



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61080 (13) C2

(51) 7 A61K31/135,31/55,31/445,
31/535,31/40,31/495,31/35,C07D211/14,211
/70,C07C211/29,211/41,211/52,211/40

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЦИС-N-ЦИКЛОГЕКСИЛ-N-ЕТИЛ-[3-(3-ХЛОР-4-ЦИКЛОГЕКСИЛФЕНІЛ)АЛІЛ]АМІН АБО ОДНА З ЙОГО ФАРМАЦЕВТИЧНО ПРИЙНЯТНИХ СОЛЕЙ АБО СОЛЬВАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ХВОРОБ, ВИКЛИКАНИХ ПРОЛІФЕРАЦІЄЮ ПУХЛИННИХ АБО РАКОВИХ КЛІТИН

1

2

(21) 99021083

(22) 28 07 1997

(24) 17 11 2003

(86) PCT/FR97/01409, 28 07 1997

(31) 96/09531

(32) 29 07 1996

(33) FR

(46) 17 11 2003, Бюл. № 11, 2003 р

(72) Брельєр Жан-Клод, FR, Феррара Паскуаль, FR, Лебутейє Крістін, FR, Поль Раймон, FR, Розенфельд Хорхе, FR, Ван Брук Дідьє, FR

(73) САНОФІ - СИНТЕЛЯБО, FR

(56) SILVE ET AL "The immunosuppressant SR 31747 blocks cell proliferation by inhibiting a steroid isomerase in *Saccharomyces cerevisiae*" MOL CELL BIOL, vol 16, no 6, juin 1996, pages 2719-2727

CASELLAS ET AL "Immunopharmacological profile of SR 31747 In-vitro and in-vivo studies on humoral and cellular responses" J NEUROIMMUNOL, vol 52, no 2, juillet 1994,

VILNER ET AL "Cytotoxic effects of sigma ligands sigma receptor-mediated alterations in cellular morphology and viability" J NEUROSCI, vol 15, no 1, janvier 1995, pages 117-134

BRENT ET AL "Sigma-binding site ligands inhibit cell proliferation in mammary and colon carcinoma cell lines and melanoma cells in culture" EUR J PHARMACOL, vol 278, no 2, 15 mai 1995, pages 151-160

EP 0 461 986 A (SANOFI SA) 18 decembre 1991

EP 0 707 004 A (ADIR) 17 avril 1996

EP 0 376 850 A (SANOFI SA) 4 juillet 1990

FR 2 249 659 A (CLIN MIDY) 30 mai 1975

FR 2 455 889 A (MAGGIONI FARMACEUTICI) 5 decembre 1980

FR 2 016 169 A (SCHERICO LTD) 8 mai 1970

FR 2 132 547 A (ETABLISSEMENTS CLIN-BYLA) 24 novembre 1972

US 4 537 902 A (E J CRAGOE) 27 aout 1985

BOURRIE ET AL "A sigma ligand, SR 31747A, potently modulates Staphylococcal enterotoxin B-induced cytokine production in mice" IMMUNOLOGY, vol 88, no 3, Juillet 1996 pages 389-393

(57) 1 Застосування цис-N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]аміну або однієї з його фармацевтично прийнятних солей або сольватів для одержання фармацевтичної композиції, призначеної для лікування хвороб, викликаних проліферацією пухлинних або ракових клітин

2 Застосування за п 1, яке відрізняється тим, що проліферація клітин є гормонозалежною

3 Застосування за п 1, яке відрізняється тим, що проліферація клітин є гормононезалежною

4 Застосування за пп 1-3 для одержання фармацевтичної композиції, призначеної для лікування таких захворювань як гліобластома, нейробластома, лімфома, міелома, лейкемія, карцинома ободової кишки, колоноректальна, епітеліальна, гепатокарцинома, карцинома легені, молочної залози, яєчників, підшлункової залози або простати

5 Фармацевтична композиція призначена для лікування захворювань, викликаних проліферацією пухлинних або ракових клітин, що містить активний інгредієнт і фармацевтично прийнятний наповнювач, яка відрізняється тим, що як активний інгредієнт вона містить цис-N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін або одну з його фармацевтично прийнятних солей або сольватів в ефективній кількості

6 Фармацевтична композиція за пунктом 5, яка відрізняється тим, що вона призначена для лікування таких захворювань як гліобластома, нейробластома, лімфобластома, міелома, лейкемія, карцинома ободової кишки, колоноректальна, епітеліальна, гепатокарцинома, карцинома легені, молочної залози, яєчників, підшлункової залози або простати

(13) C2

(11) 61080

(19) UA

Даний винахід стосується нового застосування сполук, що мають придатну спорідненість до рецепторів, на яких фіксується цис-N-циклогексил-N-етил-[5-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін, а також до нових сполук, що мають такі ж властивості.

Цис-N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін, відомий під кодовою назвою CM 31747 або SR 31747 і що позначається нижче як "SR 31747", описується в європейському патенті 376850, в якому констатується його імуносупресивна активність.

Виявлено, що SR 31747 запобігає проліферацію ракових клітин і, отже, виявляє протипухлинну активність.

Більш того, було виявлено, що SR 31747 має рецепторні ділянки в цих клітинах.

Нарешті, було виявлено, що будь-який продукт, здатний витискати мічений тритієм SR 31747 із його рецепторів у пухлинних клітинах, запобігає проліферацію клітин. Зокрема, встановлено, що сполуки, здатні витискати мічений тритієм SR 31747 (нижче називається як ^3H -SR 31747) із його рецепторних ділянок, мають антипроліферативну клітинну активність.

Таким чином, згідно з одним з аспектів, даний винахід стосується застосування сполук, здатних витискати мічений тритієм цис-N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін із його рецепторів, для одержання фармацевтичних композицій, призначених для надання протидії проліферації клітин. Здатність передбачених для застосування згідно з даним винаходом сполук витискати мічений тритієм SR 31747 із його рецепторів, можна легко визначати біохімічним шляхом за допомогою ^3H -SR 31747 і його фіксації в клітинах.

Це визначення можна здійснювати при використанні обраних відповідним чином пухлинних клітин, переважно серед ліній клітин, які легко проліферують *in vitro*, як наприклад, клітини мієлом людини, раку нирки або легень людини, або ще при використанні клітин раку молочної залози.

В цілях можливості здійснення визначень у стандартних умовах, що дозволяють одержувати постійні і відтворені результати, згідно з контекстом даного винаходу доволіно вибирають лінію клітин пухлини молочної залози людини "MCF-7".

Також, згідно з контекстом даного винаходу, доволіно вибирають ^3H -SR 31747, в якому тритій фіксований на вініленовому зв'язку, однак, SR 31747 може бути маркований будь-яким способом, тому що мітка служить тільки для того, щоб стежити за витисненням продукту з його рецепторів.

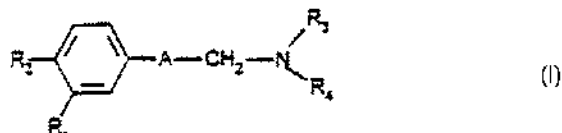
Визначення здатності витискати ^3H -SR 31747 із його рецепторів, що знаходяться в клітинах, особливо у випадку лінії клітин MCF-7, здійснюють шляхом проведення дослідів по загальному зв'язуванню і специфічному зв'язуванню.

Згідно з даним винаходом, будь-який продукт, який, підданий попередній вищевказаній операції, здатний витискати ^3H -SR 31747 із його рецепторів, може бути використаний для одержання фармацевтичних композицій проти проліферації клітин.

SR 31747, по-перше, здатний витискати ^3H -SR 31747 із його рецепторів і має високу інгібуючу активність щодо проліферації клітин.

Зокрема, предметом даного винаходу є застосування сполуки, здатної витискати мічений тритієм цис-N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін із його рецепторів, що вибирається з групи, яка складається з

а) амінів формули (I)



в якій

R₁ означає атом водню або атом галогену,

R₂ означає циклогексил,

R₃ означає циклоалкіл із 3-6 атомами вуглецю,

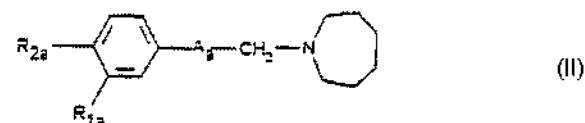
R₄ означає атом водню, алкіл із 1-6 атомами вуглецю або циклоалкіл із 3-6 атомами вуглецю,

A означає групу, що вибирається серед таких груп

-CO-CH₂-, -CH(Cl)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH=CH-, -C=C-,

б) фармацевтичне прийнятих солей приєднання амінів формули (I),

в) амінів формули (II)



в якій

A_a означає групу, що вибирається серед таких груп

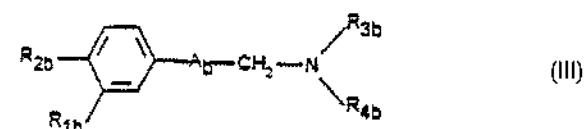
-CO-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-, -CH=CH-, -C=C-,

R_{1a} означає водень або галоген,

R_{2a} означає циклогексил,

г) фармацевтичне прийнятих солей приєднання кислот амінів формули II,

д) амінів формули (III)



в якій

R_{1b} - означає атом водню або атом галогену,

R_{2b} означає циклогексил,

R_{3b} означає атом водню або алкільної групи з 1-3 атомами вуглецю,

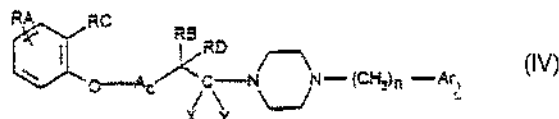
R_{4b} означає алкільну групу з 1-3 атомами вуглецю, однаково або такою, що відрізняється від алкільної групи в значенні радикала R_{3b},

R_{3b} і R_{4b}, розглянуті разом, можуть утворювати разом з атомом азоту, із яким вони зв'язані, 5-7-членну гетероциклічну групу, що вибирається серед піперидино-, морфоліно- і піролідіногруп,

A_b означає групу -CH₂CH₂- або -CH=CH-,

е) фармацевтичне прийнятих солей приєднання кислот амінів формули (III),

є) амінів формули (IV)



в якій

Ar₁ означає фенільну, нафтильну, заміщену фенільну або заміщену нафтильну групу,

n означає ціле число, включаючи числа від 1 до 4,

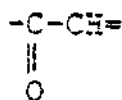
RB означає алкільну групу, і в цьому випадку Ar₂ означає простий зв'язок, і

RA і RC, однакові або різні, незалежно один від одного означають атом водню або групу, що вибирається поміж атомів галогену, алкілу, заміщеного одним або декількома атомами галогену алкілу й алкоксилу, або

RB і RC разом утворюють місток $-(CH_2)_p-$, де p означає 0, 1 або 2, і в цьому випадку RA означає гідроксильну або алкоксильну групу, що знаходиться в положенні 5 ароматичного циклу, що містить її, або RA означає атом водню або галогену в будь-якому положенні ароматичного циклу, або

RB і RC разом утворюють місток $-CH=$, і зв'язок, яким він зв'язаний з ароматичним циклом, є простим зв'язком, і в цьому випадку Ar₂ означає метиленову групу, а RA означає атом водню, гідроксильну або алкоксильну групу, що знаходиться в положенні 5 ароматичного циклу, що містить її, або

RB і RC разом утворюють зв'язок і тоді Ar₂ означає групу формули



причому карбоніл зв'язаний із киснем і сусідній зв'язок Ar₂ з атомом вуглецю, що містить бічний ланцюг, є подвійним зв'язком, і в цьому випадку RA означає атом водню або гідроксильну або алкоксильну групу,

коли RB означає алкільну групу, кожний із X і Y означає атом водню або разом із атомом вуглецю, що їх містить, вони утворюють групу $C=O$, і RD означає атом водню або алкільну групу,

коли RB і RC утворюють місток, кожний із X і Y означає атом водню і RD, який існує тільки тоді, коли всі зв'язки несучого його атома вуглецю є простими зв'язками, означає атом водню,

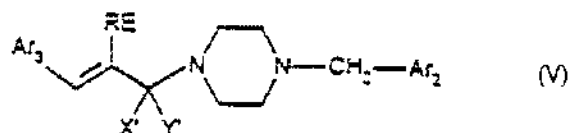
за умови, що

- терміни "алкіл" і "алкоксил" означають лінійні або розгалужені насичені групи з 1-6 атомами вуглецю,

- термін "заміщений", що відноситься до фенільного і нафтильного замісників, означає, що вони можуть бути заміщені 1-3 групами, що вибираються серед гідроксилу, алкілу, заміщеного одним або декількома атомами галогену алкілу, алкоксилу і галогену,

ж) фармацевтичне прийнятних солей і сольватів амінів формули (IV),

з) амінів формули (V)



в якій

Ar₂ і Ar₃, однакові або різні, незалежно один від одного означають фенільну групу, або нафтил або феніл, заміщений 1-3 групами, що вибираються серед гідроксилу, (C_1-C_6) -алкілу, алкоксилу, галогену й алкілу, і заміщеного одним або декількома атомами галогену алкілу,

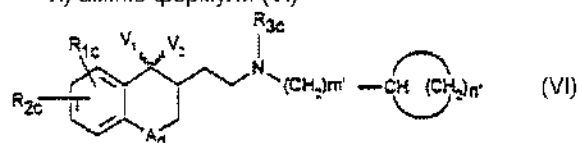
кожний із X' і Y' означає атом водню або разом вони утворюють оксогрупу,

RE означає (C_1-C_6) -алкільну групу,

їх ізомерів в індивідуальній формі або у вигляді суміші,

і) фармацевтичне прийнятних солей і сольватів амінів формули (V),

п) амінів формули (VI)



в якій

R_{3c} означає водень або (C_1-C_3) -алкіл,

R_{1c} і R_{2c}, однакові або різні, вибирають поміж водню, гідроксилу, (C_1-C_3) -алкілу, (C_1-C_3) -алкоксилу, галогену і ціаногрупи,

V1 і V2 разом утворюють подвійний зв'язок, зв'язаний з атомом кисню або з гідроксиміногрупою N-OH, або вони з'єднані у етилендіоксигрупу $-O-CH_2-CH_2-O-$,

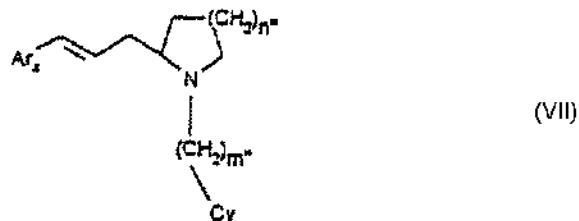
Ad означає валентний зв'язок, атом кисню, метиленову групу або ж етиленову групу,

m' означає нуль, 1 або 2,

n' означає ціле число від 1 до 5,

і) фармацевтичне прийнятних солей приєднання кислот амінів формули (VI),

к) амінів формули VII



в якій

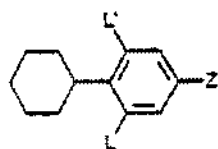
m' і n' означають 1 або 2,

Cy означає (C_3-C_7) -циклоалкіл,

Ar означає арил або гетероарил, що вибирається поміж фенілу, нафтилу і тієнілу, можливо моно- до тризамщеного галогеном, трифторметилом, (C_1-C_3) -алкілом, (C_1-C_3) -алкоксилком,

л) фармацевтично прийнятних солей приєднання кислот амінів формули (VII),

м) амінів формули (VIII)



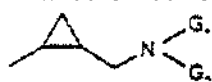
(VIII)

в якій

один із L і L' означає водень, а інший вибирають поміж водню, фтору, хлору або нітрогрупи, або кожний з обох L і L' означає атом хлору,

Z означає

(i) групу структури (1)



(1)

в якій

G₁ означає (C₁-C₆)-алкіл або (C₃-C₇)-циклоалкіл,

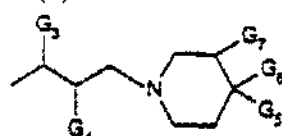
G₂ означає (C₁-C₆)-алкіл, (C₃-C₈)-циклоалкіл- (C₁-C₃)-алкіл, (C₃-C₇)-циклоалкіл,

фенільний, бензильний, фенетильний радикал, можливо заміщений у бензольній групі радикала галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

або ж G₁ і G₂ разом з атомом азоту, із яким вони зв'язані, утворюють насичений гетероцикл такий, що має один атом азоту і містечкову або спиро-структуру, із 5-10 атомами вуглецю, морфоліногрупу, піперазіногрупу, незаміщену або заміщену в положенні 4 (C₁-C₄)-алкілом, фенільним, бензильним або фенетильним радикалом, причому бензольна група може бути заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою, групу, що вибирається поміж 4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин-1-ільного радикала, 4-фенілпіперидиногрупи, 4-бензилпіперидиногрупи, 4-фенетилпіперидиногрупи, причому фенільна група вищевказаних радикалів може бути не заміщена або заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

(ii) групу структури (2)

(iii)



(2)

в якій

G₃ означає водень або гідроксил,

G₄ означає водень, або G₃ і G₄ разом утворюють один або два зв'язки так, що разом з атомами вуглецю, із якими вони зв'язані, вони утворюють винільну групу або етинільну групу,

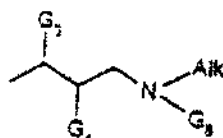
G₅ означає групу, що вибирається поміж фенільного, бензильного, фенетильного радикалів, причому бензольна група вищевказаних радикалів може бути не заміщена або заміщена атомом галогену, метоксигрупою або нітрогрупою,

G₆ означає гідроксильну групу або водень,

G₆ і G₇ означають водень або можуть утворювати зв'язок,

або G₅ і G₈ разом утворюють n-пентипенову групу,

(iii) групу структури (3)



(3)

в якій

G₃ і G₄ мають вищевказані значення,Alk означає (C₁-C₆)-алкіл або (C₃-C₆)-алкеніл,

G₈ означає 1-адамантил, (C₃-C₇)-циклоалкіл, (C₃-C₇)-циклоалкіл-(C₁-C₃)-алкіл або групу, що вибирається серед фенільного, бензильного, 2-фенетильного радикалів, причому бензольна група вищевказаних радикалів може бути не заміщена або заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

або Alk і G₈, однакові або різні, означають (C₄-C₆)-алکیلну групу,

причому G₈ не означає (C₃-C₆)-циклоалкіл, коли L означає водень або атом фтору або хлору, L' означає водень і Alk означає (C₁-C₆)-алкіл,

(н) фармацевтично прийнятних солей і сольватів амінів формули (VIII)

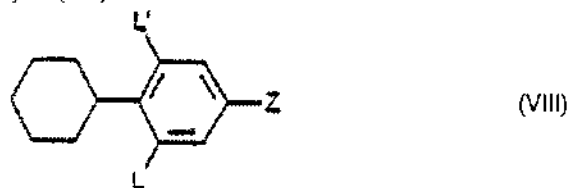
Сполуки, застосування яких заявлено згідно з даним винаходом, частково описані в літературі. Зокрема, аміни формули (I) і їх фармацевтично прийнятні солі описуються в європейському патенті 376 850, вищевказані аміни можуть бути одержані, як проілюстровано в цьому документі, і виділені у формі основи, солей і/або сольватів. Аміни формули (II) і їх фармацевтично прийнятні солі описуються в європейському патенті 461 986, вищевказані аміни можуть бути одержані, як проілюстровано в цьому документі, і виділені у формі основи, солей і/або сольватів. Аміни формули (III) і їх фармацевтично прийнятні солі описуються в патенті Франції 2 249 659, ці аміни можуть бути одержані, як проілюстровано в цьому документі, і виділені у формі основи, солей і/або сольватів. Аміни формули (IV) і їх фармацевтично прийнятні солі описуються в європейському патенті 702 010, ці аміни можуть бути одержані, як проілюстровано в цьому документі, і виділені у формі основи, солей і/або сольватів. Аміни формули (V) і їх фармацевтично прийнятні солі описуються в європейському патенті 707 004, вищевказані аміни можуть бути одержані, як проілюстровано в цьому документі, і виділені у формі основи, солей і/або сольватів. Аміни формули (VI) і їх фармацевтично прийнятні солі описуються в європейському патенті 581 677, зазначені аміни можуть бути одержані, як проілюстровано в цьому документі, і виділені у формі основи, солей і/або сольватів. Аміни формули (VII) і їх фармацевтично прийнятні солі описуються в міжнародній заявці 95/15 948, зазначені аміни можуть бути одержані, як проілюстровано в цьому документі, і виділені у формі основи, солей і/або сольватів.

Сполучення груп (м) і (н), що представляють особливий інтерес, є новими і складають наступний аспект винаходу.

Таким чином, винахід також стосується нових сполук, що витискають ³H-SR 31747 із його рецепторів і мають значні антипроліферативні властивості, і фармацевтичних композицій, що їх містять.

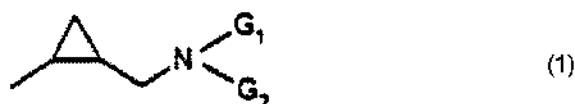
Більш конкретно, об'єктом винаходу є амін, що

вибирається поміж таких сполук (А) сполуки формули (VIII)



в якій один із L і L' означає водень, а інший вибирають поміж водню, фтору, хлору або нітрогрупи, або ж обидва L і L' означають атом хлору, Z означає

(I) групу структури (1)



в якій

G₁ означає (C₁-C₆)-алкіл або (C₃-C₇)-циклоалкіл,

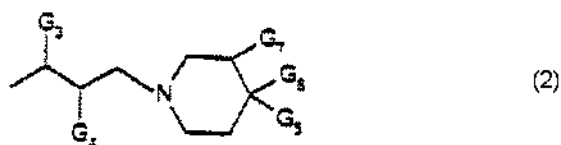
G₂ означає (C₁-C₆)-алкіл, (C₃-C₆)-циклоалкіл, (C₁-C₃)-алкіл, (C₃-C₇)-циклоалкіл,

фенільний, бензильний, фенетильний радикал, можливо заміщений у бензольній групі галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

або ж G₁ і G₂ разом з атомом азоту, із яким вони зв'язані, утворюють насичений гетероцикл, що містить один атом азоту і має містечкову або спіро-структуру із 5-10 атомами вуглецю, морфоліногрупу, піперазіногрупу, незаміщену або заміщену в положенні 4 (C₁-C₄)-алкілом, фенільним, бензильним або фенетильним радикалом, причому бензольна група може бути заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою, групу, що вибирається серед 4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин-1-ільного радикала, 4-фенілпіперидиногрупи, 4-бензилпіперидиногрупи, 4-фенетилпіперидиногрупи, причому фенільна група вищевказаних груп може бути не заміщена або заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

(II) групу структури (2)

(III)



в якій

G₃ означає водень або гідроксил,

G₄ означає водень, або G₃ і G₄ разом утворюють один або два зв'язки так, що разом з атомами вуглецю, із якими вони зв'язані, вони утворюють винільну групу або етилієнову групу,

G₅ означає групу, що вибирається поміж фенільного, бензильного, фенетильного радикалів, причому бензольна група вищевказаних радикалів може бути не заміщена або заміщена атомом галогену, метоксигрупою або нітрогрупою,

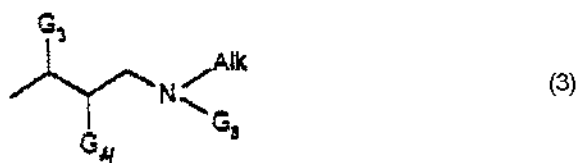
G₆ означає гідроксильну групу або водень,

G₆ і G₇ означають водень або можуть утворювати зв'язок, або ж G₅ і G₆ разом утворюють n-пентилєнову групу,

причому G₆ означає гідроксильну групу і G₅ і

G₇ можуть утворювати зв'язок тільки тоді, коли G₅ має інше значення, ніж можливо заміщений бензил або фенетил,

(III) групу структури (3)



в якій

G₃ і G₄ мають вищевказані значення,

Alk означає (C₁-C₆)-алкіл або (C₃-C₆)-алкєніл,

G₈ означає 1-адамантил, (C₃-C₇)-циклоалкіл, (C₃-C₇)-циклоалкіл-(C₁-C₃)-алкіл або групу, що вибирається серед фенільного, бензильного, 2-фенілетильного радикалів, причому бензольна група вищевказаних радикалів може бути не заміщена або заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

або ж Alk і G₈, однакові або різні, означають (C₄-C₆)-алкільну групу,

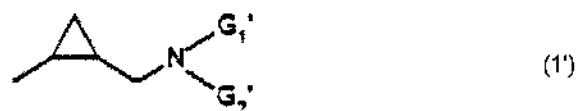
причому G₈ не означає (C₃-C₆)-циклоалкіл, коли L означає водень або атом фтору або хлору, L' означає водень і Alk означає (C₁-C₆)-алкіл,

(Б) фармацевтичне прийнятні солі і сольвати сполук формули (VIII)

В цих нових сполуках формули (VIII) галогеном переважно є хлор або фтор, причому один із L і L' означає водень, а інший є фтором, хлором або нітрогрупою, або ж L і L' є однаковими й означають водень або хлор. Ці сполуки є особливо кращими

Особливо кращими сполуками є сполуки формули (VIII), в якій Z означає

(I') групу структури (1')

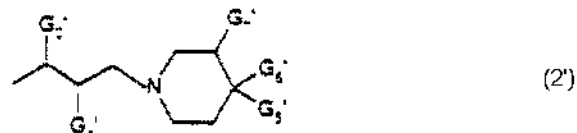


G₁' означає (C₁-C₆)-алкіл або (C₃-C₇)-циклоалкіл,

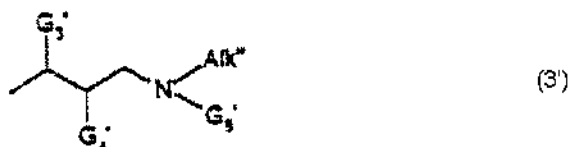
G₂' означає (C₁-C₆)-алкіл, (C₃-C₇)-циклоалкіл, (C₁-C₃)-алкіл, (C₃-C₇)-циклоалкіл або групу, що вибирається серед фенільного, бензильного, 2-фенілетильного радикалів, причому бензольна група вищевказаних радикалів може бути не заміщена або заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

або ж G₁' і G₂' разом з атомом азоту, із яким вони зв'язані, утворюють морфоліногрупу, піролідіногрупу, піперидиногрупу, гексагідрозепіногрупу або групу, що вибирається поміж 4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин-1-ільного радикала, 4-фенілпіперидиногрупи, 4-бензилпіперидиногрупи, 4-фенетилпіперидиногрупи, причому фенільна група вищевказаних груп може бути не заміщена або заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

(I') групу структури (2')

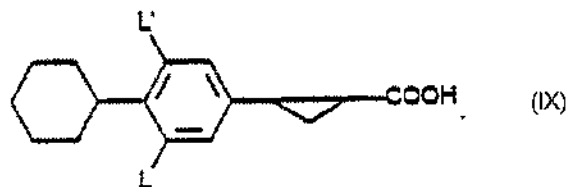


в якій
 G_3' і G_4' означають водень або разом утворюють зв'язок у конфігурації транс або, переважно, цис,
 G_6' і G_7' означають водень, і
 G_5' означає феніл або бензил,
 або ж G_5' і G_6' разом утворюють 1,5-пентиленову групу,
 (iii') групу структури (3')

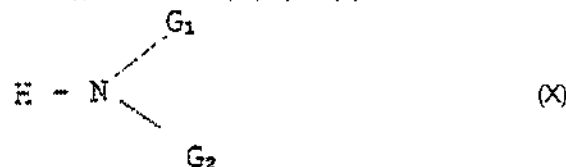


в якій
 G_3' і G_4' мають вищевказані значення,
 Alk'' означає (C_1-C_6) -алкіл,
 G_8' означає 1-адамантильну, фенільну, бензилну або 2-фенілетильну групу, або ж Alk'' і G_8' є однаковими і кожний означає (C_4-C_8) -алкільну групу,

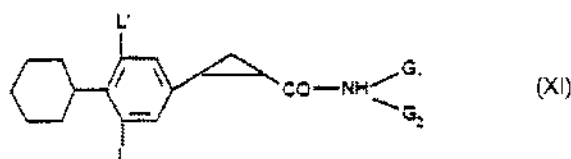
і їх фармацевтичне прийнятні солі і сольвати
 Ці нові сполуки формули (VIII) можуть бути одержані способом, який полягає в тому, що
 - або функціональна похідна циклопропанкарбонної кислоти формули (IX)



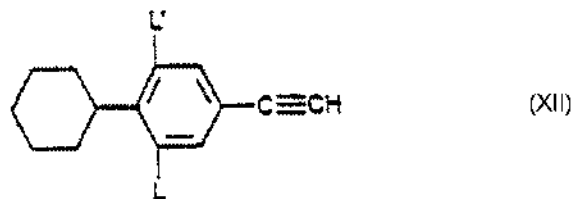
в якій
 L і L' мають вищевказані значення, уводять у взаємодію з аміном формули (X)



в якій
 G_1 і G_2 мають вищевказані значення, і потім у такий спосіб одержаний амід формули (XI)

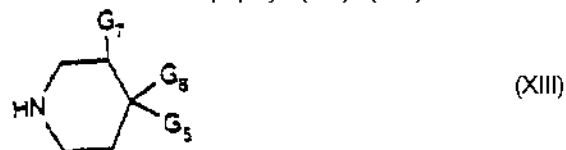


піддають відновленню для виділення амінів формули (VIII), в якій Z означає групу структури (1), у формі вільних основ або їх фармацевтичне прийнятних солей, - або сполуки формули (XII)



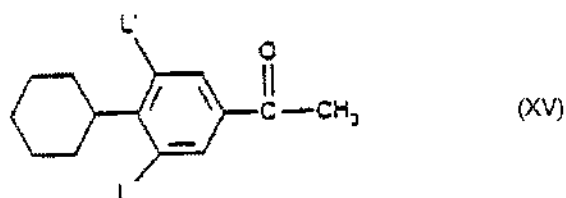
в якій
 L і L' мають вищевказані значення, уводять у

взаємодію з формальдегідом і аміном, що вибирається поміж амінів формул (XIII) і (XIV)

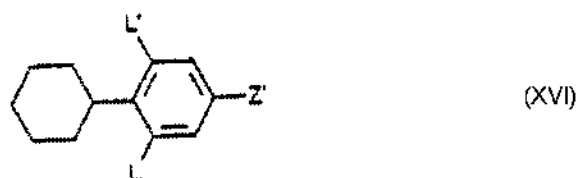


і, у разі потреби, у такий спосіб одержаний продукт формули (VIII), в якій 2 означає групу структури (2) або (3), де G_3 і G_4 разом утворюють два зв'язки так, що з атомами вуглецю, із якими вони зв'язані, вони утворюють етиніленову групу, піддають підруванню за допомогою двох або одного моля водню, щоб виділити відповідну сполуку формули (VIII), в якій Z означає групу структури (2) або (3), де, відповідно, обидва G_3 і G_4 означають атом водню або разом із двома атомами вуглецю, із якими вони зв'язані, утворюють виніленову групу, або, у разі потреби, у такий спосіб одержаний продукт формули (VIII), в якій Z являє собою групу структури (2), де G_5 означає феніл, G_6 означає гідроксил і G_7 означає водень, піддають дегідратації з метою виділення сполук формули (VIII), в якій Z являє собою групу структури (2), де G_5 означає феніл і G_6 і G_7 разом утворюють зв'язок, причому вищевказані сполуки можуть бути виділені у формі вільної основи або однієї з їх фармацевтичне прийнятних солей або одного з їх фармацевтичне прийнятних сольватів,

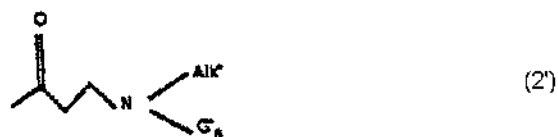
- або ацетофенон формули (XV)

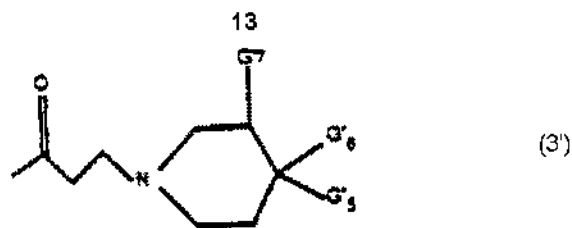


в якій L і L' мають вищевказані значення, вводять у взаємодію з формальдегідом і аміном вищевказаної формули (XIII) або (XIV), потім у такий спосіб одержаний продукт формули (XVI)



в якій L і L' мають вищевказані значення і Z' означає групу структури (2') або (3')





де Alk'' , G_5' , G_6' , G_7' і G_8^1 мають вищевказані значення, піддають реакції відновлення кетогрупи для виділення відповідної сполуки формули (VIII), в якій Z являє собою групу структури (2) або (3), де G_3 означає гідроксил і G_4 означає водень, після чого, у разі потреби, у такий спосіб одержаний продукт формули (VIII), в якій Z являє собою групу структури (2), де G_5 означає феніл, G_6 означає гідроксил і G_7 означає водень, піддають депдратації для виділення сполуки формули (VIII), в якій Z являє собою групу структури (2), де G_5 означає феніл і G_6 і G_7 разом утворюють зв'язок, причому вищевказані сполуки можуть бути виділені у формі вільної основи або однієї з її фармацевтичне прийнятних солей і, у разі потреби, вільні основи формули (VIII) перетворюють у їх фармацевтичне прийнятні соли.

Взаємодію функціональної похідної кислоти формули (IX) з аміном формули (X) здійснюють за класичними методиками для одержання амідів. В якості функціональної похідної кислоти формули (IX) можна використовувати будь-яку, звичайно застосовувану в хімії пептидів сполуку, як, наприклад, хлорангідрид, ангідрид або змішаний ангідрид, наприклад, із моноетиловим ефіром карбонової кислоти (одержуваний шляхом взаємодії кислоти формули (IX) із етилхлорформіатом), активованим складним ефіром або активованим амідом. Коли в якості функціональної похідної використовують хлорангідрид або ангідрид, може бути кращим працювати в присутності третинного аміну, як, наприклад, триетиламіну.

Відновлення сполуки формули (XI) також можна проводити в класичних умовах перетворення амиду в амін, використовуючи в якості відновлювача гідрид металу, такий як літій-алюміній гідрид або боран. Взаємодія між ацетиленовими похідними формули (XII) або ацетофенонами формули (XV) і амінами формул (XIII) і (XIV) у присутності формальдегиду проводять у класичних умовах реакції Манніха.

Відновлення сполук формули (VIII), в якій Z являє собою одну з груп структури (2) або (3), де G_3 і G_4 утворюють два зв'язки, здійснюють шляхом підрування за допомогою одного моля водню для одержання сполук формули (VIII) (Z являє собою групу структури (2) або (3), де G_3 + G_4 утворюють зв'язок цис-конфігурації) або за допомогою двох моль водню для одержання насичених сполук.

Відновлення сполуки формули (XVI) для одержання сполук формули (VIII), в якій Z являє собою одну з груп структури (2) або (3), де G_3 означає гідроксил і G_4 означає водень, здійснюють класичними способами. Коли хочуть одержати гідроксильну сполуку зі специфічною конфігурацією у хірального атома вуглецю, можна використовувати стереоспецифічний відновлювач.

Коли гідроксильована похідна потім повинна бути депдратована для одержання сполуки фор-

мули (VIII), в якій Z являє собою одну з груп структури (2) або (3), де G_3 і G_4 утворюють зв'язок, просторова конфігурація не грає ніякої ролі і відновлення сполуки формули (XVI) може бути здійснено, наприклад, за допомогою боргідриду натрію.

Можливу депдратацію сполуки формули (VIII), в якій Z являє собою одну з груп структури (2) або (3), де G_3 означає гідроксил і G_4 означає водень, здійснюють шляхом нагрівання в присутності агентів або пристроїв, які сприяють видаленню і, або уповільнюванню води, наприклад, використовуючи насадку Діна-Старка.

У такий спосіб одержана насичена сполука формули (VIII) має транс-конфігурацію. Ця сполука у свою чергу може бути гідрована для одержання аміну формули (VIII), в якій Z являє собою одну з груп структури (2) або (3), де G_3 і G_4 означають водень.

Вихідні кислоти формули (IX) і їх функціональні похідні, так само як амідів формули (XI), є новими продуктами, які можуть бути одержані з 4-(4-циклогексил-3,5-L-L'-феніл)-4-оксобутанової кислоти.

Більш конкретно, кислоти формули (IX) одержують шляхом відновлення кетогрупи 4-(4-циклогексил-3,5-L-L'-феніл)-4-оксобутанової кислоти (де L і L' мають вищевказані значення) для одержання 4-(4-циклогексил-3,5-L-L'-феніл)-4-гідроксибутанової кислоти, що перетворюють у її лактон. Цей останній хлорують і перетворюють у складний ефір 4-хлор-4-(4-циклогексил-3,5-L-L'-феніл)бутанової кислоти, що у свою чергу шляхом циклізації дає циклопропанкарбонову кислоту формули (IX).

4-(4-циклогексил-3,5-1-L-L'-феніл)-4-оксобутанової кислоти (де L і L' мають вищевказані значення) одержують таким способом:

- коли L і L' означають водень, згідно з методикою N. Buu-Hoi і ін., Bull. Soc. France, 127 (1944),

- коли L означає водень, а L' означає хлор, згідно з методикою F. Krausz і ін., Arzneim.-Forsch., 24, 1364-1367 (1974), BE 750 233,

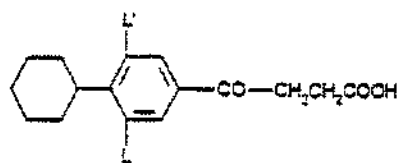
- коли L означає водень, а L' означає нитро-групу, згідно з методикою BE 750 233,

- коли L і L' означають хлор, згідно з методикою F. Krausz і ін., Arzneim.-Forsch., 24, 1364-1367 (1974),

- коли L означає водень, а L' означає фтор, шляхом каталітичного підрування 3-(4-циклогексил-3-фтор)бензоил-акрилової кислоти, у свою чергу описаної в патенті Японії 75770/71 і патенті ФРН 2 103 749.

Таким чином, кислоти формули (IX) можуть бути одержані способом, згідно з яким:

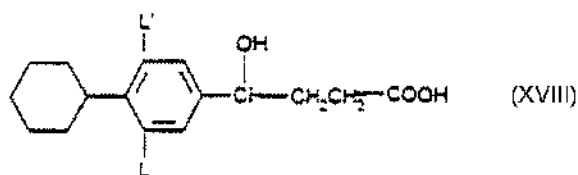
- 4-оксобутанову кислоту формули (XVII)



в якій L і L' мають вищевказані значення, відновлюють за допомогою боргідриду лужного металу,

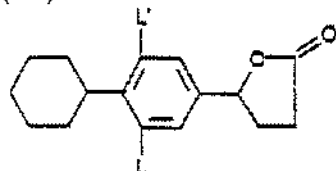
- у такий спосіб одержану 4-гідроксибутанову

кислоту формули (XVIII)

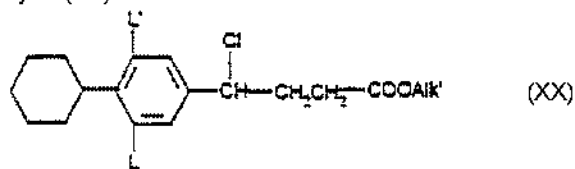


циклізують шляхом нагрівання при видаленні води, що виділяється,

- у такий спосіб одержаний лактон формули (XIX)



обробляють за допомогою тіонілхлориду, виділяючи в (C₁-C₄)-алканолі, складний ефір формули (XX)

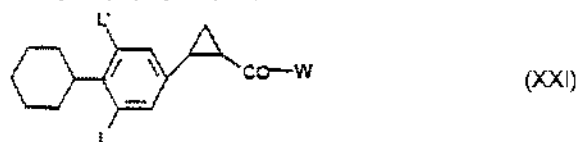


в якій Alk' означає (C₁-C₄)-алкіл,

- у такий спосіб одержану сполуку формули (XX) циклізують шляхом нагрівання в присутності трет-бутилату калію і виділяють циклопропанкарбонову кислоту формули (IX)

Кислоти формули (IX), їх солі, їх функціональні похідні, особливо хлор ангдрід, ангдрід і змішаний ангдрід із моно-(C₁-C₄)-алкіловим ефіром карбонової кислоти, а також аміді формули (XI) є новими продуктами, що складають наступний аспект даного винаходу

Таким чином, даний винахід також стосується сполуки формули (XXI)



в якій L і L' мають вищевказані значення і W означає гідроксильну групу або групу структури -NG₁G₂, де

G₁ означає (C₁-C₆)-алкіл або (C₃-C₇)-циклоалкіл,

G₂ означає (C₁-C₆)-алкіл, (C₃-C₇)-циклоалкіл, (C₃-C₆)-циклоалкіл-(C₁-C₃)-алкіл,

фенільний, бензильний, фенетильний радикал, можливо заміщений в бензольній групі радикала галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

або ж G₁ і G₂ разом з атомом азоту, із яким вони зв'язані, утворюють насичений гетероцикл, що містить один атом азоту і що має містечкову або спіро-структуру, із 5-10 атомами вуглецю, морфоліногрупу, піперазіногрупу, незаміщену або заміщену в положенні 4 (C₁-C₄)-алкілом, фенільний, бензильний або фенетильний радикалом, причому бензольна група може бути заміщена галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою, групу, що

вибирається поміж 4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин-1-ільного радикала, 4-фенілпіперидиногрупи, 4-бензилпіперидиногрупи, 4-фенетилпіперидиногрупи, причому фенільні групи вищевказаних радикалів можуть бути не заміщені або заміщені галогеном, метоксигрупою або нітрогрупою,

а також до солей лужних металів, до солей із вторинними і третинними амінами і до функціональних похідних кислоти формули (XXI), де W означає гідроксильну групу

Поміж солей лужних металів сполук формули (XXI), де W означає гідроксильну групу, особливо кращою є натрієва сіль (W = ONa), тоді як поміж солей із вторинними або третинними амінами особливо кращими є солі триметиламіну [W = O N⁺(CH₃)₃] і триетиламіну [W = O N⁺(C₂H₅)₃] Поміж функціональних похідних кислоти формули (XXI), де W означає гідроксильну групу особливо кращими є галогідангідриди, особливо хлорангідрид (W = хлор), ангдрід, змішані ангдриди з карбоною або сульфоновною кислотою, особливо такі з моно (C₁-C₄)-алкіловим ефіром карбонової кислоти (W = O-COOAlk', де Alk' означає (C₁-C₄)-алкіл, переважно етил) або з n-толуолсульфо кислотою, і особливо кращі активовані складні ефіри

Особливо кращі сполуки формули (XXI), в якій галогеном переважно є хлор або фтор, один із L і L' означає водень, а інший означає фтор, хлор або нітрогрупу, або ж L і L' є однаковими й означають водень або хлор Поміж цих останніх кращими є такі сполуки, в яких, у формулі (XXI), W означає -OH, -ONa, O N⁺(C₂H₅)₃, Cl, O-COOAlk' [причому Alk' означає (C₁-C₄)-алкіл] або -NG₁G₂

Згідно з біохімічними і фармакологічними дослідженнями, експозиція сполук згідно з винаходом в середовищі з нормальними клітинами в умовах, які перешкоджають проліферації ракових клітин, показала, що сполуки не діють на такі критерії, як цілісність клітинних структур і клітинних функцій або збереження життєздатності Таким чином, ці сполуки мають велику специфічність щодо пухлинних клітин Протипухлинну активність визначали на декількох лініях людських пухлинних клітин in vitro і in vivo у миші Усі використувані клітини походять з міжнародної колекції типових культур ATCC Клітини MCF-7 використовують для здійснення дослідів на зв'язування

Мембрани готують у такий спосіб 10⁹ клітин MCF-7 гомогенізують протягом 10 секунд в апараті Polytron® у 10мл буфера Hepes®, pH = 7,4, що містить 210ммоль D-маніту, 70ммоль сахарози, 1ммоль етипендіамінтетраоцтової кислоти, 0,3ммоль фенілметилсульфонілфториду Гомогенат центрифугують при прискоренні 650 g протягом 15 хвилин, потім супернатант відбирають і центрифугують протягом 1 години при прискоренні 100 000 g Осад після центрифугування знову суспендують у буфері Трис-HCl, pH = 7,4, до концентрації 1мг/мл і зберігають при температурі -70°C

Повне зв'язування здійснюють у пробірці ємністю 5мл, у яку уводять

- 50мкл суспензії мембран, що містить 10-50мкг протеїнів,

- 175мкл 50мм буфера Трис, pH = 7,4,

- 25мкл 20нМ ³H-SR 31747 у 50мм буфера Трис, pH = 7,4, + 0,1% бичачого сироваткового

альбуміну

Не специфічне зв'язування здійснюють шляхом додавання 25мкл 10^{-5} M SR 31747 в описаному вище розчині (кінцевий об'єм 250мкл), потім шляхом інкубації протягом 30 хвилин при температурі 25°C Вільні і зв'язані фракції розділяють, вносячи 200мкл у колонку з 1мл Sephadex® LH 20, потім підраховують радіоактивність у випадку перших двох мілілітрів, одержуваних шляхом елюювання колонки за допомогою 50мм буфера Трис, pH = 7,4

Використовувані згідно з винаходом сполуки і нові сполуки показують активності при IC_{50} від 10^{-10} до 10^{-6} моль

З інших використовуваних клітин, культивують, звичайно в середовищі RPMI, до якого додано 10% фетальної телячої сироватки, такі лінії клітин м'єлом людини U266 і RPMI 8226, карциноми нирки людини 293, карциноми легень людини A549, карциноми молочної залози людини MCF-7, MCF-7 лімфоцитарної лейкемії людини

Протипухлинну активність визначають колориметричним методом, використовуючи MTT {3-(4,5-диметилтіазол-2,5-дифеніл) тетразолійбромід}, як описується Mosmann T, Journ of Imm Methods, 65, 55 (1983)

Цей колориметричний кількісний аналіз дозволяє кількісно визначати протипухлинну активність розчину, що містить використовувану згідно з винаходом сполуку

Відповідно до використовуваного протоколу дослідження, роблять посів суспендованих клітин (таких як клітини м'єлом) по 2,105 клітин/мл на лунку ємністю 1мл у певному середовищі Посів адгезивних клітин (таких як клітини MCF-7) роблять по 5,104 клітин/мл на лунку ємністю 1мл у середовищі RPMI + 0,5% фетальної телячої сироватки протягом ночі Наступного дня клітинний покрив промивають два рази і заміняють певним середовищем Певне середовище відповідає такому середовищу RPMI + 10мкг/мл інсуліну + 10мкг/мл трансферину людини

Для здійснення цього дослідження клітини витримують у присутності розчину, що містить використовувану сполуку, протягом 5 днів, потім у культуральне середовище добавляють MTT

Час, що вибирається і складає 5 днів, відповідає оптимальному часу дії Після культивування протягом 5 днів визначають проліферацію клітин за допомогою вищеприписаного теста Вимірюють оптичну щільність при 570нм Синє фарбування з'являється в лунках, де клітини ще життєздатні Інтенсивність фарбування пропорційна кількості живих клітин

Одержані результати подані в нижченаведеній таблиці А

ТАБЛИЦЯ А

Вплив SR-31747 на різні лінії пухлинних клітин людини через 5 днів після обробки Результати виражені у відсотках проліферації клітин по відношенню до неопрацьованого контролю, прийнятому за 100%

SR 31747	U266	RPMI 8226	MCF-7	293	A549
10мкмоль	11	6	5	7	10
1мкмоль	52	5	34	10	14
100нмоль	67	54	58	36	38

10нмоль	82	66	75	43	50
1нмоль	95	79	83	80	56
100пмоль	100	91	100	84	88
10пмоль	100	100	100	100	100

З таблиці випливає, що навіть низькі концентрації, такі як 1нмоль - 1мкмоль, є достатніми для того, щоб індукувати припинення росту на 50%, і цього впливу досягають у випадку всіх досліджуваних пухлинних клітин

Установлений *in vitro* ефект інгібування ліній клітин MCF-7 вивчали *in vivo* у "голої" миші шляхом інтраперитонеального введення в дозах від 3 до 100мг/кг на моделі згідно з Negi C і ін, Cancer Research, 50, 5892-5897 (1990), і згідно з Berebby M, і ін Oncogene, 5, 505-509(1990)

Також здійснюють інше дослідження, щоб визначити вплив SR-31747 на ріст *in vitro* і *in vivo* епітеліальних пухлинних клітин молочної залози і простати

Вивчення полягає в оцінці потенційного протипухлинного впливу SR 31747 на ріст різновиду ліній карциноматозних епітеліальних клітин молочної залози Дослідження здійснюють *in vitro* на культурах клітин, а також *in vivo*, після інюкації ліній пухлинних клітин молочної залози атимічної "голої" миші

Використовуваними лініями клітин є такі

Гормоночутлива лінія клітин MCF-7 виникає від плеврального виділення з аденокарциноми молочної залози Антиестрогенорезистентні клітини MCF-7LY2 одержують із ліній клітин MCF-7 шляхом селективної дії (тиску) в присутності антиестрогену високої спорідненості Лінії клітин MCF-7LCC1 і MCF-7LCC2 утворюються у "голої" миші після інюкації клітин MCF-7 Обидві лінії клітин є естрогенонезалежними Клітини MCF-7LCC2 також є антиестрогенорезистентними Лінія клітин MCF-7AZTD5 створюється від ліній клітин MCF-7 після стабільної трансфекції з онкогеном H-ras Клітини MCF-7AZTD5 *in vitro* є антиестрогенорезистентними Сукупність цих ліній клітин витримують у суміші DMEM (модифікована за способом Дюльбекко середовище Голка)/ F 12 (в об'ємному співвідношенні 1/1), що містить 10% неповної фетальної телячої сироватки і 16нг/мл людського інсуліну Лінію клітин MCF-7LCC2 культивують при постійній присутності 10^{-7} моль пірокситамоксифену Пухлинні епітеліальні клітини молочної залози MDA-MB231 є естрогенними й антиестрогенонечутливими їх культивують у середовищі L 15, доповненої 10% фетальної телячої сироватки, 1% основних амінокислот і 10мкг/мл людського інсуліну

Лінії епітеліальних клітин LnCaP, PC3 і DU145 виникає від простатичних аденокарцином Тільки клітини LnCaP є чутливими до гормонів Усі три лінії клітин культивують у середовищі RPMI, доповненому 10% фетальної телячої сироватки

Усі лінії клітин витримують при температурі 37°C у вологій атмосфері із суміші повітря із CO₂ (у співвідношенні 95%/5%), за винятком клітин MDA-MB231, що культивують у відсутності CO₂ Лінії клітин регулярно контролюють на відсутність мікоплазм

Інюкацію й обробку тварин здійснюють таким чином

Використовуваними тваринами є оварієктомізовані або ні самки атимічних "голих" мишей у віці чотирьох тижнів (R Janvier). Перед інюкуляцією клітин, чутливих до гормонів, молочної залози (MCF-7, MCF-7AZTD5) тваринам вводять підшкірне 10мкл 10^{-5} М етанольного розчину естрадіолу. Обробку відновлюють три рази протягом тижня. Один мільйон клітин, суспендованих у 100мкл 3ФР (забуферений фосфатом фізіологічний розчин/ Ca^{++} інюкують підшкірне в кожне із стегон. Наступного дня тваринам вводять 200мкл розчину для ін'єкції (етанол/Твін 80/фізіологічна сироватка в об'ємному співвідношенні 1/1/18), що містить різні реагенти в попередньо визначених концентраціях. Ін'єкції здійснюють інтраперитонеально і відновлюють кожний день.

РЕЗУЛЬТАТИ

Вплив *in vitro* SR 31747 на проліферацію різних ліній пухлинних епітеліальних клітин молочної залози

Результати, що відносяться до впливу SR 31747 на проліферацію епітеліальних клітин молочної залози при культивуванні, подані в таблиці Б. Активність SR 31747 оцінюють у присутності різних концентрацій сироватки. У присутності знижених концентрацій сироватки сполука SR 31747 виявляє інгібуючий вплив на проліферацію всіх випробува-

них ліній епітеліальних пухлинних клітин. Підвищені кількості сироватки в культуральних середовищах частково або цілком придушують інгібуючий вплив SR 31747 на ріст клітин.

Для даної концентрації сироватки здатність SR 31747 інгібувати проліферацію також змінюється в залежності від використовуваної лінії клітин. У присутності 0,1% фетальної телячої сироватки (FCS), що дозволяє одночасно підтримувати мінімальною проліферацію клітин і спостерігати наступний вплив SR 31747, IK_{50} , обумовлений для чутливих до гормонів ліній клітин MCF-7 (MCF-7, MCF-7AZ, MCF-7 22HTB), змінюється в межах від $2 \cdot 10^{-9}$ моль до $7 \cdot 10^{-8}$ моль. Подібні значення IK_{50} також одержують для клітин MDA-MB231 і MCF-7LCC. Навпроти, лінії клітин MCF-7AZTD5 і MCF-7LY2 мають більш значні чутливості до інгібуючого впливу SR 31747, тому що визначені IK_{50} складають, відповідно, $2 \cdot 10^{-10}$ моль і $5 \cdot 10^{-12}$ моль.

В усіх випадках, майже повного інгібуювання проліферації клітин, що спостерігаються в присутності 10^{-6} моль і іноді 10^{-7} моль SR 31747, по всій очевидності, являють собою цитотоксичні ефекти.

Отримані результати також показують, що SR 31747 не здатний реверсувати стимулюючий вплив естрадіолу на чутливу до гормонів лінію клітин MCF-7.

Таблиця Б

Вплив SR 31747 на проліферацію епітеліальних клітин молочної залози
Визначення IK_{50} після 6 днів обробки - Середовище заміняють кожні 48 годин

Клітини	Чутливість	10% FBS	0,5% FBS	0,1% FBS	0% FBS
MCF7 p23-25	гормоночутливий		$2 \cdot 10^{-7}$ М	$2 \cdot 10^{-9}$ М	
			10^{-7} М	$2 \cdot 10^{-9}$ М	
MCF7 RPMI p6-7	гормоночутливий			$7 \cdot 10^{-9}$ М	$3 \cdot 10^{-9}$ М
MCF7 22HTB RPMI p+4	гормоночутливий			$2 \cdot 10^{-9}$ М	
LY2 p22-23	антиестроген	$>10^{-7}$ М		10^{-12} М	"
	резистентний	$>10^{-7}$ М		$5 \cdot 10^{-12}$ М	
MCF7 AZ TD5	трансфектований H-ras анти естроген	$6 \cdot 10^{-7}$ М		$2 \cdot 10^{-10}$ М	
SN 47 p4	нормальні клітини	$>10^{-6}$ М	$4 \cdot 10^{-7}$ М		
MCF7AZ	гормоночутливий	$>10^{-6}$ М		$2 \cdot 5 \cdot 10^{-8}$ М	
MCF7+E2 10^{-9} М			$4 \cdot 10^{-7}$ М	$5 \cdot 10^{-10}$ М	
	гормоночутливий		$3 \cdot 10^{-7}$ М	$2 \cdot 10^{-9}$ М	
			$4 \cdot 10^{-7}$ М	$2 \cdot 10^{-9}$ М	
MDAMB231 p131	гормоночутливий	$8 \cdot 10^{-7}$ М		$2 \cdot 10^{-9}$ М	
		$4 \cdot 10^{-7}$ М		$2 \cdot 10^{-9}$ М	
LCC1 p23-24	естроген незалежний	5% FBS		$2 \cdot 10^{-9}$ М	
LCC2 p26-27	естроген	5% DCC		0,1% DCC	
	незалежний	$4 \cdot 10^{-7}$ М		$2 \cdot 10^{-9}$ М	
	антиестроген резистентний	$3 \cdot 10^{-7}$ М		$2 \cdot 10^{-9}$ М	

Вплив *in vivo* SR 31747 на частоту і розмір пухлин, що розвиваються після інюкляції ліній епітеліальних пухлинних клітин молочної залози "голої" миші

На фіг. 1 і 2 поданий вплив SR 31747 на пухлини, що розвиваються у овариєктомізованої "голої" миші з клітин MDA-MB231

Кожній миші вводять у кожне стегно (або 2 точки інюкляції на мишу) $5 \cdot 10^6$ клітин MDA-MB231. Тварин потім обробляють щодня інтраперитонеально, і вводять 500мкг SR 31747 + 0,003мкг E2 (20 мишей). Контрольна партія одержує 0,003мкг E2 (20 мишей). Кількість (у відсотках пухлин, що інюкуються) і розмір пухлин, що розвилися, визначають у різні моменти часу в процесі обробки. По закінченні обробки (день 92) тварин умертвляють і зважують. Пухлини витягають і зважують.

Фігури показують тенденцію SR 31747 зменшувати розмір, масу і частоту пухлин, що розвиваються з клітин MDA-MB231, у овариєктомізованої "голої" миші. Однак, різниці на рівні розміру і маси пухлин між контрольними групами і групами, яким вводять SR 31747, не є показовими внаслідок великої змінюваності, що спостерігається в молочної залози кожної групи.

Таким чином *in vitro* SR 31747 надає антипроліферативний вплив на проліферацію сукупності досліджуваних пухлинних епітеліальних клітин молочної залози. Цей вплив особливо виявляється в присутності знижених концентрацій сироватки і змінюється в залежності від досліджуваних ліній клітин. Якщо, у більшості випадків, IC_{50} , виміряні з 0,1% фетальної телячої сироватки, змінюються в межах від $2 \cdot 10^{-9}$ моль до $2 \cdot 10^{-8}$ моль, то, однак, спостерігають надзвичайну чутливість клітин MCF-7LY2 до SR 31747.

Спостерігають загальну тенденцію SR 31747 зменшувати одночасно розмір, масу і частоту пухлин, що розвиваються з клітин MDA-MB231.

Даний винахід також стосується способу одержання зображення *in vivo* пухлин, що використовують в якості мішені для використовуваних згідно з винаходом, радіоактивне мічених, наприклад, за допомогою ^{125}I , ^{18}F , ^{11}C , ^{13}N , сполук, рецепторів, на яких фіксується 3H -SR 31747. Справді, висока щільність цих рецепторів у пухлинних клітинах дозволяє зробити висновок, що вони можуть бути переважно використані для фіксації радіолігандів, використовуючи методи PET (позитронна емісійна томографія) і SPECT (одиначних фотонів емісійна комп'ютерна томографія).

Отже, даний винахід також стосується використання радіоактивне мічених добре відомими фахівцями ізотопами сполук в якості агента зображення для радіомаркування.

Крім того, можуть бути використані інші способи одержання зображення, опосередковувани комплексом радіоактивне мічене антитіло-антигени.

Такі способи входять, але не є обмежувальними, у метод SPECT або в метод, називаний PET.

Застосування сполук згідно з винаходом включає також одержання лікарських засобів, призначених для лікування, яке включає спрямовану до-

ставку радіоактивне мічених продуктів в якості речовин, що вивільняють випромінювання, поблизу від пухлини або в саму пухлину, використовуючи вищевказану сполуку для націлювання радіоактивне мічених продуктів на пухлину або в її безпосереднє оточення, щоб піддати пухлинні клітини випромінюванням, випромінюваним вищевказаними радіоактивне міченими продуктами.

Застосування сполук згідно з винаходом може також включати етап променевої терапії, де клітини, що знаходяться в контакті зі сполуками, піддаються впливу іонізуючих випромінювань, що включають, наприклад, гама-промені, бета-промені, рентгенівські промені або альфа-частинки, які можуть виникнути від зовнішнього джерела, як у випадку рентгенівських променів або гама-променів, або можуть безпосередньо вводитися пацієнту за допомогою радіонуклідів, як описується, наприклад, у *Principles or Radiation Therapy in Cancer, Principles and Practice of Oncology*, під ред. Divita V T і ін., 4-е видання, J B Lippincott Co, Філадельфія, 1993 р., 15, 248-275.

Ці сполуки також можна вводити у сполученні з іншими протираковими діючими початками, добре відомими фахівцям.

Згідно з проілюстрованими вище біохімічними і фармакологічними дослідженнями найкращу ефективність виявляють такі сполуки:

N-бензил-N-метил[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]амін,

1-(3-нітро-4-циклогексилфеніл)-3-(4-фенілпиперидино)пропан-2-ол,

транс-3-[3-(3-нітро-4-циклогексилфеніл)аліл]-4-фенілпиперидин,

1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ініл]-4-фенілпиперидин,

1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин,

1-[3-(4-циклогексилфеніл)пропіл]-4-фенілпиперидин,

цис-3-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]-3-азаспіро[5.5]ундекан,

3-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]-3-азаспіро[5.5]ундекан,

цис-N-адамantan-1-іл-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін,

4-бензил-1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]пиперидин,

1-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)-3-(4-фенілпиперидино)пропан-1-ол,

N-циклогексил-N-етил-[3-(4-циклогексилфеніл)пропіл]амін,

цис-N-етил-N-феніл-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін,

N-фенетил-N-метил-1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]амін,

цис-N-циклогексил-N-етил-[3-(4-циклогексилфент)аліл]амін,

N-циклогексил-N-етил-[3-(3,5-дихлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін,

транс-N,N-дигексил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін,

цис-N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін,

транс-N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-цик-

логексилфеніл)аліл]амін,

N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]амін,

1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аллил]азепан,

транс-N,N-дициклогексил-3-[(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін,

N-циклогексил-N-етил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ініл]амін,

1-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)-3-(циклогексилетиламіно)пропан-1-ол,

1-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)-3-(циклогексилетиламіно)пропан-1-ол,

транс-N,N-діетил-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]амін,

4-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]морфолін,

4-[(3-хлоргексилфеніл)бут-2-еніл]морфолін,

4-[4-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)бутил]морфолін

або одна з їх фармацевтичне прийнятних солей, або один із їх фармацевтичне прийнятних сольватів

Сполуки, здатні витискати ^3H -SR 31747 із його рецепторів, можуть бути використані в терапії всіх патологічних процесів, що мають як наслідок проліферацію пухлинних клітин. Ця проліферація клітин може бути або чутливою, або нечутливою до гормонів

Більш конкретно, клінічні застосування, для яких можна передбачати використання цих сполук, включають захворювання, що виникають від проліферації клітин, особливо такі, як гліобластоми, нейробластоми, лімфоми, мієломи, лейкемія, карцинома ободової кишки, копаторектальна, епітеліальна, гепатична карциноми, рак легені, молочної залози, яєчників, підшлункової залози або простати

У цих цілях сполуки, здатні витискати ^3H -SR 31747 із його рецепторів, а саме, сполуки формул (I)-(VIII), так само як їх фармацевтичне прийнятні солі, можуть бути використані для одержання фармацевтичних композицій, що вводяться перорально, під'язиково, черезшкірно або локально. Ці фармацевтичні композиції включають принаймні один із вищевказаних продуктів у сполученні з фармацевтичним інертним наповнювачем

Більш переважно, згідно з іншим із своїх аспектів, даний винахід стосується фармацевтичних композицій, що містять у якості діючого початку сполуку формули (VIII) або одну з її фармацевтичне прийнятних солей

Як органічні, так і неорганічні кислоти можуть бути використані для одержання солей приєднання кислот амінів формули (VIII), які нетоксичні і фармацевтичне прийнятні, особливо такі, як сірчана, азотна, фосфорна, соляна, лимонна, оцтова, молочна, винна, памова, етандисульфонова, метансульфонова, бурштинова, циклогексилсульфонова, фумарова, малеїнова і бензойна кислоти

У тому, що стосується введення перорально або під'язиково, особливо використовують прості або дражировані таблетки, желатинові капсули з ліками, гранули, у відомих випадках з уповільненим вивільненням лікарського засобу, краплі або ж ліпосоми. У тому, що стосується введення внутрі-

шньовенне, підшкірне або внутрішньом'язово, прибігають до використання стерильних розчинів або розчинів, що стерилізуються, особливо для венозної перфузії, тоді як для введення черезшкірно можна реалізувати звичайні пластирі. Для локального застосування можна використовувати креми або лосьйони, що наносяться на шкіру

Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом можуть бути одержані звичайними способами, добре відомими в області фармацевтичної технології

Діючий початок може бути включений в ексципієнти, звичайно використовувані в цих фармацевтичних композиціях, такі як тальк, гуміарабік, лактоза, крохмаль, стеарат магнію, водяні або неводні наповнювачі, жирові речовини тваринного або рослинного походження, парафінові похідні, гліколи, різні змочувачі, компоненти, що диспергують, або емульгатори, консерванти і т.д.

Фармацевтичні композиції згідно з винаходом переважно можуть містити сполуку формули (VIII) або одну з її фармацевтичне прийнятних солей приєднання в сполученні з одним або декількома іншими відомими і звичайно використовуваними для тих же терапевтичних показань лікарськими засобами

Кількість діючого початку, що вводиться в день, згідно із способом даного винаходу, залежить від особливості терапевтичного показання, тяжкості хворобливих станів, що випливають, так само як від маси хворого і шляху введення

Для систематичного введення загальна доза у випадку людини звичайно змінюється від 1 до 100 мг у день, наприклад, складає 2-50 мг, і більш прийнятне складає 3-40 мг у день

Разові дози для систематичного введення звичайно включають 3-50 мг (а саме, 3, 5, 10, 20, 30, 40 і 50 мг продукту). Ці разові дози звичайно вводять один або декілька разів у день, переважно 1-3 рази у день

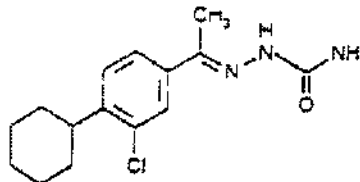
Для локального застосування, фармацевтичні композиції звичайно містять 0,0001-10% і переважно 0,01-5% діючого початку

Нижченаведені приклади ілюструють винахід, не обмежуючи його об'єму охорони. У цих прикладах температуру плавлення визначають у приладі з нагріванням Кофлера

Одержання ацетиленових похідних для синтезу дис-сполук

Приклад приготування 1

Похідна семикарбазону



73,6 г (0,66 моль) семикарбазидгідрохлориду і 54,2 г (0,66 моль) ацетату натрію розчиняють у 600 мл дистильованої води, потім суміш інтенсивно перемішують і при кімнатній температурі швидко додають розчин 142,1 г (0,6 моль) 3-хлор-4-циклогексилфенілацетона в 800 мл етанолу

Після цього реакційну суміш нагрівають при температурі 50°C протягом двох годин, протягом

ночі перемішують при кімнатній температурі, потім кристали, що утворилися, відфільтровують під вакуумом, промивають їх водою, ацетоном, діетиловим ефіром, висушують у вакуумі, одержуючи 169,5г кристалів білого кольору, вихід = 96%

Приклад приготування 2

2-хлор-1-циклогексил-4-етинилбензол

Дотримуються методики I Lalezari in Angew Chem Internat Ed 9, 464 (1970) Суспензію 28г (0,234моль) тонко подрібненого оксиду селену і 58,7г (0,2моль) одержаного в Прикладі приготування 1 семікарбазону в 400мл крижаної оцтової кислоти спочатку нагрівають на масляній бані при температурі 60°C протягом 1 години, потім протягом двох годин при температурі 80°C і одержують проміжний селеніодіазол. Потім температуру масляної бані підвищують до 150°C і реакційну суміш нагрівають протягом 3,5 годин аж до припинення виділення азоту, тобто до повного розкладання селеніодіазолу. Оцтову кислоту після цього видаляють у вакуумі, залишок послідовно обробляють за допомогою 600мл діетилового ефіру, відфільтровують, промивають чотири рази водою, один раз водяним 5%-вим розчином гідроксиду натрію, ще два рази водою, сушать над сульфатом натрію, потім випарюють у вакуумі. Маслянистий залишок переганяють під тиском 10^{-2} мм рт.ст. при температурі 85-100°C, одержуючи 24,8г безбарвного масла.

Одержання кетопохідних шляхом реакції Манніха для синтезу гідроксированих попередників транс-сполук

Приклад приготування 3

1-(3-нітро-4-циклогексилфеніл)-3-(4-фенілпiperидино)пропанон

У 100мл 1,2-диметоксиетану розчиняють 12,3г 3-нітро-4-циклогексилацетофенону, 9,85г 4-фенілpiperидину, 7,5г параформальдегіду і 1,5мл концентрованої соляної кислоти, потім реакційну суміш при перемішуванні протягом 6 годин кип'ятять із зворотним холодильником. Після цього реакційну суміш витримують протягом ночі при кімнатній температурі, потім відфільтровують осад, який послідовно промивають етилацетатом, потім діетиловим ефіром, одержуючи 17г цільової сполуки.

Приклад 1

3-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ініл]-3-азаспіро[5.5]ундекангидрохлорид

4,85г (0,022моль) одержаного в Прикладі приготування 2 сполуки і 0,5г CuCl_2 розчиняють у 25мл 1,2-диметоксиетану. Потім добавляють по краплях розчин 2,7г 35%-ого формальдегіду і 3,74г 3-азаспіро[5.5]ундекану в 20мл 1,2-диметоксиетану. Після додавання реакційну суміш нагрівають при температурі 70°C протягом 30 хвилин, видаляють розчинник у вакуумі, потім послідовно обробляють діетиловим ефіром, ефірну фазу промивають водяним 5%-им розчином гідроксиду натрію, насиченим розчином хлориду натрію і сушать над сульфатом магнію. Гідрохлорид кристалізують із етилацетату, одержуючи 7,6г цільового продукту, T_f пл = 241°C.

Приклад 2

цис-3-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]-3-азаспіро[5.5]ундекангидрохлорид

3г гідрохлориду ацетиленової сполуки, одер-

жаної згідно з попереднім прикладом 1, обробляють водяним 10%-им розчином гідроксиду натрію. Отримане масло після екстракції діетиловим ефіром промивають насиченим розчином хлориду натрію, сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі. У такий спосіб одержаний залишок вносять у 100мл етилацетату з доданими 5 мл метанолу, після чого добавляють 0,2г Pd/BaSO_4 і реакційну суміш підрують при кімнатній температурі і атмосферному тиску. Катализатор відфільтровують через діоксид кремнію, фільтрат концентрують у вакуумі, потім залишкове масло хроматографують на колонці з діоксидом кремнію, елюючи сумішшю дихлорметан/метанол в об'ємному співвідношенні 98/2. Концентрування чистих фракцій дає гідрохлорид, який перекристалізують із етилацетату, вихід = 44%, T_f пл = 238°C.

Приклади 3 і 4

Слідуючи описаній в прикладі 1 методиці і уводячи у взаємодію 4-циклогексил-3,5-дихлор-1-етинилбензол, відповідно, із 4-фенілpiperидином і циклогексилетиламіном у присутності формальдегіду, одержують, відповідно, такі сполуки

- 4-феніл-1-[3-(3,5-дихлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ініл]piperидин гідрохлорид, T_f пл = 250°C (приклад 3),

-N-циклогексил-N-етил-3-(3,5-дихлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ніламінгідрохлорид (приклад 4)

Приклади 5-10

Слідуючи методиці прикладу 1, шляхом взаємодії 3-хлор-4-циклогексил-1-етинилбензолу, відповідно, із етилфеніл-аміном, 1-адамантилетиламіном, бензилметиламіном, (2-феніл-етил)метиламіном, 4-бензилpiperидином і 4-гідрокси-4-феніл-piperидином у присутності формальдегіду одержують, відповідно, такі сполуки

- N-етил-N-феніл-3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ніламінгідрохлорид (приклад 5),

-N-(1-адамантил)-N-етил-3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ніламінгідрохлорид (приклад 6),

-N-бензил-N-метил-3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ніл-амінгідрохлорид (приклад 7),

-N-метил-N-(2-фентетил)-3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ніламінгідрохлорид (приклад 8),

-4-бензил-1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ініл]piperидингідрохлорид (приклад 9), і

-4-гідрокси-4-феніл-1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)проп-2-ініл]piperидингідрохлорид (приклад 10)

Приклади 11 і 12

Слідуючи описаній в прикладі 1 методиці, шляхом взаємодії 4-циклогексил-1-етинилбензола, відповідно, із циклогексилетиламіном і 4-фенілpiperидином у присутності формальдегіду одержують такі сполуки

-N-циклогексил-N-етил-3-(4-циклогексил-фент)проп-2-ніламінгідрохлорид (приклад 11),

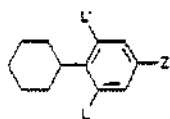
-4-феніл-1-[3-(4-циклогексилфеніл)проп-2-ініл]piperидингідрохлорид (приклад 12)

Приклади 13-16

Слідуючи описаній у прикладі 2 методиці, шляхом підрування ацетиленових похідних, одержаних згідно з прикладами 4-6 і 11, одержують цис-пропенаміни, подані в нижченаведеній таблиці 1

ТАБЛИЦЯ I

цис-сполуки



Приклад №	L	L'	Z	T пл °C
13	Cl	Cl		189 HCl
14	Cl	H		124 HCl
15	Cl	H		234 HCl
16	H	H		184 HCl

Приклад 17

1-(3-нітро-4-циклогексилфеніл)-3-(4-фенілпіперидино)пропанол 13,8г кетону, одержаного згідно з Прикладом приготування 3, суспендують у 300мл метанолу. Суміш охолоджують до температури -10°C, потім додають 8,42г боргдриду натрію і реакційну суміш витримують при температурі -10°C протягом 10 хвилин, після чого залишають стояти для підвищення температури до кімнатної. Осад, що випадає, відфільтровують і промивають метанолом, одержуючи 9,5г цільового продукту, T пл = 148-150°C

Приклад 18

транс-1-[3-[3-нітро-4-циклогексилфеніл)аліл]-4-феніл-піперидин]гідрохлорид

10,6г спирту, одержаного згідно з прикладом 17, і 10,4 г n-толуолсульфокислоти розчиняють у 300мл ксилолу, потім реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 6 годин при перемішуванні і при використанні насадки Діна-Старка для збору води, що виділяється. Розчинник випарюють у вакуумі, потім залишкове масло поспідовно обробляють етилацетатом, етилацетатну фазу промивають водним 0,5н розчином гідроксиду натрію, водою, сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі до об'єму 50мл розчинника, через який пропускають шляхом барботування газоподібний хлороводень. Концентрують у вакуумі й осад промивають діетиловим ефіром, одержуючи 8г цільового гідрохлориду, T пл = 225-233°C

Приклад 19

3-(N-етил-N-феніл)аміно-1-(3-хлор-4-циклогексил)фенілпропанолгідрохлорид

а) Слідуючи описаній у Прикладі приготування 3 методиці, із 3-хлор-4-циклогексилацетофенону шляхом введення його у взаємодію з фенілетиламіном одержують 1-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)-

3-(N-етил-N-феніл)пропанон

б) Слідуючи описаній у прикладі 17 методиці, шляхом відновлення одержаного на стадії (а) кетону за допомогою боргдриду натрію одержують цільовий продукт у вигляді гідрохлориду, T пл = 219°C

Приклад 20

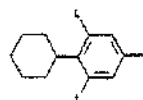
3-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]-3-азаспіро[5,5]ундекангідрохлорид

3г гідрохлориду ацетиленової сполуки, одержаної згідно з прикладом 1, обробляють водним 10%-им розчином гідроксиду натрію. Отримане масло після екстракції діетиловим ефіром промивають насиченим розчином хлориду натрію, сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі. Залишкове масло потім вносять у 100мл етилацетату з доданими 5мл метанолу, після чого додають 0,2г Pd/BaSO₄ і реакційну суміш підрують при кімнатній температурі й атмосферному тиску. Катализатор відфільтровують через целіт, фільтрат концентрують у вакуумі. Отриманий залишок обробляють мінімальною кількістю метанолу в присутності 50мл 2н соляної кислоти, потім поспідовно екстрагують дихлорметаном, екстракт промивають 2н розчином соляної кислоти, насиченим розчином хлориду натрію, сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі, одержуючи 2г цільового гідрохлориду, T пл = 266°C

Приклади 21-26

Слідуючи описаній у прикладі 20 методиці, шляхом підрування, відповідно, ацетиленових похідних, одержаних згідно з прикладом 11, 7, 8, 9, 12 і 10, одержують, відповідно, відповідні насичені похідні, зазначені в нижче наведеній таблиці II

ТАБЛИЦЯ II



Приклад №	L	L'	Z	T пл °C
21	H	H		167 HCl
22	Cl	H		152 HCl
23	Cl	H		168 HCl
24	Cl	H		232-234 HCl
25	H	H		280 HCl
26	Cl	H		215 HCl

Приклад 27

1-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропіл]-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридингідрохлорид

1г отриманої згідно з прикладом 26 сполуки і 0,51г n-толуолсульфокислоти розчиняють у 25мл

кислоти Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом двох годин, потім концентрують у вакуумі. Залишок обробляють 10%-им розчином гідроксиду натрію, потім послідовно екстрагують дихлорметаном, промивають водою і насиченим розчином хлориду натрію, сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі, одержуючи 0,7г цільового гідрохлориду, Т пл = 210°C

Приклад 28

а) 4-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)-4-гідроксибутанова кислота

20г 4-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)-4-оксобутанової кислоти розчиняють у 100мл тетрагідрофурану, 8,6мл водного розчину гідроксиду натрію і додають 100мл метанолу. Реакційну суміш охолоджують до температури 0°C - 5°C, потім додають 3,8г борпдиду натрію і суміш витримують протягом ночі при кімнатній температурі. Цю реакційну суміш виливають у 8л води, потім додають 85мл концентрованої соляної кислоти, одержуючи цільову гідроксильовану похідну

б) 5-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)дигідрофуран-2-он

Отриману згідно зі стадією (а) сполуку розчиняють у 300мл толуолу і реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником при використанні насадки Діна-Старка для видалення води. Потім концентрують розчинник у вакуумі, одержуючи цільовий лактон, вихід = 16г, Т пл = 60°C

в) Метилловий ефір 4-хлор-4-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)бутанової кислоти 2,78г одержаного на стадії (б) лактону розчиняють у 30мл бензолу, потім додають по краплях 2,2мл тіонілхлориду і реакційні суміші кип'ятять із зворотним холодильником протягом трьох годин. Після цього цю реакційну суміш вносять в охолоджений розчин газоподібного хлороводороду в метанолі і цю суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі, потім концентрують її у вакуумі й одержують 3,5г цільової хлорованої похідної

г) 2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбонова кислота 3г одержаного згідно із стадією (в) складного ефіру розчиняють у 10мл трет-бутанолу, потім додають 1,5г трет-бутилату калію і цю суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом чотирьох годин. Потім, після охолодження, додають 50мл води і екстрагують діетиловим ефіром. Потім, після концентрування розчинника, проводять омилення шляхом розчинення залишку в 20мл етанолу і 10мл води в присутності 0,8г гідроксиду калію, після чого цю реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом двох годин. Після охолодження розчину додають воду, підкислюють шляхом додавання соляної кислоти і екстрагують діетиловим ефіром, сушать і концентрують у вакуумі, одержуючи 1,4г цільові кислоти

Приклади 29-32

а) Слідуючи описаній в прикладі 28(а) методиці, із 4-(4-циклогексилфеніл)-4-оксобутанової кислоти, 4-(4-циклогексил-3,5-дихлорфеніл)-4-оксобутанової кислоти, 4-(4-циклогексил-3-фторфеніл)-4-оксобутанової кислоти і, відповідно, 4-(4-циклогексил-3-нітрофеніл)-4-оксобутанової кислоти шляхом відновлення за допомогою борпдиду натрію одержують такі сполуки

-4-(4-циклогексилфеніл)-4-гідроксибутанова кислота (приклад 29 а),

-4-(4-циклогексил-3,5-дихлорфеніл)-4-гідроксибутанова кислота (приклад 30 а),

4-(4-циклогексил-3-фторфеніл)-4-гідроксибутанова кислота (приклад 31 а),

і, відповідно,

4-(4-циклогексил-3-нітрофеніл)-4-гідроксибутанова кислота (приклад 32 а)

б) Слідуючи описаній в прикладі 28 (б) методиці, із гідроксибутанових кислот, одержаних згідно з вищенаведеними прикладами 29 (а) - 32 (а), шляхом нагрівання або кип'ятіння зі зворотним холодильником у толуолі при використанні насадки Діна-Старка одержують такі сполуки

-5-(4-циклогексилфеніл)дигідрофуран-2-он (приклад 29 б),

-5-(4-циклогексил-3,5-дихлорфеніл)дигідрофуран-2-он (приклад 30 б),

-5-(4-циклогексил-3-фторфеніл)дигідрофуран-2-он (приклад 31 б),

і, відповідно,

-5-(4-циклогексил-3-нітрофеніл)дигідрофуран-2-он (приклад 32 б)

в) Слідуючи описаній у прикладі 28 (в) методиці, шляхом взаємодії лактонів, одержаних згідно з вищенаведеними прикладами 29 (б) - 32 (б), із тіонілхлоридом, потім із розчином хлороводню в метанолі одержують такі сполуки

-метил-[4-хлор-4-(4-циклогексилфеніл)]бутират (приклад 29 в),

-метил-[4-хлор-4-(4-циклогексил-3,5-дихлорфеніл)]бутират (приклад 30 в),

-метил-[4-хлор-4-(4-циклогексил-3-фторфеніл)]бутират (приклад 31 в),

і, відповідно,

-метил-[4-хлор-4-(4-циклогексил-3-нітрофеніл)]бутират (приклад 32 в)

г) Слідуючи описаній у прикладі 28 (г) методиці, шляхом нагрівання одержаних згідно з вищенаведеними прикладами 29 (в) - 32 (в) складних ефірів у трет-бутанолі в присутності трет-бутилату калію одержують такі сполуки

-2-(4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбонова кислота (приклад 29 г),

-2-(4-циклогексил-3,5-дихлорфеніл)циклопропанкарбонова кислота (приклад 30),

-2-(4-циклогексил-3-фторфеніл)циклопропанкарбонова кислота (приклад 31 г),

і, відповідно,

-2-(4-циклогексил-3-нітрофеніл)циклопропанкарбонова кислота (приклад 32 г)

Приклад 33

а) Хлорангідрид 2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбонової кислоти 4г одержано згідно з прикладом 28 кислоти і 3,7мл тіонілхлориду розчиняють у 50мл тетрахлориду вуглецю. Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом трьох годин, потім концентрують у вакуумі, одержуючи 5,9 г цільового хлорангідриду кислоти у вигляді масла

б) N-циклогексил-N-етил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід

3г одержаного вище хлорангідриду кислоти розчиняють у 50мл тетрахлориду

вуглецю, потім додають розчин 2,9г цикло-

гексилетиламіну в 50мл тетрахлориду вуглецю і реакційної суміші перемішують при кімнатній температурі протягом 20 годин. Після цього розчин промивають водою аж до нейтрального значення рН. Одержують 5,16г аміду у вигляді масла.

Приклади 34-37

а) Із циклопропанкарбонових кислот, одержаних як зазначено в прикладах 29(г) - 32(г), шляхом взаємодії з тіонілхлоридом згідно з описаною у прикладі 33 (а) методикою одержують такі сполуки

- хлорангідрид 2-(4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбонової кислоти (приклад 34 а),
- хлорангідрид 2-(4-циклогексил-3,5-дихлорфеніл)циклопропанкарбонової кислоти (приклад 35 а),
- хлорангідрид 2-(4-циклогексил-3-фторфеніл)циклопропанкарбонової кислоти (приклад 36 а),
- і, відповідно,
- хлорангідрид 2-(4-циклогексил-3-нітрофеніл)циклопропанкарбонової кислоти (приклад 37 а)

б) Слідуючи описаній у прикладі 33 (б) методиці, шляхом взаємодії хлорангідридів кислот, одержаних згідно з прикладами 34(а) - 37(а), як зазначено вище, із циклогексилетиламіном одержують такі сполуки

- N-циклогексил-N-етил-2-(4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 34 б),
- N-циклогексил-N-етил-2-(4-циклогексил-3,5-дихлорфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 35 б),
- N-циклогексил-N-етил-2-(4-циклогексил-3-фторфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 36 б),
- N-циклогексил-N-етил-2-(4-циклогексил-3-нітрофеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 37 б)

Приклад 38

[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропілметил]циклогексилетиламінідгідроклорид

5г одержаного згідно з прикладом 33 аміду розчиняють у 50мл діетилового ефіру, потім додають суспензію 0,99г літійалюмінідгідриду в діетиловому ефірі і реакційну суміш перемішують протягом трьох годин при кімнатній температурі, потім виливають у водяний 5%-ий розчин гідроксиду натрію. Після цього реакційну суміш екстрагують діетиловим ефіром, потім послідовно декантують, сушать над сульфатом магнію і пропускають шляхом барботування газоподібний хлороводень, одержуючи 3,54г цільового гідрохлориду, T_{пл} = 202°C

Приклад 39

а) Слідуючи описаній у прикладі приготування 3 методиці, із 3-хлор-4-циклогексипропанон шляхом взаємодії з ди-н-гексиламіном і формальдегідом одержують 1-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)-3-дигексиламінопропанол

б) Слідуючи описаній у прикладі 17 методиці, шляхом відновлення одержаного на стадії (а) кетону за допомогою боргідриду натрію одержують 3-дигексиламіно-1-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)пропанол

в) Слідуючи описаній у прикладі 18 методиці,

шляхом дегідратації одержаного на стадії (б) спирту одержують N-транс-[3-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)аліл]дигексиламін, T_{пл} = 128°C

Приклади 40-52

3 хлорангідриду 2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбонової кислоти, одержаного згідно з описаною у прикладі 33 (а) методикою, шляхом взаємодії, відповідно, із діетиламіном, дигексиламіном, (1-адамантил)етиламіном, етилфеніламіном, бензилметиламіном, метил-(2-фенілетил)аміном, морфоліном, піперидином, 4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридином, 4-фенілпіперидином, 4-бензилпіперидином, 4-(2-фенілетил)піперидином, 3-азаспіро[5.5]ундеканом і спідуючи вказівкам приклада 33 (б), одержують такі з'єднання

- N,N-діетил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 40),
- N,N-дигексил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 41),
- N-(1-адамантил)-N-етил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 42),
- N-етил-N-феніл-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 43),
- N-бензил-N-метил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 44),
- N-метил-N-(2-фенілетил)-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід (приклад 45),
- 4-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]карбоніл-морфолін (приклад 46),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]карбоніл-піперидин (приклад 47),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]карбоніл-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (приклад 48),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]карбоніл-4-фенілпіперидин (приклад 49),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]карбоніл-4-бензилпіперидин (приклад 50),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]карбоніл-4-(2-фенілетил)піперидин (приклад 51),
- 3-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]карбоніл-3-азаспіро[5.5]ундекан (приклад 52)

Приклади 53-65

Слідуючи описаній у прикладі 38 методиці, шляхом відновлення амідів, одержаних згідно з прикладами 40-52, одержують такі сполуки

- N,N-діетил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропілметанамін (приклад 53),
- N,N-дигексил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропілметанамін (приклад 54),
- N-(1-адамантил)-N-етил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропілметанамін (приклад 55),
- N-етил-N-феніл-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропілметанамін (приклад 56),
- N-бензил-N-метил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропілметанамін (приклад 57),
- N-метил-N-(2-фенілетил)-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропілметанамін (приклад 58),
- 4-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]метилморфолін (приклад 59),

- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]метилпіперидин (приклад 60),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (приклад 61),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]метил-4-феніл-піперидин (приклад 62),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]метил-4-бензил-піперидин (приклад 63),
- 1-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]метил-4-(2-фенілетил)піперидин (приклад 64),
- 3-[2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропіл]метил-3-азаспіро[5,5]ундекан (приклад 65)

Приклад 66

N-циклогексил-N-етил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід

а) До розчину 3,4г (12,2ммоль) 2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбонової кислоти і 1,25г (12,3ммоль) триетиламіну в 50мл діоксану, охолоджену до температури -5°C, додають 1,34г (12,3ммоль) етилхлорформату, витримують при цій внутрішній температурі протягом 20 хвилин при перемішуванні, потім залишають стояти для підвищення температури до кімнатної, відфільтровують триетиламінідхлорид і використовують розчин у такий спосіб одержаного змішаного ангідриду

2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбонової кислоти з моноетиловим ефіром карбонової кислоти

До у такий спосіб одержаного розчину змішаного ангідриду додають розчин 1,56г циклогексилетиламіну в 30мл тетрагідрофурану і реакційну суміш перемішують протягом 8 годин при кімнатній температурі. Потім розчин промивають водою, сушать його і розчинник випарюють. У такий спосіб одержують N-циклогексил-N-етил-2-(3-хлор-4-циклогексилфеніл)циклопропанкарбоксамід

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Протипухлинна активність сигма-ліганд досліджувалася на рості клітин двох ліній клітин людини, згаданих в описі в зв'язку з їх високою чутливістю до сполуки SR 31747 MCF 7 (лінія пухлинних клітин молочної залози) і A 549 (карцинома

легені). Дане дослідження проводили *in vitro* з використанням одного і того ж протоколу вирощування культури протягом 5 днів, вимір клітинної проліферації по методу Мосмана з використанням МТТ (стор. 29 опису), чотирьох сигма-ліганд, що зв'язуються із сигма рецепторами різними шляхами

+пентазоцин, 3-ди(о)-толілгуанідин (DNG), (+) NOPh-Pip-Pr(3-PPP) і галоперидол

Результати представлені в наступній таблиці

Таблиця 1

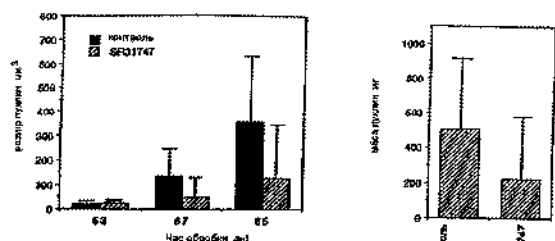
Вплив різних сигма-ліганд на проліферацію лінії клітин MCF7 після 5 днів обробки, результати виражені у відсотках клітинної проліферації стосовно необробленого контролю, узятому за 100%

концентрація	SR 31747	3-PPP	пентазоцин	DTG	галоперидол
10мкМ	3	100	100	100	52
5мкМ	7	100	100	100	59
2,5мкМ	8	100	100	100	65
1,25мкМ	15	100	100	100	73
1мкМ	22	100	100	100	74
100нМ	50	100	100	100	100
10нМ	64	100	100	100	100
1нМ	78	100	100	100	100
10нМ	100	100	100	100	100
10нМ	100	100	100	100	100

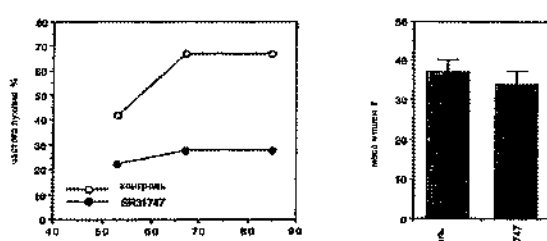
Таблиця 2

Вплив різних сигма-ліганд на проліферацію лінії клітин A 549 після 5 днів обробки, результати виражені у відсотках проліферації стосовно необробленого контролю, узятому за 100%

концентрація	R 31747	3-PPP	пентазоцин	DTG	галоперидол
10мкМ	10	100	100	95	55
5мкМ	11	100	100	100	56
2,5мкМ	12	100	100	100	57
1,25мкМ	13	100	100	100	59
1мкМ	14,7	100	100	100	57
100нМ	20	100	100	100	79
10нМ	50	100	100	100	100
1нМ	72	100	100	100	100
100нМ	88,4	100	100	100	100
10нМ	100	100	100	100	100



Фиг. 1



Фиг. 2

