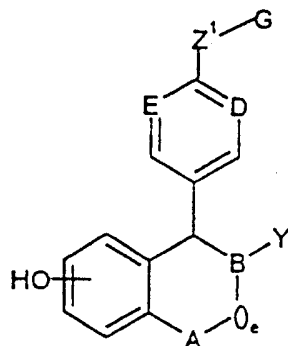
Estrogen je prostředek první volby při prevenci osteoporózy nebo při úbytku kostní hmoty u žen po menopauze. Kromě toho Black a sp., v EP 0605193A1 uvádějí, že estrogen, zejména při orálním podání, snižuje hladiny LDL a zvyšuje množství prospěšných lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL). Dlouhodobá estrogenová terapie však mívá účast v různých chorobách, zahrnujících zvýšení rizika rakoviny dělohy, rakoviny endometria a pravděpodobně rakoviny prsu, což má za následek, že mnoho žen se této léčbě brání nebo přistupují na terapii tímto léčivem pouze na krátkou dobu. Ačkoliv se předpokládá, že riziko rakoviny endometria se snižuje současným podáváním progesteronu, stále ještě zůstává souvislost s možným zvýšeným rizikem rakoviny prsu související

s podáváním estrogenu. Současně navrhovaná schémata podávání léčiv cílená na zmenšení rizika rakoviny, jako je podávání kombinací progesteronu a estrogenu, vyvolávají u pacientek nepřiměřená krvácení. Dále se zdá, že spojením progesteronu a estrogenu se snižují účinky estrogenu na snížení hladiny cholesterolu v séru. Uvedené významné nežádoucí vedlejší účinky spojené s estrogenovou terapií opodstatňují potřebu vývoje alternativních terapií osteoporózy, které by měly požadovaný příznivý účinek na LDL v séru a nevykazovaly by nežádoucí vedlejší účinky.

V současné době již bylo navrženo více selektivních modulátorů estrogenového receptoru pro léčbu osteoporózy. Je popsáno (Osteoporosis Conference Scrip No.1812/13 April 16,20, 1993, str.29), že raloxifen, tj. 6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-3-[4-(2-piperidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen, má podobný příznivý účinek jako estrogen na kosti a lipidy, ale na rozdíl od estrogenu má minimální stimulační účinek na dělohu. [Black L.J. a spol., Raloxifene (LY139481 HCl) Prevents Bone Loss and Reduces Serum Cholesterol Without Causing Uterine Hypertrophy in Ovariectomized Rats, J.Clin.Invest., 1994, 93:63-69 a Delmas P.D. a sp., Effects of Raloxifene on Bone Mineral Density, Serum Cholesterol Concentration, and Uterine Endometrium in Postmenopausal Women, New England Journal of Medicine, 1997, 337:1641-1647].

Prostředky jako droloxifen, U.S.patent č.5,254,595, zabráňují úbytku kostní hmoty a redukují tak riziko fraktur bez nežádoucích vedlejších účinků estrogenu. Nicméně se předpokládá, že estrogen a agonisté estrogenu samotní, umožňují snížit riziko fraktury o asi 50 %, z čehož vyplývá, že u asi 50 % osteopenických žen stále zůstává riziko fraktury následkem osteoporózy.

V uděleném U.S.patentu č. 5,552,442, který je včleněn do tohoto popisu odkazem, jsou uvedené SERM sloučeniny obecného vzorce



kde uvedené obecné symboly jsou popsány v uvedeném spise.

Růstový hormon (GH) je vylučován hypofýzou, a stimuluje růst všech tkání organismu schopných růstu. Kromě toho je o GH známo, že má následující účinky na metabolické procesy v organismu:

1. Zvyšuje rychlost syntézy proteinů v podstatě ve všech buňkách organismu;
2. Snižuje rychlost spotřeby sacharidů v buňkách organismu;
3. Zvyšuje připravenost volných mastných kyselin pro jejich energetické využití.

Deficience GH vede k různým chorobným stavům. U dětí například vyvolává nanismus. U dospělých zahrnují následky získané deficience GH snížení hmotnosti tělesné svalové hmoty se současným zvýšením celkového množství tělesného tuku zejména v oblasti trupu. Snížení skeletární a srdeční svalové hmoty a síly svalů vede k významnému snížení výkonnosti. Prokázalo se, že exogenní podávání GH umožňuje zvrátit mnohé

z uvedených metabolických změn. Další prospěšné účinky uvedené terapie zahrnují snížení LDL cholesterolu a zlepšení psychické pohody.

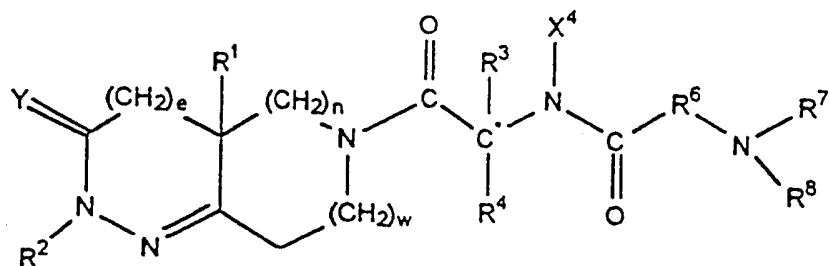
V případech potřeby zvýšit hladiny GH, byl problém obvykle řešen podáním exogenního GH nebo podáváním prostředku stimulujícího tvorbu a/nebo uvolňování GH. V každém případě peptidový charakter sloučeniny nutně vyžaduje její injekční podání. Dříve se GH získával extrakcí hypofýz odebraných mrtvolám. Takto získaný produkt byl drahý a zahrnoval riziko choroby související s možností jejího přenosu z hypofýzy zdroje na příjemce GH (například Jacob-Creutzfeldovy choroby). V současné době je již dostupný rekombinantní GH, u kterého již není žádné riziko přenosu choroby, ale jedná se stále ještě o velmi drahý produkt který je nutné podávat injekčním nebo nasálním podáním.

Většina deficiencí GH je způsobena poruchami uvolňování GH a nikoliv primárními poruchami syntézy GH v hypofýze. Alternativní strategie pro normalizaci hladin GH v séru zahrnuje stimulaci uvolňování GH ze somatotropů. Zvýšení sekrece GH lze docílit stimulací nebo inhibicí různých systémů pro neurotransmisi v mozku a v hypothalamu. Z těchto důvodů probíhá vývoj syntetických prostředků pro uvolňování GH stimulujících sekreci GH z hypofýzy, kde terapie těmito prostředky může mít vůči drahé a nevhodné substituční terapii pomocí GH několik výhod. Jako nejvhodnější z těchto prostředků lze pokládat prostředky stimulující pomocí fyziologických regulačních drah pulsatilní sekreci GH, a eliminující nadměrné hladiny GH spojované s nežádoucími vedlejšími účinky při podávání exogenního GH intaktní negativní zpětnou vazbou.

Fyziologické a farmakologické stimulatory sekrece GH zahrnují arginin, L-3,4-dihydroxyfenylalanin (L-DOPA),

glukagon, vasopresin, a hypoglykemií vyvolanou insulinem, a rovněž aktivity jako je spánek a cvičení nepřímo vyvolávají uvolňování GH z hypofýzy některým mechanismem působícím na hypothalamus, pravděpodobně buď snížením sekrece somatostatinu nebo zvýšením sekrece známého sekretogenního GH-uvolňujícího faktoru (GHRF) nebo dosud neznámého GH-uvolňujícího hormonu nebo všemi uvedenými způsoby.

V udělené International Patent Application Publication č. WO97/24369, uznané mimo jiné v USA, jsou uvedené prostředky podporující sekreci GH obecného vzorce



kde obecné symboly jsou popsány v uvedeném mezinárodním patentu. Uvedená International Patent Application Publication č. WO97/24369 je včleněná do tohoto textu odkazem.

Tang a sp., uvádějí v "Restoring and Maintaining Bone in Osteogenic Female Rat Skeleton: I. Changes in Bone mass and Structure", J. Bone Mineral Research 7(9), str.1093-1104, 1992, údaje vztažené ke koncepci úbytku, obnovy a zachování (LRM) jako praktického přístupu pro reverzi stávající osteoporózy. LRM koncepce využívá k obnově a výstavbě (+ fáze) anabolické prostředky s následnou změnou na použití prostředku s ověřenou schopností zachovávat kostní hmotu aby se zachovala nově vytvořená kost (+/- fáze). Ve studii na krysách s použitím PGE₂ a risedronatu, bifosfonatu bylo prokázáno, že většinu nově vytvořené spongiózní a kortikální části kosti indukované PGE₂

lze zachovat nejméně 60 dní po přerušení podávání PGE_2 podáváním risedronatu.

Shen a sp., Effects of Reciprocal Treatment with Estrogen and Estrogen plus Parathyroid Hormone on Bone Structure and in Ovariectomized Rats, J.Clinical Investigation 1995, 96:2331-2338) ve výše uvedené práci uvádějí údaje vztažené k použití kombinace a/nebo sekvenčního podávání antiresorpčních prostředků a anabolických prostředků pro léčbu osteoporózy.

V udělené International Patent Application Publication č.WO97/31640, uznané mimo jiné v USA, se uvádí použití některých prostředků podporujících sekreci GH v kombinaci s některými SERM pro léčbu osteoporózy. Uvedená International Patent Application Publication č.WO97/31640 je včleněná do tohoto textu odkazem.

Podstata vynálezu

Vynález je zaměřen na farmaceutickou kompozici obsahující:

a) první sloučeninu, kde uvedená první sloučenina je (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl; a

b) druhou sloučeninu, kde uvedená druhá sloučenina je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

Vynález dále je dále zaměřen na farmaceutickou kompozici uvedenou bezprostředně ve výše uvedeném odstavci navíc obsahující farmaceuticky přijatelný nosič.

Vynález je dále zaměřen na kompozici uvedenou v některém z prvních dvou odstavců tohoto oddílu, kde uvedenou první sloučeninou je (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol-D-tartrat a uvedenou druhou sloučeninou je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid-L-tartrat.

Ještě dále je vynález zaměřen na způsob léčby, dále označované jako způsob A, savce trpícího muskuloskeletární fragilitou, zahrnující podávání farmaceutické kompozice uvedené v prvních třech odstavcích tohoto oddílu.

Výhodný způsob léčby podle vynálezu v rámci způsobu A, označený jako způsob B, je způsob, kde uvedený savec je postižený osteoporózou.

Další výhodný způsob léčby v rámci způsobu A, označený jako způsob C, je způsob kde uvedený savec je postižený osteotomií, idiopatickým úbytkem kostní hmoty v dětském věku nebo úbytkem kostní hmoty spojeným s periodontitidou.

Ještě dále vynález zahrnuje způsob léčby, označený jako způsob A¹, pro léčbu savce trpícího muskuloskeletární fragilitou zahrnující podávání uvedenému savci:

a) první sloučeniny, kde uvedená první sloučenina je (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-

-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl; a

b) druhé sloučeniny, kde uvedená druhá sloučenina je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

Zejména je vynález zaměřen na způsob označený jako způsob A¹, kde první sloučenina a druhá sloučenina se podávají v podstatě současně.

Zejména je vynález rovněž zaměřen na způsob podle způsobu A¹, a dále označovaný jako způsob D, kde druhá sloučenina se podává po dobu asi tři měsíců až asi tři let.

Ještě dále je vynález zaměřen na způsob podle způsobu D, s následným podáváním první sloučeniny po dobu od asi tři měsíců do asi tři let bez podávání uvedené druhé sloučeniny během uvedeného období od asi tři měsíců do asi až tři let.

Ještě dále je vynález zaměřen na způsob podle způsobu D, s následným podáváním první sloučeniny po dobu delší než asi tři roky bez podávání uvedené druhé sloučeniny během uvedeného období delšího než asi tři roky.

Vynález je rovněž zaměřen na způsob léčby, dále označovaný jako způsob E, savce trpícího muskulosketární fragilitou, který zahrnuje podávání terapeuticky účinného množství kompozice uvedené v prvních třech odstavcích tohoto oddílu uvedenému savci.

V rámci způsobu E je výhodný způsob který se použije k podpoře hojení kostí po rekonstrukci obličeje, rekonstrukci horní čelisti nebo rekonstrukci dolní čelisti, vyvolání vertebrální synostózy, podpoře prodloužení dlouhé kosti, podpoření rychlosti hojení při použití kostního štěpu nebo fraktury dlouhé kosti nebo podpoře vrůstání protetiky.

Vynález je rovněž zaměřen na způsob zvýšení množství svalové hmoty u savce, zahrnující podávání množství kompozice podle prvních třech odstavců tohoto oddílu, které je účinné pro zvýšení množství svalové hmoty.

Ze všech uvedených způsobů podle vynálezu je nejvýhodnější způsob, kde uvedený savec je člověk.

Vynález rovněž zahrnuje soupravu určenou k léčbě savce trpícího muskuloskeletární fragilitou, která obsahuje:

a) (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo v první jednodávkové lékové formě;

b) 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo ve druhé jednodávkové lékové formě; a

c) obal.

Vynález je zejména zaměřen na soupravu popsanou v bezprostředně předcházejícím odstavci kde uvedená první

jednodávková léková forma obsahuje (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol-D-tartrat, a uvedená druhá jednodávková léková forma obsahuje 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid-L-tartrat.

Pro všechny kompozice, způsoby a sestavy je zvláště výhodné použití D-tartratové soli (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu a L-tartratové soli 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamidu.

Výraz "stav projevující se nízkým množstvím kostní hmoty" znamená stav, kdy obsah kostní hmoty je nižší než je obsah odpovídající věku jak je definovaný Světovou zdravotnickou organizací v "Assesment of Fracture Risk and its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis (1994), Report of a World Health Organization Study Group. World Health Organization Technical Series 843". V těchto dokumentech je zahrnuta i idiopatická osteoporóza v dětském věku a primární osteoporóza. Léčba osteoporózy zahrnuje rovněž prevenci nebo zmírnění dlouhotrvajících komplikací jako je pokřivení páteře, úbytek tělesné hmotnosti, protetické operace a prevence malfunkce prostaty. Léčba rovněž zahrnuje zvýšení rychlosti hojení fraktur kostí a podporu rychlosti úspěšného vrůstu kostního štěpu. Zahrnuto je i onemocnění periodontu a úbytek alveolární kostní hmoty.

Výraz "stav projevující se nízkým množstvím kostní hmoty" se vztahuje i na savce, o kterém je známo že je u něj významně vyšší pravděpodobnost vývoje chorob uvedených výše včetně osteoporózy než je pravděpodobnost průměrná (jako například u žen po menopauze, mužů ve věku nad 60 let, a u osob léčených léčivý o kterých je známo že jejich vedlejším účinkem je vznik osteoporózy (jako jsou glukokortikoidy)).

Pracovníkům v oboru bude jistě známo, že výraz kostní hmota ve skutečnosti znamená kostní hmotu na jednotku plochy a někdy (ačkoliv ne zcela správně) se označuje jako minerální hustota kosti.

Výraz "muskuloskeletární fragilita" znamená stav jehož subjekt má nízké množství kostní hmoty a/nebo svalové hmoty a zahrnuje choroby, poruchy a stavy jako jsou, ale bez omezení jen na ně, stavy projevující se nízkým množstvím kostní hmoty, osteoporózou, nízkým množstvím svalové hmoty, osteotomií, idiopatickým úbytkem kostní hmoty v dětském věku nebo úbytkem kostní hmoty spojeným s periodontitidou, dále stavy zahrnující hojení kosti po rekonstrukci obličeje, po rekonstrukci horní čelisti nebo po rekonstrukci dolní čelisti a fraktury kostí. Dále tento výraz zahrnuje stavy při kterých vzniká rozhraní mezi nově implantovanou protézou a kostí, kde je zapotřebí aby došlo ke vrůstu.

Výrazy "léčba", "léčit" nebo "ošetřovat" použité v tomto popise zahrnují léčebnou, preventivní (například profylaktickou) a paliativní péči.

Záporné nebo kladné znaménko uvedené v závorce a použité v tomto popise v chemickém názvosloví znamená směr otáčení roviny polarizovaného světla konkrétním stereoisomerem.

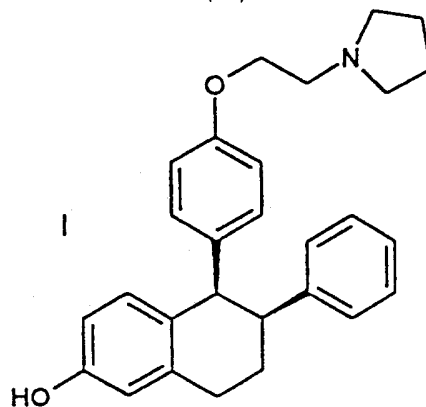
Kompozice podle vynálezu mohou zahrnovat hydráty sloučenin použitých v uvedených kompozicích.

Farmaceutické kompozice a způsoby podle vynálezu vedou k vyšším přírůstkům kostní hmoty než jsou dosažitelné ve stejných dávkách samotného (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu jak je popsán výše nebo samotného 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamidu jak je popsán výše. Kombinace těchto sloučenin tedy zvyšují množství kostní hmoty a snižují tak počet fraktur více než je dosažitelné kteroukoli z uvedených složek samotnou. Uvedené kompozice dále zvyšují hustotu kostí a množství svalové hmoty přičemž současně snižují množství tuků a celkovou hladinu cholesterolu v séru. Vynález tak významně přispívá oboru poskytnutím kompozic a způsobů které vedou ke zvýšení a zachování kostní hmoty a lze je použít pro prevenci, retardaci a/nebo regresi osteoporózy a příbuzných chorob kostí.

Další vlastnosti a výhody vynálezu jsou zřejmé z popisu vynálezu a z připojených patentových nároků.

Podrobný popis vynálezu

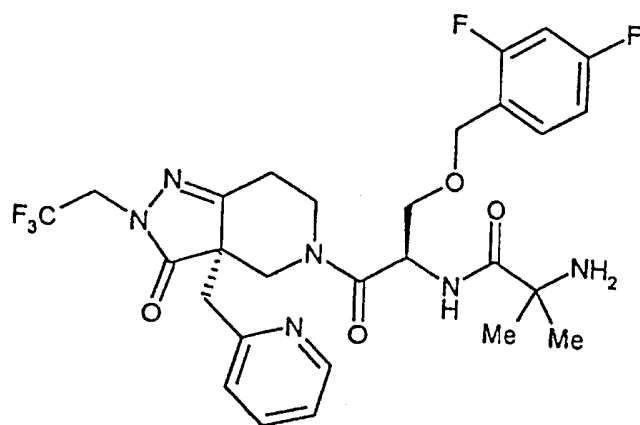
První sloučeninou podle vynálezu je (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, vzorce (I):



(-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin--1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol a jeho farmaceuticky přijatelné soli se připraví způsobem podle uděleného U.S.patentu č.5,552,412, který je již citovaný výše.

(-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin--1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol-D-tartrat se připraví způsobem popsaným v odstavci bezprostředně výše nebo alternativně způsobem popsaným v International Patent Application Publication č. WO97/16434 přijaté v USA, která je včleněna do tohoto popisu odkazem.

Druhou sloučeninou podle vynálezu je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, vzorce (II):



II

2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid a jeho farmaceuticky přijatelné soli lze připravit podle udělené International Patent Application

Publication č.WO97/24369, uznané mimo jiné v USA, která je již citovaná výše.

2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid-L-tartrat lze připravit podle výše uvedené International Patent Application Publication č.WO97/24369. Alternativně je možné 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid-L-tartrat připravit způsobem podle příkladu 1 uvedeném dále.

Kromě toho, jestliže sloučeniny a jejich farmaceuticky přijatelné sole používané v kompozicích a ve způsobech podle vynálezu tvoří hydráty nebo solváty, tak uvedené hydráty a solváty vynález rovněž zahrnuje.

Farmaceutické kombinace a způsoby podle vynálezu jsou přizpůsobeny k terapeutickému použití do formy prostředků které buď aktivují přeměnu kostí nebo zabraňují resorpci kostí nebo zvyšují tvorbu kostí u savců zejména lidí. Protože uvedené funkce velmi těsně souvisí s vývojem osteoporózy a příbuzných chorob kostí, uvedené kombinace díky jejich účinkům na kost lze používat k prevenci, zastavení, regresi nebo reverzi osteoporózy.

Vhodnost kompozic a způsobů podle vynálezu jako léčivých přípravků pro léčbu muskuloskeletární fragility (například stavů vykazujících nízké množství kostní hmoty nebo nízké množství svalové hmoty která zahrnují osteoporózu) u savců (například člověka) je prokázána aktivitou sloučenin podle vynálezu v konvenčních stanoveních uvedených v U.S.patentu

č.5,552,412. Další důkaz vhodnosti předložené kombinace podle vynálezu je podán v příkladu 2 uvedeném níže. Tato stanovení poskytují možnosti srovnání aktivit sloučenin podle vynálezu vzájemně mezi sebou a s aktivitami dalších známých sloučenin. Výsledky uvedených srovnání jsou vhodné pro stanovení dávek pro savce včetně člověka, vhodných pro léčbu uvedených chorob.

Podávání sloučenin podle vynálezu lze provést každým vhodným způsobem, při kterém dochází k převodu sloučeniny zahrnuté v kombinaci podle vynálezu systémovým a/nebo místním způsobem. Uvedené způsoby zahrnují orální, parenterální, intraduodenální a podobné aplikační cesty. Všeobecně se sloučeniny podle vynálezu podávají orálně, ale je možné použít i parenterální podání (například podání intravenózní, intramuskulární, transkutánní, subkutánní nebo intramedulární), například tehdy, je-li orální podání nevhodné pro cílenou oblast nebo jestliže pacient není schopen léčivo orálně přijmout. Uvedené dvě rozdílné sloučeniny podle vynálezu lze podávat současně, nebo sekvenčně v libovolném pořadí, nebo ve formě jednoho léčivého přípravku obsahujícího první sloučeninu jak je popsána výše a druhou sloučeninu jak je popsána výše a farmaceuticky přijatelný nosič.

V každém léčeném případě však bude dávka a časové intervaly podávání sloučenin samozřejmě záviset na subjektu léčby, na závažnosti stavu, na způsobu podávání a na rozhodnutí ošetřujícího lékaře. Z důvodů variability pacientů je možné jako vodítko použít dávky nižší, a lékař může dávky léčiva upravovat k dosažení aktivity (například k dosažení přírůstku kostní hmoty), kterou lékař bude pokládat pro konkrétního pacienta za dostatečnou. Pro posouzení stupně požadované aktivity musí lékař zvážit více různých faktorů jako je výchozí hodnota množství kostní hmoty, věk pacienta, výskyt předcházejících chorob stejně tak jako stávající výskyt

jiných chorob (například kardiovaskulárních). Například podávání (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu může mít kardiovaskulárně prospěšné účinky, zejména u žen po menopauze. V následujících odstavcích jsou uvedena výhodná dávková rozmezí různých složek podle vynálezu.

Účinná dávka (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu je v rozmezí od 0,0001 do 100 mg/kg/den, výhodně v rozmezí 0,001 až 10 mg/kg/den.

Účinná dávka 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxy-methyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamidu je v rozmezí od 0,0001 do 100 mg/kg/den, výhodně je v rozmezí 0,01 až 5,0 mg/kg/den.

Jestliže se podle vynálezu použije D-tartratová sůl nebo jiná farmaceuticky přijatelná sůl každé z výše uvedených sloučenin, pracovník zkušený v oboru snadno vypočte pomocí molekulové hmotnosti účinnou dávku na základě poměru molekulových hmotností.

Sloučeniny podle vynálezu lze obecně podávat ve formě farmaceutické kompozice obsahující nejméně jednu ze sloučenin podle vynálezu nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí společně farmaceuticky přijatelným nosičem nebo ředidlem. Sloučeniny podle vynálezu a jejich farmaceuticky přijatelné sole tak mohou být podávány samostatně nebo společně pomocí kterékoli obvyklé orální, parenterální nebo transdermální lékové formy. Při odděleném podávání se provede podání druhé sloučeniny nebo její farmaceuticky přijatelné soli následně.

Pro orální podávání může farmaceutická kompozice být ve formě roztoků, suspenzí, tablet, pilulek, tobolek, prášků a podobně. Tablety mohou obsahovat různé přísady jako je citran sodný, uhličitan vápenatý a fosforečnan vápenatý společně s různými prostředky ovlivňujícími rozpadavost jako je škrob a výhodně škrob bramborový nebo škrob tapiokový a určité komplexní křemičitany, společně s pojivý jako je polyvinylpyrrolidon, sacharosa, želatina a arabská guma. Často je vhodné pro účel tabletování použití kluzných prostředků jako je stearan hořečnatý, laurylsíran sodný a talek. Pevné kompozice podobného typu se používají také jako náplně do měkkých a tvrdých želatinových tobolek; výhodné složky použité v této souvislosti zahrnují laktosu nebo mléčný cukr stejně tak jako polyethylenglykoly o vysoké molekulové hmotnosti. Jestliže je potřebné připravit vodné suspenze a/nebo tinktury určené pro orální podání, sloučeniny nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli podle vynálezu lze spojovat s různými sladícími prostředky, prostředky korigujícími chuť a vůni, barvivy, emulgačními a/nebo suspendačními prostředky, a rovněž ředidly jako je voda, ethanol, propylenglykol, glycerin a různé jejich podobné kombinace.

Pro parenterální podání lze použít roztoky v sezamovém nebo v podzemnicovém oleji nebo ve vodném propylenglykolu a rovněž sterilní vodné roztoky odpovídajících solí rozpustných ve vodě. Uvedené vodné roztoky mohou být vhodně pufrované je-li je to zapotřebí, a tekuté ředidlo se nejprve isotonizuje na přiměřený solný roztok nebo glukosou. Uvedené vodné roztoky jsou zvláště vhodné pro intravenózní, intramuskulární, subkutánní a intraperitoneální injekční podávání. Sterilní vodná média pro uvedené použití lze snadno připravit standardními způsoby známými pracovníkům v oboru.

Pro účely transdermálního (například topického) podání, lze použít zředěné vodné nebo částečně vodné roztoky (obvykle o koncentraci asi 0,1 % až 5 %) jinak připravené obdobně jako výše uvedené parenterální roztoky.

Způsoby přípravy různých farmaceutických kompozici obsahujících určité množství každé aktivní složky jsou známy a pracovníkům v oboru budou na základě tohoto popisu zřejmé. Příklady provedení jsou uvedené například v "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, Pa., 19. vydání (1990).

Farmaceutické kompozice podle vynálezu mohou obsahovat 0,1 %-95 % kombinace sloučenin nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí podle vynálezu, výhodně 1 % - 70 %. V každém případě kompozice nebo přípravek určený pro podávání, obsahuje sloučeniny nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli podle vynálezu v množství účinném k léčbě choroby/stavu subjektu který má být léčen.

Protože vynález zahrnuje léčbu kombinací dvou aktivních složek, které je možné podávat odděleně, vynález rovněž zahrnuje kombinaci samostatných farmaceutických kompozic do jedné soupravy. Uvedená souprava potom obsahuje dvě samostatné farmaceutické kompozice: (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl, a 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxy-methyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl. Uvedenou soupravu tvoří kontejner pro uvedené samostatné kompozice uchovávané v obalech jako jsou lahvičky pro dělené formy nebo fóliové

obaly pro dělené formy, nicméně samostatné kompozice lze umístit do jednoho neděleného obalu. Obvykle uvedená souprava obsahuje příbalovou informaci pro podávání jednotlivých složek. Forma soupravy je zejména výhodná v případech, kde je výhodné jednotlivé složky podávat v různých podávacích lékových formách (například orálně a parenterálně), v různých intervalech podávání, nebo když ošetřující lékař potřebuje stanovit dávku jednotlivých složek dané kombinace.

Příkladem takové soupravy je takzvané blistrové balení. Blistrová balení jsou obaly pracovníkům oboru obalové techniky dobře známá, a jako obaly jednodávkových lékových forem (tablet, tobolek a podobně) mají značné použití. Obecně jsou blistrová balení tvořena podkladovým listem z relativně tuhého materiálu pokrytého fólií, výhodně průhlednou fólií z plastické hmoty. Během zpracování při balení se v plastické fólii tvoří výstupky. Tyto výstupky mají tvar a velikost tablet nebo tobolek určených k balení. Potom se tablety nebo tobolky umístí do výstupků a podkladový list z poměrně tuhého materiálu se spojí s tou stranou fólie z plastické hmoty která je naproti vytvořeným výstupkům. Výsledkem je, že tablety nebo tobolky jsou utěsněny ve výstupcích mezi fólií z plastické hmoty a podkladovým listem. Výhodné je, aby pevnost podkladového listu byla taková, aby tablety nebo tobolky bylo možné vyjmout z blistrového balení ručním tlakem na výstupky při kterém se v podkladovém listu tvoří otvory v místě odpovídajícím výstupkům. Tablety nebo tobolky pak je možné vyjmout uvedenými otvory.

Také je žádoucí sestavu opatřit vloženým štítkem sloužícím k podpoře paměti, například ve formě číslic v blízkosti tablet nebo tobolek, kde tato čísla odpovídají dnům dávkovacího schématu, kdy příslušně označené tablety nebo tobolky je nutné požit. Dalším příkladem takové pomůcky

k podpoře paměti je kalendář vytištěný na štítek například ve formě "první týden, pondělí, úterý, ..atd ..., druhý týden, pondělí, úterý ..." a podobně. Snadno srozumitelné jsou i další takové pomůcky sloužící k podpoře paměti při podávání léčiva. "Denní dávka" může zahrnovat podání jedné tablety nebo tobolky určitý den nebo několik pilulek nebo tobolek určitý den. Rovněž denní dávku SERM může tvořit jedna tableta nebo jedna tobolka, zatímco denní dávku prostředku podporujícího vylučování GH tvořit několik tablet nebo tobolek. Uvedená pomůcka pro podporu paměti musí tuto skutečnost odrážet.

Další specifické provedení vynálezu zahrnuje použití dávkovače určeného k dávkování denních dávek po jedné dávce k zajištění jejich určeného použití. Výhodně je dávkovač opatřen pomůckou k podpoře paměti tak aby se dále usnadnila compliance s dávkovacím schématem. Příkladem uvedené pomůcky k podpoře paměti je mechanický sčítač indikující počet denních dávek již odebraných. Dalším příkladem uvedené pomůcky k podpoře paměti je mikročip opatřený baterií a spojený s čtecím zařízením na bázi tekutých krystalů nebo poskytujícím akustický signál, ukazující kdy poslední denní dávka byla odebrána a/nebo upozorňující potřebu odebrat další dávku.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

2-amino-N-{1-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-[3-oxo-3a-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl]-ethyl}-2-methyl-propionamid-L-(+)-tartrat

A. 1-terc.butylester, 3-ethylester 4-oxo-3-pyridin-2-ylmethyl-piperidin-1,3-dikarboxylové kyseliny

K roztoku 1-terc.butylesteru, 3-ethylesteru 4-oxo-piperidin-1,3-dikarboxylové kyseliny (10,34 g, 38,2 mmol) v DMF (40 ml) se při asi 0 °C přidá pikolylchlorid-hydrochlorid (5,7 g, 34,7 mmol), uhličitan draselný (14,4 g, 104,1 mmol) a jodid draselný (5,76 g, 34,7 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C asi 2 hodiny a pak se ledová lázeň odstraní a přidá se DABCO (973 mg, 8,68 mmol). Pak se reakční směs míchá asi 30 minut a vlije se do směsi vody a IPE. Organická vrstva se oddělí a promyje se nasyceným vodným NaHCO₃ a nasyceným vodným NaCl, vysuší se Na₂SO₄ a zahustí se ve vakuu. Rekrystalizací surového produktu z hexanů se získá bílá pevná hmota (8,19 g, výtěžek 65 %). ¹H-NMR (CDCl₃) δ 1,17 (t, 3H), 1,48 (s, 9H), 1,55 (s, 2H), 2,61 (m, 1H), 2,71 (m, 1H), 3,31-3,50 (m, 3H), 4,11 (d, 2H), 4,49 (d, 1H), 7,06 (br s, 1H), 7,17 (d, 1H), 7,54 (m, 1H), 8,40 (s, 1H).

B. Terc.butylester 3-oxo-3a-pyridin-2-ylmethyl-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-karboxylové kyseliny

70% vodný roztok CF₃CH₂NHNH₂ (325 ml, 1,986 mol) (od firmy Aldrich) se extrahuje toluenem (3 x 1200 ml). K roztoku produktu připraveného ve stupni A (600 g, 1,655 mol) v toluenu (900 ml) se nejprve přidá spojený toluenový extrakt obsahující bezvodý 2,2,2-trifluorethylhydrazin a potom kyselina octová (121,4 g, 1,986 mol). Pak se reakční směs zahřívá asi 2 hodiny při 70 °C a potom se přidá další toluenový extrakt vodného 70% 2,2,2-trifluorethylhydrazinu (50 g). Pak se reakční směs zahřívá asi 3,5 hodiny při asi 80 °C, potom se ochladí na teplotu místnosti a zředí se nasyceným vodným NaHCO₃ (2 l). Toluenová vrstva se potom oddělí a promyje se nasyceným vodným NaCl, vysuší se Na₂SO₄ a zahuštěním ve vakuu se získá olej (754,8 g). Krystalizací ze směsi methanol/voda se získá ve formě bílé pevné hmoty požadovaný produkt (609,5 g). ¹H-NMR

(CDCl₃) δ 1,50 (s, 9H), 2,53 (d, 1H), 2,70 (br s, 2H), 2,88 (br s, 1H), 3,31 (m, 2H), 3,97 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,46 (br s, 1H), 4,63 (br s, 1H), 7,06 (m, 2H), 7,51 (m, 1H), 8,34 (m, 1H).

C. 3a-pyridin-2-ylmethyl-2-(2,2,2-trifluorethyl)-
-2,3a,4,5,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-3-on

K roztoku produktu připraveného ve stupni B (10 g, 24,2 mmol) v CH₂Cl₂ (100 ml) se během 30 minut přidá po kapkách kyselina methansulfonová (11,6 g, 121 mmol). Reakční směs se míchá asi 1 hodinu, pak se ochladí na 0 °C a přidávací nálevkou se přidá triethylamin (18,6 ml, 133,1 mmol). Směs se pak nechá ohřát během asi 1 hodiny na teplotu místnosti, zředí se dalším podílem CH₂Cl₂, promyje se nasyceným vodným NaCl, vysuší se Na₂SO₄ a filtrací a zahuštěním ve vakuu se ve formě bílé pevné hmoty požadovaný produkt (7,2 g). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2,51-2,72 (m, 4H), 3,35 (m, 2H), 3,49 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 7,08 (d, 2H), 7,51 (t, 1H), 8,37 (d, 1H).

D. 3a-pyridin-2-ylmethyl-2-(2,2,2-trifluorethyl)-
-2,3a,4,5,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-3-on-(D)-tartrat

Ke sloučenině připravené ve stupni C (243 g, 0,78 mol) ve směsi aceton/voda (9:1, 2430 ml) v suché baňce s kulovým dnem objemu 5 l opatřené mechanickým míchadlem, se v atmosféře dusíku při teplotě asi 17 °C přidá kyselina D-(-) vinná (129 g, 0,86 mol). Připravená směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, zfiltruje se, oddělí se pevná hmota která se promyje chladným acetonem a vysuší se ve vakuu. Produkt se získá ve formě žluté pevné hmoty (284 g, výtěžek 78,8 %).

E. 2-terc.butoxykarbonylamino-3-(2,4-difluor-benzyloxy)-
-propionová kyselina

K roztoku N-Boc-(D)-serinu (452 g, 2,2026 mol) ve směsi THF (7 l) a DMF (3 l) se při teplotě asi 0 °C přidá roztok terc.butoxidu draselného (515,8 g, 4,5963 mol). Reakční směs se pak míchá při asi 0 °C asi 30 minut a potom se přidá 2,4-difluorbenzylbromid (456,5 g, 2,2051 mol). Reakční směs se pak ohřeje na teplotu místnosti a zahustí se ve vakuu aby se odstranil THF. Potom se reakční směs rozdělí mezi 4,5 l H₂O a 4,5 l IPE. Vrstvy se oddělí a pH vodné vrstvy se upraví 1 N HCl na asi 3. Vodná vrstva se pak dvakrát extrahuje vždy 4 l podíly IPE. Organická vrstva se pak vysuší Na₂SO₄ a zahuštěním ve vakuu se získá žlutý voskovitý pevný produkt (518,0 g, výtěžek: 70,9 %). ¹H-NMR (CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 3,73 (m, 1H), 3,94 (d, 1H), 4,44 (br s, 1H), 4,54 (s, 2H), 5,34 (m, 1H), 6,78 (m, 1H), 6,84 (m, 1H), 7,30 (m, 1H).

F. Methansulfonat 2-amino-3-(2,4-difluor-benzyloxy)-propionové kyseliny,

K roztoku produktu připraveného ve stupni E (1,19 g, 3,59 mmol) v CH₂Cl₂/IPE (1:1, 12 ml) se přidá během asi 10 minut injekční stříkačkou kyselina methansulfonová (1,72 g, 17,95 mmol). Z roztoku se ihned sráží pevný produkt reakce. Za asi 1 hodinu se pevný podíl odfiltruje a promytím směsí CH₂Cl₂/IPE (1:1) se získá 939 mg produktu (výtěžek 80 %).

G. 2-(2-terc.butoxykarbonylamino-2-methyl-propionyl-amino)-3-(2,4-difluor-benzyloxy)-propionová kyselina

K roztoku připravenému ve stupni F (520 mg, 1,46 mmol) ve směsi THF/voda (4:1, 10 ml) se přidá 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl-ester 2-terc.butoxykarbonyl-amino-2-methyl-propionové kyseliny (438 mg, 1,46 mmol) a triethylamin (369 mg, 3,65 mmol). Reakční směs se míchá asi 1 hodinu při teplotě

místnosti a pak se zalije 10% vodným roztokem kyseliny citronové (10 ml). Po asi 15 minutách se přidá ethylacetat (50 ml), organická vrstva se oddělí a promyje se nasyceným vodným NaCl, vysuší se Na₂SO₄ a zahuštěním ve vakuu se získá pěna (534,1 mg, výtěžek 88 %). ¹H-NMR (CD₃OD) δ 1,38 (br s, 15H), 3,77 (d, 1H), 3,92 (d, 1H), 4,52 (m, 3H), 6,92 (m, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,58 (d, 1H).

H. Terc.butylester (1-{1-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-[3-oxo-3a-pyridin-2-ylmethyl-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl]-ethylkarbamoyl}-1-methyl-ethyl)-karbamové kyseliny

a) K roztoku sloučeniny připravené ve stupni D (517 g, 1,12 mol) v suché baňce s kulovým dnem opatřené mechanickým míchadlem a za promývání dusíkem se při asi -6 °C přidá ethylacetat (5170 ml). Připravený roztok se pak ochladí na asi -40 °C a potom se během asi 45 minut přidá triethylamin (398 ml, 2,86 mol). Reakční směs se pak míchá asi 90 minut při teplotě v rozmezí asi -50 °C až asi -40 °C, zfiltruje se do baňky s kulovým dnem objemu 22 l promývané dusíkem a po promytí ethylacetatem (2068 ml, předem ochlazený na asi -50 °C) se získá volné baze ve formě bílé pevné hmoty.

b) K ethylacetatovému roztoku produktu připraveného ve stupni H(a), triethylaminu (654 ml, 4,69 mol) a PPAA (cyklický anhydrid 1-propanfosfonové kyseliny) (50% roztok v ethylacetatu, 916 ml, 1,53 mol) se přidá při asi -30 °C sloučenina připravená ve stupni G (425 g, 1,02 mol). Reakční směs se míchá asi 1 hodinu, promyje se vodou, nasyceným vodným NaCl, vysuší se Na₂SO₄ a zahuštěním ve vakuu se získá požadovaný produkt ve formě oleje (636 g, výtěžek: 87,8 %).

I. 2-amino-N-{1-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-[3-oxo-3a-pyridin-2-ylmethyl-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl]-ethyl}-2-methyl-propionamid

K produktu připravenému ve stupni H (566 g, 0,796 mol) v roztoku CH_2Cl_2 (11320 ml) v suché baňce s kulovým dnem objemu 22 l promývané dusíkem a opatřené mechanickým míchadlem se přidá při teplotě asi 15 °C po kapkách kyselina methansulfonová. Směs se pak míchá asi 40 minut při asi 20 °C a pak se přidá nasycený vodný NaHCO_3 k úpravě hodnoty pH na asi 7,8 (8,490 ml). Organická vrstva se oddělí, promyje se vodou a nasyceným vodným NaCl , vysuší se Na_2SO_4 a zahuštěním ve vakuu se získá olejovitý produkt (388,8 g, výtěžek 80 %).

J. 2-amino-N-{1-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-[3-oxo-3a-pyridin-2-ylmethyl-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl]-ethyl}-2-methyl-propionamid-L-(+)-tartrat

K roztoku produktu připraveného ve stupni I (370 g, 0,6 mol) v methanolu (4070 ml) v baňce s kulovým dnem objemu 12 l opatřené mechanickým míchadlem se přidá kyselina L-(+)-vinná. Reakční směs se míchá asi 90 minut při asi 22 °C, potom se zfiltruje a zahustí se. Surový zbytek se zředí ethylacetatem (4560 ml), zahřeje se na asi 70 °C a během asi 17 hodin se pomalu nechá vychladnout na teplotu místnosti. Pevný produkt se odfiltruje a vysušením se získají bílé krystaly o t.t. 188-189 °C (348,46 g, výtěžek 76 %). $^1\text{H-NMR}$ (MeOH, d_4) δ : 8,28 (d, 1H), 7,59 (t, 1H), 7,41-7,39 (m, 1H), 7,18-7,13 (m, 1H), 6,92 (t, 1H), 5,2 (t, 1H), 4,56 (bs, 3H), 4,36 (s, 2H), 4,31-4,25 (m, 1H), 4,13-4,06 (m, 1H), 3,78 (d, 2H), 3,21 (t, 1H), 3,18-

2,96 (m, 2H), 2,65-2,55 (m, 2H), 1,57 (d, 6H). MS: MH^+ 611.
 $[a]^{589} +22,03$ ($c=11,9$, MeOH).

Následující stanovení lze použít ke zjištění, že kombinace a způsoby podle vynálezu vedou ke zvýšení množství tělesné svaloviny a snížení množství tělesného tuku, zatímco od podávání samotného prostředku podporujícího sekreci GH lze očekávat snížení množství tělesného tuku beze změny množství svaloviny a od podávání samotného SERM lze očekávat zvýšení jak množství svaloviny tak množství tělesného tuku. A dále, že uvedená kombinace zvyšuje hustotu kostí a snižuje celkové množství cholesterolu v séru.

Příklad 2

Samice krys S-D (Harlan) o stáří 3,5 měsíce se simulovaně operují nebo ovariectomizují (OVX). S podáváním léčiv se počne ve stáří krys 9 měsíců, tj. 5,5 měsíce po operaci. Simulovaně operovaným krysám se denně po dobu 4 týdnů podává sondou vehikulum (10% ethanol ve vodě), zatímco OVX krysám se podává vždy denně sondou vehikulum, nebo denní dávka 5 mg/kg/den samotného 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamidu, nebo denní dávka 0,1 mg/kg/den samotného (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu nebo se současně ošetří jak 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamidem tak (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olem. Ve skupině s kombinovaným ošetřováním se 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxy-

methylyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid podává 2 hodiny před podáním (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-olu. Každá podskupina zahrnuje 8 až 10 krys. Všem krysám se podá vždy 13 a 3 den před pitvou 10 mg/kg kalceinu (Sigma Chemical Co., St.Louis, MO) subkutánní injekcí. Pracovníkům zkušeným v oboru bude zřejmé, že sloučeniny použité ve výše uvedených stanoveních lze podávat ve formě jejich farmaceuticky přijatelných solí, a že jejich dávku lze snadno určit přepočtem na základě poměru molekulové hmotnosti formy soli a základní sloučeniny.

Před pitvou, konečný den pokusu, se všechny krysy anestežují ketaminem/xylazinem a provede se stanovení množství tělesné svaloviny a tuku pomocí rentgenové absorpční spektrometrie s duálním zářením (DXA, QDR-1000/W, Hologic Inc., Waltham, MA) opatřené softwarem "Rat Whole Body Scan" (Hologic Inc., Waltham, MA). Pak se provede pitva a punkcí srdce se odebere krev. Celková hladina cholesterolu se stanoví kolorimetricky pomocí vysokoúčinného stanovení příslušnou soupravou pro stanovení cholesterolu (Boehringer Mannheim Biochemicals, Indianapolis, IN). Přírůstek tělesné hmotnosti se vypočte z rozdílů tělesných hmotností v den pitvy a v den 0. V okamžiku pitvy se rovněž zjistí hmotnost dělohy v mokrém stavu.

Při pitvě se každé kryse vyjme stehenní kost a podrobí hodnocení pomocí rentgenové absorpční spektrometrie s duálním zářením (DXA, QDR-1000/W, Hologic Inc., Waltham, MA) opatřené softwarem "Regional High Resolution Scan" (Hologic Inc., Waltham, MA). Velikost snímaného pole je 5,08 x 1,902 cm, rozlišení je 0,0254 x 0,0127 cm rychlost snímání je 7,25 mm/s.

Analýza příslušných zobrazení stehenní kosti a celková plocha femorální kosti, její minerální obsah a minerální hustota se stanoví způsobem popsáním v práci autorů Ke H.Z. a sp., Droloxifene, a New Estrogen Antagonist/Agonist, Prevents Bone Loss in Ovariectomized Ratsd; Endocrinology 136;2435-2441, 1995.

Je nutné si uvědomit, že vynález není omezen na výše uvedená jednotlivá provedení vynálezu, ale že jsou možné i různé změny a modifikace, aniž by došlo k odchýlení od myšlenky a rozsahu tohoto nového přístupu definovaného v přiložených patentových nárocích.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Farmaceutická kompozice v y z n a č u j í c í s e t í m ,
že obsahuje:

a) první sloučeninu, kde uvedená první sloučenina je
(-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-
-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky
přijatelná sůl; a

b) druhou sloučeninu, kde uvedená druhá sloučenina je
2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-
-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-
-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-
-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Farmaceutická kompozice podle nároku 1
v y z n a č u j í c í s e t í m , že navíc obsahuje
farmaceuticky přijatelný nosič.

3. . Farmaceutická kompozice podle nároku 1
v y z n a č u j í c í s e t í m , že první sloučeninou je
(-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-
-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol-D-tartrat a uvedenou druhou
sloučeninou je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-
-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-
-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-
-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid-L-tartrat.

4. Způsob léčby savce trpícího muskuloskeletární fragilitou v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání farmaceutické kompozice podle nároku 1 uvedenému savci.
5. Způsob podle nároku 4 v y z n a č u j í c í s e t í m , že první sloučeninou je (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol-D-tartrat a druhou sloučeninou je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid-L-tartrat.
6. Způsob podle nároku 4 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený savec je postižený osteoporózou.
7. Způsob podle nároku 4 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený savec je postižený osteotomií, idiopatickým úbytkem kostní hmoty v dětském věku nebo úbytkem kostní hmoty spojeným s periodontitidou.
8. Způsob podle nároku 4 v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje hojení kosti po rekonstrukci obličeje, rekonstrukci horní čelisti nebo rekonstrukci dolní čelisti, vyvolání vertebrální synostózy nebo podpoření prodloužení dlouhé kosti, podpoření rychlosti hojení při použití kostního štěpu nebo podpoření vrůstání protetiky.
9. Způsob podle nároku 8 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedeným způsobem se léčí fraktura kosti člověka.
10. Způsob podle nároku 6 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedeným způsobem se léčí osteoporóza člověka.

11. Způsob léčby savce trpícího muskuloskeletární fragilitou v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání uvedenému savci:

a) první sloučeniny, kde uvedená první sloučenina je (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl; a

b) druhé sloučeniny, kde uvedená druhá sloučenina je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

12. Způsob podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m , že první a druhá sloučenina se podávají v podstatě současně.

13. Způsob podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m , že druhá sloučenina se podává po dobu od asi 3 měsíců do asi tři let.

14. Způsob podle nároku 13 v y z n a č u j í c í s e t í m , že následuje podávání první sloučeniny po dobu od asi tři měsíců do asi tři let bez podávání druhé sloučeniny během uvedeného období od asi tři měsíců do asi tři let.

15. Způsob podle nároku 13 v y z n a č u j í c í s e t í m , že následuje podávání první sloučeniny po dobu delší než asi tři roky bez podávání druhé sloučeniny během uvedeného období delšího než asi tři roky.

16. Způsob podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený savec je postižený osteoporózou.

17. Způsob podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený savec je postižený osteotomií, idiopatickým úbytkem kostní hmoty v dětském věku nebo úbytkem kostní hmoty spojeným s periodontitidou.

18. Způsob podle nároku 11 v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje hojení kosti po rekonstrukci obličeje, rekonstrukci horní čelisti nebo rekonstrukci dolní čelisti, vyvolání vertebrální synostózy nebo podpoření prodloužení dlouhé kosti, podpoření rychlosti hojení při použití kostního štěpu nebo podpoření vrůstání protetiky.

19. Způsob podle nároku 18 v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedeným způsobem se léčí fraktura kosti člověka.

20. Způsob zvýšení množství svaloviny u savce kterého je potřebné léčit v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání množství kompozice podle nároku 1, které je účinné pro zvýšení množství svaloviny u uvedeného savce.

21. Souprava v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje

a) (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo v první jednodávkové lékové formě; a

b) 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo v druhé jednodávkové lékové formě; a

c) obal.

23. Použití farmaceutické kompozice podle nároku 1 k přípravě léčiva určeného k léčbě savce trpícího muskuloskeletární fragilitou.
24. Použití podle nároku 23, kde uvedenou první sloučeninou je (-)-cis-6-fenyl-5-(4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-fenyl)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol-D-tartrat a uvedenou druhou sloučeninou je 2-amino-N-(1-(R)-(2,4-difluor-benzyloxymethyl)-2-oxo-2-(3-oxo-3a(R)-pyridin-2-ylmethyl)-2-(2,2,2-trifluor-ethyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydro-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-ethyl)-2-methyl-propionamid-L-tartrat.
25. Použití podle nároku 23, kde uvedený savec trpí osteoporózou.
26. Použití podle nároku 23, kde uvedený savec trpí osteotomií, idiopatickým úbytkem kostní hmoty v dětském věku nebo úbytkem kostní hmoty spojeným s periodontitidou.
27. Použití podle nároku 23, kde léčba zahrnuje hojení kosti po rekonstrukci obličeje, rekonstrukci horní čelisti nebo rekonstrukci dolní čelisti, vyvolání vertebrální synostózy nebo podpoření prodloužení dlouhé kosti, podpoření rychlosti hojení při použití kostního štěpu nebo podpoření vrůstání protetika.
28. Použití podle nároku 27, kde se léčí fraktura kosti člověka.
29. Použití podle nároku 25 kde léčí osteoporóza člověka.