



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **102210** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)
C07C 229/42 (2006.01)
A61K 31/136 (2006.01)
A61P 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

- (21) Номер заявки: **а 2012 10852**
(22) Дата подання заявки: **24.07.2006**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.06.2013**
(41) Публікація відомостей про заявку: **25.02.2013, Бюл.№ 4**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.06.2013, Бюл.№ 11**
(62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заявку, позначену кодом (21): **а2008 02141, 24.07.2006**
(72) Винахідник(и):
**Наккарі Жанкарло (ІТ),
Бароні Сержіо (ІТ)**
(73) Власник(и):
**ДЖУЛІАНІ ІНТЕРНЕТНЛ ЛІМІТЕД,
33 Sir John Rogerson's Quay, Dublin 2,
Ireland (ІЕ)**
(74) Представник:
**Маслова Тетяна Михайлівна, реєстр.
№61**

- (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
EP 0055689 A1 (SCHERING AG [DE]), 07.07.1982
DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414322
retrieved from XFire Database accession no. brn 3200601 & J CHEM SOC, 1935, page 104,111,
DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414323
retrieved from XFire Database accession no. brn 3242057 & CHEM BER, vol. 74, 1941, page 500,517
DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414324
retrieved from XFire Database accession no. brn 3199917 & CHEM BER, vol. 46, 1913, page 288
DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414325
retrieved from XFire Database accession no. brn 3199913 & CHEM BER, vol. 46, 1913, page 3978
DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414326
retrieved from XFire Database accession no. brn 3296969 & CHEM NEWS J IND SCI, vol. 36, 1877, page 269
DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414327
retrieved from XFire Database accession no. pcrn 859019 & US 4 429 152 A (SCHERING AG [DE]) 31 January 1984 (1984-01-31)
DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414328
retrieved from XFire Database accession no. brn 3268495 & JUSTUS LIEBIGS ANN CHEM, vol. 436, 1924, page 60

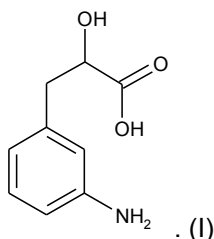
UA 102210 C2

- (56) DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414329 retrieved from XFire Database accession no. brn 2208094 & J AM CHEM SOC, vol. 68, 1946, page 2335,2338
 DATABASE BEILSTEIN BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY, FRANKFURT-MAIN, DE; XP002414330 retrieved from XFire Database accession no. brn 2803076 & J ORG CHEM, vol. 14, 1949, page 1013,1018
 ROUSSEAU ET AL.: "Intestinal antiinflammatory effect of 5-aminosalicylic acid is dependent on peroxisome poliferator-activated receptor-gamma" JEM, vol. 201, no. 8, 18 April 2005 (2005-04-18), pages 1205-1215
 ALLGAYER H: "REVIEW ARTICLE: MECHANISMS OF ACTION OF MESALAZINE IN PREVENTING COLORECTAL CARCINOMA IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE" ALIMENTARY PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS, BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS LTD., CAMBRIDGE, GB, vol. 18, no. SUPPL 2, 2003, pages 10-14
 EP 1285908 A1 (KYORIN SEIYAKU KK [JP]), 26.02.2003

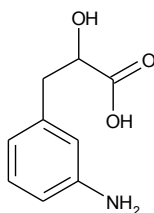
(54) (±)-2-ГІДРОКСІ-3-(3'-АМІНОФЕНІЛ)ПРОПІОНОВА КИСЛОТА, ЯКА Є СПОЛУКОЮ, СПЕЦИФІЧНОЮ ДЛЯ ППАР РЕЦЕПТОРІВ ТА ФРЕ РЕЦЕПТОРІВ, А ТАКОЖ ЇЇ ВИКОРИСТАННЯ У МЕДИЧНІЙ ГАЛУЗІ

(57) Реферат:

Даний винахід стосується (±)-2-гідроксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонової кислоти, яка є сполукою, специфічною для ППАР рецепторів та ФРЕ рецепторів, яка має структурну формулу (I)



Передбачається застосування сполуки для приготування медичного препарату та способу профілактики або лікування хронічних запальних хвороб, таких як хвороба Крона або виразковий проктоколіт. Сполуку застосовують також для приготування медичного препарату та способу профілактики або лікування пухлин, з проявами активності ППАР_γ та ФРЕ, стравоходу, шлунку, підшлункової залози, товстої кишки, простати, грудної залози, матки та придатків, нирок та легенів.



Даний винахід належить до сполук та їхніх солей, які є специфічними для ППАР рецепторів та ФРЕ рецепторів, а також до їхнього використання у медичній галузі.

Зокрема, сполуки та їхні солі згідно з даним винаходом можуть бути корисними для запобігання та лікування пухлин з проявами активності ППАР γ рецепторів (Пероксисом Проліфератор-Активованій Рецептор) та ФРЕ рецепторів (Фактор Росту Епідермісу), таких як пухлини наступних органів: стравоходу, шлунку, підшлункової залози, товстої кишки, простати, грудної залози, матки та придатків, нирок та легенів. Більше того, сполуки та їхні солі, згідно з даним винаходом, можуть використовуватися для лікування хронічних запальних хвороб, зокрема хронічних кишкових захворювань, таких як хвороба Крона та виразковий проктоколіт.

ППАР γ рецептори є ядерними рецепторами (група з приблизно 50-ти транскрипційних факторів), які керують проявами активності багатьох генів, важливих для регулювання ліпідного метаболізму, синтезу інсуліну та процесів канцерогенезу і запалення. [Bull AW, Arch Pathol Lab Med 2003;127:1121-1123], [Koeffler HP, Clin Cancer Res 2003; 9:1-9], [Youssef J et al, J Biomed Biotech 2004; 3:156-166].

Є різні природні та синтетичні агоністи (речовини, що мають властивість зв'язуватися з рецепторами), які приєднуються до ППАР γ рецепторів та змінюють їхню структуру, спричиняючи при цьому процес активації. Природні та синтетичні ліганди описані у наступному виданні: The Lancet 2002; 360:1410-1418.

Останні дослідження продемонстрували, що обробка пухлинних клітин лігандами ППАР γ рецепторів спричиняє зменшення клітинного розмноження, клітинної диференціації та апоптозу, що натякає на потенціальне застосування таких сполук як речовин для запобігання канцерогенезу. [Osawa E et al., Gastroenterology 2003; 124:361-367].

Інші дослідження продемонстрували, що ліганди ППАР γ рецепторів (наприклад троглітазон) мають протизапальний ефект та затримують слизову запальну реакцію у тваринних моделях ЗКЗ (запального кишкового захворювання) [Tanaka T et al, Cancer Res 2001; 61:2424-2428].

Більш того, нещодавно було опубліковано докази, що кишкова протизапальна діяльність 5-АСК (аміносаліцилова кислота), "золотого стандарту" у лікуванні ЗКЗ, залежить від приєднання та подальшої активації ППАР γ рецепторів [Rousseaux C et al, J Exp Med 2005; 201:1205-1215].

Трансмембранний рецептор із тирозинкіназою ФРЕ активністю має сильний прояв у активованій формі у різних типах новоутворень [Mendelsohn J, Endocr Relat Cancer 2001; 8:3-9] (Harari PM, Endocr Relat Cancer 2004; 11:689-708).

Надмірний прояв активності рецептора також пов'язаний із потенційною можливістю ракових клітин до утворення метастазів. У зв'язку з цим було продемонстровано, що ФРЕ сприяє міграції та інвазивності різних типів клітин, пов'язаних із ураженнями на рівні взаємодії з позаклітинним матриксом [Brunton et al, Oncogene 1997; 14:283-293].

Чисельними дослідженнями, проведеними як на піддослідних тваринах, так і на людині, було встановлено ефективність затримуючих речовин ФРЕ рецептора у контролі розмноження та розповсюдження пухлин [Mendelsohn J, Endocr Relat Cancer 2001; 8:3-9] (Harari PM, Endocr Relat Cancer 2004; 11:689-708).

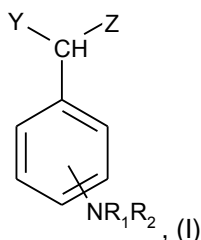
Немає ніякого сумніву у тому, що внутрішньоклітинні сигнали, які виникають внаслідок активації ФРЕ рецептора, сприяють росту та виживанню новоутворених клітин, роблячи свій внесок у розвиток патології, а також у тому, що такі сигнали є дуже важливими для визначення можливості пухлинних клітин щодо розповсюдження та проникнення у віддалені органи. – [Mendelsohn J, Endocr Relat Cancer 2001; 8:3-9], [Kari C et al, Cancer Res 2003; 63:1-5].

Виходячи з вищезазначеного та пам'ятаючи, що з біологічної точки зору хронічні запальні процеси виграють певну роль у канцерогенезі, стає цілковито зрозуміло, що існує реальна потреба щодо інноваційних досліджень у сфері нових хімічних речовин, які, шляхом комплементарного впливу на рецептори ППАР γ та ФРЕ, можуть мати протизапальну та протипухлинну дію по типу хімічного запобігання, протидії розмноженню та утворенню метастазів.

Даний винахід відкриває шлях для користування новим класом сполук, які є корисними для запобігання та лікування раку та хронічних запалень шляхом модуляції активності специфічних рецепторів, таких як ППАР γ рецептори та ФРЕ рецептори.

Даний винахід стосується новітнього та винахідницького медичного та терапевтичного використання ряду сполук. Оскільки ці сполуки не відомі, винахід також стосується цих сполук.

Даний винахід стосується сполук, які охоплюються наступною загальною формулою (I),

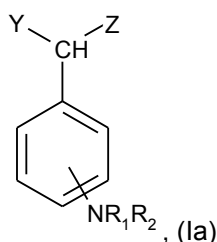


де

R_1 та R_2 , які можуть бути ідентичними чи різними, вибираються з групи, яка містить в собі -H чи лінійну або розгалужену алкільну групу, у якій міститься від 1 до 6 атомів вуглецю, чи які спільно формують ароматичне або аліфатичне кільце з 5 чи 6 атомів;

Y та Z , які можуть бути ідентичними чи різними, вибираються з групи, яка містить в собі наступне: -H, -OH, -COOH, -OR₃, -CH(OR₃)COOH, у якій R_3 вибирається з H, фенілу, бензилу, -CF₃ або -CF₂CF₃, вінілу, алілу та лінійної або розгалуженої алкільної групи, у якій міститься від 1 до 6 атомів вуглецю.

Даний винахід також стосується підгрупи сполук, які описуються наступною загальною формулою (Ia)



де

R_1 та R_2 , які можуть бути ідентичними чи різними, вибираються з групи, яка містить в собі -H чи лінійну або розгалужену алкільну групу, у якій знаходиться від 1 до 6 атомів вуглецю;

Y та Z , які можуть бути ідентичними чи різними, вибираються з групи, яка містить в собі наступне: -H, -OH, -COOH, -OR₃, -CH(OR₃)COOH, у якій R_3 вибирається з -H та лінійної або розгалуженої алкільної групи, у якій міститься від 1 до 6 атомів вуглецю.

У деяких структурних варіантах винаходу Z та Y є різними. У деяких варіантах винаходу щонайменш один із Y або Z має наприкінці -COOH. Отже, у деяких структурних варіантах винаходу Y чи Z (а у деяких структурних варіантах винаходу щонайменш один із Y або Z , а також у деяких структурних варіантах винаходу тільки один із Y або Z) є -COOH. У деяких структурних варіантах винаходу Y чи Z (а у деяких структурних варіантах винаходу щонайменш один із Y або Z , а також у деяких структурних варіантах винаходу тільки один із Y або Z) є -CH(OR₃)COOH.

Даний винахід також стосується сполук, які охоплюються обома формулами (I) та (Ia), окрім у випадку, коли Y та Z , які можуть бути ідентичними чи різними, вибираються з групи, яка містить в собі наступне: -H, -COOH, -OR₃, -CH(OR₃)COOH. Отже, у деяких структурних варіантах винаходу Z чи Y можуть не бути -OH. У таких варіантах винаходу сполуки 10 та 11 виключаються з розгляду.

У деяких варіантах винаходу, коли Y є -H та Z є -CH(OH)COOH, група NR_1R_2 з'єднується в позиції 3'. Таким чином, у деяких структурних варіантах винаходу сполука 21 виключається:

У інших варіантах винаходу, коли Z є -OCH₃ та Y є -COOH, група NR_1R_2 з'єднується в позиції 4'. Таким чином, у деяких структурних варіантах винаходу сполука 22 виключається.

У деяких варіантах винаходу, коли Y є -H та Z є -CH(OCH₃)COOH, група NR_1R_2 з'єднується в позиції 4'. Таким чином, у деяких структурних варіантах винаходу сполука 35 виключається.

Зокрема, вищезазначена лінійна чи розгалужена алкільна група, яка утримує від 1 до 6 атомів вуглецю, може бути вибрана з -CH₃, -CH₂CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂CH₂CH₃, -C_nH_{2n-1}.

Сполуки формул (I) та (Ia) можуть бути підібрані з групи, яка містить наступне:

3-(3'-амінофеніл)2-гідроксипропіонову кислоту (сполука 20)

2-(4-амінофеніл)2-метоксіоцтову кислоту (сполука 23)

2-(3-амінофеніл)2-етоксіоцтову кислоту (сполука 32)

2-(4-амінофеніл)2-етоксіоцтову кислоту (сполука 33)

3-(4'-амінофеніл)2-метоксипропіонову кислоту (сполука 34)

3-(4'-амінофеніл)2-етоксипропіонову кислоту (сполука 39)

3-(3'-амінофеніл)2-етоксипропіонову кислоту (сполука 40).

Вищенаведені сполуки також можна записати у стандартній хімічній термінології наступним чином (далі у тексті буде використовуватись саме така термінологія):

(±)-2-гідроксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 20)

(±)-2-метоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 23)

5 (±)-2-етоксі-2-(3'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 32)

(±)-2-етоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 33)

(±)-2-метоксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 34)

(±)-2-етоксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 39)

(±)-2-етоксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 40).

10 Згідно з даним винаходом, відповідні сполуки можуть бути з успіхом використані в галузі медицини. Таким чином, даний винахід стосується фармацевтичної сполуки, яка містить у собі одну чи більш ніж одну вищезазначену сполуку як активну головну речовину у комбінації з одним чи більш ніж одним прийнятним з фармацевтичної точки зору наповнювачем чи допоміжним засобом.

15 Більш того, даний винахід стосується використання вищенаведених сполук з метою приготування лікарського засобу для запобігання та лікування пухлин із проявами активності ППАР γ рецепторів та ФРЕ рецепторів, таких як, наприклад, пухлини стравоходу, шлунку, підшлункової залози, товстої кишки, простати, грудної залози, матки та маточних придатків, нирок та легенів.

20 Більш того, даний винахід стосується використання нових сполук для приготування лікарського засобу для лікування хронічних запальних хвороб, таких як хвороба Крона та виразковий проктokolіт.

Зокрема, сполуки, які визначені у винаході та можуть бути застосовані у відповідності до вищенаведених цілей (окрім тих сполук, які вже були описані), можуть бути наступними:

25 (R, S)-2-гідроксі-2-(3-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 10)

(R, S)-2-гідроксі-2-(4-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 11)

(R, S)-2-гідроксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 21)

(R, S)-2-метоксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 35)

(R, S)-2-метоксі-3-(3-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 34).

30 Вищенаведені сполуки також можна записати у стандартній хімічній термінології наступним чином (далі у тексті буде використовуватись саме така термінологія):

(±)-2-гідроксі-2-(3'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 10)

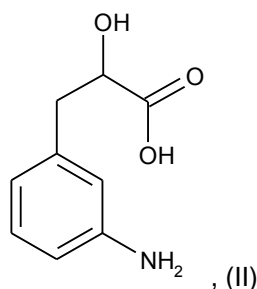
(±)-2-гідроксі-2-(4'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 11)

(±)-2-гідроксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 21)

35 (±)-2-метоксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 35)

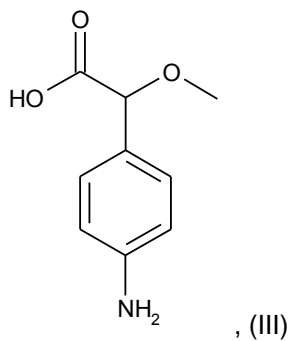
(±)-2-метоксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 34).

Згідно з одним структурним варіантом, R₃ із сполук формули (I) може бути Н відповідно до наступної формули (II),



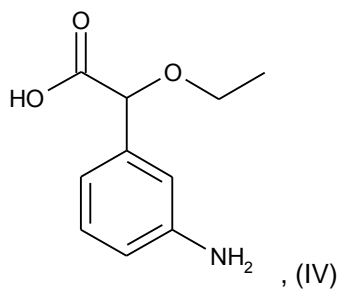
де R₁, R₂, X та Y були визначені вище.

Згідно з другим варіантом, R₃ із сполук формули (I) може бути -CH₃ відповідно до наступної формули (III),



де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

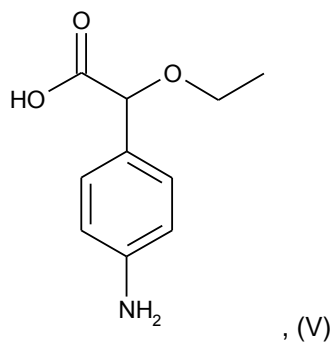
Згідно з ще одним варіантом, R_3 із сполук формули (I) може бути $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ відповідно до наступної формули (IV),



5

де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

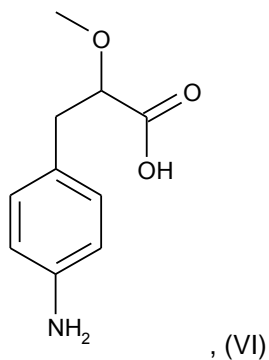
Згідно з іншим варіантом, R_3 із сполук формули (I) може бути $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ відповідно до наступної формули (V),



10

де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

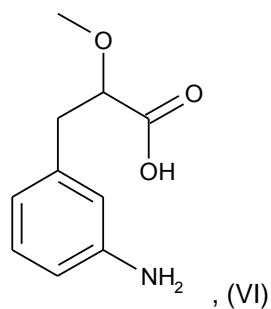
Згідно з іншим варіантом, R_3 із сполук формули (I) може бути $-\text{CH}_3$ відповідно до наступної формули (VI),



де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

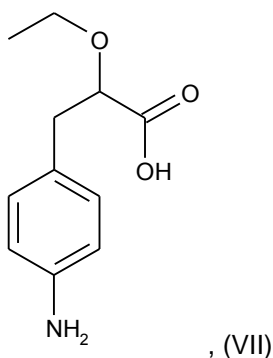
Згідно з іншим варіантом, R_3 із сполук формули (I) може бути $-\text{CH}_3$ відповідно до наступної формули (VI),

15



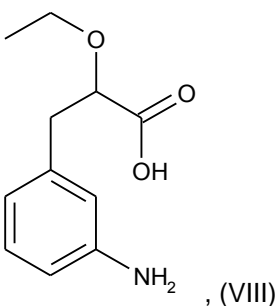
де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

Згідно з іншим варіантом, R_3 із сполук формули (I) може бути $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ відповідно до наступної формули (VII),



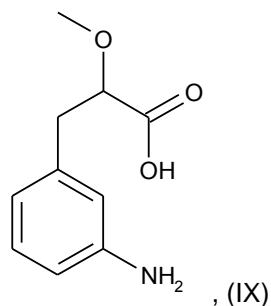
де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

Згідно з іншим варіантом, R_3 із сполук формули (I) може бути $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ відповідно до наступної формули (VIII),



де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

Згідно з іншим варіантом, R_3 із сполук формули (I) може бути $-\text{CH}_3$ відповідно до наступної формули (IX),



де R_1 , R_2 , X та Y були визначені вище.

Сполуки формули (I) переважно вибираються з групи, до якої входять

(\pm)-2-гідроксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 20)

(\pm)-2-метоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 23)

(\pm)-2-етоксі-2-(3'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 32)

(\pm)-2-етоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 33)

(\pm)-2-метоксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 34)

(±)-2-етоксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 39)

(±)-2-етоксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 40).

Сполуки, визначені у даному винаході, можуть бути з успіхом використані в галузі медицини.

Таким чином, даний винахід стосується фармацевтичної сполуки, яка містить у собі одну чи
 5 більш ніж одну вищезазначену сполуку як активну головну речовину у комбінації з одним чи більш ніж одним прийнятним з фармацевтичної точки зору наповнювачем чи допоміжним засобом.

Більш того, даний винахід стосується використання вищенаведених сполук з метою приготування лікарського засобу для запобігання та лікування пухлин з проявами активності
 10 ППАР γ рецепторів та ФРЕ рецепторів, таких як, наприклад, пухлини стравоходу, шлунку, підшлункової залози, товстої кишки, простати, грудної залози, матки та маточних придатків, нирок та легенів.

Більш того, даний винахід стосується використання нових сполук для приготування лікарського засобу для лікування хронічних запальних хвороб, таких як хвороба Крона та виразковий проктоколіт. Даний винахід також належить до методів лікування людей та/чи
 15 ссавців (включаючи гризунів, фермерську худобу, домашніх тварин, мишей, щурів, хом'яків, кроликів, собак, котів, свиней, овець, корів та коней).

Зокрема, сполуки, які визначені у винаході та можуть бути застосовані у відповідності до вищенаведених цілей (окрім тих сполук, які вже були описані), можуть бути наступними:

20 (±)-2-гідроксі-2-(3-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 10)

(±)-2-гідроксі-2-(4-амінофеніл)оцтова кислота (сполука 11)

(±)-2-гідроксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 21)

(±)-2-метоксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 35)

(±)-2-метоксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота, (сполука 34).

25 Застосування вищеописаних сполук не лімітовано їх використанням у рацемічній формі. Даний винахід розповсюджується на застосування будь-якої зазначеної сполуки у енантімерно чистих R- чи S-формах, або будь-якої суміші, у котрій один енантіомер перевищує за кількістю інший у будь-якій пропорції.

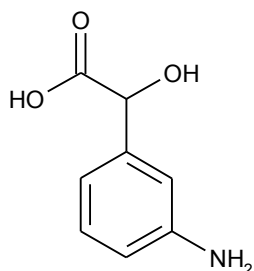
Насправді, дослідження по темі приєднання показують, що енантіомер S є більш активним,
 30 ніж енантіомер R, хоча чистий енантіомер R виявляє деяку активність.

Молекули даного винаходу були одержані завдяки молекулярному моделюванню з використанням мезалазину як основи; усі хімічно ймовірні варіації оцінювалися під час комп'ютерних експериментів по приєднанню з метою досягнення найкращих показників (схожість та активація рецептора). Внаслідок цього ми вважаємо, що сполуки даного винаходу,
 35 які показують гідну порівняння функціональність та/чи активність щодо мезалазину, роблять це схожими біологічними шляхами. Ми вважаємо, що схожі характеристики у відношенні до мезалазину, які є невід'ємно властивими у молекулах винаходу, надають цим молекулам схожу активність щодо шляху здійснення ФРЕ.

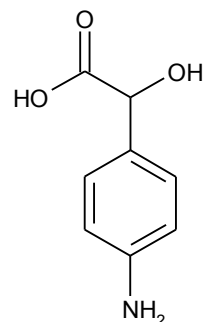
Надані нижче приклади є корисними моделями для застосування сполук у різних медичних аспектах, які вже обговорювалися. Отже, ці моделі забезпечують цінні та значні результати,
 40 незважаючи на їхній механізм дії.

На додаток до вищезазначених сполук, даний винахід уможливорює застосування наступних сполук:

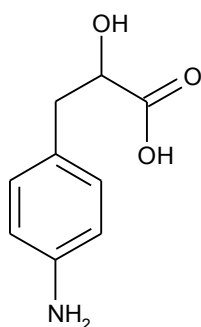
2.10
(R,S) 2⁻-hydroxy-2-(3-aminophenyl)
acetic acid



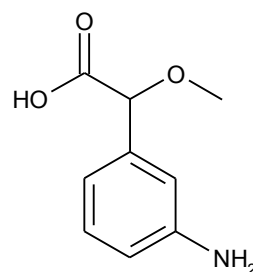
2.11
(R,S) 2⁻-hydroxy-2-(4-aminophenyl)
acetic acid



2.21
(R,S) 2-hydroxy-3-(4'-aminophenyl)
propionic acid



2.22
(R,S) 2-methoxy-2-(3-aminophenyl)
acetic acid



2_10 = (R, S)-2-гідроксі-2-(3-амінофеніл)оцтова кислота,

2_11 = (R, S)-2-гідроксі-2-(4-амінофеніл)оцтова кислота,

2_21 = (R, S)-2-гідроксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонова кислота,

2_22 = (R, S)-2-метоксі-2-(3-амінофеніл)оцтова кислота.

Для даного винаходу буде зараз надано опис з метою пояснення (але не обмежуючись тільки цією метою), у відповідності до його переважних структурних варіантів з відповідними посиланнями на діаграми у доданих ілюстративних матеріалах.

Таблиця 1. Процентні відношення клітинної затримки DLD-1 шляхом обробки ступінчастими дозами (0,5-10 tM) специфічних сполук. Клітини були вирощені за умов присутності чи відсутності сполук; зростання клітин було потім оцінено методом колориметричного (BrdU) аналізу після 48-годинного періоду вирощування.

Фіг. 1 показує структуру сполук 20, 23, 32, 33, 34, 35, 39 та 40.

Фіг. 2: Активність ППАР γ як результат обробки сполуками.

Фіг. 3-4: Ефект специфічних речовин на розмноження клітинних колоній ракового новоутворення товстої кишки у людини (тобто, HT29, HT115 та DLD1). Клітини оброблялися зростаючими концентраціями речовин (0,5-10 mM) протягом 48 годин; розмноження визначалося за допомогою колориметричного аналізу для заміру BrdU-асиміляції. Оптична щільність (OD) визначалася при 450 nm з використанням методу ELISA. Дані вказують середню величину \pm SD (стандартне відхилення) трьох окремих експериментів.

Фіг. 5: Приєднання (R) Сполуки 34 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

Фіг. 6: Приєднання (S) Сполуки 34 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

Фіг. 7: Приєднання (R) Сполуки 35 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

Фіг. 8: Приєднання (S) Сполуки 35 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

Фіг. 9: Приєднання (R) Сполуки 39 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

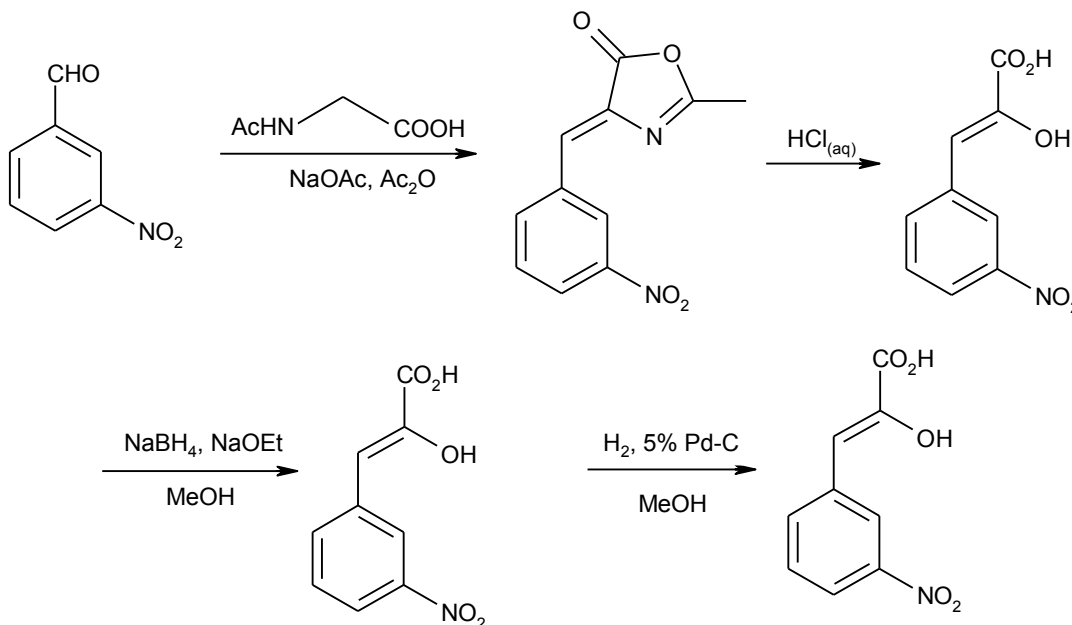
Фіг. 10: Приєднання (S) Сполуки 39 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

Фіг. 11: Приєднання мезаламіну до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

5 Фіг. 12: Схематичний синтез та наступне розщеплення Сполуки 39.

Приклад 1

Метод приготування (\pm)-2-гідроксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонової кислоти (Сполука 20)



10

Етап 1

3-Нітробензальдегід (45,3 г, 0,3 моль), N-ацетилгліцин (42,1 г, 0,36 моль) та ацетат натрію (32 г, 0,39 моль) змішувалися з оцтовим ангідридом (142 мл, 1,5 моль), потім отримана суміш нагрівалася впродовж 6 годин з помішуванням до 120 °С, у результаті чого був отриманий розчин темного кольору. Потім суміш була охолоджена за ніч до кімнатної температури, у результаті чого був сформований твердий осад. Реакційна суміш була налита у поталу воду (130 г) і отримана тверда суспензія була зібрана за допомогою фільтрації. Сирий твердий продукт (72 г) був промитий ацетоном (80 мл), а потім рекристалізований із гарячого ацетону (320 мл), щоб отримати кристалічний твердий продукт, який був промитий 50 % водним етанолом, а потім висушений при 40 °С/40 mmHg, даючи у результаті 2-метил-4-(3-нітробензилідин)оксазол-5(4Н)-один (49,0 г, 78 %) у формі блідих жовтих голок.

^1H NMR (δ , 250 MHz, CDCl_3) = 2,47 (3H, s), 7,15 (1H, s), 7,63 (1H, dd, 8,2 & 7,6 Hz), 8,27 (1H, d, 8,2 Hz), 8,34 (1H, d, 7,6 Hz), 9,02 (1H, s).

Етап 2

2-Метил-4-(3-нітробензилідин)оксазол-5(4Н)-один (52,0 г, 0,224 моль) було змішано з 3М соляною кислотою (1,3 л); суспензія помішувалася впродовж 6 годин при 100 °С. Отримана суспензія помішувалася всю ніч при кімнатній температурі, потім тверда суспензія була відфільтрована, промита водою (2×40 мл), потім висушена у вакуумі, даючи у результаті 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)акрилову кислоту (29,3 г). Сполучення фільтрату та промивного розчину було екстраговано етиловим ацетатом (4×0,5 L), потім поєднані органічні екстракти були висушені над сульфатом натрію та згущені до сухого вигляду, даючи у результаті ще один вихід 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)акрилової кислоти (12,0 г). Загальний корисний вихід 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)акрилової кислоти був 41,3 г (88 %).

^1H NMR (δ , 250 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) = 6,56 (1H, s), 7,64 (1H, t, 8 Hz), 8,0-8,1 (2H, m), 8,78 (1H, s), 9,95 (1H, brs), 12,80 (1H, brs).

Етап 3

Етоксид натрію (1,8 г, 26,4 ммоль) додавався частками при 0 °С до перемішаного розчину 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)акрилової кислоти (5,25 г, 25,0 ммоль) в метанолі (131 мл), щоб отримати чистий, блідо-жовтий розчин. Борогідрид натрію (1 г, 26,4 ммоль) було потім обережно додано двома порціями і суміш перемішувалася впродовж 30 хв. при 5-10 °С. Невелика кількість води була потім додана, щоб загасити реакцію та знешкодити будь-який надлишок NaBH_4 .

Метанол був виведений у вакуумі, щоб отримати твердий осад, який був потім розтовчений (змішаний) з 5:2 сумішшю етилового ацетату та гептану (21 мл), а потім ще змішаний з 3 % водного метанолу. Отримана тверда субстанція була зібрана за допомогою фільтрації та висушена у вакуумі, даючи в результаті 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)пропіонову кислоту (3,0 г, 57 %).

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 2,97 (1H, dd, 14 & 8,2 Hz), 3,15 (1H, dd, 14 & 4,2 Hz), 4,23 (1H, dd, 8,2 & 4,2 Hz), 7,58 (1H, t, 8 Hz), 7,70 (1H, d, 8 Hz), 8,0-8,15 (2H, m).

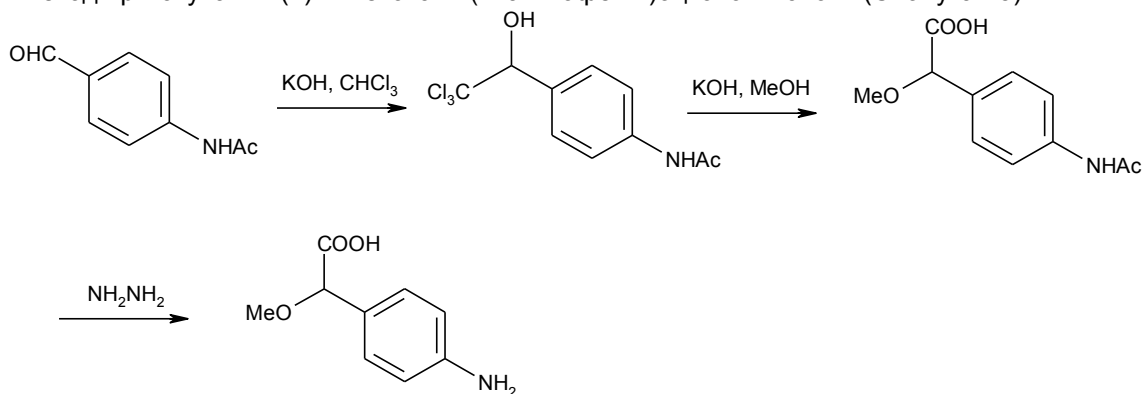
Етап 4

Суміш 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)пропіонової кислоти (3,0 г, 14,2 ммоль), метанолу (129 мл) та 5 % паладію на активованому вугіллі (600 мг, 2 моль %) була гідрована при 10 psi у атмосфері H_2 протягом 1 години. Потім суміш була відфільтрована через целіт, осад на фільтрі був промитий метанолом і фільтрати згущені при 40 °C в умовах високого вакууму, даючи в результаті продукт у вигляді пінистої твердої речовини. Потім це було розчинено у воді та отриманий розчин був сублімований, отримуючи як кінцевий продукт (\pm)-2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)пропіонову кислоту (2,6 г, 100 %), яка виглядає як тверда речовина білого кольору.

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 2,61 (1H, dd, 13,6 & 8,3 Hz), 2,81 (1H, dd, 13,6 & 4,6 Hz), 4,09 (1H, dd, 8,25 & 4,6 Hz), 6,35-6,43 (2H, m), 6,45 (1H, d, 1 Hz), 6,90 (1H, t, 7,6 Hz).

Приклад 2

Метод приготування (\pm)-2-метоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтової кислоти (Сполука 23)



Етап 1

Розчин гідроокису калію (6,72 г, 0,12 моль) в метанолі (25 мл) було додано до охолодженого (-7 °C) розчину 4-ацетамідобензальдегід (24,5 г, 0,15 моль) та хлороформу (40,1 г, 0,33 моль) у диметилформаміді (100 мл) у такій пропорції, щоб утримати температуру нижче -5 °C. Потім суміш нагрілася до 2 °C впродовж 5,5 годин, потім її було додано до суміші 1M водного HCl (200 мл) та толуолу (200 мл) з помішуванням протягом ночі. Отриманий 2-(4-ацетамідофеніл)-трихлористий метанол був відфільтрований (29 г) та висушений під витяжкою.

Етап 2

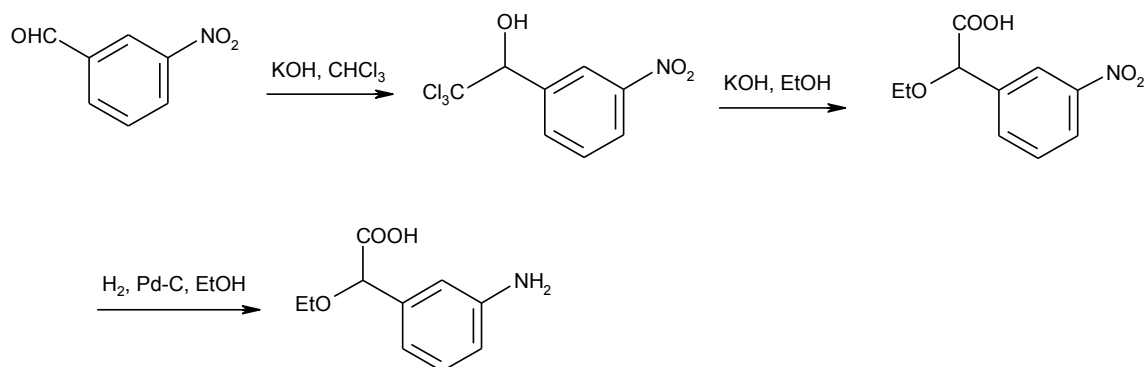
Розчин 2-(4-ацетамідофеніл)-трихлористого метанолу (14,0 г, 49,5 ммоль) в метанолі (330 мл) та розчин гідроокису калію (13,8 г, 250 ммоль) в метанолі (150 мл) були поєднані та отримана суміш підігрівалася до 70-80 °C протягом 3 годин. Після охолодження побічний продукт KCl був вилучений за допомогою фільтрації, потім згущення фільтрату в вакуумі дало в результаті 2-(4-ацетамідофеніл)-2-метоксіоцтову кислоту (14 г) у вигляді білої твердої речовини.

Етап 3

2-(4-Ацетамідофеніл)-2-метоксіоцтова кислота (7,1 г, 31,8 ммоль) підігрівалася у присутності гідазин моногідрату (40 мл) протягом 16 годин, потім була охолоджена та згущена у вакуумі. Отримане залишкове масло було очищене шляхом силікагельної колонкової хроматографії (елюент 20-40 % метанол в CH_2Cl_2), щоб отримати 2,6 г (45 %) (\pm)-2-метоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтову кислоту. ^1H NMR (δ , 250 MHz, CD_3OD): 3,27 (3H, s), 4,43 (1H, s), 6,66 (2H, d, 8,5 Hz), 7,18 (2H, d, 8,2 Hz).

Приклад 3

Метод приготування (\pm)-2-етоксі-2-(3'-амінофеніл)оцтової кислоти (Сполука 32)



Етап 1

3-Нітробензальдегід (25 г, 165 ммоль) та хлороформ (30 мл, 375 ммоль) були розчинені у диметилформаміді (100 мл), потім розчин був охолоджений до температури у межах від -5 °С до -10 °С. Свіжий розчин гідроксиду калію (7,5 г, 134 ммоль) в метанолі (22,5 мл) додавався повільно у такий спосіб, щоб тримати внутрішню температуру <-5 °С. Реакція утримувалась при температурі <-5 °С протягом 2 годин і потім загашена за допомогою охолодженої суміші водної соляної кислоти (225 мл) в толуолі (225 мл). Потім розчин повільно нагрівався до кімнатної температури в крижаній ванні впродовж ночі. Після цього шар толуолу був відділений та водний шар ще раз екстрагований толуолом. Поєднані органічні шари було промито водою (2×225 мл), 5 % розчином бікарбонату натрію (225 мл) та води (225 мл). Розчин потім був висушений (MgSO₄), відфільтрований та згущений у вакуумі, даючи в результаті 2-(3-нітрофеніл)-трихлористий метанол у вигляді твердої речовини оранжевого кольору (42 г, 155 ммоль, 94 %).

¹H NMR (δ, 250 MHz, CDCl₃): 3,7 (br. s, 1H), 5,4 (s, 1H), 7,6 (t, 1H, 8,0 Hz), 8,0 (d, 1H, 8,0 Hz), 8,3 (d, 1H, 8,0 Hz), 8,5 (s, 1H).

Етап 2

2-(3-Нітрофеніл)-трихлористий метанол (20 г, 74 ммоль) було розчинено у чистому етанолі (74 мл), потім було повільно додано розчин гідроксиду калію (20,7 г, 369 ммоль) у чистому етанолі (150 мл). Розчин підігрівався у дефлегматорі протягом 4 годин, потім був охолоджений та згущений у вакуумі. Осад було підкислено розведеною соляною кислотою та продукт був екстрагований у етиловому ацетаті (x 3). Поєднані органічні шари були висушені (MgSO₄), відфільтровані та згущені у вакуумі, даючи в результаті 2-етокси-2-(3-нітрофеніл)оцтову кислоту у вигляді твердої речовини коричневого кольору (6,4 г, 28,4 ммоль, 38 %).

¹H NMR (δ, 250 MHz, CD₃OD): 1,0 (t, 3H, 7,0 Hz), 3,6 (m, 1H), 3,7 (m, 1H), 5,1 (s, 1H), 7,7 (t, 1H, 7,8 Hz), 7,9 (d, 1H, 7,8 Hz), 8,3 (d, 1H, 7,8 Hz), 8,4 (s, 1H).

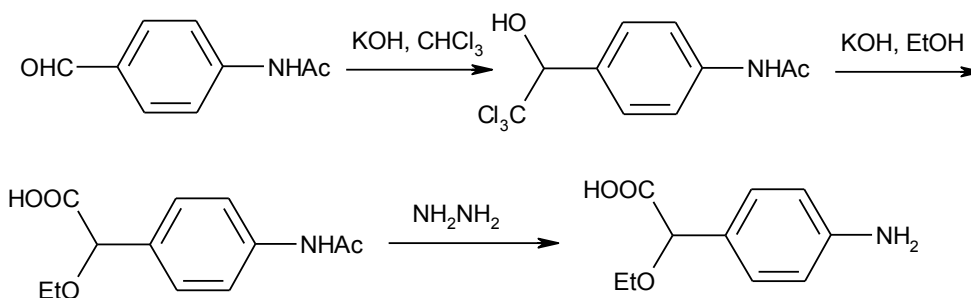
Етап 3

2-Етоксі-2-(3-нітрофеніл)оцтова кислота (6,4 г, 28,4 ммоль) було розчинено в чистому етанолі (500 мл), потім додано 5 % паладію на вугіллі (мокрый базис) (1,5 г) і суміш гідровано при 60 psi впродовж ночі. Суспензія була відфільтрована через целіт, потім фільтрат був згущений, щоб отримати в результаті (±)-2-етоксі-2-(3'-амінофеніл)оцтової кислоти (3,0 г, 15,3 ммоль, 54 %) у вигляді твердої речовини коричневого кольору.

¹H NMR (δ, 250 MHz, CD₃OD): 1,2 (t, 3H, J=6,9 Hz), 3,5 (m, 1H), 3,6 (m, 1H), 4,6 (s, 1H), 6,7 (d, 1H, J=7,6 Hz), 6,9 (m, 2H), 7,0 (t, 1H, J=7,6 Hz).

Приклад 4

Метод приготування (±)-2-етоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтової кислоти (Сполука 33)



Етап 1

Див. розділ "Сполука 23 етап 1".

Етап 2

Розчин 2-(4-ацетамідофеніл)-трихлористий метанол (14,0 г, 49,5 ммоль) в етанолі (400 мл) та розчин гідроокису калію (13,8 г, 250 ммоль) в етанолі (150 мл) були поєднані, потім отримана суміш підігрівалася при 70-80 °С протягом 2,5 годин. Потім суміш була охолоджена, відфільтрована, щоб вилучити побічний продукт KCl, та згущена у вакуумі, що дало в результаті

5 2-(4-ацетамідофеніл)-2-етоксіоцтову кислоту (14 г) у вигляді жовтої твердої речовини.

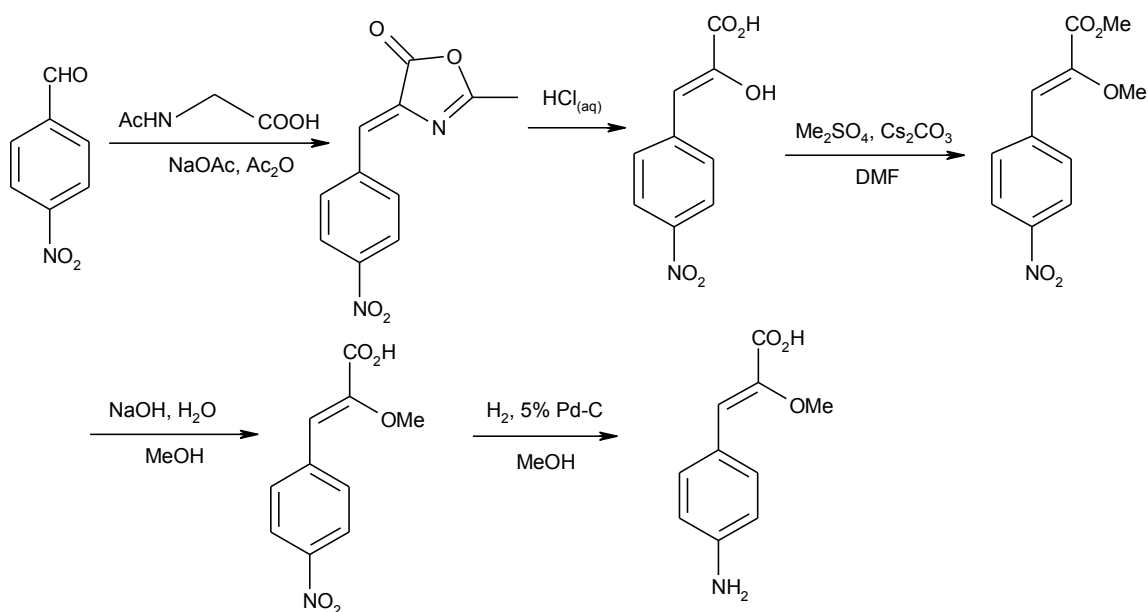
Етап 3

2-(4-Ацетамідофеніл)-2-етоксіоцтова кислота (7,54 г, 31,8 ммоль) підігрівалася в присутності гідазин моногідрату (40 мл) протягом 16 годин, потім суміш була охолоджена та згущена у вакуумі. Отримане залишкове масло було очищене шляхом силікагельної колонкової

10 хроматографії (20-40 % метанол в CH₂Cl₂ елюент), щоб отримати (±)-2-етоксі-2-(4'-амінофеніл)оцтової кислоти (2,3 г, 37 %) у вигляді білої піни.

Приклад 5

Метод приготування (±)-2-метоксі-3-(4'-амінофеніл)пропіонової кислоти (Сполука 34)



15

Етап 1

3-Нітробензальдегід (53,7г, 0,3моль), N-ацетилгліцин (49,9 г, 0,427 моль) та ацетат натрію (37,9 г, 0,463 моль) змішувалися з оцтовим ангідридом (168 г, 1,78 моль), потім отримана суміш нагрівалася впродовж 6 годин з помішуванням до 120 °С, у результаті чого була отримана

20 суспензія темного кольору. Потім суміш була охолоджена за ніч до кімнатної температури, у результаті чого був сформований твердий осад. Реакційна суміш була налита у поталу воду (150 г) і отримана тверда суспензія була зібрана за допомогою фільтрації. Сирий твердий продукт був промитий ацетоном (100мл), а потім ре-кристалізований із гарячого ацетону (650 мл), щоб отримати кристалічний твердий продукт, який був промитий 50 % водним етанолом, а

25 потім висушений у вакуумі, даючи у результаті 2-метил-4-(4-нітробензилідин)оксазол-5(4Н)-один (55,0 г, 66 %) у формі блідих жовтих голок. Кристалізаційні початковий розчин та промивний розчин були об'єднані та випарені, в результаті чого було отримано твердий осад, який було рекристалізовано з ацетону задля того, щоб отримати другий вихід 2-метил-4-(4-нітробензилідин)оксазол-5(4Н)-один (8 г, 10 %). Сумарний вихід 2-метил-4-(4-нітробензилідин)оксазол-5(4Н)-один склав 63 г (76 %).

30

¹H NMR (δ, 250 MHz, CDCl₃) = 2,47 (3H, s), 7,14 (1H, s), 8,28 (4H, m).

Етап 2

2-Метил-4-(4-нітробензилідин)оксазол-5(4Н)-один (63,0 г, 0,272 моль) було змішано з 3М соляною кислотою (1,2 л); суспензія помішувалася впродовж 6 годин при 100 °С. Отримана

35 суспензія помішувалася всю ніч при кімнатній температурі, потім тверда суспензія була відфільтрована, промита водою (2×50 мл), потім висушена у вакуумі, даючи у результаті 2-гідрокси-3-(4-нітрофеніл)акрилової кислоти (46,6 г, 81 %). Сполучення фільтрату та промивного розчину було екстраговано етиловим ацетатом (4×0,5 L), потім поєднані органічні екстракти були висушені над сульфатом натрію та згущені до сухого вигляду, даючи у результаті ще один

40 вихід 2-гідрокси-3-(4-нітрофеніл)акрилової кислоти (0,8 г, 1 %). Загальний корисний вихід 2-гідрокси-3-(4-нітрофеніл)акрилової кислоти був 47,4 г (82 %).

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 6,52 (1H, s), 8,01 (2H, d, 8,5 Hz), 8,22 (2H, d, 8,5 Hz).

Етап 3

Суміш 2-гідрокси-3-(4-нітрофеніл)акрилової кислоти (15 г, 71,7 ммоль), карбонату цезію (56 г, 172,1 ммоль) та диметилсульфату (14,2 мл, 150,6 ммоль) в диметилформаміді (270 мл) помішувалася при кімнатній температурі протягом 18 годин. Вода (220 мл) та етиловий ацетат (150 мл) були додані та шари відокремлені. Водний шар був далі екстрагований етиловим ацетатом (4×100 мл), потім скомбіновані органічні сполуки були промиті водою (6×100 мл), сольовим розчином (2×120 мл), а потім згущені до половини об'єму. Було додано гептан (70 мл) та суміш згущена до об'єму 200 мл. Отриманий твердий осад було зібрано за допомогою фільтрації, промито гептаном (2×100 мл) та висушено під витяжкою на фільтрі для того, щоб отримати в результаті метил-2-метокси-3-(4-нітрофеніл)акрилат у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору (вихід 9,2 г, 54 %), який містив сліди гептану.

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6): 3,82 (s, 3-H, OMe), 3,84 (s, 3-H, OMe), 7,02 (s, 1-H, CH=), 8,04 (d, 2-H, CHaromatic), 8,26 (d, 2-H, CHaromatic).

Етап 4

Метил-2-метокси-3-(4-нітрофеніл)акрилат (7,8 г, 32,8 ммоль) було розчинено в IMS (ізопропіл метансульфонат) (156 мл). Розчин NaOH (1,44 г, 36,1 ммоль) у воді (78 мл) був доданий та суміш помішувалася протягом 18 годин при температурі оточуючого середовища (18 °C). Реакційна суміш була підкислена 1M HCl (120 мл), потім отриманий твердий осад був зібраний за допомогою фільтрації, промитий водою (2×100 мл) та частково висушений під витяжкою на фільтрі протягом 30 хвилин, а потім було виконано сушіння у вакуумній печі при 18 °C протягом 18 годин. Таким чином була отримана 2-метокси-3-(4-нітрофеніл)акрилова кислота у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору, у якій залишилася певна кількість води кристалізації (6,7 г, 91 %).

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6): 3,83 (s, 3-H, OMe), 6,97 (s, 1-H, CH=), 8,02 (d, 2-H, CHaromatic), 8,25 (d, 2-H, CHaromatic).

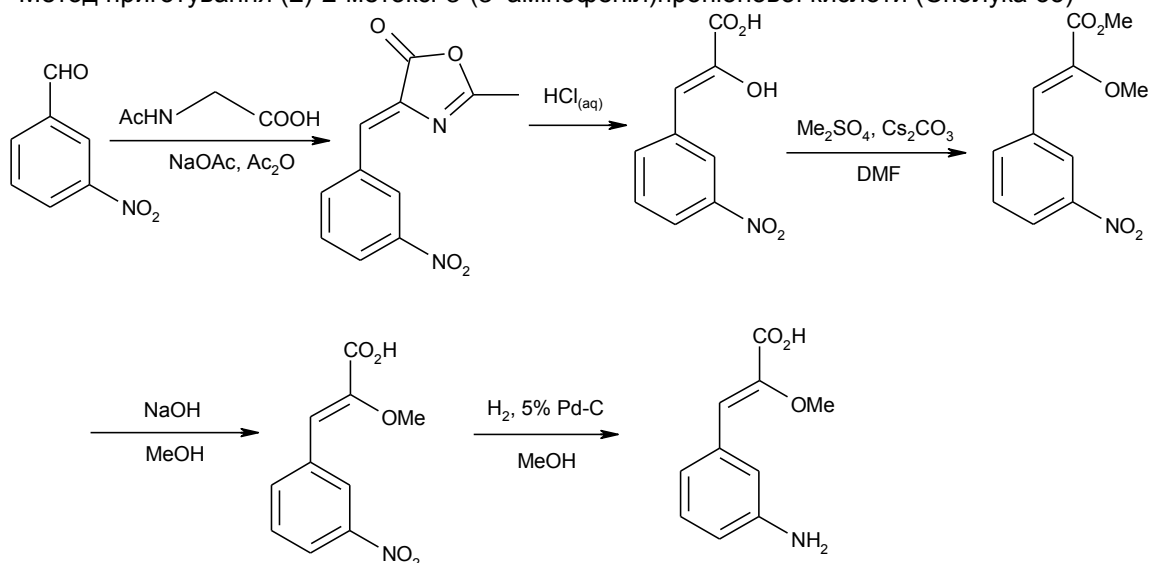
Етап 5

2-Метокси-3-(4-нітрофеніл)акрилову кислоту (6,7 г, 30 ммоль) було розчинено в метанолі (700 мл), потім додано THF (300 мл) та 10 % паладію на вугіллі (мокрый базис) (0,67 г). Суміш була гідрована при 45 psi впродовж 43 хвилин, за чим йшли повторні наповнення до 45-48 psi кожну годину протягом 3-х годин, і в кінці кінців 48 psi протягом 18 годин. Отримана в результаті суспензія була відфільтрована через GF/F фільтруючий папір, потім осад на фільтрі був промитий MeOH (200 мл). Фільтрат був згущений до вигляду твердої речовини з білястим відтінком. Тверда речовина була суспендована в IMS (75 мл) при 20 °C протягом 1,5 години, відфільтрована та промита IMS/гептаном (1:2) (20 мл), потім висушена на фільтрі впродовж 1 години, щоб наприкінці отримати (\pm)-2-метокси-3-(4'-амінофеніл)пропіонову кислоту у вигляді твердої речовини білястого відтінку (вихід 5,1 г, 88 %).

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6): 2,74 (m, 2-H), 3,23 (s, 3-H, CH₃), 3,80 (dd, 1-H, CH), 6,47 (d, 2-H, aromatic), 6,87 (d, 2-H, aromatic).

Приклад 6

Метод приготування (\pm)-2-метокси-3-(3'-амінофеніл)пропіонової кислоти (Сполука 35)



Етапи 1 і 2

Згідно з процедурою для сполуки 20.

Етап 3

Диметилсульфат (13,23 г, 105 ммоль) був доданий до розмішаної суміші 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)акрилової кислоти (10,5 г, 50,0 ммоль) та карбонату цезію (39,1 г, 120 ммоль) у диметилформаміді (105 мл), щоб отримати чисту блідо-жовту суміш, яка потім помішувалася при кімнатній температурі протягом ночі. Отримана в результаті цього темно-червона суспензія була згущена в вакуумі та осад розподілено між водою (100 мл) та дихлорметаном (150 мл). Органічний шар було відокремлений, потім промитий водою (2×10 мл), висушений над сульфатом натрію та відфільтрований через силікагель. Отриманий в результаті жовтий розчин був випарений до сухого стану в вакуумі для того, щоб наприкінці отримати метил 2-метокси-3-(3-нітрофеніл)акрилат у вигляді твердої речовини жовтого кольору (8,1 г, 67 %).

$^1\text{H NMR}$ (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 3,81 (3H, s), 3,83 (3H, s), 7,08 (1H, s), 7,71 (1H, dd, 7,9 і 8,2 Hz), 8,10-8,22 (2H, m), 8,66 (1H, s).

Етап 4

Розчин гідроокису калію (2,0 г, 35,9 ммоль) в воді (25 мл) був доданий до розмішаного розчину метил-2-метокси-3-(3-нітрофеніл)акрилату (8,1 г, 34,2 ммоль) у метанолі (150 мл), отримана в результаті цього суміш перемішувалася при кімнатній температурі протягом ночі. Додаткова кількість KOH (0,5 г, 8,9 ммоль) у воді (10 мл) була додана та суміш підігрівалася при 80 °C протягом 1 години. Потім метанол був випарений у вакуумі, а осад розбавлений водою (200 мл). Розчин був промитий дихлорметаном (2×10 мл), відфільтрований через прокладку целіту, а потім підкислений шляхом додавання 3M HCl до pH 3. Суміш була охолоджена протягом 18 годин, потім твердий осад був відфільтрований і зібраний. Потім він був промитий водою (3×30 мл) та висушений у вакуумі при 40 °C, в результаті чого було отримано 2-метокси-3-(3-нітрофеніл)акрилову кислоту у вигляді твердої речовини жовтого кольору (6,4 г, 84 %).

$^1\text{H NMR}$ (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 3,82 (3H, s), 7,02 (1H, s), 7,70 (1H, t, 7,93 Hz), 8,10-8,22 (2H, m), 8,65 (1H, s).

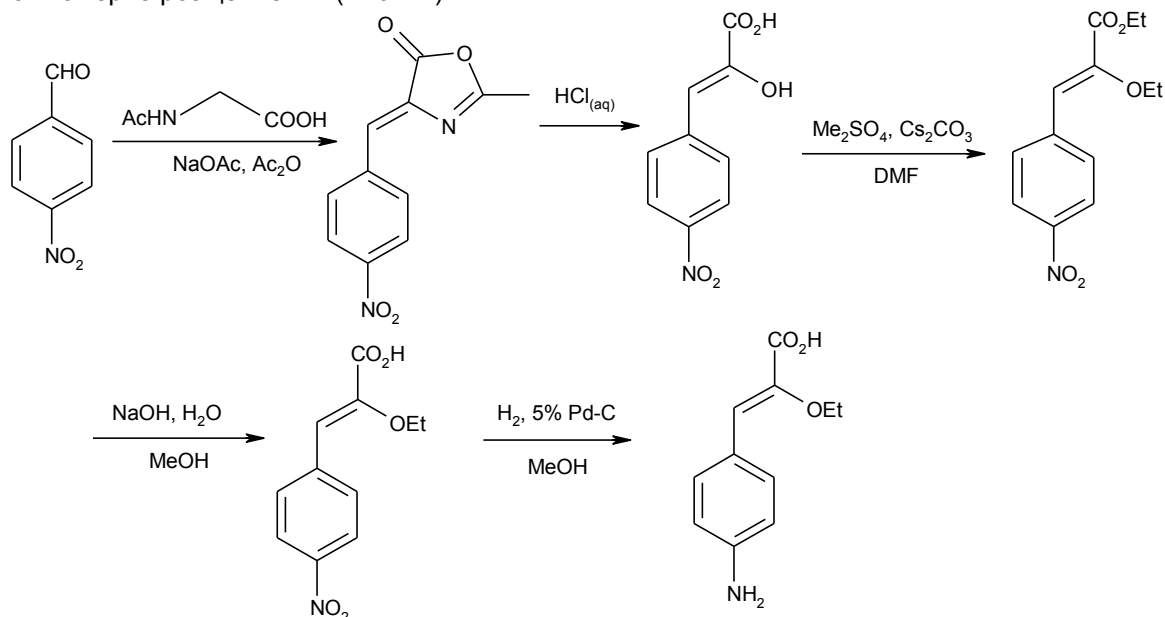
Етап 5

Суміш 2-метокси-3-(3-нітрофеніл)акрилової кислоти (3,4 г, 15,25 ммоль), метанолу (340 мл) та 5 % паладію на активованому вугіллі (1,36 г, 4 ммоль %) була гідрована при 12-36 psi у атмосфері H_2 протягом 1,5 години. Потім суміш була відфільтрована через целіт, осад на фільтрі був промитий метанолом і фільтрати згущені при 40 °C в умовах вакууму, даючи в результаті продукт у вигляді пінистої твердої речовини. Потім це було розчинено у воді (100 мл) та отриманий розчин був сублімований, отримуючи як кінцевий продукт (\pm)-2-метокси-3-(3'-амінофеніл)пропіонову кислоту (2,6 г, 100 %), яка виглядає як тверда речовина білястого відтінку.

$^1\text{H NMR}$ (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 2,68 (1H, dd, 13,9 і 8 Hz), 2,80 (1H, dd, 13,9 і 4,6 Hz), 3,21 (3H, s), 3,84 (1H, dd, 8,25 і 4,6 Hz), 6,36-6,44 (3H, m), 6,91 (1H, dd, 7,6 Hz).

Приклад 7

Метод приготування (\pm)-2-етокси-3-(4'-амінофеніл)пропіонової кислоти (Сполука 39). Енантімерне розщеплення (Рис. 12).



Етапи 1 і 2

Згідно з процедурою для сполуки 34, етапи 1 та 2.

Етап 3

- 5 2-Гідрокси-3-(4-нітрофеніл)акрилова кислота (20 г, 95,6 ммоль), була суспендована в диметилформаміді (200 мл). CS_2CO_3 (74,9 г, 229,9 ммоль) та діетилсульфат (26,3 мл, 201 ммоль) були додані, після чого спостерігалось розчинення. Після помішувалася протягом 18 годин при 18 °C, вода (350 мл) та етиловий ацетат (250 мл) були додані та шари відокремлені. Водний шар був далі екстрагований етиловим ацетатом (5×200 мл), потім скомбіновані органічні
- 10 сполуки були промиті водою (2×200 мл), сольовим розчином (2×200 мл), а потім висушені над сульфатом магнію. Органічні речовини були згущені до сухого стану для того, щоб отримати в результаті етил 2-етокси-3-(4-нітрофеніл)акрилат у вигляді твердої речовини оранжевого кольору, яка містить 3.6 % по масовому показнику DMF (диметилформамід) (27,6 г мокрий стан, >100 % вихід).

- 15 ^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO-d_6): 1.32 (t, 6-H, 2 x CH_2CH_3), 4.13 (q, 2-H, CH_2CH_3), 4.30 (q, 2-H, CH_2CH_3), 6.99 (s, 1-H, CH=), 8.06 (d, 2-H, $\text{CH}_{\text{aromatic}}$), 8.26 (d, 2-H, $\text{CH}_{\text{aromatic}}$).

Етап 4

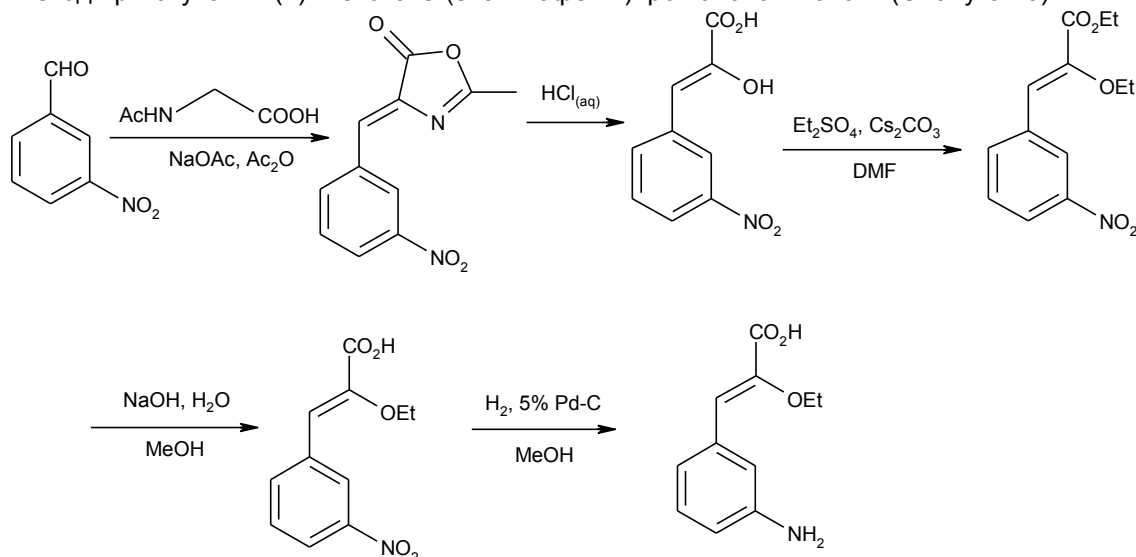
- Етил-2-етокси-3-(4-нітрофеніл)акрилат, який містив 3,6 % DMF (корегований показник 26,07 г, 98,3 ммоль) було розчинено в IMS (ізопропілметансульфонат) (500 мл). Розчин NaOH (1,44 г, 36,1 ммоль) у воді (260 мл) був доданий та суміш помішувалася протягом 18 годин при температурі оточуючого середовища. Потім суміш була підкислена 1M HCl (120 мл), потім отриманий твердий осад був зібраний за допомогою фільтрації, промитий водою (2×100 мл) та висушений під витяжкою на фільтрі протягом 30 хвилин, а потім було виконано сушіння у вакуумній печі при 18 °C протягом 18 годин. Таким чином була отримана 2-етокси-3-(4-нітрофеніл)акрилова кислота у вигляді твердої речовини оранжевого кольору, у якій залишилася певна кількість води кристалізації (18,4 г, 79 %).
- 25 ^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO-d_6): 1.31 (t, 3-H, Me), 4.11 (q, 2-H, CH_2), 6.98 (s, 1-H, CH=), 8.05 (d, 2-H, $\text{CH}_{\text{aromatic}}$), 8.25 (d, 2-H, $\text{CH}_{\text{aromatic}}$).

Етап 5

- 30 2-Етокс-3-(4-нітрофеніл)акрилова кислота (18,4 г мокрий стан, приблизно 77,5 ммоль) була розчинена в MeOH (1,1 л), потім додано 10 % паладію на вугіллі (мокрый базис) (1,84 г). Суміш була гідрована при 12 psi впродовж 10 хвилин, за чим йшло повторне наповнення до 20-28 psi кожні 10-20 хвилин протягом 5 годин, і потім 46 psi протягом 18 годин. Отримана в результаті суміш була відфільтрована через GF/F папір, потім осад був суспендований в IMS (100 мл), відфільтрований та промитий гептаном (100 мл), потім висушений під витяжкою на фільтрі. Таким чином було отримано (\pm)-2-етокси-3-(4'-амінофеніл)пропіонової кислоти у вигляді твердої речовини білястого відтінку (11,2 г, 69 %).
- 35 ^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO-d_6): 1.03 (t, 3-H, CH_3), 2.73 (m, 2-H,), 3.29 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.80 (dd, 1-H), 6.50 (d, 2-H), 6.87 (d, 2-H).

- 40 Приклад 8

Метод приготування (\pm)-2-етокс-3-(3'-амінофеніл)пропіонової кислоти (Сполука 40)



Етапи 1 і 2 Згідно з процедурою для сполуки 20, етапи 1 та 2.

Етап 3

Діетилсульфат (12 г, 78,2 ммоль) був доданий до розмішаної суміші 2-гідрокси-3-(3-нітрофеніл)акрилової кислоти (6,1 г, 50,0 ммоль) та карбонату цезію (29,3 г, 90 ммоль) у диметилформаміді (61 мл), щоб отримати чисту, блідо-жовту суміш, яка потім помішувалася при кімнатній температурі протягом ночі. Отримана в результаті цього темно-червона суспензія підігрівалася при 50 °C протягом 4 годин, потім була згущена в вакуумі та осад розподілено між водою (100 мл) та дихлорметаном (150 мл). Органічний шар був відокремлений, потім промитий водою (2×100 мл), висушений над сульфатом натрію та відфільтрований через силікагельну прокладку. Отриманий в результаті жовтий розчин був випарений до сухого стану в вакуумі для того, щоб наприкінці отримати етил 2-етокси-3-(3-нітрофеніл)акрилат у вигляді твердої речовини жовтого кольору (5,6 г, 72 %).

Етап 4

Розчин гідроокису калію (1,3 г, 22,2 моль) в воді (20 мл) був доданий до розмішаного розчину етил 2-етокси-3-(3-нітрофеніл)акрилат (5,6 г, 21,1 ммоль) у метанолі (100 мл), отримана в результаті цього суміш підігрівалася у дефлегматорі протягом ночі. Потім метанол був випарений у вакуумі, а осад розбавлений водою (150 мл). Розчин був промитий дихлорметаном (2×80 мл), відфільтрований через прокладку целіту, а потім підкислений шляхом додавання 3M HCl до pH 3. Суміш була охолоджена протягом 18 годин, потім твердий осад був відфільтрований і зібраний. Потім він був промитий водою (3×30 мл) та висушений у вакуумі при 40 °C. Отримана в результаті тверда речовина була ре-кристалізована з етилового ацетату та гептану, даючи у кінцевому результаті 2-етокси-3-(3-нітрофеніл)акрилову кислоту у вигляді твердої речовини жовтого кольору (3,06 г, 61 %).

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 1,34 (3H, t, 7 Hz), 4,10 (2H, q, 7 Hz), 7,04 (1H, s), 7,69 (1H, t, 7,93 Hz), 8,07-8,22 (2H, m), 8,80 (1H, m), 13,25 (1H, brs).

Етап 5

Суміш 2-етокси-3-(3-нітрофеніл)акрилової кислоти (3,06 г, 12,9 ммоль), метанолу (150 мл) та 5 % паладію на активованому вугіллі (0,60 г, 2 моль %) була гідрована при 12-30 psi у атмосфері H_2 протягом 2 годин. Потім суміш була відфільтрована через целіт, осад на фільтрі був промитий метанолом і фільтрати згущені при 40 °C в умовах вакууму, даючи в результаті продукт у вигляді пінистої твердої речовини. Потім це було розчинено у воді (100 мл) та отриманий розчин був сублімований, отримуючи як кінцевий продукт (\pm)-2-етоксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонову кислоту (2,7 г, 100 %), яка виглядає як тверда речовина білястого відтінку.

^1H NMR (δ , 250 MHz, DMSO- d_6) = 1,07 (3H, t, 7 Hz), 2,6-2,85 (2H, m), 3,20-3,38 (1H, m), 3,40-3,60 (1H, m), 3,92 (1H, dd, 5 i 7,7 Hz), 6,3-6,45 (3H, m), 7,01 (1H, t, 7,6 Hz).

Приклад 9

Молекулярне моделювання

Дослідження з молекулярного моделювання були виконані з використанням програмного забезпечення SYBYL версії 6.9.1 компанії Tripos Associates Inc. (St Louis, MO) на робочих станціях Silicon Graphics. Тривимірна модель цвіттеріонної форми 5-ASA була створена з бібліотеки стандартних фрагментів, а її геометрія була згодом оптимізована з використанням силового поля Tripos (3). Оскільки рKa-показники сполук все ще невідомі, було використано онлайн калькулятор SPARC для того, щоб визначити види молекул, які мають фізіологічне pH (7,4) (<http://ibmlc2.chem.uga.edu/sparc/index.cfm>). Тривимірні моделі іонізованих сполук були відтворені з бібліотеки стандартних фрагментів, а їхня геометрія була пізніше оптимізована з використанням силового поля Tripos (3), включаючи електростатичну складову, яка розраховувалася на основі атомарних зарядів Гастайгера-Хюккеля. Метод Пауелла, який є доступним у процедурі Maximin2, було застосовано для мінімізації енергії, доки значення градієнту не стало менш ніж 0,001 ккал/моль Å.

Структура людського ППАР γ лігандозв'язуючого домену була отримана за допомогою його комплексного рентгенівського структурного дослідження за допомогою тезаглитазару (AZ 242), який було взято з протеїнового банку даних RCSB (1171) (4,5). Гнучке приєднання сполук до активної зони рецепторів було виконано за допомогою програмного забезпечення GOLD (6). Найстабільніші моделі приєднання вибиралися згідно з найкращою структурою, прогнозованою обчислювальними функціями GoldScore (6) та X-Score (7). Енергія комплексів була мінімізована з використанням методу Пауелла, який є доступним у процедурі Maximin2, із силовим полем Tripos та діелектричною константою 4.0, доки значення градієнту не досягло 0,01 ккал/моль Å. Було використано функцію обпалювання, за допомогою якої було визначено гарячу зону (10 Å) та змстовну зону (15 Å) навколо ліганду.

РЕЗУЛЬТАТИ

Дослідження з молекулярного моделювання приєднання до рецептора було прогнозовано що, загалом кажучи, енантіомер S є більш активним, ніж енантіомер R, хоча енантіомер R також виявляє деяку активність. Добре відомим є феномен, коли один енантіомер є більш біологічно активним.

Внаслідок цього, даний винахід забезпечує метод розщеплення сполук на енантіомери. Метод розщеплення для сполуки 32 схематично показано на Фіг. 11.

Не бажаючи зв'язувати себе теоретичними обмеженнями, ми тим не менш стверджуємо, що S-енантіомери сполук покажуть більш високу активність. Результати досліджень по приєднанню показано на Фіг. 5-10.

Приклад 10
Вплив нових сполук на ППАРγ активацію
Матеріали та методи
Матеріали

5-ASA було придбано в компанії Sigma-Aldrich™ (St Quentin Fallavier, France). Розиглітазон було придбано в компанії Spi Bio™ (Massy, France). Нові молекули 20, 34, 35, 39, 40 було синтезовано згідно з процедурою, описаною в прикладах 1-8. Структуру цих сполук показано на Фіг. 1.

Клітинні колонії

Клітинна колонія карциноми товстої кишки HT-29 STD (ATCC HTB-38) вирощувалася у заведеному порядку в DMEM, з додаванням 10 % heat-FCS та антибіотиків. Клітини вирощувалися в моно-нашаруваннях, були інкубовані при 37 °C в 5 % CO₂ та при відносній вологості 95 %.

Тимчасова трансфекція за допомогою ППАРγ та стимуляція клітин

Клітини HT-29 STD було піддано тимчасовій трансфекції за допомогою Effectene™, трансфекційного реагенту (Qiagen™), згідно з інструкціями від виробника. Щоб протестувати ППАРγ активацію ми виконали трансфекцію 500 ng мінімального активуючого елемента, який містив два зразки ЕВПП, отриманих із цитохроми р450 4A (2ХСУР) (1). Плазміда ренилла люцифераза (0.1(μg/well)) було також піддано трансфекції для внутрішнього контролю ефективності трансфекції та для нормалізації активності люциферази світляків. Трансфected клітини вирощувалися протягом 24 годин при 37 °C. Після вирощування були виконані стимулювання клітин впродовж 18 годин в усіх сполуках 20, 34, 35, 39 і 40 при концентрації 1 mM та порівняні з двома ППАРγ синтетичними лігандами 5-ASA (30 mM) (2) і розиглітазоном (10⁻⁵ M (2)), використаними як позитивні контролюючі засоби. Показник pH лікувальних розчинів був скорегований до 7,4 за допомогою NaOH. Загальні екстракти клітин приготувалися з використанням Пасивного Амортизатору Лізису (Promega™, Madison, Wis.). Активність люциферази випробувана в 20 μl екстракту з використанням Подвійної Системи аналізу Люциферази Promega, згідно з інструкціями виробника. Трансфекції було проаналізовано в трьох зразках щонайменш у трьох окремих експериментах. Активність люциферази була виражена як кратна величина активності, яка була отримана в клітинах, оброблених різними молекулами, поділеною на активність люциферази в нестимульованих клітинах.

Результати

Активация ППАРγ дає в результаті каскад реакцій, який веде до поєднання зі специфічними елементами послідовності ДНК, які називаються елементи відклику пероксисом проліфератору (ЕВПП) (7-9).

Ми досліджували транскрипційну активність ППАРγ шляхом тимчасових трансфекцій клітин епітелію речовинами ренилла люцифераза та ЕВПП-плазмідами. Для того, щоб оцінити, чи мають нові молекули більшу ефективність, ніж 5-ASA щодо стимуляції ППАРγ активації, ми протестували ці молекули при концентрації 1 mM. Ефект, придатний новим молекулам при концентрації 1 mM, був порівняний із 5-ASA та розиглітазоном, які були використані як позитивні контрольні засоби при оптимальних концентраціях відповідно 30 mM та 10⁻⁵ M. Клітини було стимульовано різними молекулами впродовж 24 годин.

Аналіз активності ППАРγ у трансфected клітинах HT-29 cells показав, що нові молекули 34, 39, 35 і 40 при 1 mM підвищили активність сповіщального гену (маркеру) у відповідно 4,8±0,71; 2,73±0,31; 2,64±0,46; 3,4±0,97 рази, тобто показуючи схожу чи вищу активність, ніж 5-ASA при 30 mM (2,8±0,7) та розиглітазон при 10⁻⁵ M (3,17±0,29).

Фіг. 2 показує всі результати, які були отримані для кожної молекули і оцінювалися в трьох зразках у 2-х чи 3-х експериментах. Повторюваність у різних експериментах гарна та подібна до даних, описаних у літературі.

Це дослідження дозволило нам ідентифікувати 4 нові молекули, які мають у 30-50 разів більшу ефективність ніж 5-ASA щодо активації ППАРγ.

Приклад 11

Ріст клітин раку товстої кишки

Наступні субстанції (тобто 20, 34, 35, 39 і 40) було тестовано щодо їх здатності модулювати ріст клітин раку товстої кишки. Для цього були використані три колонії людських клітин раку товстої кишки (тобто HT-29, HT-115 і DLD-1). Ці типи клітин були відібрані на підставі експресії цикло-оксигенази-2 (COX-2). І дійсно, клітини HT-115 показують біологічно активну COX-2, клітини HT-29 показують не функціонуючу ізоформу COX-2, а DLD-1 є клітинами з дефіцитом COX-2. Вважається, що ці молекули також активні на клітинах, котрі не показують активності до COX-, і, таким чином, молекули даного винаходу можуть бути використані у клітинах, що не показують активності до COX-2, для цілей лікування пухлин та для іншого застосування згідно з описанням у даному документі.

Клітини HT-29 та DLD-1 було вирощено в середовищах відповідно McCoу та RPMI1640, з додаванням 10 % фетальної бичачої сироватки (ФБС), 1 % пеніциліну/стрептоміцину (П/С) та 50мг/мл гентаміцину. HT-115 було вирощено в середовищі DMEM, з додаванням 15 % ФБС та 1 % П/С. Клітини утримувалися у вологому інкубаторі при 37 °C у присутності 5 % CO₂.

Для випробування росту клітин одноклітинні суспензії були висіяні на чашки в 2×10³ клітини/на лунку (4×10³ клітини/на лунку для HT115) у 96-лунковій ванночці для вирощування, в якій містилося 0,5 % ФБС, і потім залишені на деякий час, щоб почався процес приставання. Клітини, які не пристали, були потім вилучені, а свіже середовище з 0,5 % ФБС було додано у кожен лунку. Клітини вирощувалися у присутності чи відсутності означених субстанцій. Кожна субстанція була розчинена як 25 mM початковий розчин у середовищі зростання, яке містило 0,5 % ФБС, а pH кожного початкового розчину, якщо це було необхідно, був скорегований до 7.4 за допомогою NaOH. Субстанції використовувалися при кінцевій концентрації в діапазоні від 0,5 до 10 mM.

Розмноження клітин визначалося шляхом заміру асиміляції 5-бромо-2'-деоксіуридину (BrdU) в ДНК, з використанням комерційно доступного набору розмноження клітин (Roche Diagnostics, Monza, Italy). BrdU було додано до клітинних культур протягом останніх 6 годин інкубації, а рівень BrdU-позитивних клітин оцінювався після вирощування протягом 48 годин методом виявлення специфічних антитіл за допомогою іммобілізованого на антитілі ферменту (ELISA). Оптична щільність (OD) визначалася при 450 nm з використанням методу ELISA. Експерименти проводилися на трьох зразках. Результати були показані як середні величини ± стандартне відхилення (SD).

Результати

Сполуки є різними щодо їх здатності призупиняти ріст клітин раку товстої кишки. Результати зведені у Таблицю 1, де показано процентне відношення затримки росту клітин DLD-1 по окремій сполуці. Сполука 20 показує помітний антирозмножувальний ефект в залежності від дози в кожній із випробуваних трьох клітинних колоній (Рис. 3 та 4). Більш ніж 90 % призупинення росту клітин спостерігалось, коли сполуки використовувалися при кінцевій концентрації 10 mM. Здатність сполуки 20 значно затримувати ріст клітин спостерігалася, коли сполука використовувалася при кінцевій концентрації від 5 до 10 mM.

Сполуки 34 та 39 незначно зменшили ріст клітин, коли використовувалися в великих дозах (10 mM) (Рис. 4), але різниця між групами не була статистично помітною. Так само не спостерігалось затримки росту клітин у культурах, до яких додавалися сполуки 35 та 40 (див. Таблицю 1).

Висновки

Перша група прикладів винаходу (Приклад 10) показує здатність чотирьох оптимізованих молекул 34, 39, 35 та 40 при концентрації 1 mM підвищувати активність ППАР γ у трансфектованих клітинах HT-29, показуючи схожу чи вищу активність, ніж 5-ASA при 30 mM та розиглітазон при 10⁻⁵ M.

Друга група прикладів винаходу (Приклад 11) показує, що сполуки впливають на затримку росту клітинних колоній раку товстої кишки, HT-29, HT-115 та DLD1, до різного ступеня затримки. Сполуки відрізняються щодо їхньої здатності призупиняти ріст клітин раку товстої кишки. Сполука 20 показує значний антирозмножувальний ефект у відношенні до випробуваних клітинних колоній.

Ці молекули даного винаходу також активні на клітинах, котрі не показують активності до COX-2, і, таким чином, молекули даного винаходу можуть бути використані у клітинах, що не показують активності до COX-2 для цілей лікування пухлин та для іншого застосування згідно з даним документом.

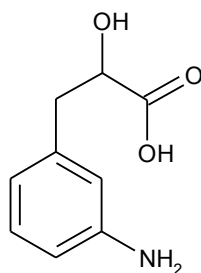
Усі синтезовані сполуки найвищої якості, які були виміряні за допомогою модельних досліджень, показують активність, яка схожа чи перевищує активність мезаланіну.

Джерела інформації:

1. Dubuquoy, L., E.A. Jansson, S. Deeb, S. Rakotobe, M. Karoui, J.F. Colombel, J. Auwerx, S. Pettersson, and P. Desreumaux. 2003. Зменшена експресія пероксисом проліфератор-активованого рецептора гамма при виразковому коліті, olitis. *Gastroenterology* 124:1265-1276.
2. Rousseaux C, Lefebvre B, Dubuquoy L, Lefebvre P, Romano O, Auwerx J, Metzger D, Wahli W, Desvergne B, Naccari GC, Chavatte P, Farce A, Bulois P, Cortot A, Colombel JF, Desreumaux P. Кишковий протизапальний ефект 5-аміно саліцилової кислоти залежить від ППАР γ . *JExp Med* 2005; 201:1205-15.
3. Clark, M.C.R.D.I.V.O., N. 1989. Оцінка поля Tripos 5.2 для загального використання. *J. ComputChem.* 10:982-1012.
4. Gampe, R.T., Jr., V.G. Montana, M.H. Lambert, A.B. Miller, R.K. Bledsoe, M.V. Milburn, S.A. Kliewer, T.M. Willson, and H.E. Xu. 2000. Асиметрія в ППАР γ /RXR α кристалічній структурі відкриває молекулярну основу гетеродимерізації серед ядерних рецепторів. *Mol Cell* 5:545-555.
5. Jones, G., P. Willett, R.C. Glen, A.R. Leach, and R. Taylor. 1997. Розвиток та оцінка загального алгоритму гнучкого приєднання. *J Mol Biol* 267:727-748.
6. Wang, R., L. Lai, and S. Wang. 2002. Подальший розвиток та оцінка емпіричних функцій обчислення для прогнозу структурно-базованої схожості щодо зв'язування. *J Comput Aided Mol Des* 16:11-26.
7. Westin, S., R. Kurokawa, R.T. Nolte, G.B. Wisely, E.M. McInerney, D.W. Rose, M.V. Milburn, M.G. Rosenfeld, and C.K. Glass. 1998. Взаємодії, що керують створенням гетеродимерів ядерних рецепторів та ко-активаторів. *Nature* 395:199-202.
8. Mangelsdorf, D.J., C. Thummel, M. Beato, P. Herrlich, G. Schutz, K. Umesono, B. Blumberg, P. Kastner, M. Mark, P. Chambon, and et al. 1995. Супер-родина ядерних рецепторів: друга декада. *Cell* 83:835-839.
9. Misra, P., E.D. Owuor, W. Li, S. Yu, C Qi, K. Meyer, Y.J. Zhu, M.S. Rao, A.N. Kong, and J.K. Reddy. 2002. Фосфориляція транскрипційного ко-активатора пероксисом проліфератор-активованого рецептора (ППАР), який приєднує протеїн. Стимуляція транскрипційної регуляції шляхом митоген-активованого протеїн-кінази. *JBiol Chem* 277:48745-48754. Epub 42002 Sep 48727.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. (\pm)-2-Гідроксі-3-(3'-амінофеніл)пропіонова кислота (сполука 20).
2. Сполука за п. 1, яка має структурну формулу:



3. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів, яка відрізняється тим, що сполука є у енантіомерно чистій R- або S-формі.
4. Застосування сполуки за п. 1 для приготування медичного препарату.
5. Застосування за п. 4, при якому медичний препарат застосовують для лікування хронічних запальних хвороб.
6. Застосування за п. 5, при якому хронічною запальною хворобою є хвороба Крона або виразковий проктоколіт.
7. Застосування за п. 5, при якому медичний препарат застосовують для лікування пухлин з проявами активності ППАР γ та ФРЕ.
8. Застосування за п. 7, при якому пухлиною є пухлина стравоходу, шлунку, підшлункової залози, товстої кишки, простати, грудної залози, матки та придатків, нирок та легенів.
9. Застосування за п. 4, при якому сполуку застосовують у вигляді суміші, у якій один енантіомер перевищує за кількістю інший у будь-якій пропорції.

10. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за п. 1 як активну складову частини, поєднаної з одним чи більш ніж одним фармацевтично прийнятним наповнювачем чи допоміжним засобом.

5 11. Спосіб профілактики або лікування пухлин з проявами активності ППАР γ рецепторів та ФРЕ рецепторів, включаючи пухлини стравоходу, шлунку, підшлункової залози, товстої кишки, простати, грудної залози, матки та придатків, нирок та легенів у людини або тварини, за яким вводять людині або тварині, що потребує такого лікування чи профілактики, сполуку за п. 1.

10 12. Спосіб профілактики та лікування хронічних запальних захворювань, включаючи хворобу Крона та виразковий проктоколіт, за яким вводять людині або тварині, що потребує такого лікування чи профілактики, сполуку за п. 1.

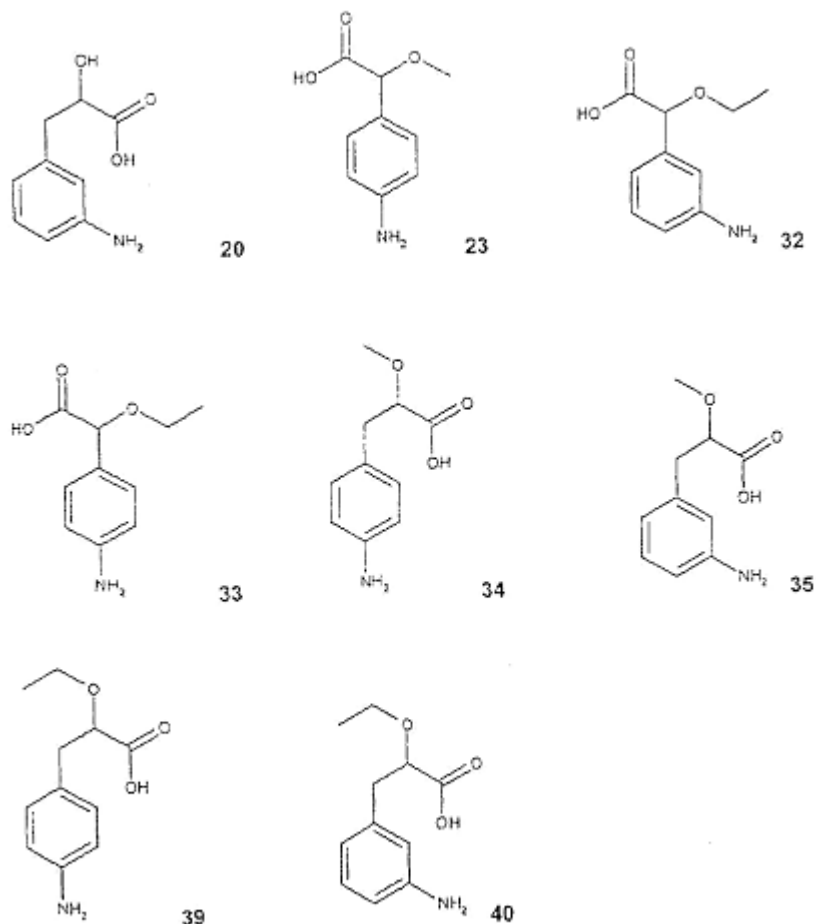


Fig. 1

Активність ППАР γ як результат обробки сполуками

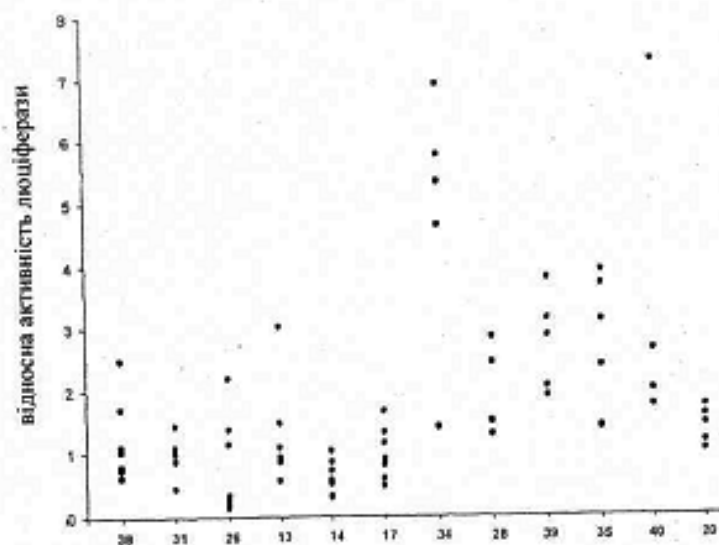
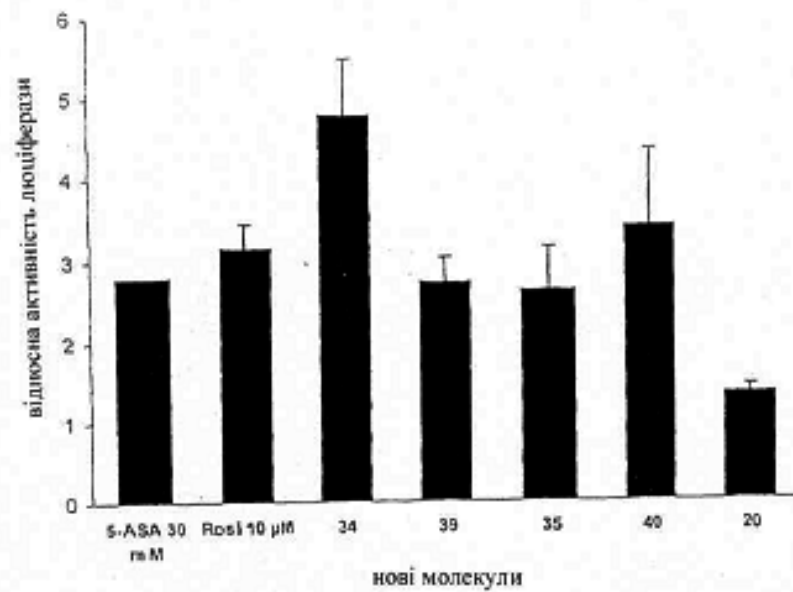
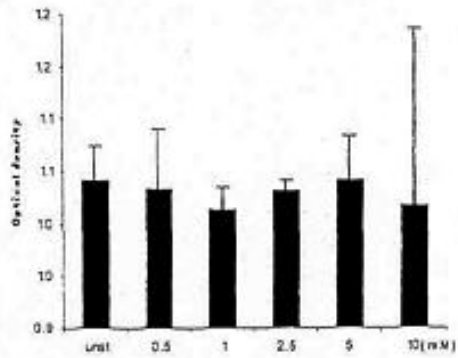


Fig. 2

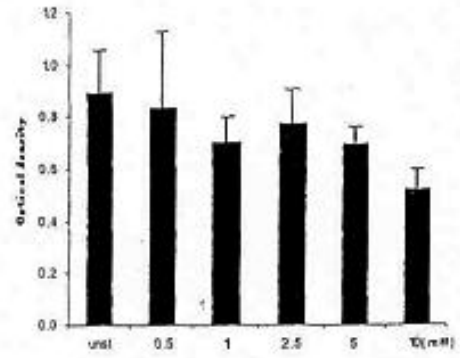
Ефект специфічних речовин на розмноження клітинних колоній карциноми при обробці новою сполукою 20 з концентрацією (0.5-10 мМ) на протязі 48 годин

Сполука 20

HT115



NT29



DLD1

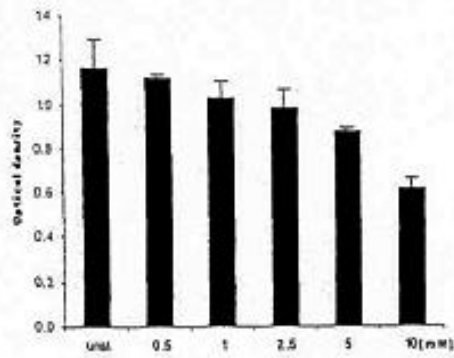
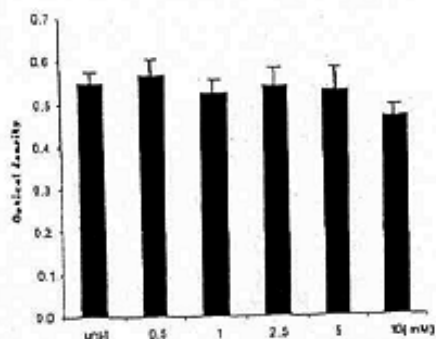


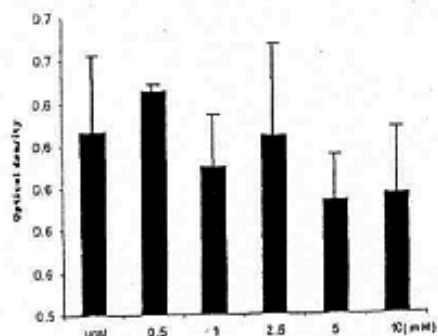
Fig. 3

новоутворення товстої кишки у людини (тобто, HT29, HT115 та DLD1). Клітини оброблялися зростаючими концентраціями речовин (0.5-10 mM) на протязі 48 годин

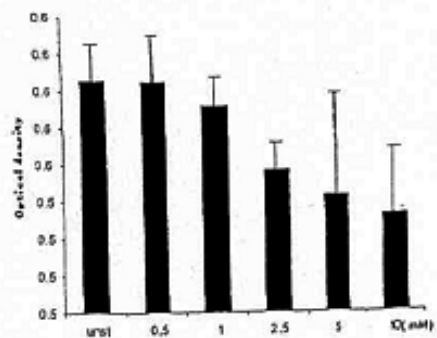
34
DLD1



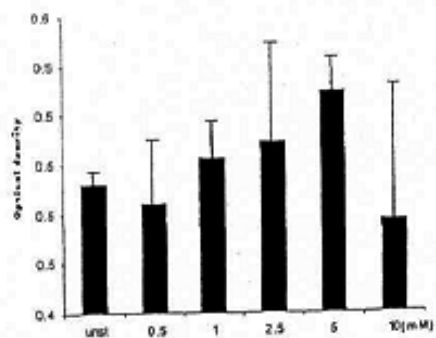
35
DLD1



39
DLD1

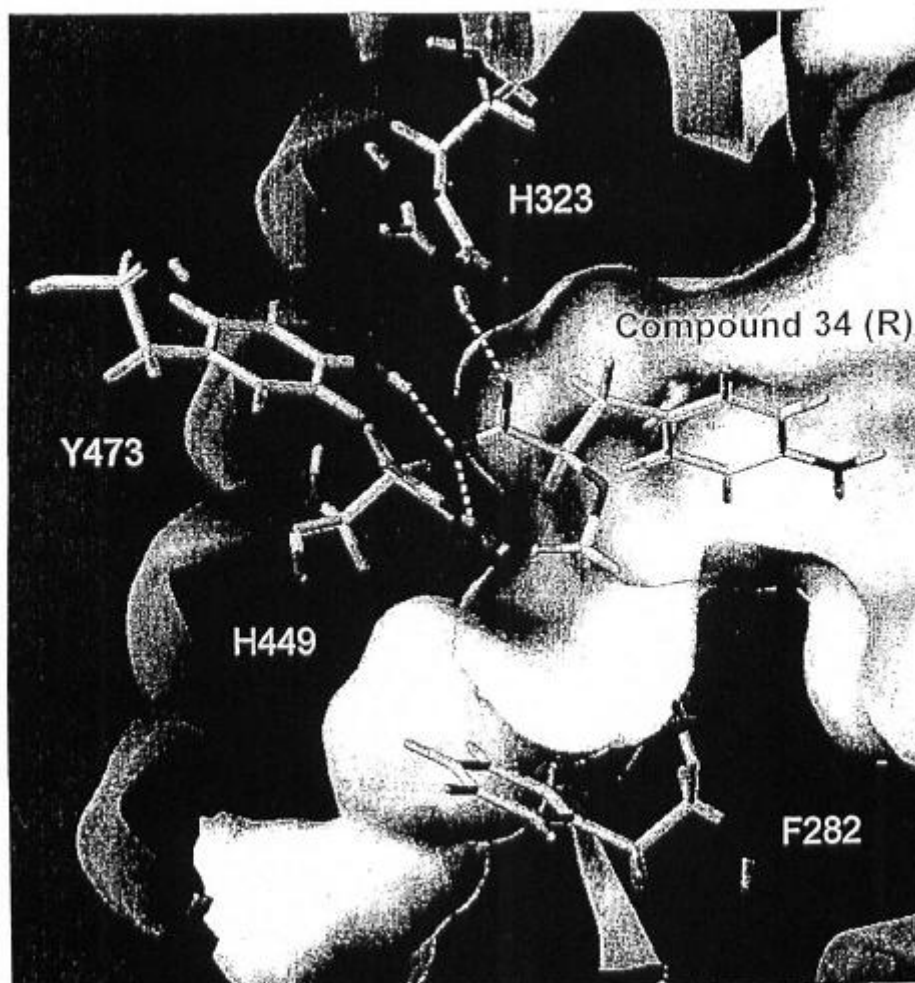


40
DLD1



Фіг. 4

Приєднання (R) Сполуки 34 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осадки).



Фіг. 5

Присливання (S) Сполуки 34 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

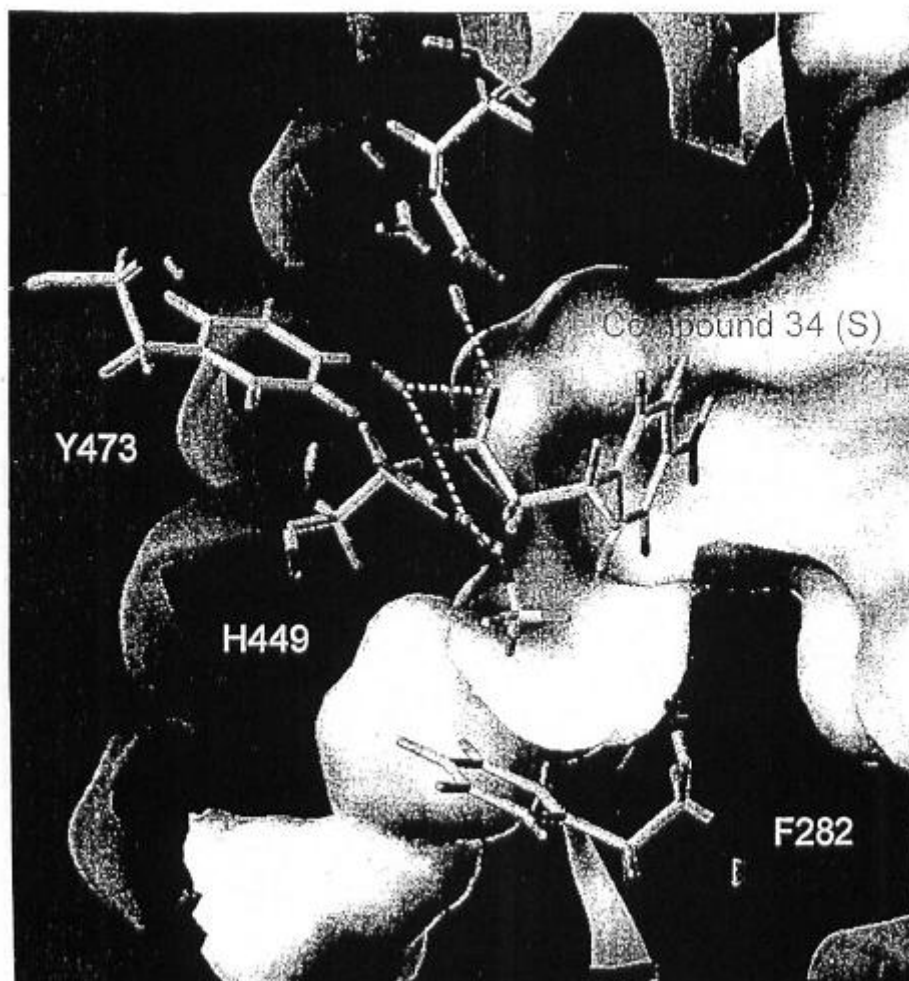


Fig. 6

Приєднання (R) Сполуки 35 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осадні).

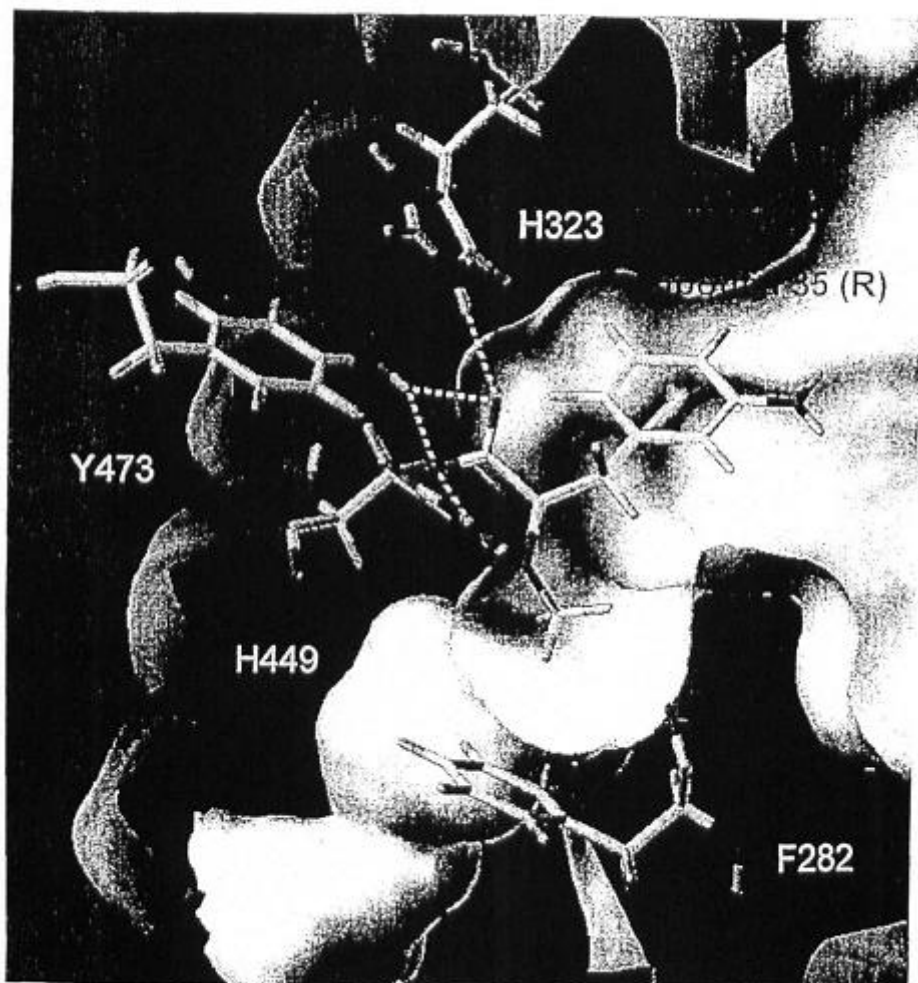


Fig. 7

Приєднання (S) Сполуки 35 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осади).

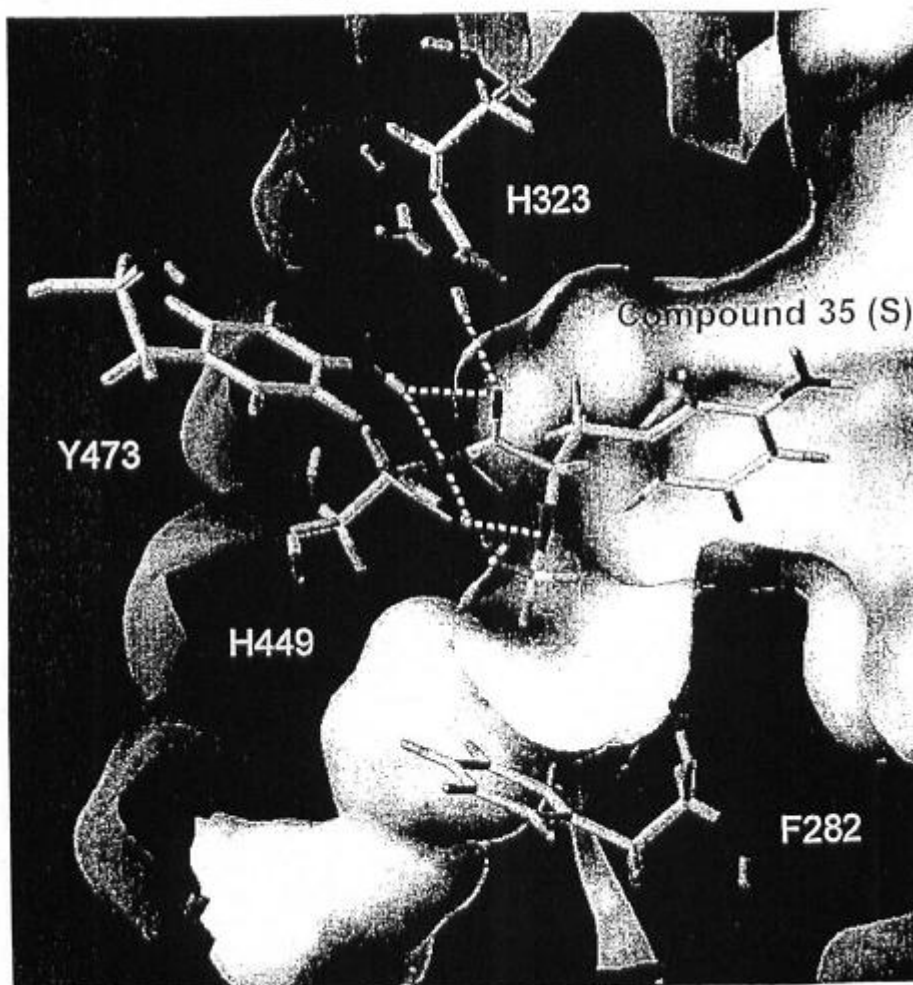


Fig. 8

Приседнання (R) Сполуки 39 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осадки).

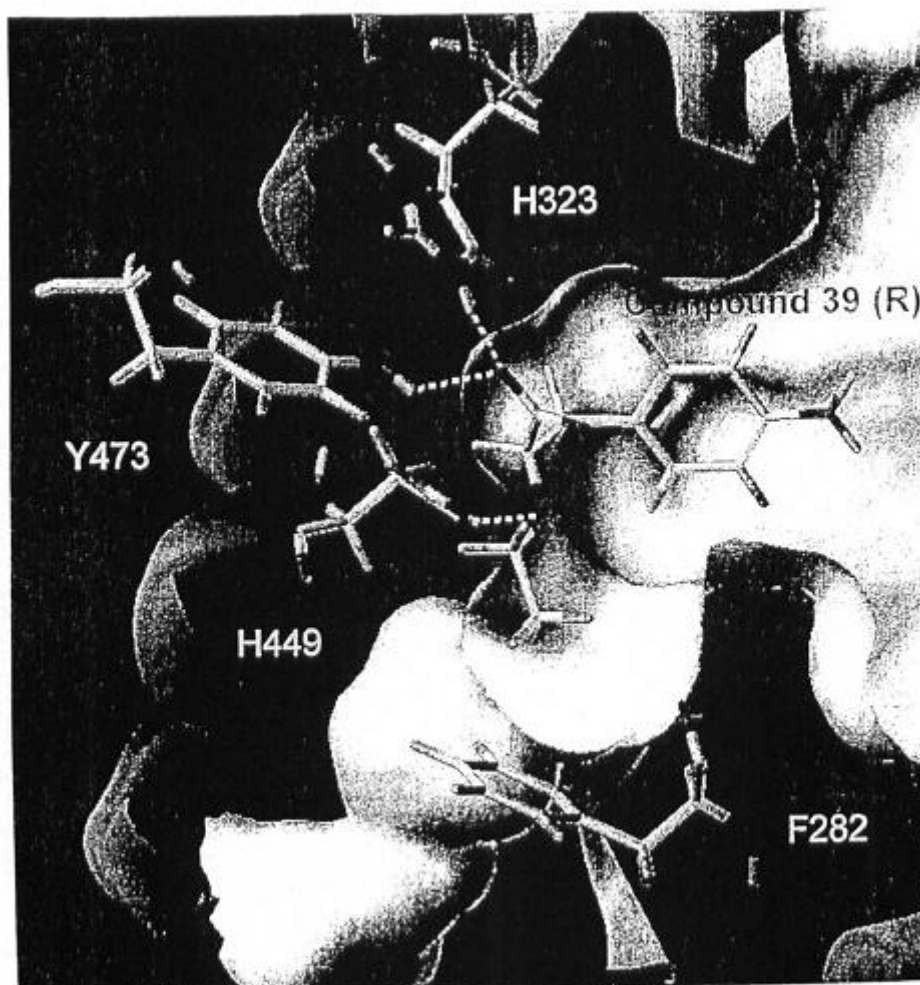


Fig. 9

Приєднання (S) Сполуки 39 до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осадки).

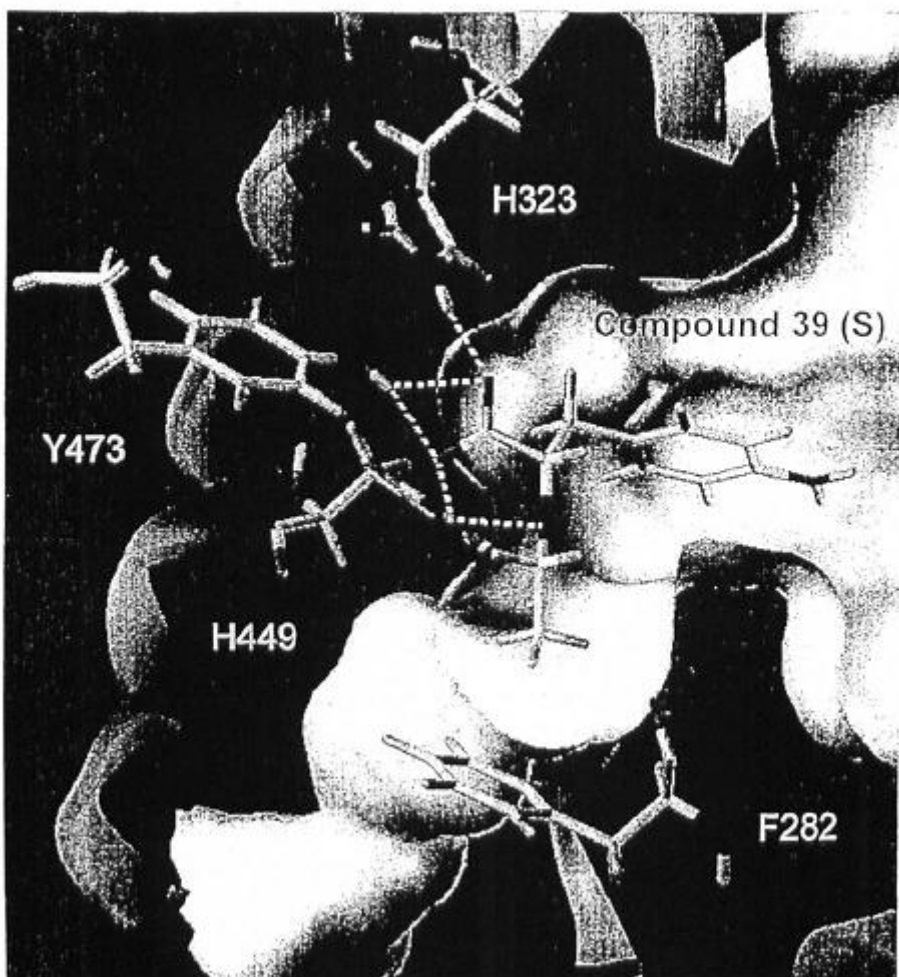


Fig. 10

Приспівання мезаламіну до ППАР γ рецептора (показано водневі зв'язки та мітки, які позначають амінокислотні осадки).

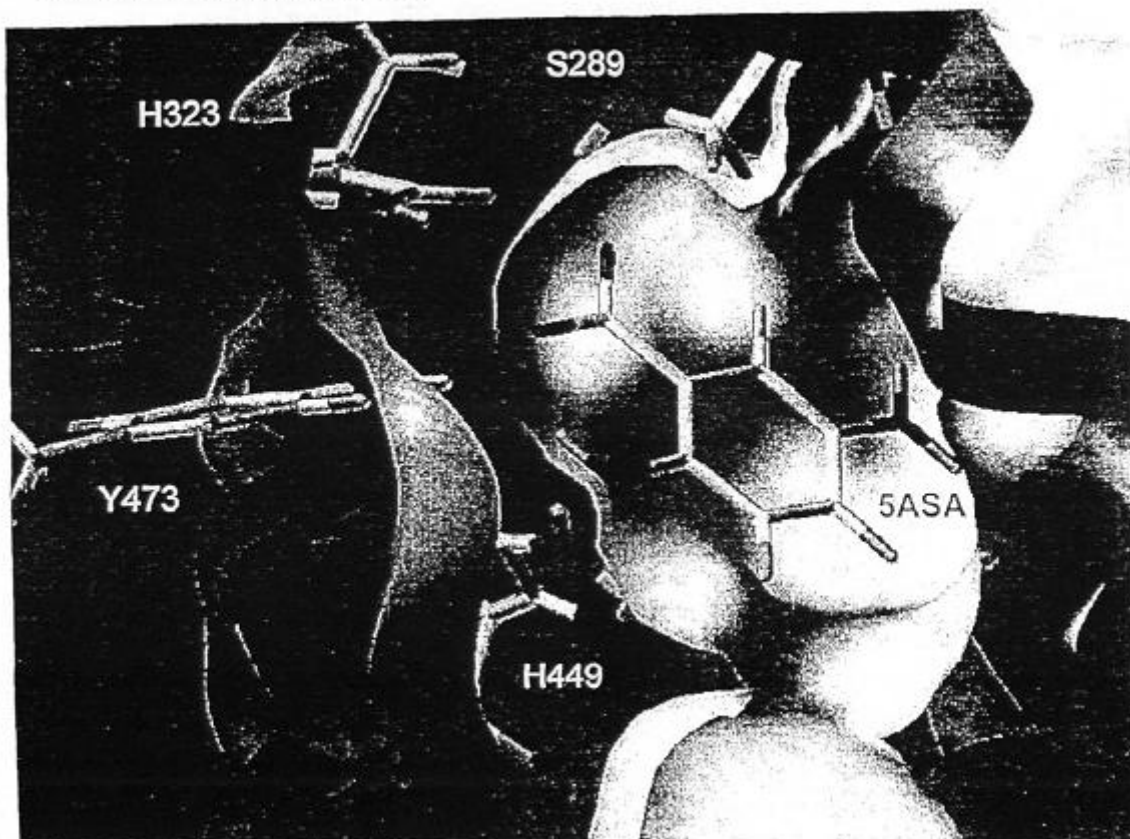


Fig. 11

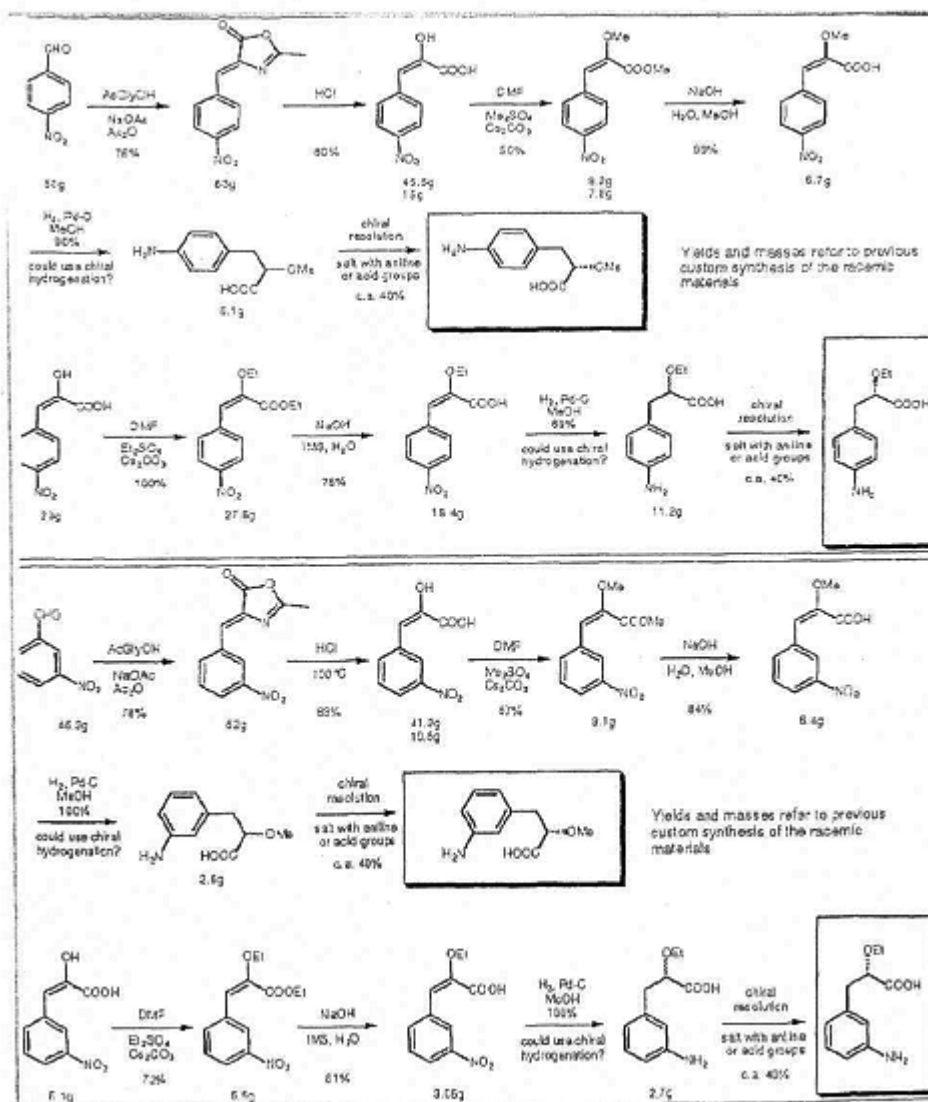


Fig. 12