



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 115708

(13) C2

(51) МПК

C07D 207/22 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 5/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2016 02394	(72) Винахідник(и):	Шолле Андре (CH)
(22) Дата подання заявки:	25.07.2014	(73) Власник(и):	ОБСЕВА С.А., 12, chemin des Aulx, CH-1228 Plan-les- Ouates, Switzerland (CH)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	11.12.2017	(74) Представник:	Дубинський Михайло Ілліч, реєстр. №70
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	13183723.9	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2004/005249 A1, 15.01.2004 WO 2005/082848 A2, 09.09.2005
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	10.09.2013		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	EP		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.07.2016, Бюл.№ 14		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	11.12.2017, Бюл.№ 23		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/EP2014/066075, 25.07.2014		

(54) ПОХІДНІ ПІРОЛІДИНУ ЯК АНТАГОНІСТИ РЕЦЕПТОРІВ ОКСИТОЦИНУ/ВАЗОПРЕСИНУ V1a

(57) Реферат:

Цей винахід належить до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, що має антагоністичну дію на рецептор окситоцину і/або рецептор вазопресину V1a, до способів їх одержання, фармацевтичних композицій, що містять зазначені сполуки, і їх застосуванню.

UA 115708 C2



## ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Цей винахід відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, що має антагоністичну дію на рецептор окситоцину і/або рецептор вазопресину V1a, до способів їх одержання, фармацевтичних композицій, що містять зазначені сполуки, і їх застосування в медицині.

## РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Окситоцин (ОТ) являє собою циклічний нонапептид, який опосередковує фізіологічну дію за допомогою активації рецептора окситоцину (ОТ-R), рецептора клітинної мембрани, що належить до класу рецепторів, сполучених з G-білком, який аналогічний рецепторам аргінін-вазопресину. Одна з важливих функцій окситоцину (ОТ) полягає в тому, щоб викликати скорочення матки ссавців під час пологів. Повторювані, погоджені і регулярні скорочення матки викликають розкриття шийки матки, розрив плодових оболонок і приводять до виходу плоду. Передчасні пологи відбуваються у випадку, коли зазначені скорочення виникають до закінчення нормального строку вагітності. Передчасне підвищення активності матки являє собою найпоширеніший прояв передчасних пологів.

Передчасні пологи приводять до небажаного передчасного народження, серйозної проблеми в галузі охорони здоров'я, яка залишається основною причиною перинатальної смертності і важких захворювань, зокрема, респіраторного дистрес-синдрому, внутрішньошлункового крововиливу, бронхопульмональної дисплазії і некротизуючих ентероколітів, які набагато частіше зустрічаються в недоношених дітей, ніж у дітей, що народилися в строк. Довгочасні порушення, такі як церебральний параліч, порушення зору і порушення слуху, також частіше зустрічаються у недоношених дітей. У цей час передчасне народження залишається основною причиною дитячої смертності і захворюваності в промислово розвинених країнах, де незважаючи на значні поліпшення акушерської медицини обумовлює високі витрати на неонатальну інтенсивну терапію недоношених дітей. Фактичні витрати для суспільства є ще більш високими з урахуванням надання медичних послуг при захворюваннях, пов'язаних з передчасним народженням дітей, таких як респіраторний дистрес-синдром, серцеві патології, церебральний параліч, епілепсія і серйозні порушення здатності до навчання. Ведення передчасних пологів являє собою серйозну проблему в галузі акушерства.

Система ОТ/ОТ-R відіграє життєво важливу роль в ініціації процесу пологів у ссавців, зокрема у людей. Щільність ОТ-R у міометрії помітно збільшується перед початком і під час пологів. Крім того, вважається, що місцева концентрація ОТ пептидного гормону у людини помітно збільшується перед родами. Високі циркулюючі концентрації прогестерону викликають нерухомість матки, при цьому матка набуває скорочувальну здатність. Незадовго до настання строку пологів концентрація прогестерону в плазмі падає, експресія ОТ-R у матці помітно зростає, ОТ вивільняється, і скорочувальна активність матки підвищується. У строк перейми досягають піку, що приводить до родовирішення за рахунок двох петель позитивного зворотного зв'язку, що впливають одна на одну. Перша з них являє собою місцеву маткову петлю: усередині самої матки під дією ОТ і скорочень матки виробляються і вивільняються скорочувальні простагландини. Зазначені простагландини можуть відігравати додаткову роль у дозріванні шийки матки і ослабленні міцності плодових оболонок. Друга петля включає гіпоталамус: у відповідь на скорочення матки і розтягання піхви і шийки матки крупноклітинні нейрони в гіпоталамусі, що виробляють окситоцин, збільшують активність, що приводить до вивільнення ОТ з терміналей аксонів зазначених нейронів у нейрогіпофізі. Вивільнений ОТ діє на матку, як стимулюючи подальше вироблення простагландинів, так і сприяючи подальшим скороченням матки.

Таким чином, блокування дії ОТ за допомогою забезпечення антагоністичної дії на ОТ-R може являти собою привабливий метод лікування захворювань, пов'язаних з активністю ОТ-R, зокрема передчасних пологів.

Токолітичні, тобто розслаблюючі мускулатуру матки, агенти застосовували в клінічних дослідженнях для фармацевтичного лікування передчасних пологів. Більшість зазначених агентів використовують без підтверджених показань до застосування. Вони продемонстрували дуже обмежену ефективність, при наявності такої, відносно продовження строку вагітності і без явного свідчення поліпшення неонатального результату. Сучасні токолітичні засоби дуже часто пов'язані з небажаним несприятливим впливом на жінок, плід або немовля. Такі токолітичні засоби включають агоністи бета-2 адренергічних рецепторів, інгібітори синтезу простагландинів, сульфат магнію, джерела азотної кислоти і блокатори кальцієвих каналів. Агоністи бета-2 адренергічних рецепторів, такі як рітодрин або тербуталін, викликають ряд серцево-судинних і метаболічних побічних ефектів, включаючи материнську тахікардію, прискорене серцебиття,

гіпотензію, змінену функцію щитовидної залози, а також гіпоглікемію, тахікардію плоду і немовляти. Рітодрин уже не є схваленим FDA (Управлінням по контролю якості харчових продуктів і лікарських препаратів). Блокатор кальцієвих каналів ніфедипін також являє собою лікарський засіб, який застосовують, щоб спробувати зупинити перейми. Деякі з побічних ефектів, які можуть виникнути, включають почервоніння особи, головний біль, нудоту, прискорене серцебиття і запаморочення. Також був застосований інгібітор повного синтезу простагландинів (НПВС) індометацин. Зазначений лікарський засіб також може викликати серйозні наслідки для плоду: звуження артеріальної протоки, легеневу гіпертензію, зниження функції нирок з олігогідрамніоном, внутрішньошлунковий крововилив, гіпербілірубінемію, некротизуючий ентероколіт. Побічні ефекти у матері включають дискомфорт у животі, нудоту, блювоту, депресію і напади запаморочення у матері. Іншим НПВС є суліндак, який має профіль побічних ефектів, аналогічний профілю індометацину. У випадку сульфату магнію метааналізи не змогли підтвердити, що зазначена сполука є токолітичним засобом. У жінок відзначалися серйозні побічні ефекти, такі як почервоніння обличчя, летаргія, головний біль, м'язова слабкість, набряк легенів і зупинка серця. У немовляти, яке було піддано впливу сульфату магнію, можуть виявлятися летаргія, гіпотонія, пригнічення дихання, проблеми з кістками, остеопенія і переломи. У цей час FDA не рекомендує фахівцям в галузі охорони здоров'я застосування ін'єкцій сульфату магнію протягом періоду часу більше 5–7 діб для зупинки передчасних пологів у жінок.

Атозибан, подвійний антагоніст рецептора вазопресину V1a і OT-R, продається в ЄС і застосовується для зупинки переймів і затримки передчасних пологів на кілька днів. Атозибан являє собою пептид, який не є перорально біодоступним і повинен вводитися парентерально. Зазначена сполука швидко розкладається в кровотоці за допомогою ферментів, і її застосування обмежене максимум 48 год.

Крім того, були розроблені непептидні антагоністи OT-R, такі як похідні піролідину (WO 01/72705, WO 02/102799, WO 2002/074741, WO 2004/005249) у вигляді сумішей ізомерів.

Таким чином, зберігається значна нереалізована потреба в ефективному і перорально селективному антагоністі OT-R для лікування захворювань, пов'язаних з активністю OT-R, зокрема передчасних пологів.

#### КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Відповідно до цього винаходу запропонована сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки.

Відповідно до цього винаходу також запропоновані сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки для застосування як лікарський засіб і фармацевтичні композиції, що містять зазначену сполуку.

Також запропонована сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт для лікування і/або запобігання порушень, пов'язаних з активністю рецептора окситоцину і/або активністю рецептора вазопресину V1a.

Відповідно до цього винаходу також запропонований спосіб одержання і виділення сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки в, по суті, чистій формі.

#### ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

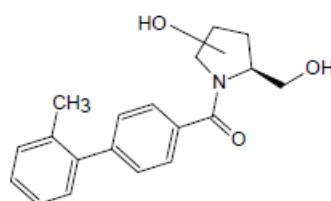
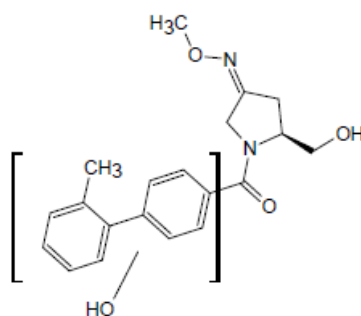
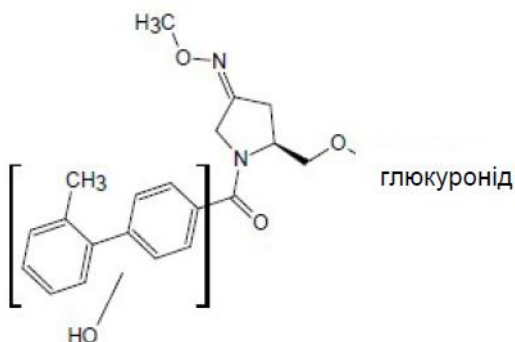
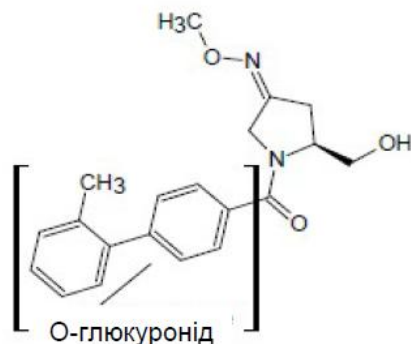
Цей винахід відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, при цьому зазначена сполука має Z-ізомерну конфігурацію О-метилоксимної функціональної групи.

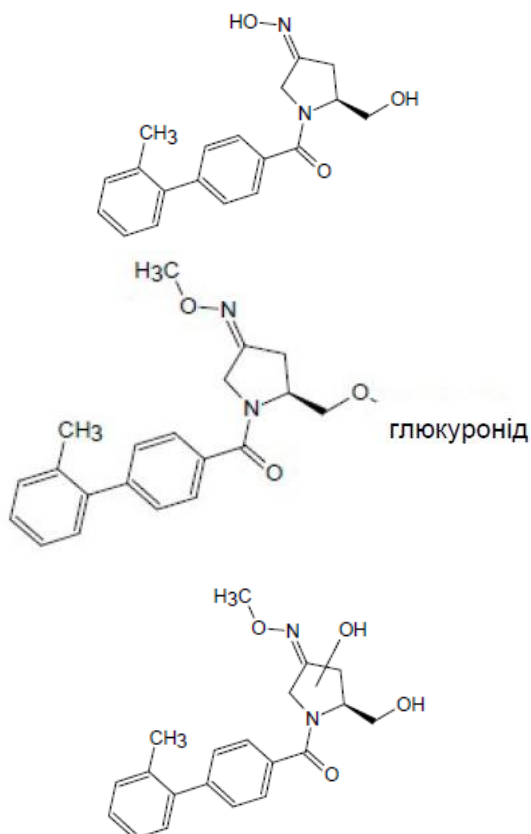
Сполука формули О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону відрізняється від сполук згідно з цим винаходом О-метилоксимною функціональною групою, що має E-ізомерну конфігурацію.

У цій заявці термін «активний метаболіт зазначеної сполуки» відноситься до продукту, отриманого в результаті метаболізму зазначеної сполуки в організмі або *in vitro*, у випадку, що розглядається, О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону, який має такою ж біологічну активність, як і О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону.

Активні метаболіти О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону можуть бути виявлені із застосуванням стандартних методів,

відомих у даній галузі, і їх активність можна визначити із застосуванням випробувань, таких як випробування, описані в цій заявці. Такі метаболіти можуть утворюватися, наприклад, у результаті окиснення, глюкуронідації або іншої кон'югації, гідролізу, відновлення і т.п. введеної Z-форми. Відповідно, цей винахід включає активні метаболіти О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, включаючи сполуки, отримані за допомогою способу, що включає приведення сполуки згідно з цим винаходом в контакт із ссавцем протягом періоду часу, достатнього для одержання метаболічного продукту зазначеної сполуки. Такий метаболіт також можна одержати *in vitro* за допомогою окиснення, відновлення, гідролізу, глюкуронідації або іншого кон'югаційного перетворення відповідного О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону. Приклади активних метаболітів О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону включають сполуки, структури яких представлені нижче:





Сполука, яка при введенні пацієнту здатна перетворюватися в сполуку, що являє собою О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, і/або активний метаболіт зазначеної сполуки, описаний вище, відома як «проліки». Проліки, наприклад, можуть перетворюватися в організмі, наприклад, за допомогою гідролізу в крові, у його активну форму, яка має лікувальний ефект. Фармацевтично прийнятні проліки описані в Т. Higuchi і V. Stella, Prodrugs as Novel Delivery Systems, том 14 A. C. S. Symposium Series (1976); «Design of Prodrugs», ред. Н. Bundgaard, Elsevier, 1985 і в Edward B. Roche, ред., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association і Pergamon Press, 1987, які включені в цей опис за допомогою посилань.

Сполуку згідно з цим винаходом одержують такими способами, як способи, запропоновані, наприклад, в WO2004/005249 і WO2005/082848. Однак зазначену сполуку синтезують і одержують у вигляді суміш ізомерів, що являє собою О-метилоксим (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, що містить О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону.

Таким чином, цей винахід відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, що містить щонайменше від 85% до 100% сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або метаболіту зазначеної сполуки, краще від 85% до 99,9%, більш краще від 90% до 99,9% і ще більш краще від 95% до 99,9% зазначеної сполуки.

Як альтернатива, цей винахід відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, отриманого в, по суті, чистій формі.

У цій заявці термін «по суті, чистий» відноситься до сполуки, отриманої у формі, яка, по суті, не містить інших сполук. Приклади зазначених «інших сполук» включають О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-он, оксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, (3R,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-3-метоксиамино-піролідін, (3S,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-3-метоксиамино-піролідін, О-метилоксим (3Z,5S)-5-(О-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і О-метилоксим

(3E,5S)-5-(O-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону.

Найкраща сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки, по суті, не містить сполуки формули О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону.

Ще більш краще чистота сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки в, по суті, чистій формі становить щонайменше 55%, щонайменше 60%, щонайменше 65%, щонайменше 70%, щонайменше 75%, щонайменше 80%, щонайменше 85%, щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98%, щонайменше 99%, щонайменше 99,2%, щонайменше 99,3%, щонайменше 99,4%, щонайменше 99,5%, щонайменше 99,6%, щонайменше 99,7%, щонайменше 99,8%, щонайменше 99,9% або щонайменше 100%, і, отже, зазначена форма, по суті, не містить сполуку формули О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону, тобто зазначена сполука становить менше 45%, менше 35%, менше 25%, менше 15%, менше 10%, менше 5%, менше 3%, ще краще менше 2%, ще більш краще менше 1%.

Ще більш краще чистота сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки в, по суті, чистій формі перебуває щонайменше в діапазоні від 85% до 100%, краще від 85% до 99,9%, більш краще від 90% до 99,9% і ще більш краще в діапазоні від 95% до 99,9%.

Залежно від використовуваної номенклатури сполука згідно з цим винаходом «О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону» також можна визначити як «О-метилоксим (4Z,2S)-2-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-4-ону».

У цілому, сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки являє собою антагоніст рецептора окситоцину.

У цій заявці термін «антагоніст рецептора окситоцину» відноситься до сполуки, яке діє за допомогою інгібування (частково або повністю) або блокування рецептора окситоцину (OT-R), тим самим запобігаючи активації рецептора окситоцином.

У цьому винаході запропонована сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки, при цьому зазначена сполука являє собою частковий або повний антагоніст рецептора окситоцину, і при цьому константа інгібування  $K_i$  становить менш ніж приблизно 1 мкМ. Краще зазначена константа інгібування  $K_i$  становить менш ніж приблизно 0,1 мкМ, більш краще менш ніж приблизно 0,06 мкМ.

У цьому винаході також запропонована сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки, при цьому зазначена сполука являє собою антагоніст рецептора окситоцину, і при цьому концентрація напівмаксимального інгібування  $IC_{50}$  становить менш ніж приблизно 1 мкМ. Краще зазначена концентрація  $IC_{50}$  становить менш ніж приблизно 0,1 мкМ, більш краще менш ніж приблизно 0,09 мкМ.

Також у цілому, сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки являє собою антагоніст рецептора вазопресину V1a.

У цій заявці термін «антагоніст рецептора вазопресину V1a» відноситься до сполуки, яке діє за допомогою інгібування (частково або повністю) або блокування рецептора вазопресину V1a (також відомого як рецептор аргінін-вазопресину 1A), тим самим запобігаючи активації рецептора вазопресину. Рецептор вазопресину V1a є одним із трьох основних типів рецепторів для пептидного гормону аргінін-вазопресину, іншими є рецептори V1b і V2.

Краще сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки являє собою антагоніст рецептора вазопресину V1a, при цьому константа інгібування  $K_i$  становить менш ніж приблизно 1 мкМ. Найкраще зазначена константа інгібування  $K_i$  становить менш ніж приблизно 0,5 мкМ, ще більш краще менш ніж приблизно 0,15 мкМ.

Цей винахід також відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, який являє собою антагоніст рецептора окситоцину і антагоніст рецептора вазопресину V1a.

Як правило, сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-

біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки придушує скорочення матки. Краще зазначена сполука придушує скорочення матки швидко, у проміжок часу 2-30, краще 5-20 хвилин після введення.

Заявники несподівано виявили, що інгібуюча активність є специфічною для, по суті, чистої Z-форми формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або метаболіту зазначеної сполуки. Як показано в прикладах, по суті, чиста E-форма формули О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону не проявляє ефективності, оскільки зазначена сполука не придушує скорочень матки.

Схему дозування сполуки згідно з цим винаходом і/або активного метаболіту зазначеної сполуки вибирають відповідно до різних факторів, включаючи тип, вид, вік, вагу, стать і стан здоров'я пацієнта; тяжкість патологічного стану, що підлягає лікуванню; спосіб введення; функцію нирок і печінки пацієнта і конкретну застосовувану сполуку або активний метаболіт зазначеної сполуки. Лікар середньої кваліфікації може легко визначити і призначити ефективну кількість лікарського засобу, необхідного для запобігання, протидії або припиненню розвитку патологічного стану.

Краще сполуку згідно з цим винаходом і/або активний метаболіт зазначеної сполуки можна вводити у вигляді однократної дози, або загальну дозу можна вводити у вигляді розділених доз два, три або чотири рази на добу.

Краще відповідно до цього винаходу запропонована сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки, при цьому зазначену сполуку вводять суб'єктові у вигляді однократної дози від 50 мг до 900 мг, більш краще у вигляді однократної дози від 100 мг до 600 мг.

Хоча сполуку згідно з цим винаходом і/або активний метаболіт зазначеної сполуки можна застосовувати як єдиний активний інгредієнт лікарського засобу, також можливе застосування зазначеної сполуки в комбінації із щонайменше одним або більше додатковими активними сполуками. Такі додаткові активні сполуки можуть являти собою додаткові сполуки згідно з цим винаходом або інші активні сполуки, обрані із групи, що включає блокатори кальцієвих каналів, сульфат магнію, селективні модулятори простагландинів, агоністи бета-2-адренергічних рецепторів, агоністи бета-3-адренергічних рецепторів і/або кортикостероїди.

Як альтернатива, сполуку згідно з цим винаходом і/або активний метаболіт зазначеної сполуки можна вводити спільно або роздільно із щонайменше однією сполукою, обраною із групи, що включає блокатори кальцієвих каналів (такі як ніфедипін), сульфат магнію, модулятори рецепторів простагландинів (такі як агоністи або антагоністи рецептора EP1, або EP2, або EP3, або EP4, або FP), інгібітори синтезу простагландинів (такі як індометацин, німесулід, суліндак, рофекоксиб, целекоксиб), агоністи бета-2-адренергічних рецепторів (такі як рітодрин, тербуталін, сальбутамол), агоністи бета-3-адренергічних рецепторів, джерела азотної кислоти (такі як тринітрат гліцерину) і/або кортикостероїди (такі як дексаметазон, бетаметазон).

У цій заявці термін «спільно» відноситься до введення сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, за яким далі відразу ж має місце введення щонайменше однієї сполуки, обраної із групи, запропонованої вище.

У цій заявці термін «роздільно (що охоплює послідовне або наступне введення)» відноситься до введення сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки з наступним періодом перерви, за яким далі йде введення щонайменше однієї сполуки, запропонованої вище.

У цілому, сполука згідно з цим винаходом є стабільною у плазмі. У цій заявці термін «стабільний» відноситься до присутності сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки у плазмі суб'єкта після введення, і при цьому ізомерне взаємоперетворення зазначених сполук, по суті, не допускається.

У цілому, у цьому винаході суб'єкт, що його потребує, краще являє собою ссавця, найбільш краще людину, більш краще жінку і найкраще жінку дітородного віку.

Цей винахід також відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки для застосування як лікарський засіб.

У цьому винаході також передбачена сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний метаболіт



зазначеної сполуки для застосування для лікування і/або запобігання порушень, пов'язаних з активністю рецептора окситоцину і/або активністю рецептора вазопресину V1a.

Порушення, пов'язані з активністю рецептора окситоцину і/або активністю рецептора вазопресину V1a, обрані з необмежуючої групи, що включає передчасні пологи, передчасне народження, дисменорею, передчасну еякуляцію, сексуальну дисфункцію, ендометріоз, невдалу імплантацію ембріона внаслідок скорочень матки, безплідність, доброякісну гіперплазію передміхурової залози, нервово-психічні розлади, аутизм, порушення соціальної поведінки, психосоціальний стрес і/або серцево-судинні порушення.

Термін «передчасні пологи», що також відноситься до ранніх пологів, означає вигнання з матки життєздатної дитини до нормального завершення вагітності або більш конкретно початок пологів з тоншенням і розширенням шийки матки до 37-го тижня вагітності. Вони можуть бути або не бути пов'язані з вагінальною кровотечею або розривом плодових оболонок.

Термін «дисменорея» відноситься до патологічного стану, що характеризується циклічним болем, пов'язаним з менструаціями під час овуляторних циклів. Вважається, що біль виникає в результаті скорочень матки та ішемії.

Термін «сексуальна дисфункція» відноситься до будь-якого порушення або зміни чотирьох фаз: фази збудження, фази плато, фази оргазму і фази дозволу, що характеризують сексуальну реакцію людини.

У цій заявці термін «нервово-психічні розлади» відноситься до психічних розладів, що відносяться до захворювань нервової системи, наприклад депресії, obsесивно-компульсивного розладу та інших.

У цій заявці термін «порушення соціальної поведінки» відноситься до порушення емоційної сфери, неадекватних форм поведінки або прояву почуттів, що переважає нещасний або депресивний настрій і ряд труднощів, що відчуються, у побудові або підтримуванні задовільних міжособистісних відносин.

У цій заявці термін «психосоціальний стрес» відноситься до патологічного стану, що виникає внаслідок загрози, що відчувається, соціальному статусу, суспільному визнанню, почуттю власної гідності, повазі або прийняттю усередині групи, яка приводить до розвитку реакції організму на стрес і фізичних симптомів.

Технології допоміжної репродукції (штучного запліднення) являють собою методи, що застосовуються у відношенні людей для лікування безплідності і відносно тварин для одержання вагітностей. Безплідність, яка торкається приблизно 10% людських пар у світі, можна лікувати за допомогою екстракорпорального запліднення і переносу ембріона (ЕКЗ-ПЕ) або в менш складних випадках за допомогою штучної інсемінації. У цілому, успіх переносу ембріона залежить від рецептивності матки, властивості, яка визначається як здатність матки забезпечувати оптимальні умови для належної імплантації і розвитку ембріона. Основними складовими рецептивності матки є скорочувальна активність матки і стан ендометрію.

Скорочення матки, що виникають у процесі переносу ембріонів, можуть виштовхувати ембріони з матки в піхву або фалопієві труби, що може служити причиною безуспішного лікування або, в іншому випадку, причиною позаматкової вагітності, серйозного, потенційно небезпечного для життя ускладнення.

У цілому, цей винахід відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки для застосування в технології допоміжної репродукції.

Наприклад, цей винахід відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки для застосування для лікування безплідності за допомогою методу, що являє собою екстракорпоральне запліднення з переносом ембріона (ЕКЗ-ПЕ).

Цей винахід також відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки для застосування для зниження можливості невдачі імплантації ембріона внаслідок скорочень матки.

У цьому винаході також передбачена сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки для застосування для зниження скорочень, що виникають у процесі переносу ембріона.

Крім того, цей винахід відноситься до сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки для застосування для лікування і/або запобігання захворюванню, що має відношення до скоротності судин, індукованої окситоцином, скоротності

судин, індукованої вазопресином, скоротності м'язів, індукованої окситоцином, скоротності м'язів, індукованої вазопресином.

Цей винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що містить сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки і фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або допоміжна речовина.

У цій заявці «фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або допоміжна речовина» являє собою середовище, що звичайно застосовується в даній галузі для доставки біологічно активних агентів пацієнтам. Фахівцеві в даній галузі відомий цілий ряд таких носіїв, розріджувачів або допоміжних речовин, що придатні для приготування фармацевтичної композиції (див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-те вид., Mack Publishing Company, 1990, стор. 1289-1329). Носій(і), розріджувач(і) або допоміжна(і) речовина(и) повинна бути сумісна з іншими інгредієнтами складу, здатним забезпечувати фармацевтичний склад і нешкідливим для споживача.

Сполука згідно з цим винаходом і/або активний метаболіт зазначеної сполуки разом із традиційно застосовуваним носієм, розріджувачем або допоміжною речовиною можна приготувати у вигляді фармацевтичних композицій і їх одиничних доз і в такій формі можна застосовувати у вигляді твердих лікарських форм, таких як таблетки або заповнені капсули, або рідких лікарських форм, таких як розчини, суспензії, емульсії, еліксири або капсули, заповнені тим же самим, усі для перорального застосування, або у формі стерильних розчинів для ін'єкцій для парентерального (включаючи підшкірне) застосування. Такі фармацевтичні композиції і одиничні лікарські форми зазначених композицій можуть містити інгредієнти в традиційних пропорціях з або без додаткових активних сполук або діючих початків, і такі одиничні лікарські форми можуть містити будь-яку придатну ефективну кількість активного інгредієнта, тобто сполуки згідно з цим винаходом, пропорційне діапазону добових доз, призначеному для застосування.

Фармацевтичні композиції згідно з цим винаходом можна вводити різними способами, включаючи пероральний, ректальний, вагінальний, трансдермальний, підшкірний, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий та інтраназальний. Залежно від передбачуваного способу доставки сполуки краще готують у вигляді або ін'єкційних, або пероральних композицій. Композиції для перорального введення можуть мати форму нерозфасованих рідких розчинів або суспензій або нерозфасованих порошків. Однак частіше композиції представляють в одиничних лікарських формах для полегшення точного дозування. Термін «одиничні лікарські форми» відноситься до фізично окремих одиниць, що придатні як одиничні дози для людей та інших ссавців, при цьому кожна одиниця містить попередньо визначену кількість активної речовини, розраховану на одержання необхідного терапевтичного ефекту, разом з придатною фармацевтичною допоміжною речовиною. Типові одиничні лікарські форми включають попередньо заповнені, попередньо відміряні ампули або шприци з рідкими композиціями або пігулки, таблетки, капсули і т.п. у випадку твердих композицій. У таких композиціях сполука згідно з цим винаходом звичайно являє собою мінорний компонент (від приблизно 0,1 до приблизно 50% за масою або краще від приблизно 1 до приблизно 40% за масою), при цьому інша частина являє собою різні основи або носії і технологічні добавки, що сприяють утворенню необхідної лікарської форми.

Краще фармацевтичну композицію, що містить сполуку формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки і фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або допоміжну речовину, вводять пероральним, вагінальним або внутрішньовенним способом.

Рідкі лікарські форми, що придатні для перорального введення, можуть містити придатну водну або неводну основу з буферами, суспендуючими і диспергуючими агентами, барвниками, ароматизаторами і т.п. Тверді лікарські форми можуть містити, наприклад, будь-який з наступних інгредієнтів або будь-яку із сполук аналогічної природи: зв'язувальну речовину, таку як мікрокристалічна целюлоза, трагакантова камедь або желатин; допоміжна речовина, така як крохмаль або лактоза, речовина для поліпшення розпаду, така як альгінова кислота, примогель або кукурудзяний крохмаль; змащувальну речовину, таку як стеарат магнію; речовину, що забезпечує ковзання, таку як колоїдний діоксид кремнію; підсолоджувач, такий як сахароза або сахарин; або ароматизуючий агент, такий як м'ята перцева, метилсаліцилат або апельсиновий ароматизатор.

Ін'єкційні композиції звичайно засновані на ін'єкційному стерильному сольовому розчині, або фосфатно-сольовому буферному розчині, або інших носіях для ін'єкційної лікарської форми, відомих у даній галузі.

Сполуку згідно з цим винаходом також можна вводити у формах з уповільненим вивільненням або у складі систем доставки лікарських засобів з уповільненим вивільненням. Опис типових речовин з уповільненим вивільненням також можна знайти в Gennaro A. R. Зі співавт., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-те вид., Easton: The Mack Publishing Company, 1995.

Цей винахід також відноситься до способу одержання і виділення сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки у, по суті, чистій формі, що включає наступні етапи:

а) завантаження неочищеної суміші ізомерів, що містить сполуку формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки, на колонку для гель-хроматографії;

б) очищення із застосуванням 1% спирту в органічному розчиннику і

с) очищення із застосуванням 2% спирту в органічному розчиннику.

У цій заявці термін «неочищена суміш ізомерів» відноситься до суміші сполук, отриманої в результаті синтезу сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки, описаної в цій заявці і яка містить сполуку О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і сполуку формули О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону.

Краще цей винахід відноситься до способу одержання і виділення сполуки формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активного метаболіту зазначеної сполуки в, по суті, чистій формі, що включає наступні етапи:

а) завантаження неочищеної суміші ізомерів, що містить сполуку формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і/або активний метаболіт зазначеної сполуки, на колонку для хроматографії на силікагелі;

б) очищення із застосуванням 1% метанолу в толуолі;

с) очищення із застосуванням 2% метанолу в толуолі.

Краще колонка для хроматографії на силікагелі обрана із системи для флеш-хроматографії Biotage® Flash 150, Biotage KP-SIL, Biotage KP-C18-HS, Biotage KP-C18-WP, Biotage KP-C-WP, Biotage FLASH-WAC 400 (Biotage AB, 751 03 Уппсала, Швеція). Інші колонки для гель-хроматографії включають колонки, заповнені смолами Mitsubishi Diaion™ HP20 або HP20SS SDVB (Mitsubishi Chemical Corporation, Токіо 100-8251, Японія).

#### ПРИКЛАДИ

Приклад 1: Очищення О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону

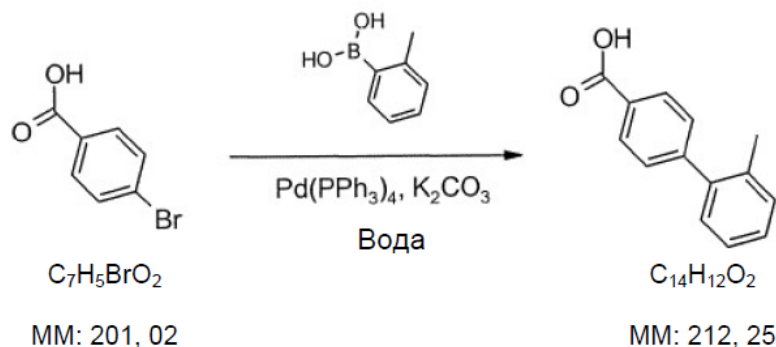
1.1 Синтез О-метилоксим (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону

Цей винахід відноситься до синтезу і очищення О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, отриманого у вигляді неочищеної суміші ізомерів, що містить О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону і О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону.

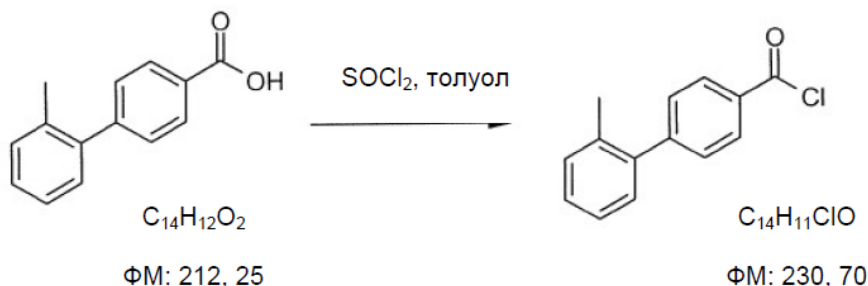
Шляхи синтезу сполук згідно з цим винаходом являють собою, наприклад, шляхи синтезу, описані в WO2004005249 і WO2005082848.

Наприклад, сполука згідно з цим винаходом О-метилоксим (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону також можна одержати згідно з етапами 1-7, описаним нижче:

Етап 1: Одержання 4-(2-метилфеніл)бензойної кислоти



- Розчин карбонату калію (0,908 кг, 6,57 моль, 2,06 мас.) у воді (2,20 л, 5,0 об.) завантажували до суспензії 4-бромбензойної кислоти (0,441 кг, 2,19 моль, 1,0 мас.) у воді (4,41 л, 15,0 об.) при температурі від 15 до 25°C. Отриману суспензію перемішували при температурі від 15 до 25°C і дегазували три рази із застосуванням циклу продувки вакуум-азот. Потім завантажували тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0) (0,022 кг, 0,019 моль, 0,05 мас.) і повторювали цикл продувки вакуум-азот. Розчин о-толілборної кислоти (0,313 кг, 2,30 моль, 0,707 мас.) у метанолі (3,53 л, 8,0 об.) дегазували три рази із застосуванням циклу продувки вакуум-азот, а потім завантажували до суспензії 4-бромбензойної кислоти при температурі від 15 до 25°C. Реакційну суміш нагрівали до температури кипіння (від 71 до 78°C) і витримували при кип'ятінні зі зворотним холодильником до завершення реакції (реакція вважається завершеною при ступені перетворення 95%), визначеного за допомогою <sup>1</sup>H ЯМР-аналізу (d6-ДМСО), звичайно протягом періоду від 1,5 до 2,5 годин. Реакційну суміш концентрували у вакуумі до 15 об. при температурі від 40 до 45°C. До залишку додавали толуол (4,41 л, 10,0 об.) і тетрагідрофуран (4,41 л, 10,0 об.), отриману суміш енергійно перемішували і підкисляли до pH 1 із застосуванням соляної кислоти (6 М, 2,00 л, 4,5 об.). Вміст енергійно перемішували протягом періоду від 30 до 60 хвилин, і розділяли шари. До водної фази додавали толуол (2,20 л, 5,0 об.) і тетрагідрофуран (2,20 л, 5,0 об.), і суміш перемішували протягом періоду від 5 до 10 хвилин. Шари розділяли, об'єднані органічні фази фільтрували і концентрували у вакуумі до 10,0 об. при температурі від 35 до 40°C. До залишку додавали толуол (4,41 л, 10,0 об.), і отриману суміш концентрували у вакуумі при температурі від 35 до 40°C. Вміст тетрагідрофурану в отриманій суспензії визначали за допомогою <sup>1</sup>H ЯМР-аналізу (d6-ДМСО) (граничний рівень: ≤1,0 % мас./мас. тетрагідрофурану щодо толуолу). Суспензію прохолоджували до температури від 0 до 5°C і витримували при зазначеній температурі протягом періоду від 30 до 60 хвилин, тверду речовину збирали за допомогою фільтрування, і відфільтрований осад промивали толуолом (2,20 л, 5,0 об.). Тверду речовину сушили у вакуумній печі при температурі від 35 до 40°C з одержанням 4-(2-метилфеніл)бензойної кислоти [0,438 кг, 94,1%-й, 99,3 % мас./мас., 1H ЯМР (d6-ДМСО) відповідає структурі] у вигляді блідо-жовтої твердої речовини.
- Етап 2: Одержання хлоридангідриду 4-(2-метилфеніл)бензойної кислоти



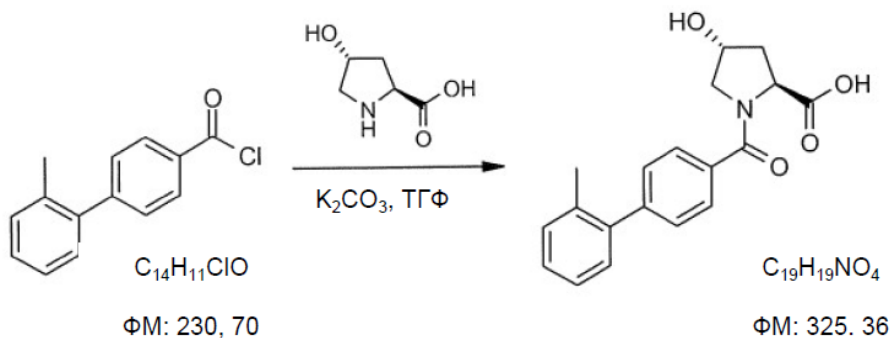
- До суспензії 4-(2-метилфеніл)бензойної кислоти (0,435 кг, 2,05 моль, 1,0 мас.) у толуолі (4,35 л, 10,0 об.) додавали тіонілхлорид (0,300 л, 4,11 моль, 0,685 об.) при температурі від 10 до 25°C, і суміш нагрівали до температури від 75 до 80°C і витримували при зазначеній температурі до завершення реакції, визначеної за допомогою 1H ЯМР-аналізу (d6-бензол), звичайно протягом періоду від 4 до 5 годин. Завершення реакції супроводжувалося утворенням мутного розчину. Отриману суміш концентрували до 5,0 об. за допомогою видалення толуолу

при зниженому тиску при температурі від 35 до 45°C. До концентрату додавали толуол (2,18 л, 5,0 об.), і суміш концентрували до 4,0 об. за допомогою видалення толуолу при зниженому тиску при температурі від 35 до 45°C. Отриману суміш фільтрували через папір на основі скляного мікроволокна, і відфільтрований осад промивали толуолом (0,44 л, 1,0 об.). Розчин

5

хлоридангідриду 4-(2-метилфеніл)бензойної кислоти [0,439 кг, 92,8%-й, 100,9% мас./мас., <sup>1</sup>H ЯМР (d6-бензол) відповідає структурі] у толуолі застосовували безпосередньо на етапі 3.

Етап 3: Одержання (4R)-4-гідрокси-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-L-проліну



10

Розчин карбонату калію (0,526 кг, 3,81 моль, 1,2 мас.) у воді (0,57 л, 1,3 об.) завантажували до розчину 4-гідрокси-L-проліну (0,274 кг, 2,09 моль, 0,625 мас.) у тетрагідрофурані (2,20 л, 5,0 об.) і воді (0,44 л, 1,0 об.) при температурі від 15 до 25°C з наступним лінійним зрошенням (line rinse) водою (0,44 л, 1,0 об.). Суміш прохолоджували до температури від 0 до 5°C при швидкому

15

перемішуванні, і при зазначеній температурі завантажували розчин хлоридангідриду 4-(2-метилфеніл)бензойної кислоти (0,438 кг, 1,90 моль, 1,0 мас.) у толуолі (2,19 л, 5,0 об.) з наступним лінійним зрошенням толуолом (0,44 л, 1,0 об.). Реакційну суміш нагрівали до температури від 15 до 25°C протягом періоду від 1 до 2 годин і перемішували при зазначеній температурі до завершення реакції виходячи із ТШХ-аналізу. До реакційної суміші

20

завантажували воду (2,20 л, 5,0 об.) при температурі від 15 до 25°C, і розділяли шари. Водну фазу підкисляли до pH від 5 до 6 із застосуванням соляної кислоти (6М, 0,66 л, 1,5 об.), а потім до pH 1 із застосуванням соляної кислоти (2М, 0,88 л, 2,0 об.) при температурі від 15 до 25°C. Суміш прохолоджували до температури від 0 до 5°C і витримували при зазначеній температурі

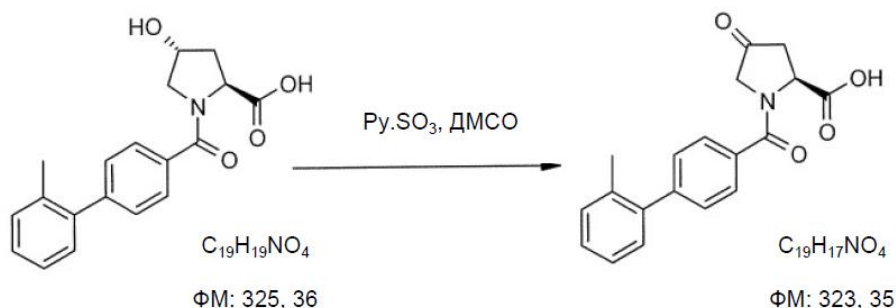
25

протягом періоду від 30 до 60 хвилин, тверду речовину, що випала в осад, збирали за допомогою фільтрування, відфільтрований осад промивали водою (2 x 1,75 л, 2 x 4,0 об.) і толуолом (0,88 л, 2,0 об.) і відокремлювали вологу (pulled dry) на фільтрі протягом періоду від 12 до 24 годин. Зібрану тверду речовину сушили у вакуумі при температурі від 40 до 45°C доти, поки вміст води, визначений за методом Карла Фішера, не становило  $\leq 0,2\%$  мас./мас., з

30

одержанням (4R)-4-гідрокси-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-L-проліну [0,599 кг, 97,0%-й, 136,8% мас./мас., <sup>1</sup>H ЯМР (d6-ДМСО) відповідає структурі] у вигляді брудно-білої твердої речовини.

Етап 4: Одержання 1-(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл-4-оксо-L-проліну



35

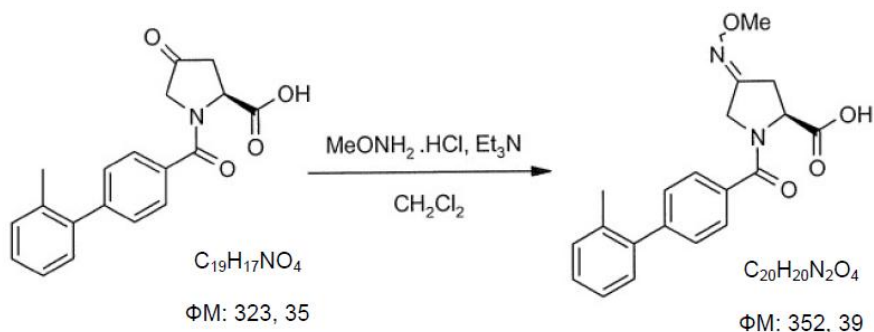
До розчину (4R)-4-гідрокси-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-L-проліну (0,598 кг, 1,84 моль, 1,0 мас.) у диметилсульфоксиді (4,42 л, 7,4 об.) завантажували триетиламін (1,80 л, 13,56 моль, 3,0 об.) при температурі від 15 до 20°C. Комплекс піридин-триоксид сірки (0,879 кг, 5,52 моль, 1,47 мас.) завантажували порціями при температурі від 15 до 25°C, і реакційну суміш

40

перемішували при зазначеній температурі до завершення реакції, визначеної за допомогою

ТШХ-аналізу (звичайно протягом періоду від 1 до 3 годин). 7 Реакцію гасили соляною кислотою (3 М, 4,80 л, 8,0 об.) при температурі від 0 до 30°C, завантажували тетрагідрофуран (3,00 л, 5,0 об.) і гептан (0,60 л, 1,0 об.), шари розділяли, і водну фазу екстрагували тетрагідрофураном (2 x 3,00 л, 2 x 5,0 об.). Об'єднані органічні фази промивали соляною кислотою (1 М, 2 x 1,20 л, 2 x 2,0 об.) і насиченим розчином хлориду натрію (2 x 1,20 л, 2 x 2,0 об.), водні промивні рідини поєднували і піддавали зворотній екстракції тетрагідрофураном (2 x 0,60 л, 2 x 1,0 об.). Об'єднані органічні речовини сушили над сульфатом магнію (1,794 кг, 3,0 мас.), фільтрували, відфільтрований осад промивали тетрагідрофураном (0,60 л, 1,0 об.), і фільтрати концентрували у вакуумі при температурі від 40 до 45°C з одержанням блідо-коричневої піни. До піни завантажували етилацетат (6,00 л, 10,0 об.), вміст перемішували протягом періоду від 5 до 10 хвилин для досягнення розчинення, і розчинник видаляли у вакуумі при температурі від 40 до 45°C. Зазначену процедуру повторювали із застосуванням етилацетату (6,00 л, 5,0 об.) доти, поки тетрагідрофуран не припиняв виявлятися за допомогою <sup>1</sup>H ЯМР-аналізу (d<sub>6</sub>-ДМСО). Залишок суспендували в етилацетаті (4,80 л, 8,0 об.), додавали активоване вугілля (0,084 кг, 0,14 мас.) з наступним лінійним зрошенням етилацетатом (3,00 л, 5,0 об.), отриману суміш нагрівали до температури від 70 до 80°C і витримували при зазначеній температурі протягом періоду від 20 до 30 хвилин, прохолоджували до температури від 40 до 55°C і фільтрували через папір на основі скляного мікрОВОлокна. Відфільтрований осад промивали етилацетатом (1,50 л, 2,5 об.), і об'єднані фільтрати та промивну рідину концентрували у вакуумі до кількості від 2,5 до 3,5 об. при температурі від 40 до 45°C. Кристалізація починалася в процесі концентрування. Концентрат переміщали в придатну посудину з лінійним зрошенням етилацетатом (0,30 л, 0,5 об.) і нагрівали до температури від 70 до 80°C. При необхідності для досягнення розчинення додавали додатковий етилацетат (0,30 л, 0,5 об.). При температурі від 70 до 80°C додавали гептан (1,80 л, 3,0 об.), і вмісту дозволяли прохолоджуватися до температури від 15 до 25°C протягом періоду 1 до 2 годин. Суспензію додатково прохолоджували до температури від 0 до 5°C і витримували при зазначеній температурі протягом періоду від 2 до 3 годин, фільтрували, і відфільтрований осад промивали сумішшю етилацетат : гептан (1:1, 0,60 л, 1,0 об.) при температурі від 0 до 5°C з наступним промиванням гептаном (3,0 л, 2,5 об.). Зібрану тверду речовину сушили у вакуумі при температурі від 40 до 45°C з одержанням 1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-4-оксо-L-проліну [0,444 кг, 74,7%-й, 74,2% мас./мас., <sup>1</sup>H ЯМР (d<sub>6</sub>-ДМСО) відповідає структурі] у вигляді брудно-білої твердої речовини.

Етап 5: Одержання (4Z/E)-4-метоксиіміно-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-L-проліну

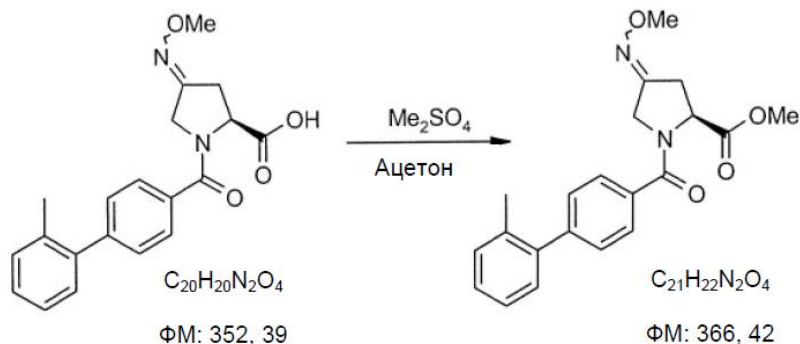


До розчину 1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-4-оксо-L-проліну (0,434 кг, 1,34 моль, 1,0 мас.) у дихлорметані (4,40 л, 10,0 об.) додавали триетиламін (0,40 л, 2,85 моль, 0,92 об.) при температурі від 10 до 25°C з наступним лінійним зрошенням дихлорметаном (0,43 л, 1,0 об.). Метоксиламін гідрохлорид (0,130 кг, 1,56 моль, 0,30 мас.) додавали порціями при температурі від 10 до 25°C з наступним лінійним зрошенням дихлорметаном (0,43 л, 1,0 об.), і реакційну суміш перемішували при температурі від 10 до 25°C до завершення реакції, визначеної за допомогою ТШХ-аналізу (звичайно протягом періоду від 3 до 5 годин, елюент для ТСХ: дихлорметан : метанол : оцтова кислота (90:10:1); УФ-візуалізація). Розчинник видаляли у вакуумі при температурі від 35 до 40°C, отриману суміш розчиняли в етилацетаті (4,40 л, 10,0 об.) і промивали соляною кислотою (1 М, 2 x 2,20 л, 2 x 5,0 об.). Кислі промивні води піддавали зворотній екстракції етилацетатом (2,20 л, 5,0 об.), об'єднані органічні фази промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (3,10 л, 7,0 об.), сушили над сульфатом магнію (0,300 кг, 0,69 мас.), фільтрували, і відфільтрований осад промивали етилацетатом (2,20 л, 5,0



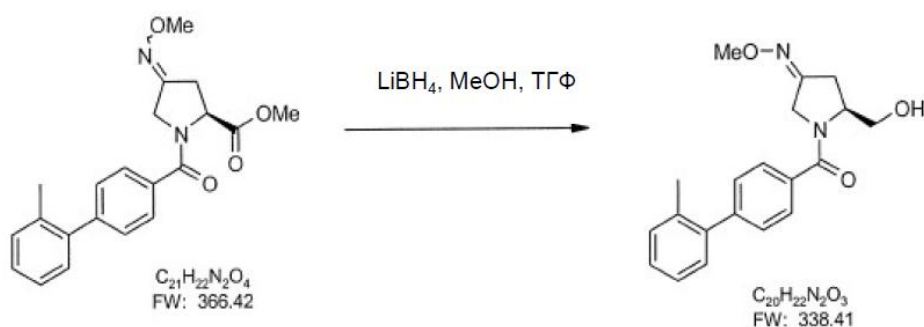
об.). Фільтрат і промивні води поєднували і концентрували у вакуумі при температурі від 35 до 40°C з одержанням 4-метоксиіміно-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-L-проліну [0,476 кг, 100,6%-й, 109,6% мас./мас., <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) відповідає структурі] у вигляді брудно-білої твердої речовини.

5      Етап 6: Одержання (4Z/E, 2S)-метил-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-4-метоксиімінопіролідин-2-карбоксилату



До розчину 4-метоксиіміно-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-L-проліну (0,475 кг, 1,35 моль, 1,0 мас.) в ацетоні (4,75 л, 10,0 об.) додавали карбонат калію (0,476 кг, 3,44 моль, 1,0 мас.), і суміш прохолоджували до температури від 0 до 10°C. Диметилсульфат (0,128 л, 1,35 моль, 0,27 об.) додавали при температурі від 0 до 15°C, і суміш перемішували при температурі від 15 до 25°C до завершення реакції, визначеної за допомогою ТШХ-аналізу, звичайно протягом періоду від 3 до 16 годин. Розчинник видаляли у вакуумі при температурі від 40 до 45°C, і отриману суміш розподіляли між етилацетатом (3,80 л, 8,0 об.) і водою (3,80 л, 8,0 об.). Шари розділяли, органічну фазу промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (2,85 л, 6,0 об.), сушили над сульфатом натрію (0,953 кг, 2,0 мас.) і фільтрували. Відфільтрований осад промивали етилацетатом (0,48 л, 1,0 об.), і об'єднані фільтрат і промивну рідину концентрували у вакуумі при температурі від 40 до 45°C. Надлишок етилацетату видаляли за допомогою азеотропної перегонки з тетрагідрофураном (2 x 0,95 л, 2 x 2,0 об.) у вакуумі при температурі від 40 до 45°C з одержанням (4Z/E, 2S)-метил-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-4-метоксиімінопіролідін-2-карбоксилату [0,492 кг, 99,6%-й, 103,6% мас./мас., <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) відповідає структурі] у вигляді густої коричневої олії.

25      Етап 7: Одержання О-метилоксим (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-  
і)л]карбонілпіролідін-3-ону



30 Борогідрид літію (0,049 кг, 2,26 моль, 0,1 мас.) порціями додавали до перемішаного розчину (4Z/E, 2S)-метил-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]-4-метоксिमінопіролідін-2-карбоксилату (0,492 кг, 1,34 моль, 1,0 мас.) у тетрагідрофурані (2,31 л, 4,7 об.) і метанолі (2,31 л, 4,7 об.) в атмосфері азоту при температурі від 0 до 30°C. Суміш перемішували при температурі від 15 до 25°C до завершення реакції, визначеної за допомогою ТШХ-аналізу (елюент: етилацетат; 35 візуалізація: нігідрин), звичайно протягом періоду від 2 до 6 годин. Реакційну суміш гасили водою (0,40 л, 0,8 об.) при температурі від 15 до 25°C і перемішували при температурі від 15 до 25°C протягом періоду від 16 до 20 годин. Отриману суміш концентрували у вакуумі при температурі від 40 до 45°C, і залишок розподіляли між водою (2,46 л, 5,0 об.) і етилацетатом (4,92 л, 10,0 об.). Шари розділяли, органічну фазу послідовно промивали соляною кислотою (1

М, 2,46 л, 5,0 об.), насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (2,46 л, 5,0 об.) і насиченим водним розчином хлориду натрію (2,46 л, 5,0 об.). Органічну фазу сушили над сульфатом магнію (0,985 кг, 2,0 мас.), фільтрували, і відфільтрований осад промивали етилацетатом (0,50 л, 1,0 об.). Об'єднані фільтрат і промивну рідину концентрували у вакуумі з одержанням неочищеної суміші ізомерів, що містила О-метилоксим (3Е,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і О-метилоксим (3Е,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону [0,395 кг, 86,9%-й, 80,3% мас./мас., 1Н ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) відповідає структури; площа піків згідно з ВЕРХ 82,0%, відношення Z/E 71,4:28,6] у вигляді грузлої коричневої олії. Олію розчиняли в толуолі (0,40 л, 1,0 об. щодо маси продукту) і зберігали доти, поки воно не було треба.

1.2 Флеш-Хроматографія на сухій колонці неочищеного О-метилоксиму (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону

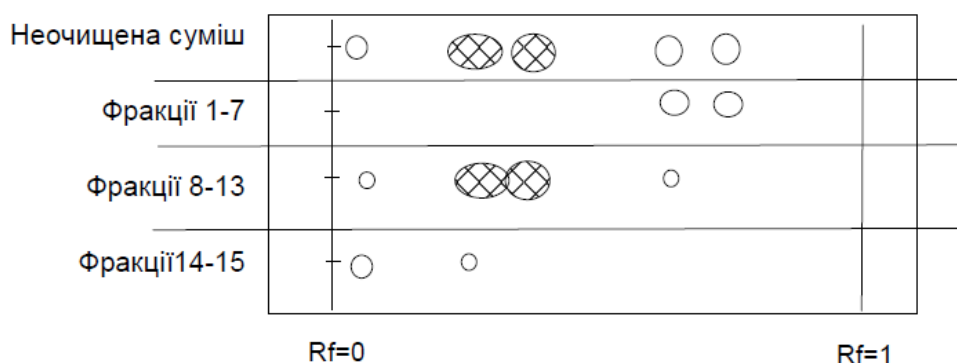
Очищення за допомогою флеш-хроматографії на сухій колонці неочищеної суміші ізомерів, отриманій згідно з протоколом, описаним вище, намагалися проводити із застосуванням різних умов елюювання. Неочищену суміш О-метилоксиму (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону, концентровану досуха, повторно розчиняли в 2 об'ємах толуолу і наносили на шар SiO<sub>2</sub> (5 мас.) перед елююванням із застосуванням фракцій елюента в кількості 25 об'ємів.

Фракції 1-5: елюювання чистим толуолом

Фракції 6-10: елюювання толуолом / MeOH 1% об./об.

Фракції 10-15: елюювання толуолом / MeOH 2% об./об.

### Схематичний ТШХ-профіль зібраних фракцій



Z- і E-форми представлені заштрихованими плямами. Фракції 8-13 поєднували і концентрували досуха. Результати свідчать про 75% виділення. Не відбувалося поліпшення відношення E/Z. Було відзначено незначне підвищення чистоти суміші ізомерів (E+Z) по площі піків, що становило приблизно 4%, до і після флеш-хроматографії на сухій колонці (таблиця I).

Таблиця I

Порівняльний профіль домішок до і після флеш-хроматографії на сухій колонці

	площа піків, %			
	Домішка при ВЧУ 0,7	E+Z-ізомери	Домішка при ВЧУ 1,08	ВЧУ 1,12 (Ar-Ar-CH <sub>2</sub> OH)
До флеш-хроматографії на сухій колонці	4,6	91,3	<0,5	4,1
Після флеш-хроматографії на сухій колонці	2,5	95,6	<0,5	0,7

ВЧУ: відносний час утримання

Флеш-хроматографія на сухій колонці неочищеної суміші ізомерів не забезпечують



очищення О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону. Відношення E/Z до і після флеш-хроматографії на сухій колонці залишається в діапазоні від 30/70 до 40/60.

Крім того, слід розглядати можливість здійснення такого методу виходячи з масштабу, у якому необхідно виконувати операцію. У масштабі 20 л зазначена операція не буде давати економії за часом.

1.3 Оцінка кристалізації чистого Z з неочищеної суміші ізомерів

У першій частині оцінки кристалізації чистого О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону з неочищеної суміші О-метилоксиму (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону розглядалися розчинність і можливі умови кристалізації чистого О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону. Результати випробувань на розчинність/кристалізацію, проведених у масштабі 15 мг, представлені в таблиці II нижче.

Таблиця II

Якісні дані про розчинність О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону

Розчинник	Розчиняється в:	Коментар
гептан	--	не розчинний в 20 об.
толуол	2 об. холодного	
ДІПЕ	40 об. гарячого	
ТГФ	4 об. холодного	
tBuOH	6 об. гарячого	
МІБК	4 об. гарячого	
ІПС	4 об. гарячого	

Попередня перевірка на розчинність свідчила про те, що чистий ізомер О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону розчинний у цілому ряді розчинників.

Виходячи з вищевказаних результатів, досліджували кристалізацію за допомогою додавання антирозчинника, і результати представлені в таблиці III. Антирозчинник додавали до теплового розчину температурою приблизно 40-50°C і дозволяли проохолоджуватися до кімнатної температури.

Зокрема, воду (антирозчинник) додавали до теплового (40-50°C) розчину О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону в ІПС до досягнення помутніння, і суміші дозволяли проохолоджуватися до кімнатної температури.

Таблиця III

Кристалізація за допомогою додавання антирозчинника

Розчинник	Антирозчинник	Коментар
толуол 20 об.	гептан 39 об.	виділення олії
ТГФ 10 об.	гептан 40 об.	виділення олії
tBuOH 10 об.	вода 20 об.	виділення олії
МІБК 10 об.	гептан 40 об.	виділення олії
ІПС 20 об.	вода 160 об.	наддрібна тверда речовина, виділення олії при відстоюванні
ІПС 8 об.	вода 18 об.	наддрібна тверда речовина, виділення олії при відстоюванні
ДМСО 10 об.	вода 12 об.	гель
NMP 10 об.	вода 28 об.	виділення олії
MeOH 10 об.	вода 10 об.	виділення олії
ДМСО 20 об.	вода 16 об.	виділення олії
ацетон 10 об.	вода 10 об.	виділення олії
ДХМ 10 об.	гептан 50 об.	виділення олії

Умови кристалізації за допомогою ІПС/води застосовували відносно неочищеної суміші ізомерів. Розчин у толуолі спочатку концентрували досуха перед розчиненням в ІПС (8 об.) і додаванням води (18 об.). На жаль, зазначена процедура приводила до розшарування речовини у вигляді олії (material de-mixing as oil).

В іншому експерименті антирозчинник додавали до розчину неочищеного О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону (чистота по площі піку 90,4%, містив 0,5% мас./мас. толуолу і 3,7% мас./мас. ТГФ) при кімнатній температурі до досягнення помутніння, і суміш витримували при кімнатній температурі (таблиця IV).

Таблиця IV

Кристалізація за допомогою додавання води при 18-22°C

Розчинник	Антирозчинник	Коментар
MeOH 5 про.	вода 3 об.	виділення олії
DMCO 5 про.	вода 3 об.	виділення олії

На даному етапі дослідження не були виявлені прийнятні умови кристалізації чистого О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону або забезпечення виділення твердої речовини, що містила О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону.

Подальші спроби кристалізації здійснювали із застосуванням неочищеної суміші ізомерів О-метилоксиму (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону. У всіх випадках об'єм розчинників був менше того, який був використаний раніше, і відповідав тільки одному розчиннику. Неочищену речовину (відношення E/Z 33:67 і чистота (E+Z) по площі піків 79,52%), застосовану для зазначеної кристалізації, концентрували до піни (таблиця V).

Таблиця V

Кристалізація з одного розчинника при більш низькому об'ємі

Речовина	Розчинник	Витримування в морозильній камері	Витримування в холодильнику
'Чисте Z'	Етилацетат 1,8 об.	Кристалізується, повторно розчиняється в міру того, як нагрівається.	Залишається в розчині з і без введення запалу після 2 діб.
Неочищене		Не кристалізується з або без введення запалу.	н/д
'Чисте Z'	Діетиловий ефір 2,3 об.	При додаванні ефіру при 18-22°C починає розчинятися, потім знову випадає. Виділення 70% Застосовно для затравки	н/д
Неочищене		Виділяється олія Повторно розчиняється в міру того, як нагрівається	Кристалізується, виділення 41 %, відношення E/Z 40/60, чистота по площі піків 85,4%. (маточні розчини : відношення E/Z 20/80, чистота по площі піків 62,1%). Запал не використовується.
'Чисте Z'	ТБМЕ 2,3 об.	Виділяється олія. Повторно розчиняється в міру того, як нагрівається.	Залишається в розчині з і без введення запалу після 2 діб.
Неочищене		Виділяється олія Повторно розчиняється в міру того, як нагрівається.	Залишається в розчині з і без введення запалу після 2 діб.

Кристалізація із застосуванням етилацетату з наступним витримуванням у морозильній камері протягом ночі забезпечує кристалізацію при застосуванні чистої речовини О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, але зазначена речовина швидко розчинялася повторно в міру того, як зразок нагрівався. При застосуванні неочищеної речовини в етилацетаті кристали не виявлялися навіть при додаванні запалу.

Кристалізація із застосуванням діетилового ефіру з наступним витримуванням у холодильнику забезпечувала кристалізацію при застосуванні неочищеної речовини О-метилоксиму (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону. Тверду речовину збирали з виділенням 41%. На жаль, зібрана тверда речовина мала трохи гірше відношення E/Z, ніж вихідна речовина, і трохи більш високу хімічну чистоту.

ТБМЕ як розчинник як для чистого Z, так і для неочищеної речовини забезпечував виділення олії після витримування в морозильній камері і залишав зазначену речовину в розчині після витримування в холодильнику із застосуванням і без застосування запалу.

Прийнятні умови кристалізації неочищеної суміші ізомерів, що забезпечують поліпшення відношення Z/E і чистоти суміші ізомерів (E+Z), не були виявлені.

1.4 По суті, чиста форма О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону

1.4.1 Очищення в невеликих масштабах

Процедуру виділення О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону в, по суті, чистій формі здійснювали за допомогою хроматографії із застосуванням системи Biotage (Biotage AB, SE-751 03 Уппсала, Швеція) неочищеної суміші ізомерів, виділеної після відновлення складного ефіру оксима (етап 7 прикладу 1).

П'ять різних партій (№ 020, 180, 062, 068, 076) неочищеної суміші ізомерів піддавали очищенню за допомогою хроматографії із застосуванням Biotage. Крім того, відносно партій № 068 і 076 застосовували різні умови. Очищення здійснювали із застосуванням додавання 5% мас./мас. внутрішнього стандарту, що представляв собою метиловий ефір оксима, (№ 068) і із застосуванням перевантаженої колонки Biotage (№ 076).

Кожну хроматографію виконували із застосуванням картриджів Biotage 40M (40 г діоксиду кремнію), які попередньо були промиті толуолом. Потім елюювали сумішшю толуол : MeOH (99:1 об./об.), і збирали 100 мл фракції (загальний об'єм 4 л) з наступним промиванням сумішшю толуол : MeOH (96:4 об./об.).

Фракції аналізували за допомогою ТШХ (елюент: етилацетат) для визначення того, які фракції можна було відкинути, а які фракції містили Z-ізомер. Потім зазначені Z-фракції аналізували за допомогою ВЕРХ. Граничні критерії для фракції становили >96% Z-ізомеру і <1,2% E-ізомеру.

Несподівано виявилось, що очищення різних партій за допомогою хроматографії із застосуванням Biotage була дуже ефективною, оскільки по суті чиста форма О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону була очищена на 99,4% (партії №020, №062, №068) і на 99,2% (партії №180, №076). Зокрема, хроматографія із застосуванням Biotage у присутності складного ефіру оксима видаляла 5% мас./мас. складного ефіру оксима без шкоди для виділення або якості (партія №068), і 25% перевантаження колонки Biotage не приводило до зниження виходу або якості (партія №076).

Таблиця VI

Ефективність хроматографії із застосуванням Biotage

№ партії	% E/Z на вході	% E/Z на виході	вихід Z-ізомеру
020	3,0 г чистота за площею піка 85,7% % E/Z: 30,5/69,5	Чисті Z-фракції: 1,0 г чистота за площею піка 98,8% % E/Z: 0,6/99,4	33%
180	2,0 г чистота за площею піка 92,0% % E/Z: 32,8/67,2	Чисті Z-фракції: 0,9 г чистота за площею піка 99,6% % E/Z: 0,8/99,2	45%

№ партії	% E/Z на вході	% E/Z на виході	вихід Z-ізомеру
062	3,0 г чистота за площею піка 83,5% % E/Z: 32,7/67,3	Чисті Z-фракції: 1,3 г чистота за площею піка 99,8% % E/Z: 0,6/99,4  Суміш: 1,2 г чистота за площею піка 91,0% % E/Z: 69,6/30,4	43%     11%
068	3,0 г з додаванням ~5% складного ефіру чистота за площею піка ~78% % E/Z: 32,7/67,3	Чисті Z-фракції: 1,2 г чистота за площею піка 99,8% % E/Z: 0,6/99,4  Суміш: 0,6 г чистота за площею піка 98,8% % E/Z: 27,9/72,1  Чисті E-фракції: 1,1 г чистота за площею піка 70,7% % E/Z: 98,7/1,3 (19,3% складний ефір)	40%     14%   не прим.
076	3,8 г чистота за площею піка 83,5% % E/Z: 32,7/67,3	Чисті Z-фракції: 1,4 г чистота за площею піка 99,8% % E/Z: 0,8/99,2  Суміш: 1,8 г чистота за площею піка 95,0% % E/Z: 63,6/36,4	37%     17%

## 1.4.2 Очищення у великих масштабах

Різні партії неочищеного О-метилоксиму (3Z/E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону (0,392 кг, 1,16 моль, 1,0 мас.) завантажували в 150 л модуль введення зразка (SIM unit) Biotage у вигляді приблизно 50% мас./мас. розчину в толуолі і піддавали очищенню із застосуванням 1% метанолу в толуолі (150 л) з наступним застосуванням 2% метанолу в толуолі (50 л), розмір фракцій становив 5,0 л. Зібрані фракції аналізували за допомогою ТШХ<sup>15</sup> і, при необхідності, ВЕРХ аналізів. Фракції, які були визнані такими, що містять чистий О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону (критерії: площа піка Z-ізомеру  $\geq 96,00\%$ , площа піка E-ізомеру  $\leq 1,20\%$ ), поєднували і концентрували у вакуумі при температурі від 40 до 45°C. До залишку додавали абсолютний етанол (2 x 2 л), і розчин концентрували у вакуумі при температурі від 40 до 45°C доти, поки не ставало можливим проведення маніпуляцій з піноподібною твердою речовиною. Необхідний продукт О-метилоксим (3Z, 5S)-1-[(біфеніл-4-іл-карбоніл)-5-гідроксиметил]піролідін-3-ону (0,089 кг, 22,7% мас./мас., <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) відповідає структурі, площа піка згідно ВЕРХ 99,3%, відношення Z/E 98,4:0,9) одержували у вигляді твердої речовини від брудно-білого до ясно-коричневого кольору.

Таблиця VII

Короткий опис очищення різних партій О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону в, по суті, чистій формі

№ партії	Речовина на вході (кг)	Продукт (кг)	Вихід (% мас./мас.)	Z-форма, % (площа піка, %)	E-форма, % (площа піка, %)
12	0,392	0,089	22,8	98,65	0,85
116	0,392	0,114	29	98,34	0,89
120	0,441	0,081	18,4	97,90	1,81
122	0,380	0,094	24,3	98,52	1,14
124	0,387	0,096	25,3	98,89	0,73
126	0,390	0,132	33,8	98,40	0,95
128	0,526	0,010	2	98,20	0,83
130	0,453	0,086	19	98,46	1,23
132	0,440	0,082	19,3	98,86	0,85
134	0,39	0,144	36,9	98,73	0,96
138	0,273	0,098	35,9	98,92	0,66
140	0,463	0,059	13,1	98,52	1,13
142	0,462	0,084	18,4	99,37	0,48
144	0,442	0,126	29	99,1	0,68
146	0,409	0,135	33,5	99,21	0,46
148	0,460	0,107	23,8	99,13	0,65
150	0,409	0,071	18	98,92	0,66
152	0,392	0,054	14,3	98,82	0,76
156	0,445	0,039	8,8	98,64	0,87
158	0,392	0,06	15,3	98,73	0,63
162	0,435	0,150	34,5	98,94	0,79
164	0,434	0,192	44,2	99,21	0,58
166	0,415	0,074	17,8	98,79	0,73
174	0,518	0,108	20,8	99,11	0,64
176	0,342	0,072	21	98,88	0,77
178	0,415	0,074	17,8	99,07	0,71
180	0,353	0,174	49,3	99,03	0,82
182	0,270	0,178	65,9	99,10	0,53

- Відповідні партії О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону (2,713 кг, 1,0 мас.), виділені в результаті хроматографії із застосуванням Biotage, поєднували і розчиняли в абсолютному етанолі (5,16 л, 2,0 об.) при температурі від 15 до 25°C, очищали за допомогою фільтрування через папір на основі скляного мікрОВОлокна, і промивну рідину, що представляла собою абсолютний етанол (0,50 л, 0,2 об.), наносили на фільтр. Об'єднані фільтрати порціями концентрували у вакуумі при температурі від 40 до 45°C. Отриману суміш переміщали на сушильні лотки і сушили у вакуумі при 30°C протягом 24 годин. Потім температуру в печі поступово підвищували від 30 до 40°C протягом 80 годин. Рівень залишкового розчинника визначали за допомогою <sup>1</sup>H ЯМР-аналізу (CDCl<sub>3</sub>), і коли виявляли, що зазначений рівень становив <1,0%, мас./мас., тверду речовину пропускали через сито з отворами 500 мкм. Тверду речовину повертали в піч і сушили при температурі від 40 до 42°C доти, поки рівень розчинника не ставав ≤0,40% мас./мас., з одержанням О-метилоксиму (3Z, 5S)-1-[(біфеніл-4-іл-карбоніл)-5-гідроксиметил]піролідін-3-ону (2,633 кг, 97,1% мас./мас., <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) відповідає структурі, площа піка згідно ВЕРХ 98,65%).

Об'єднана процедура підсумована нижче:

- Речовина на вході: 2,713 кг;  
Речовина на виході: 2,633 кг;  
Вихід: 97,1% мас./мас.

Приклад 2: Зв'язування О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону з ОТ-R і рецептором вазопресину V1a

Зв'язування з ОТ-R і рецептором вазопресину V1a

Конкурентне зв'язування з рецептором окситоцину людини вимірювали *in vitro* із застосуванням сцинтиляційного аналізу зближення.

Зазначений аналіз забезпечує визначення афінності випробовуваних сполук стосовно OT-R. Мембрани з HEK293EBNA (клітин, що експресують OT-R) суспендували в буфері, що містив 50 мМ Tris-HCl, pH 7,4, 5 мМ MgCl<sub>2</sub> і 0,1% BCA (мас./об.). Мембрани (2-4 мкг) змішували з 0,1 мкг кульок для сцинтиляційного аналізу зближення (SPA), покритих аглютиніном зародка пшениці, (АЗП-ПВТ-поліетиленімінових кульок від Amersham) і 0,2 нМ міченого радіоактивним ізотопом [<sup>125</sup>I] OVTA (OVTA, будучи орнітин-вазоактивним, є аналогом OT в експериментах по конкурентному зв'язуванню). Неспецифічне зв'язування визначали в присутності 1 мкМ окситоцину. Загальний аналізований об'єм становив 100 мкл. Планшети (планшет Corning® NBS) інкубували при кімнатній температурі протягом 30 хв, і робили підрахунки на сцинтиляційному лічильнику для планшетів Mibrobeta®. Конкурентне зв'язування здійснювали в присутності сполук згідно з цим винаходом в наступних концентраціях: 30 мкМ, 10 мкМ, 1 мкМ, 300 нМ, 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 100 пМ, 10 пМ. Дані конкурентного зв'язування аналізували із застосуванням ітеративної нелінійної програми апроксимації кривих «Prism» (GraphPad Software, Inc).

Здатність сполук згідно з цим винаходом інгібувати зв'язування I-OVTA з OT-рецептором оцінювали із застосуванням вищеприведеного біологічного аналізу *in vitro*. Афінність зв'язування випробовуваних сполук із вищевказаних прикладів виражається константою інгібування (K<sub>i</sub>; нМ). На підставі зазначених значень можна зробити висновок, що зазначені випробовувані сполуки згідно з цим винаходом демонструють значне зв'язування з рецептором окситоцину.

Константа інгібування K<sub>i</sub> для О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону стосовно рецептора окситоцину становить K<sub>i</sub> (нМ) = 52 нМ і стосовно рецептора вазопресину V1a становить K<sub>i</sub> (нМ) = 120 нМ. Таким чином, О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону є селективним стосовно рецептора окситоцину.

Приклад 3: О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону являє собою антагоніст OT-R

Інгібування окситоцин-індукованої мобілізації Ca<sup>2+</sup> у клітинах HEK293EBNA, трансфіційованих OT-R, вимірювали за допомогою FLIPR (спектрофотометра для читання планшетів для візуалізації флуоресценції).

Зазначений аналіз дозволяє виміряти інгібування OT/OT-R-опосередкованої мобілізації кальцію за допомогою сполуки, що являє собою О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону.

FLIPR® являє собою пристрій для візуалізації флуоресценції із застосуванням лазера (лазера на іонах аргону) для одночасного висвітлення і читання (за допомогою охолоджуваної ПЗС-камери) кожної лунки 96-ямкового планшета, що, таким чином, забезпечує можливість швидких вимірювань великої кількості зразків.

Приготування планшетів: FLIPR-планшети попередньо покривали 10 мкг/мл PLL (полі-L-лізином) + 0,1% желатином для прикріплення клітин HEK293EBNA (людських ембріональних клітин нирок, що експресують OT-R) та інкубували протягом періоду від 30 хв до 2 діб при 37°C. Клітини висівали в 96-ямкові планшети (60000 клітин/лунку).

Маркування із застосуванням Fluo-4: 50 мкг Fluo-4 (чутливого до Ca<sup>2+</sup> флуоресцентного барвника) розчиняли в 20 мкл плюронової кислоти (20% у ДМСО). Потім розчинений Fluo-4 розбавляли 10 мл культурального середовища DMEM (Dubecco's Minimal Essential Medium, мінімальне живильне середовище Ігла в модифікації Дульбекко)-F12. Планшети один раз промивали середовищем DMEM-F12. 100 мкл середовища DMEM-F12, що містило Fluo-4, додавали до HEK-клітин, які інкубували протягом 1,5-2 год у зазначеному флуоресцентному середовищі. Fluo-4 поглинається цитоплазмою клітин.

Буфер: 145 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 1 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ Hepes, 10 мМ глюкоза, EGTA (етилен-біс(оксиетилен-нітрило)тетраоцтова кислота). pH доводили до 7,4.

Виконання аналізу: готували не менше 80 мкл/лунку сполуки, що представляла собою О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, (5х) у вищевказаному буфері (1х) (96-ямкові планшети). Сполука, що представляла собою О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, додавали в 96-ямкові планшети в різних концентраціях (30 мкМ, 10 мкМ, 1 мкМ, 300 нМ, 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 100 пМ, 10 пМ). Окситоцин (OT) додавали в концентрації 40 нМ.

Потім вимірювали відносну флуоресценцію Fluo-4 (λ<sub>ex</sub> = 488 нм, λ<sub>em</sub> = 590 нм) за допомогою FLIPR у присутності або при відсутності сполук, що представляли собою О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону.

Можна було виявити флуоресценцію маркера, чутливого до кількості  $\text{Ca}^{2+}$ , переміщенню  $\text{Ca}^{2+}$ . Далі можна було визначити здатність сполуки, що представляв собою О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону, протидіяти окситоцин-індукованій внутрішньоклітинній мобілізації  $\text{Ca}^{2+}$ , опосередкованій рецептором окситоцину.

5 Сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону інгібує активність окситоцину на OT-R з IC50 81 нМ.

Приклад 4: Придушення спонтанних скорочень матки у пацюка на пізньому терміні вагітності, що перебував під наркозом

#### 4.1 Протокол експерименту

10 Самок пацюків Sprague Dawley CD (SD) BR (Charles River, Калько, Італія) на пізніх термінах вагітності (підтверджено на 19-21 днях вагітності) масою 350-400 г наркотизували уретаном (1,05 г/кг, внутрішньочеревинно) і поміщали на гомеотермічний операційний стіл. Робили серединний розріз на рівні гіпогастрію, оголювали один з рогів вагітної матки, і його трубний кінець (біля яєчника) закривали за допомогою накладення лігатури з хірургічного шовку.

15 Відповідно до плода, що перебував поряд з яєчником, стінку рогу матки надрізали, намагаючись не зашкодити прилягаючу плаценту, і трубку PE 240 з латексним балоном (довжина в порожньому стані 9 мм, ємність 0,1 мл; Radnoti, Монровія, СА, США) на кінці вставляли в просвіт і прикріплювали до стінки матки за допомогою хірургічного шовку. Після заповнення внутрішньої порожнини латексного балона 0,1 мл стерильного фізіологічного розчину катерер з'єднували із системою посилення/реєстрації (MacLab, ADInstruments Pty Ltd, Касл-Хілл, Австралія) через датчик тиску P23ID Gould-Statham. Одну з яремних вен відокремлювали і канюлювали із застосуванням поліетиленової канюлі PE60 для забезпечення можливості внутрішньовенного введення. Після хірургічної підготовки встановлювали 30-хвилинний період стабілізації, а потім оцінювали вплив доз сполук, що зростали, згідно з цим винаходом (введених у вигляді внутрішньовенної інфузії протягом 10 хв, болюсно

20 розчинили внутрішньовенно або перорально) за допомогою вимірювання скорочень матки, що виникали в результаті.

У випадку внутрішньовенного введення (інфузійно або болюсно) скорочувальну активність матки кількісно визначали за допомогою обчислення площі під кривою (ППК) протягом 10-хвилинного періоду виконання ін'єкції. Процентна зміна значень ППК, що відносилися до спонтанної реакції матки, що відмічається після кожного введення сполуки, обчислювали у порівнянні зі значенням, зафіксованим до першого введення дози (вихідним значенням). Вплив випробовуваних сполук згідно з цим винаходом оцінювали за допомогою порівняння значень внутрішньопорожнинного тиску в матці до і після лікування.

35 У випадку перорального введення той же метод обчислень застосовували в різних часових точках після лікування. Статистичні відмінності між лікувальними групами в кожній часовій точці визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу з наступним застосуванням критерію Тьюкі.

#### 4.2 Результати

40 На фігурах 1A і B зображені дозозалежні впливи Z-ізомера і E-ізомера, введених пероральним способом, на придушення спонтанних скорочень матки у вагітних пацюків, що перебували під наркозом, незадовго до терміну пологів (19-21 днів вагітності). Дані представлені у вигляді середніх значень  $\square$  CO для n=6-8 тварин на групу. Вісь ординат відображає скорочення матки у вигляді % значення у порівнянні зі значенням до введення дози, установленим на рівні 100%. Вісь абсцис відображає час після введення дози у хвилинах. Скорочення безупинно фіксували, і площу під кривою (ППК) інтегрували по 10-хвилинним інтервалам часу.

Результати, представлені на фігурі 1A, свідчать про те, що О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону (Z-форма) здатний швидко придушувати спонтанні скорочення матки у пацюка на пізньому терміні вагітності, що перебуває під наркозом, у різних дозах (10, 30 або 60 мг/кг) у порівнянні з контрольним носієм NP3S (5% N-метилпіролідону, 25% поліетиленгліколю 200, 30% поліетиленгліколю 400, 20% пропіленгліколю, 20% сольового розчину). Придушення скорочень матки на 15% може спостерігатися через 5-15 хв послугу введення, по суті, чистої Z-форми. Ефективне придушення на 42% спостерігається через 170-180 хвилин після введення зазначеної сполуки.

50 Навпаки, не спостерігалось придушення скорочення матки О-метилоксимом (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідін-3-ону в різних дозах (10, 30 або 60 мг/кг, E-форма) у будь-який момент часу протягом 170-180 хвилин спостереження (фігура 1B).

60 Цей винахід несподівано демонструє, що, по суті, чиста Z-форма, що має формулу О-

метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону, придушує скорочення матки, тоді як, по суті, чиста Е-форма не має ефективності. Таким чином, цей винахід краще відноситься до біологічно активних сполук, що представляють собою сполуку формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або метаболіт зазначеної сполуки, в, по суті, чистій формі, які можна вводити в більш низькій дозі у порівнянні із зазначеними сполуками, забезпеченими в суміші ізомерів.

Приклад 5: Стабільність О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону *in vivo*

Ізомерне взаємоперетворення [14C]-О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону досліджували після однократного перорального і внутрішньовенного введення доз (номінальних доз 30 мг/кг, 25 мкКі/пацюк) вісьмом здоровим самкам пацюків (n = 4 для кожного способу введення дози).

Тварини, використані в зазначеному дослідженні, являли собою пацюків-альбіносів Sprague-Dawley, Crl: CD®BR. Усі тварини були надані Charles River UK Ltd (Маргіт, Кент, UK). Тварини мали масу в діапазоні 200-260 г і вік приблизно 2 місяці. Пацюкам присвоювали унікальний ідентифікаційний номер, і пацюків виявляли за допомогою унікальних міток на хвостах плюс розташування клітин.

Дозові групи були наступними: 4 самкам дозу вводили перорально, і 4 самкам дозу вводили внутрішньовенно.

Лікарські форми для перорального і внутрішньовенного введення [14C]-О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону готували окремо в кожній фазі дозування (dose phase) при рівні цільової дози 30 мг/кг і при концентрації радіоактивної речовини приблизно 25 мкКі/пацюк. Лікарські форми готували у відповідній матриці; внутрішньовенні дози готували в NP3S, тоді як пероральні дози готували в суміші лабрасол : вода (1:1 об./об.).

Хроматографічний аналіз із застосуванням ВЕРХ свідчив про те, що радіоактивні компоненти, що демонструють спільну хроматографію з Е-ізомером формули О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону, не були присутні в пероральних або внутрішньовенних лікарських формах до або після введення дози. Отже, не відбувалося взаємоперетворення О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону в О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону, що піддається виявленню, у процесі приготування або введення дози. Не було ніяких доказів того, що [<sup>14</sup>C]-Е-ізомер формули О-метилоксим (3E,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону був присутній у плазмі, зібраній не більш ніж через 6 годин після перорального або внутрішньовенного введення [14C]-О-метилоксиму (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону.

Таким чином, при застосуванні описаних методів [14C]-О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону не піддається ізомерному взаємоперетворенню *in vivo*, що піддається виявленню, після перорального або внутрішньовенного введення дози.

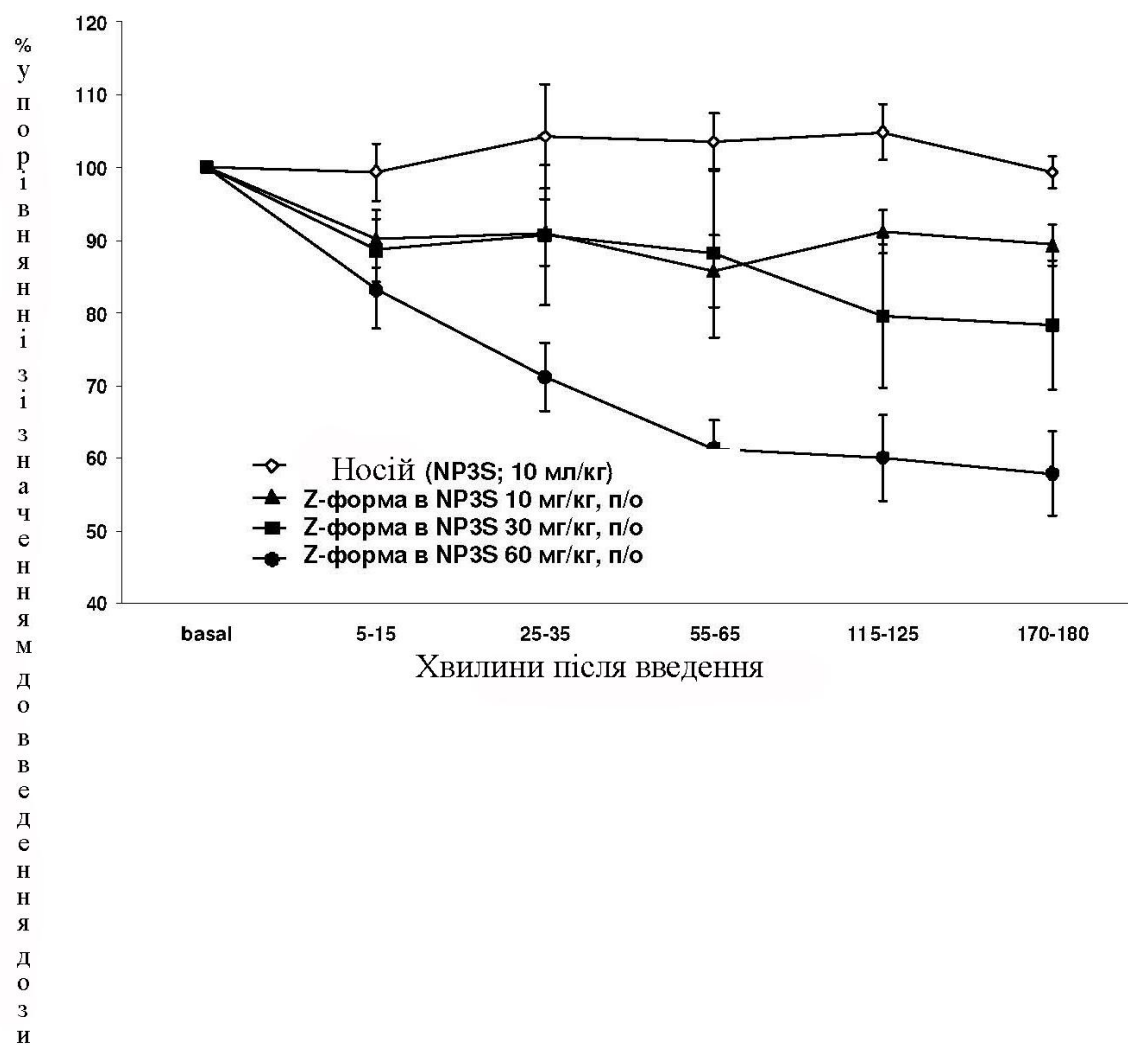
#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону.
2. Сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що зазначена сполука забезпечена в, по суті, чистій формі.
3. Сполука за п. 2, яка **відрізняється** тим, що чистота, по суті, чистої форми перебуває щонайменше в діапазоні від 85 % до 99,9 %.
4. Сполука за будь-яким з пп. 1-3, яка **відрізняється** тим, що зазначена сполука являє собою антагоніст рецептора окситоцину.
5. Сполука за будь-яким з пп. 1-4, яка **відрізняється** тим, що зазначена сполука являє собою антагоніст рецептора вазопресину V1a.
6. Сполука за будь-яким з пп. 1-5, яка **відрізняється** тим, що зазначена сполука пригнічує скорочення матки.
7. Сполука за будь-яким з пп. 1-6, яка **відрізняється** тим, що зазначену сполуку вводять суб'єктові, що потребує цього, у вигляді однократної дози від 50 мг до 900 мг.

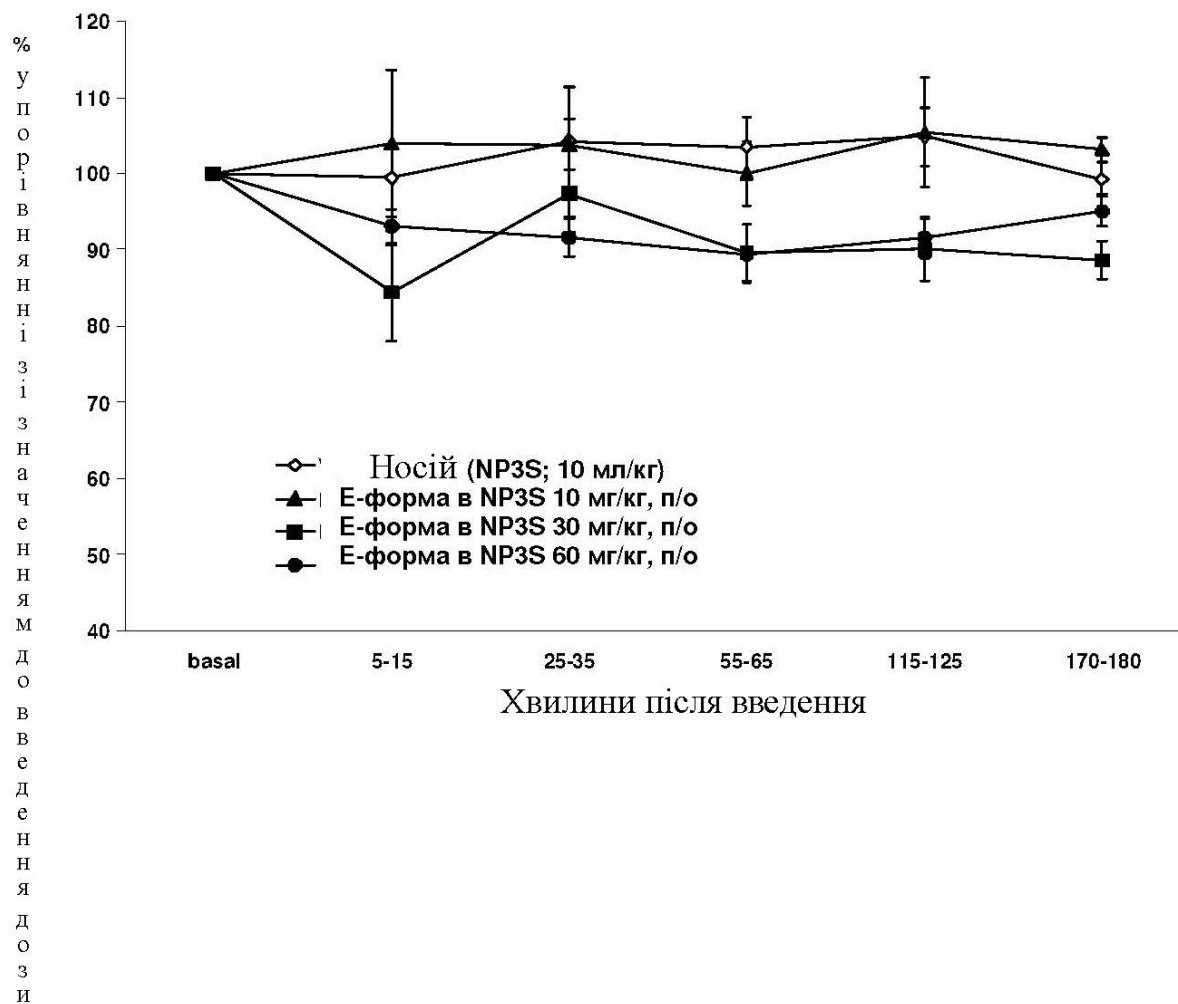


8. Сполука за п. 7, яка **відрізняється** тим, що зазначена однократна доза краще становить від 100 мг до 600 мг.
9. Сполука за будь-яким з пп. 1-8, яка **відрізняється** тим, що зазначену сполуку вводять спільно або роздільно із щонайменше однією сполукою, вибраною із групи, що включає
- 5 блокатори кальцієвих каналів, сульфат магнію, селективні модулятори простагландинів, агоністи бета-2-адренергічних рецепторів, агоністи бета-3-адренергічних рецепторів і/або кортикостероїди.
10. Сполука за будь-яким з пп. 1-9, яка **відрізняється** тим, що зазначена сполука є стабільною у плазмі.
- 10 11. Сполука за будь-яким з пп. 1-10, яка **відрізняється** тим, що суб'єкт, що потребує введення зазначеної сполуки, являє собою ссавця, краще людину.
12. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 для застосування як лікарського засібу.
13. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 для застосування у лікуванні і/або запобіганні у суб'єкта, що потребує цього, порушення, пов'язаного з активністю рецептора окситоцину і/або активністю
- 15 рецептора вазопресину V1a.
14. Сполука за п. 13, яка **відрізняється** тим, що зазначене порушення, пов'язане з активністю рецептора окситоцину, вибране із групи, що включає передчасні пологи, передчасне народження, дисменорею, передчасну еякуляцію, повну дисфункцію, ендометріоз, невдалу імплантацію ембріона внаслідок скорочень матки, безплідність, доброякісну гіперплазію
- 20 передміхурової залози, нервово-психічні розлади, аутизм, порушення соціальної поведінки, психосоціальний стрес і/або серцево-судинні порушення.
15. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп. 1-11 і фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або допоміжну речовину.
16. Фармацевтична композиція за п. 15, яка **відрізняється** тим, що введення здійснюють
- 25 пероральним, вагінальним або внутрішньовенним способом.
17. Спосіб одержання і виділення сполуки за будь-яким з пп. 1-11 в, по суті, чистій формі, що включає наступні етапи:
- а) завантаження неочищеної суміші ізомерів, що містить сполуку формули О-метилоксим (3Z,5S)-5-(гідроксиметил)-1-[(2'-метил-1,1'-біфеніл-4-іл)карбоніл]піролідин-3-ону і/або активний
- 30 метаболіт зазначеної сполуки, на колонку для хроматографії на силікагелі;
- б) очищення із застосуванням 1 % спирту в органічному розчиннику і
- с) очищення із застосуванням 2 % спирту в органічному розчиннику.
18. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 для застосування у технології допоміжної репродукції.
19. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 для застосування для лікування безплідності за допомогою
- 35 методу, що являє собою екстракорпоральне запліднення з переносом ембріона (ЕКЗ-ПЕ).
20. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 для застосування для зниження можливості невдалої імплантації ембріона внаслідок скорочень матки.
21. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 для застосування для зниження скорочень, що виникають у процесі переносу ембріона.
- 40 22. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 для застосування у лікуванні і/або запобіганні захворюванню, пов'язаному зі скоротністю судин, індукованою окситоцином, скоротністю судин, індукованою вазопресином, скоротністю м'язів, індукованою окситоцином, скоротністю м'язів, індукованою вазопресином.

Fig.1A



Фіг. 1В



Комп'ютерна верстка М. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601