

**УКРАЇНА****(19) UA (11) 107353 (13) C2**
(51) МПК (2014.01)**A61K 31/655** (2006.01)**C07D 231/46** (2006.01)**C07D 405/12** (2006.01)**C07D 409/12** (2006.01)**A61P 7/00****A61P 7/04** (2006.01)**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ****(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

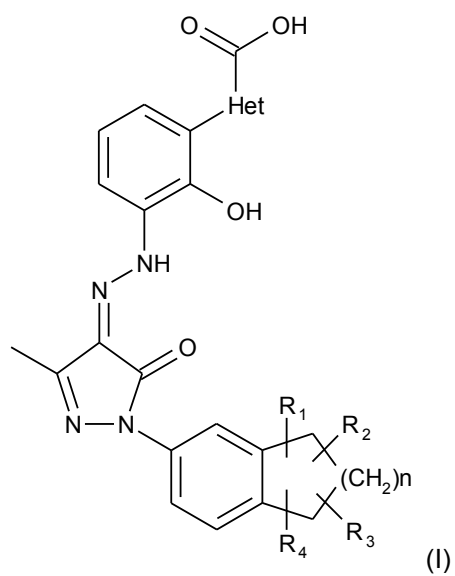
(21) Номер заявки: а 2011 14650	(72) Винахідник(и): Танг Пенг Чо (CN), Лю Хеджун (CN), Фей Хонгбо (CN), Чен Їкян (CN)
(22) Дата подання заявки: 28.05.2010	(73) Власник(и): ДЖЯНГСУ ХЕНГРУЙ МЕДІСІН КО., ЛТД., No. 145 East Renmin Road, Xipu District, Lianyungang, Jiangsu 222002, China (CN), ШАНХАЙ ХЕНГРУЙ ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД., No. 279 Wenjing Road, Minhang District, Shanghai 200245, China (CN)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.12.2014	(74) Представник: Шамріна Олена Олексіївна, реєстр. №141
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 200910052946.1	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2009/092276 A1, 30.07.2009 WO 2001/89457 A2, 29.11.2001 WO 2003/098992 A2, 04.12.2003
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 11.06.2009	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: CN	
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.02.2012, Бюл.№ 3	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.12.2014, Бюл.№ 24	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/CN2010/000760, 28.05.2010	

(54) СОЛІ ПОХІДНИХ БІЦИКЛО-ЗАМІЩЕНОГО АЗОПІРАЗОЛОНУ, СПОСІБ ЇХ ОДЕРЖАННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ**(57) Реферат:**

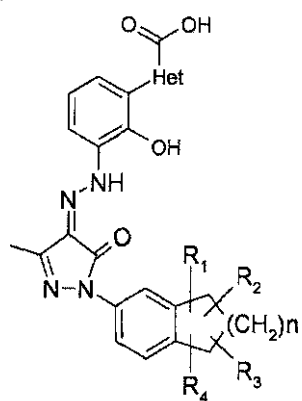
Описуються фармацевтично прийнятні солі похідних біциклозаміщеного азопіразолону загальної формули (I), способи їх одержання, фармацевтичні композиції, що їх містять, і їх застосування як терапевтичного агента, особливо як міметиків тромбопоетину (ТРО), і їх застосування як агоністів рецептора тромбопоетину.

Визначення замісників в загальній формулі (I) є таким же самим, як в описі.

UA 107353 C2



(I)



(I)

Галузь винаходу

Цей опис стосується фармацевтично прийнятних солей нових похідних біцикло-заміщеного азопіразолону, способів їх одержання, фармацевтичних композицій, що їх містять і їх застосування як терапевтичного агента, зокрема, як міметиків тромбопоетину (ТРО) і агоністів рецептора тромбопоетину.

Передумови створення винаходу

Тромбопоетин (ТРО), також має назву фактор розвитку і росту мегакаріоциту (MGDF), стимулюючий фактор тромбоцитопоезу (TSF), ліганд с-мієлопроліферативної лейкемії (с-Mpl), mpl ліганд або мегапоетин, є глікопротеїном, що як повідомлялось, регулює продукування тромбоцитів. Дивись Wendling, F., et. al., *Biotherapy* 10(4): 269-77 (1998); Kuter D.J. et al., *The Oncologist*, 1: 98-106 (1996); Metcalf, *Nature* 369: 519-520 (1994).

За деяких обставин, активність ТРО є наслідком зв'язування ТРО з рецептором ТРО (також називається Mpl). ТРО рецептор був клонований і описана його амінокислотна послідовність. Дивись Vigon et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 89: 5640-5644 (1992).

ТРО є 332-амінокислотним глікозильованим поліпептидом, що відіграє ключову роль в регулюванні мегакаріоцитопоезу, в процесі якого продукуються тромбоцити мегакаріоцитами кісткового мозку. Дивись Kuter et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91: 11104-11108 (1994); Barley et al., *Cell* 77:1117-1124 (1994); Kaushansky et al., *Nature* 369:568-571 (1994); Wendling et al., *Nature* 369: 571-574 (1994); i Sauvage et al., *Nature* 369: 533-538 (1994). ТРО продукується в печінці, але функціонує в основному в кістковому мозку, де він стимулює диференціацію стоволових клітин в попередниках мегакаріоцитів і стимулює проліферацію мегаріоцитів, поліплоїдизацію і, в кінці кінців, виводить циркулюючі тромбоцити в тіло. ТРО також є первинним регулятором в ситуаціях, що включають тромбоцитопенію і в ряді досліджень, що включають збільшення кількості тромбоцитів, розміру тромбоциту і включення ізотопів в тромбоцити реципієнтних тварин. Дивись, Metcalf *Nature* 369: 519-520 (1994). Специфічно, вважається, що ТРО впливає на мегакаріоцитопоез декількома шляхами: (1) він викликає збільшення розміру і кількості мегакаріоциту; (2) він збільшує вміст ДНК, утворення поліплоїду і ряду мегакаріоцитів; (3) він збільшує ендомітоз мегакаріоциту; (4) він збільшує кількість зрілих мегакаріоцитів; (5) він збільшує відсоток клітин попередників, кількість малих ацетилхолінергезапозитивних клітин, кількість клітин кісткового мозку.

Тромбоцити необхідні для згортання крові. Коли кількість тромбоцитів дуже низька, пацієнт має ризик загинути від катастрофічної втрати крові. Таким чином, ТРО використовується для діагностики і лікування різних гематологічних розладів, наприклад, захворювань викликає недостатністю тромбоцитів. Більш того, ТРО може бути корисний для лікування тромбоцитопенічних станів, особливо тих, що є наслідком хіміотерапії, радіаційного опромінення або трансплантації кісткового мозку при лікуванні раку або лімфоми.

Повільне відновлення рівнів тромбоцитів у пацієнтів, що страждають на тромбоцитопенію є серйозною проблемою, бажано одержати сполуку для лікування тромбоцитопенії діючи як міметик ТРО. Ці пептиди призначені для зв'язування і активації ТРО рецептора (ТРО-R), але не мають гомології послідовності природному ТРО. В останні роки було описано ряд активних низькомолекулярних міметиків ТРО, включаючи похідні поліаміну (WO00/28987), тiazол-2-іл-бензаміди (WO01/07423, WO01/53267), азоарильні похідні (WO00/35446, WO01/17349), 2-арил-нафтімідазоли (WO01/39773, WO01/53267) і семікарбазонові похідні (WO01/34585). В клітинних системах, всі з цих молекул можуть активувати шляхи сигнальної трансдукції, що залежать від присутності ТРО рецептора на клітинній мембрані. Деякі типи сполук можуть безпосередньо діяти на сам ТРО рецептор. Деякі з більшості переважних сполук цієї серії стимулюють проліферацію і диференціацію ТРО-чутливих ліній клітин людини і ТРО в культурах кісткового мозку людини, що мають концентрацію нижче 100 нМ.

Деякі патенти передані GlaxoSmithKline описують аналог тромбопоетину, елтромбопаг (WO-2003098992/WO-01089457), з доброю активністю.

Представлений винахід забезпечує ряд фармацевтично прийнятних солей похідних біцикло-заміщеного азопіразолону, які є більш ефективними міметиками ТРО і агоністами рецептора ТРО.

Міжнародна заявка № PCT/CN2009/000001 подана заявником представленою винаходу 4 січня 2009 описує нові біцикло-заміщені похідні азопіразолону і їх застосування як міметиків тромбопоетину (ТРО) і агоністів рецептора тромбопоетину. В міжнародній заявці описано шість прикладів сполук (Приклад 1, Приклад 9, Приклад 15, Приклад 28, Приклад 43 і Приклад 52), а саме:

2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідропіразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонова кислота,

5-(2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гіdraзино]-феніл)-фуран-2-карбонова кислота,

5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідронафталін-2-іл)-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гіdraзино}-феніл)-фуран-2-карбонова кислота,

5 4-(2-гідрокси-3-[N'-(3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гіdraзино]біфеніл-фуран-2-карбонова кислота,

5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гіdraзино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонова кислота,

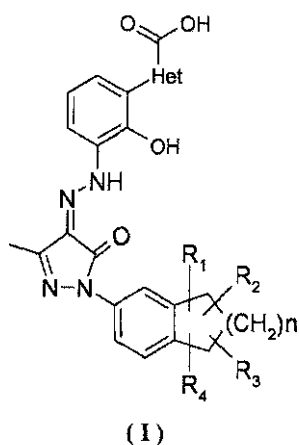
10 4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гіdraзино]-феніл}-тіофен-2-карбонова кислота, і її естери. Для цих сполук встановлена добра агоністична активність стосовно ТРО рецептора. Крім того, ця міжнародна заявка повністю включена сюди через посилання. Однак, міжнародна заявка № РСТ/CN2009/000001 не описує фармацевтично прийнятні солі сполук.

15 Винахідник винаходу зазначив, що вільна кислота похідних біцикло-заміщеного азопіразолону погано розчинна в звичайних розчинниках і, таким чином, незручно одержувати медичні дозовані форми, що обмежує її *in vivo* біодоступність. Тому, необхідно одержати нові форми похідних біцикло-заміщеного азопіразолону для поліпшення їх розчинності і фармакокінетичної абсорбції, що можуть бути використані при звичайному одержанні дозованих форм.

20 Короткий опис суті винаходу

Для того щоб подолати недоліки рівня техніки, представлений винахід забезпечує фармацевтично прийнятні солі нових похідних біцикло-заміщеного азопіразолону, способи їх одержання, фармацевтичні композиції, що їх містять, і їх застосування як терапевтичного агента, особливо як міметиків тромбопоетину (ТРО) і агоністів рецептора тромбопоетину. Солі мають добру активність для лікування тромбоцитопенії, поліпшену розчинність, добру *in vivo* активність, кращу біодоступність, низьку токсичність і є добрими кандидатами на одержання медикаменту для лікування тромбоцитопенії.

30 Терміни "сполуки представленого опису" і "солі представленого опису" є рівноцінними, і обидва з яких є фармацевтично прийнятними солями похідних біцикло-заміщеного азопіразолону представлених формулою (I).



Де:

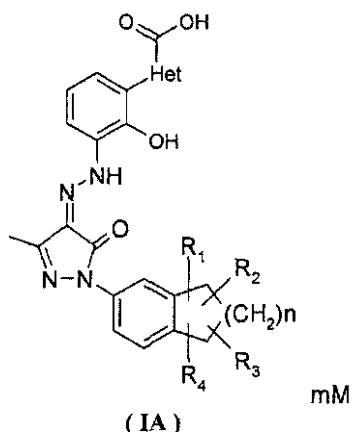
Het вибирають з групи, що містить феніл, фурил і тієніл;

R₁, R₂, R₃ і R₄ кожен незалежно вибирають з групи, що містить водень і алкіл;

35 n є 0, 1 або 2;

солями є основно-адитивні солі.

Крім того, представлений опис стосується солей сполук формули (IA).



де:

Het вибирають з групи, що містить феніл, фурил і тієніл;

R₁, R₂, R₃ і R₄ кожен незалежно вибирають з групи, що містить водень і алкіл;

5 M вибирають з групи, що містить іон металу, іон амонію і основну амінокислоту;

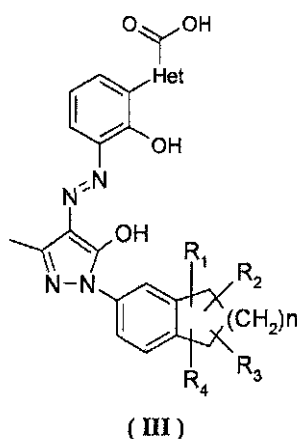
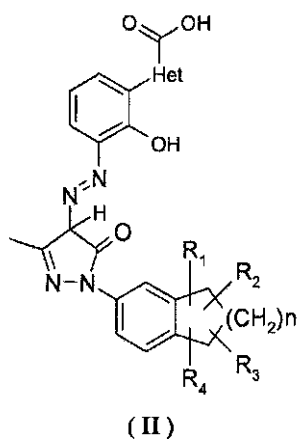
m є 1 або 2;

n є 0, 1 або 2;

солями є основно-адитивні солі.

Термін "вільна кислота" стосується похідних біцикло-заміщеного азопіразолону формули (I).

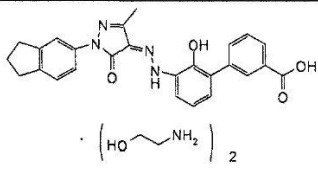
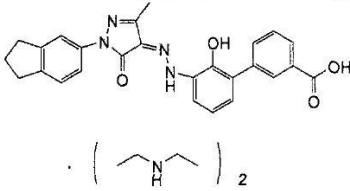
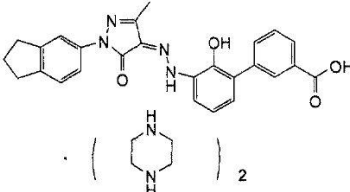
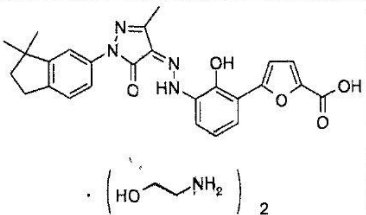
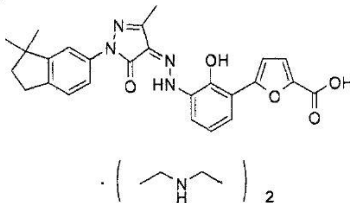
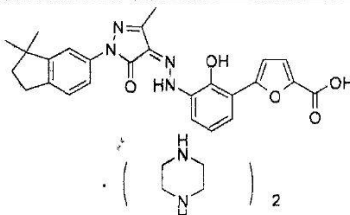
10 Еквівалент стосується тих таутомерів сполук формули (I), які добре відомі середньому фахівцю в цій галузі. Таутомерии сполук формули (I) включають наступну формулу (II) і формулу (III), але не обмежуються ними:

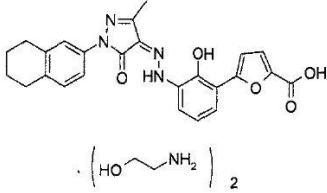
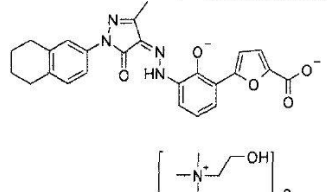
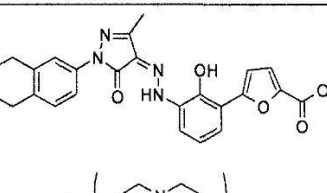
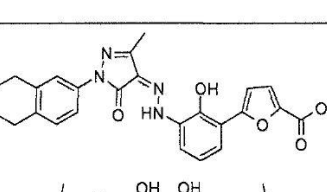
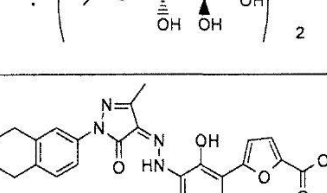
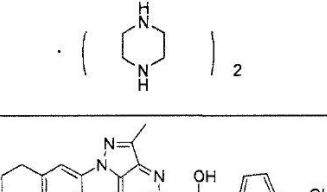


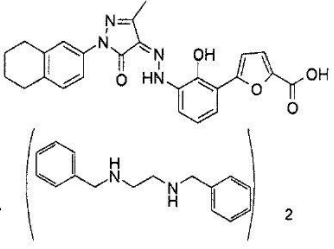
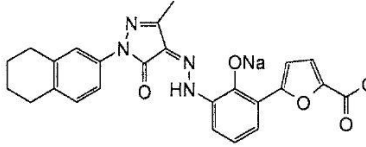
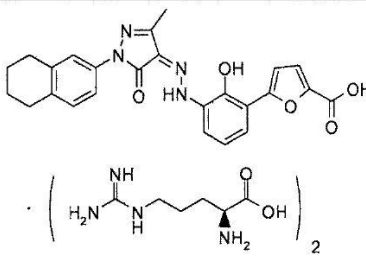
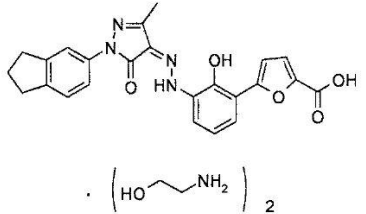
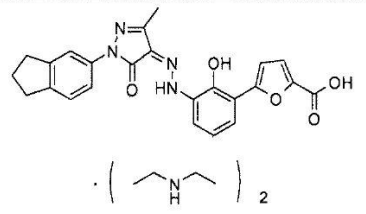
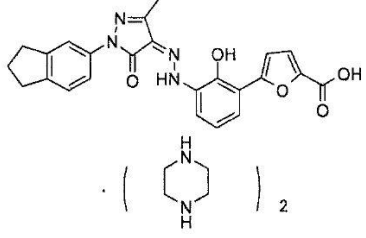
15 Всі таутомери сполук формули (I) включені в рамки представленого опису і всі з них включені у визначення сполук формули (I).

Термін "фармацевтично прийнятна сіль" в представленому описі стосується фармацевтично нетоксичних основно-адитивних солей. Солями є сполуки утворенні сполуками формули (I) і прийнятними основами, такими як гідроксид лужного металу, основна амінокислота, амін або четвертинний амоній, включаючи натрієву сіль, літієву сіль, калієву сіль, кальцієву сіль, магнієву сіль, аргінінову сіль, лізинову сіль, метанамінову сіль, диметиламінову сіль, триметиламінову сіль, етиламінову сіль, діетиламінову сіль, триетиламінову сіль, етаноламінову сіль, піперазінову сіль, дибензилетилендіамінову сіль, меглумінову сіль, трометамінову сіль, тетраметиламонієву сіль, тетраетиламонієву сіль і холінову сіль, переважно діетиламінову сіль, етаноламінову сіль, холінову сіль, піперазінову сіль, меглумінову сіль і трометамінову сіль, і більш переважно етаноламінову сіль, холінову сіль, меглумінову сіль і трометамінову сіль, і найбільш переважно етаноламінову сіль.

Фармацевтично прийнятні солі сполук формули (I) представленого опису переважно включають, але не обмежуються ними:

Приклад №	Структура	Назва
1		(Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(етаноламін)
2		(Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(діетиламін)
3		(Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(піперазин)
4		(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)
5		(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)
6		(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)

7		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідронафталін-2-іл)-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)
8		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідронафталін-2-іл)-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(холін)
9		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідронафталін-2-іл)-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)
10		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідронафталін-2-іл)-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(меглумін)
11		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідронафталін-2-іл)-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)
12		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідронафталін-2-іл)-1,5-дигідропіразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(трометамол)

13		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(дибензилетилендіамін)
14		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти динатрієва сіль
15		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(L-аргінін)
16		(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)
17		(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)
18		(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)

19		(Z)-4-{2-гiдрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигiдро-піразол-4-іліден)-гiдразино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)
20		(Z)-4-{2-гiдрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигiдро-піразол-4-іліден)-гiдразино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)
21		(Z)-4-{2-гiдрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигiдро-піразол-4-іліден)-гiдразино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)
22		(Z)-4-(2-Гiдрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагiдро-нафтал-2-іл)-1,5-дигiдро-піразол-4-іліден]-гiдразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)
23		(Z)-5-(2-гiдрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагiдро-нафталін-2-іл)-1,5-дигiдро-піразол-4-іліден]-гiдразино}-феніл)-фуран-2-карбонова кислота холін

Представлений опис стосується способу одержання фармацевтично прийнятних солей сполук формули (1), що включає стадії:

5 (а) розчинення або суспендування вільної кислоти представленого опису (сполука формули (I)) в органічному розчиннику, де органічний розчинник вибирають з групи, що містить метанол, етанол, ацетон, етилацетат і тетрагідрофуран, переважно тетрагідрофуран;

10 (b) додавання основи до суміші при перемішуванні, де основа може бути органічною або неорганічною основою, такою як гідроксид лужного металу або гідроксид лужноземельного металу, основна амінокислота, амін або четвертинний амоній;

(с) одержання фармацевтично прийнятні солі сполуки формули (I),

15 де неорганічні основи включають гідроксиди лужних металів, які вибирають з групи, що містить гідроксид натрію, гідроксид літію, гідроксид калію, гідроксид кальцію, гідроксид магнію; основні амінокислоти вибирають з групи, що містить лізин і аргінін; аміни вибирають з групи, що містить метанамін, диметиламін, триметиламін, етиламін, діетиламін, триетиламін, етаноламін, піперазин, дибензил етилендіамін, меглумін і трометамін; і четвертинні амонії вибирають з групи, що містить тетраметиламоній, тетраетиламоній, гідроксид холіну, переважно діетиламін, етаноламін, гідроксид холіну, піперазин, меглумін і трометамін, більш переважно етаноламін, гідроксид холіну, меглумін і трометамін, найбільш переважно етаноламін.

На стадії (b), співвідношення вільної кислоти і гідроксиду лужної основи, основної амінокислоти, аміну і четвертинного амонію було переважно 1:5~5:1, більш переважно 1:1~1:3 і найбільш переважно 1:1-1:2.

На стадії (c), відокремлення солей переважно включає безпосередню фільтрацію з реакційної суміші, концентрування з реакційної суміші і перекристалізацію з органічного розчинника. Солі висушують за таких умов, як вакуумна сушка або висушування в потоці гарячого повітря.

Реакції з утворення солей зазвичай проводять за умов охолодження, при кімнатній температурі або нагріванні. Однак, слід відмітити, що температура реакції залежить від утворюваної солі, і це добре відомо середньому фахівцю в цій галузі. Інтервал температур реакцій представленого опису становить від кімнатної температури до температури кипіння розчинника реакції, переважно 0~40°C. Фахівець в цій галузі може легко визначити найбільш переважну температуру реакції утворення солі, використовуючи звичайні методики.

Представлений опис стосується застосування фармацевтично прийнятних солей сполуки формули (I) при одержанні агоніста рецептора тромбопоетину.

Представлений опис стосується застосування фармацевтично прийнятні солі сполуки формули (I) при одержанні медикаменту для лікування тромбоцитопенії, де медикамент спільно вводять з лікарським засобом з групи, що містить колоній стимулюючий фактор, цитокін, хемокін, агоніст або антагоніст рецептора інтерлейкіну або цитокіну, розчинний рецептор, рецептор агоніста або антагоніста антитіла або один або більше пептидів або низькомолекулярні сполуки, що мають такий же самий механізм як і лікарський засіб.

Представлений опис стосується фармацевтично прийнятних солей сполук формули (I), для використання як медикаменту для лікування тромбоцитопенії, де медикамент спільно вводять з лікарським засобом з групи, що містить колоній стимулюючий фактор, цитокін, хемокін, агоніст або антагоніст рецептора інтерлейкіну або цитокіну, розчинний рецептор, рецептор агоніста або антагоніста антитіла або один або більше пептидів або низькомолекулярні сполуки, що мають такий же самий механізм як і лікарський засіб, де медикамент є у формі оральної дозованої форми або медикамент є у формі парентеральної дозованої форми.

Представлений опис стосується способу лікування тромбоцитопенії, що включає стадію введення суб'єктові, що цього потребує, терапевтично ефективною кількістю фармацевтично прийнятної солі сполуки формули (I), де фармацевтично прийнятну сіль спільно вводять з лікарським засобом з групи, що містить колоній стимулюючий фактор, цитокін, хемокін, агоніст або антагоніст рецептора інтерлейкіну або цитокіну, розчинний рецептор, рецептор агоніста або антагоніста антитіла або один або більше пептидів або низькомолекулярні сполуки, що мають такий же самий механізм як і лікарський засіб, де фармацевтично прийнятна сіль є у формі оральної дозованої форми або фармацевтично прийнятна сіль є у формі парентеральної дозованої форми.

Представлений опис стосується фармацевтичних композицій, що містять терапевтично ефективну кількість фармацевтично прийнятної солі сполуки формули (I) і фармацевтично прийнятні носії або розріджувачі, де композицію спільно вводять з лікарським засобом з групи, що містить колоній стимулюючий фактор, цитокін, хемокін, інтерлейкін і агоніст рецептора цитокіну. Представлений опис також стосується застосування композицій при одержанні медикаменту для лікування тромбоцитопенії, де спільне введення включає введення лікарських засобів представленого опису одночасно або послідовно.

Представлений опис стосується способу одержання фармацевтичних композицій, що містять терапевтично ефективну кількість фармацевтично прийнятної солі сполуки формули (I) і фармацевтично прийнятні носії або розріджувачі, де спосіб включає стадію комбінування сполук формули (I) з фармацевтично прийнятними носіями або розріджувачами.

В способі одержання фармацевтичних композицій, важливим для одержання лікарського засобу в прийнятній формі, що звичайно застосовується і використовується, яка є не тільки з огляду комерційної доступності одержання, але також з огляду одержання фармацевтичних дозованих форм, що містять активні сполуки.

В іншому аспекті, важливим є надійність, відтворюваність і постійна крива концентрації лікарського засобу в плазмі після введення суб'єктові в ході одержання фармацевтичних композицій.

Іншими важливими факторами є хімічна стійкість, стабільність в твердому стані і строк придатності активного інгредієнта. Лікарські засоби, що містяться в їх композиції, можуть переважно зберігатись відносно довго без значних змін фізичних і хімічних характеристик їх активних компонентів, таких як хімічний склад, густина, гігроскопічність і розчинність.

Також важливо забезпечити хімічну чистоту лікарського засобу, як це можливо.

Типово, лікарський засіб може надавати наступні переваги: зручне лікування, одержання прийнятних дозованих форм лікарського засобу і надійна розчинність, якщо лікарський засіб можна одержати в стабільній формі, такий як стабільна кристалічна форма, яка добре відома фахівцю в цій галузі.

Ефективна кількість активного інгредієнта в фармацевтичній дозованій одиниці, як описано вище, буде нетоксичною, переважно, що вибирається з інтервалу 0,001~100 мг/кг від загальної маси, більш переважно 0,001~50 мг/кг. Коли лікування суб'єкта потребує ТРО міметиків, вибрана доза вводиться орально або парентерально. Переважними парентеральними формами є місцева, ректальна, трансдермальна форми, ін'єкція і інфузія. Оральні дозовані одиниці для введення людині переважно містять від 0,05 до 3500 мг активного інгредієнта, найбільш переважно від 0,5 до 1000 мг активного інгредієнта. Переважним є оральне введення, яке використовує нижчу дозу. Парентеральне введення, з вищими дозами, однак, також може бути використано, коли це безпечно і зручно для пацієнта. Приведені вище дози стосуються переважної кількості активного інгредієнта у вигляді вільної кислоти.

Середньому фахівцю в цій галузі повинно бути зрозуміло, що оптимальна кількість і інтервал окремих доз активного інгредієнту буде залежати від природи і ступеня стану, що лікується, форми, шляху і місця введення, особи пацієнта, що лікується, і такі оптимальні значення можуть бути визначені за допомогою звичайних методик. Також середньому фахівцю повинен бути зрозумілий і оптимальний курс лікування, тобто, кількість доз активного інгредієнту, що вводиться протягом дня за визначену кількість днів, або може бути встановлений фахівцем в цій галузі використовуючи звичайний порядок дій в ході тестів.

Сполуки представленого опису можуть вводиться орально або парентерально, де сполуки можна одержати у формі таблеток, пігулок, порошку і гранул, що вводяться за допомогою різних шляхів. У згаданих вище твердих дозованих формах, активні компоненти змішують з принаймні одним видом інертного розріджувача. Згідно із звичайною практикою, оральні дозовані форми також включають інші речовини, такі як лубриканти, гліданти і антиоксиданти, окрім інертного розріджувача. Якщо одержують капсули, таблетки і пігулки, дозовані форми містять буферувальні агенти. Таблетки і пігулки можна одержати у формі дозованих форм тривалого вивільнення.

Хоча можуть бути використані неводні емульсії, парентеральні дозовані форми представленого опису містять стерильний водний розчин і ці дозовані форми також містять ад'юванти, наприклад, антисептики, зволожувальні агенти, змочувальні агенти, буфери, емульгатори і дисперганти. Для стерилізації можуть використовуватись фільтри, що затримують бактерії, і стерилізувальні агенти додаються до композицій, які опромінюють або нагрівають для стерилізації.

Порівняно з вільними кислотами, солі представленого опису мають наступні переваги:

(1) Солі представленого опису легко розчиняються у звичайних розчинниках, таких як вода, метанол, 0,1 % хлорводнева кислота і адаптуються для одержання звичайних дозованих форм, де розчинність етаноламінових солей очевидно поліпшується в 0,1% хлорводневій кислоті.

(2) Солі представленого опису мають поліпшену стабільність.

(3) Солі представленого опису мають кращу біологічну активність *in vitro*.

(4) Солі представленого опису мають кращі фармакокінетичні характеристики *in vivo*, кращу абсорбцію, вищу біодоступність і кращу фармакокінетичну криву, де етаноламінова сіль, холінова сіль, піперазінова сіль, меглумінова сіль і трометамінова сіль мають кращі фармакокінетичні характеристики, переважно етаноламінова сіль.

(5) Спосіб одержання солей представленого опису має переваги, що обумовлено високим виходом, високою чистотою, швидкістю, зручністю і дешевизною, де етаноламінова сіль, холінова сіль, діетиламінова сіль і піперазінова сіль є найбільш переважними на стадіях способу, і вони можуть бути кристалізовані безпосередньо.

Порівняно з вільними кислотами, солі представленого опису мають кращі характеристики розчинності, стабільності, біологічної активності *in vitro* і фармакокінетичні властивості, переважно діетиламінова сіль, етаноламінова сіль, холінова сіль, піперазінова сіль, меглумінова сіль і трометамінова сіль, більш переважно етаноламінова сіль, холінова сіль, меглумінова сіль і трометамінова сіль, найбільш переважно етаноламінова сіль.

Детальний опис

Якщо не вказано інше, наступні терміни, що використовували в описі і формулі винаходу, мають значення описані нижче.

Термін "етаноламін" стосується "2-аміноетанолу".

Термін "холін" стосується "(2-гідроксиетил)триметиламіну".

Термін "меглумін" стосується "N-метил-D-меглуміну".

Термін "фармацевтична композиція" стосується суміші однієї або більше фармацевтично прийнятних солей сполуки описаної тут або її проліків, з іншими хімічними компонентами, такими як фізіологічно/фармацевтично прийнятні носії. Ціллю фармацевтичної композиції є полегшення введення сполуки в організм.

5 Термін "стабільність" стосується хімічної стабільності і стабільності зберігання.

Термін "хімічна стабільність" стосується зберігання сполук представленого опису включаючи виділені форми або дозовані форми змішані з фармацевтично прийнятними носіями або розріджувачами (наприклад, оральна дозована форма, така як таблетки, капсули і т.і.) за стандартних умов з незначною хімічною деградацією або хімічним розкладанням.

10 Термін "стабільність зберігання" стосується зберігання сполук представленого опису включаючи виділені тверді форми або дозовані форми змішані з фармацевтично прийнятними носіями або розріджувачами у твердій формі (наприклад, оральна дозована форма, така як таблетки, капсули і т.і.) за стандартних умов з незначною трансформацією твердого стану (наприклад, кристалізація, перекристалізація, зміну твердотільної фази, гідратацію, дегідратацію, сольватацію або видалення розчинника).

15 Приклади терміну "зберігання за стандартних умов" включають інтервал температур від -80°C до +50°C (переважно від 0°C до 40°C, більш переважно при кімнатній температурі, такий як 15°C~30°C), тиску в інтервалі від 0,1 Па до 2 Па (переважно при атмосферному тиску), відносній вологості в інтервалі від 5% до 95% (переважно 10%~60%) і/або опроміненні 460 люкс
20 УФ/видимим світлом протягом тривалого часу (довше ніж або еквівалентно шести місяцям).

Термін "парентеральне введення" включає внутрішньовенне, внутрішньом'язове, підшкірне, інтраназальне, інтратекальне, інтравагінальне або інтраперітонеальне введення, переважно, оральне введення.

25 Термін фармацевтично "гігроскопічний" стосується характеристики, що характеризує здатність або ступінь абсорбування сполукою води при деякій температурі і вологості. Тестовані зразки є твердими інгредієнтами, що задовольняють Стандартам контролю якості лікарських засобів. Умови пакування лікарського засобу і зберігання можуть визначатись за результатами згаданих вище тестів.

Спосіб синтезу сполук опису

30 Для того щоб досягти цілей опису, опис використовує наступні технічні рішення:

Спосіб синтезу сполука формули (I) стосується прикладу 1, прикладу 9, прикладу 15, прикладу 28, прикладу 43 і прикладу 52 міжнародної заявки № PCT/CN2009/000001 поданої 4 січня 2009. Заявка була включена сюди повністю через посилання.

Спосіб одержання фармацевтично прийнятних солей сполук формули (I) включає стадії:

35 (a) розчинення або суспендування вільної кислоти представленого опису (сполука формули (I)) в органічному розчиннику, де органічний розчинник вибирають з групи, що містить метанол, етанол, ацетон, етилацетат і тетрагідрофуран, переважно тетрагідрофуран;

(b) додавання основи до суміші при перемішуванні, де основа може бути органічною або неорганічною основою, такою як гідроксид лужного металу або гідроксид лужноземельного металу, основна амінокислота, амін або четвертинний амоній;

40 (d) одержання фармацевтично прийнятні солі сполуки формули (I), де неорганічні основи включають гідроксиди лужних металів, які вибирають з групи, що містить гідроксид натрію, гідроксид літію, гідроксид калію, гідроксид кальцію, гідроксид магнію; основні амінокислоти вибирають з групи, що містить лізин і аргінін; аміни вибирають з групи, що містить метанамін, диметиламін, триметиламін, етиламін, діетиламін, триетиламін, етаноламін, піперазин, дибензил етилендіамін, меглумін і трометамін; і четвертинні амонії вибирають з групи, що містить тетраметиламоній, тетраетиламоній, гідроксид холіну, переважно діетиламін, етаноламін, гідроксид холіну, піперазин, меглумін і трометамін, більш переважно етаноламін, гідроксид холіну, меглумін і трометамін, найбільш переважно етаноламін.

50 На стадії (b), співвідношення вільної кислоти і основи переважно 1:5~5:1, більш переважно 1:1~1:3 і найбільш переважно 1:1-1:2.

На стадії (c), відокремлення солей переважно включає безпосередню фільтрацію з реакційної суміші, концентрування з реакційної суміші і перекристалізацію з органічного розчинника. Солі висушують за таких умов, як вакуумна сушка або висушування в потоці гарячого повітря.

55 Реакції з утворення солей зазвичай проводять за умов охолодження, при кімнатній температурі або нагріванні. Однак, слід відмітити, що температура реакції залежить від утворюваної солі і це добре відомо середньому фахівцю в цій галузі. Інтервал температур реакцій представленого опису становить від кімнатної температури до температури кипіння

розчинника реакції, переважно 0~40°C. Фахівець в цій галузі може легко визначити найбільш переважну температуру реакції утворення солі використовуючи звичайні методики.

Представлений опис далі описується за допомогою наступних Прикладів, які не призначені для обмеження рамок опису.

5 ПРИКЛАДИ

Структуру сполук підтверджували за допомогою спектрів ядерного магнітного резонансу (¹НЯМР) або маспектроскопії (МС).

10 ЯМР знімали на спектрометрі Bruker AVANCE-400. Прийнятими розчинниками є дейтерований-метанол (CD₃OD), дейтерований-хлороформ (CDCl₃) і дейтерований-диметилсульфоксид (DMSO-d₆) з тетраметилсиланом (TMS), як внутрішній стандарт, і хімічні зсуви виражали як м.ч. (10⁻⁶).

МС визначали використовуючи маспектрометр FINNIGAN LCQAd (ESI) (виробник: Thermo, тип: Finnigan LCQ advantage MAX)..

EC₅₀ визначали на NovoStar ELIASA (BMG Co. German).

15 Використовували пластинки з силікагелем для тонкошарової хроматографії Yantai Huanghai HSGF254 або Qingdao GF254. Пластинками використовуваними в ТШХ були 0,15 мм~0,2 мм і пластинками використовуваними при очищенні продуктів були 0,4 мм~0,5 мм.

Для колонкової хроматографії зазвичай використовували силікагель Yantai Huanghai 200-300 меш, як носій.

20 ВЕРХ проводили на спектрометрі для високоефективної рідинної хроматографії Agilent 1200DAD (хроматографічна колонка Sunfire C18 150x4,6 мм) і на спектрометрі для високоефективної рідинної хроматографії Waters 2695-2996 (хроматографічна колонка Gemini C18 150x4,6 мм).

25 Реакції при тиску водню проводили використовуючи гідрогенатор Парра 3916EKX і генератор водню QL. Реакції при мікрохвильовому опроміненні проводили використовуючи мікрохвильовий реактор CEM Discover-S 908860.

В реакціях гідрування, реакційну систему зазвичай вакуумували і наповнювали воднем, повторювали операцію три рази.

30 Відомі вихідні матеріали винаходу можуть бути одержані використовуючи звичайний спосіб синтезу або одержати від ABCR GmbH & Co. KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, Accela ChemBio Inc, Darui Finechemical Co., Ltd і т.д.

Якщо не вказано інше, наступні реакції проводили в атмосфері азоту.

"Атмосфера азоту" означає, що реакційна колба устаткована кулькою з азотом приблизно 1 л.

35 "Атмосфера водню" означає, що реакційна колба устаткована кулькою з воднем приблизно 1 л.

Якщо не вказано інше, розчин використовуваний в наступних реакціях стосується водного розчину.

Термін "ТШХ" стосується тонкошарової хроматографії.

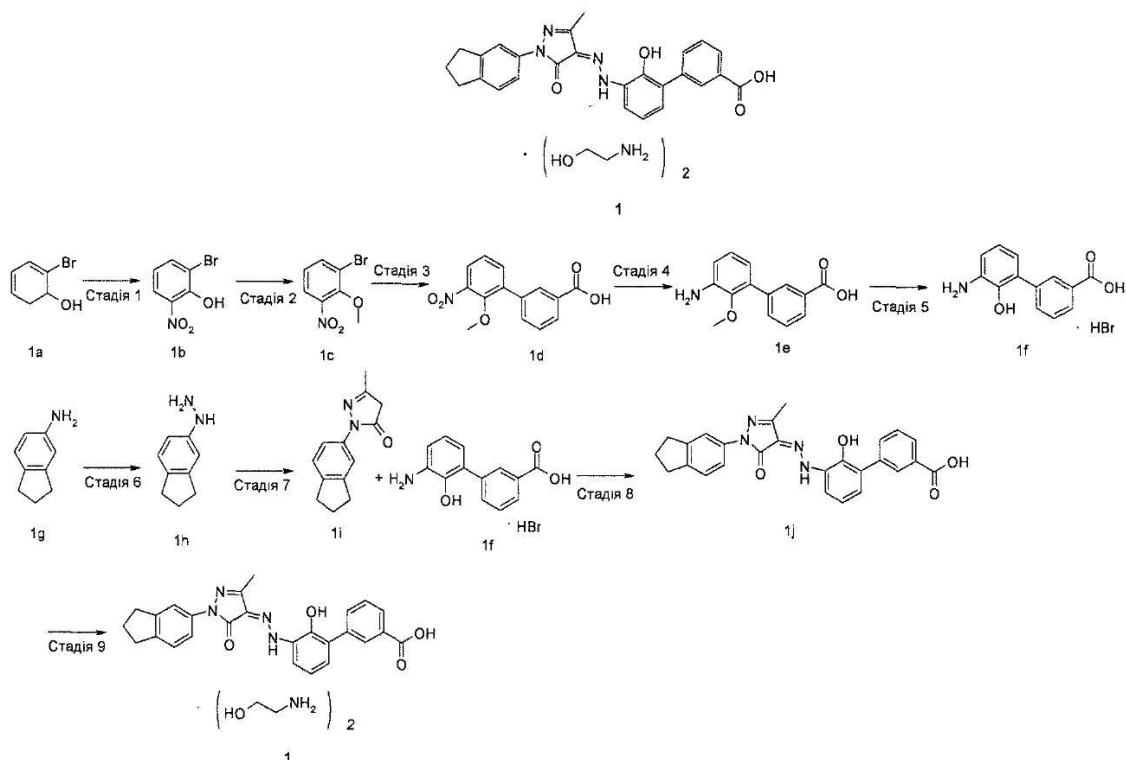
40 Термін "ВЕРХ" стосується високоефективної рідинної хроматографії.

Умови ВЕРХ тесту: час: 30 хв, температура колонки: 30°C PDA:230 нм, рухома фаза: ацетонітрил:вода (0,1% трифтороцтова кислота) = 25:75, швидкість потоку: 1,0 мл/хвилину.

Хроматографічна колонка: C18, 150*4,6 мм Gemini.

Приклад 1

45 (Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(етаноламін)



Стадія 1

2-Бром-6-нітро-фенол

- 5 Розчин 60 мл концентрованої сірчаної кислоти розведеної 186 мл води, охолоджували до кімнатної температури. Додавали до розчину нітрит натрію (79,2 г, 0,93 моль). Краплями додавали 2-бром-фенол 1a (60 мл, 0,52 моль) з такою швидкістю, що температура реакції була нижче 25 °С. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин. Осад розчиняли в 320 мл етилацетату. Суміш промивали водою і насиченим розсолем, сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували і фільтрат концентрували при пониженому тиску.
- 10 Одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 2-бром-6-нітро-фенол, 1b (48,2 г, вихід 42,8%) як жовту тверду речовину.

МС m/z (ECI): 218 [M+1]

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 11,18 (с, 1H), 8,12-8,15 (м, 1H), 7,89-7,91 (м, 1H), 6,88-7,02 (м, 1H)

15 Стадія 2

1-Бром-2-метокси-3-нітро-бензол

- 2-Бром-6-нітро-фенол 1b (46,55 г, 0,214 моль) розчиняли в 500 мл ацетону після чого додавали карбонат калію (35,36 г, 0,26 моль) і йодметан (20,1 мл, 0,32 моль). Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником при 70 °С протягом 40 годин. Реакційну суміш концентрували при пониженому тиску і розводили 1300 мл етилацетату і 500 мл води. Водний шар екстрагували етилацетатом (300 мл×2). Об'єднані органічні екстракти промивали 4 М хлорводневою кислотою і насиченим розчином бікарбонату натрію і потім сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували і фільтрат концентрували при пониженому тиску.
- 20 Одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 1-бром-2-метокси-3-нітро-бензол, 1c (44,59 г, вихід 90,0%) як коричневу тверду речовину.

МС m/z (ECI): 234 [M+1]

Стадія 3

2'-Метокси-3'-нітро-біфеніл-3-карбонова кислота

- 30 1-Бром-2-метокси-3-нітро-бензол 1c (23,25 г, 0,10 моль), 3-карбоксифенілборну кислоту (19,5 г, 117 ммоль) і тетракіс(трифенілфосфін)паладій (8,86 г, 7,7 моль) розчиняли в суміші розчинників 100 мл 2 М розчину карбонату натрію і 500 мл 1,4-діоксану. Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником при 105 °С протягом 43 годин. Суміш концентрували при пониженому тиску і потім додавали 300 мл 6 N хлорводневої кислоти і 400 мл етилацетату.
- 35 Водний шар екстрагували етилацетатом (200 мл×2). Об'єднані органічні екстракти сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували і фільтрат концентрували при пониженому тиску,

одержуючи вказану в заголовку сполуку, 2'-метокси-3'-нітро-біфеніл-3-карбонову кислоту, 1d (53,93 г) як світло-жовту тверду речовину.

МС m/z (ESI): 272 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 8,11 (с, 1H), 8,02 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,90-7,92 (м, 1H), 7,82-7,84 (м, 1H), 7,21-7,75 (м, 1H), 7,63-7,67 (м, 1H), 7,42-7,46 (м, 1H), 3,45 (с, 3H)

Стадія 4

2'-Метокси-3'-аміно-біфеніл-3-карбонова кислота

2'-Метокси-3'-нітро-біфеніл-3-карбонову кислоту 1d (0,48 г, 1,74 ммоль) розчиняли в 60 мл етанолу після чого додавали 0,5 г паладію на вугіллі (10%) і форміат амонію (1,1 г, 17,4 ммоль). Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником при 80°C протягом 20 хвилин. Суміш фільтрували і фільтрат концентрували при пониженому тиску і сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 2'-метокси-3'-аміно-біфеніл-3-карбонову кислоту, 1e (0,42 г, вихід 93,3%) як білу тверду речовину.

МС m/z (ESI): 242 [M-1]

Стадія 5

3'-Аміно-2'-гідрокси-біфеніл-3-карбонової кислоти гідробромід

Використовували відому методику описану в заявці WO0189457: 2'-Метокси-3'-аміно-біфеніл-3-карбонову кислоту 1e (2,5 г, 10,3 ммоль) розчиняли в 100 мл бромводневої кислоти (40%). Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником при 120 °C протягом ночі. Суміш концентрували при пониженому тиску і одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 3'-аміно-2'-гідрокси-біфеніл-3-карбонової кислоти гідробромід, 1f (2,4 г, 88,8%) як тверду речовину кольору хакі.

МС m/z (ESI): 230 [M+1]

Стадія 6

Індан-5-іл-гідазин

Індан-5-іламін 1d (3,59 г, 27,0 ммоль) розчиняли в 20 мл концентрованої хлорводневої кислоти при охолодженні на бані лід-вода і суміш перемішували 10 хвилин. Краплями додавали 10 мл розчину нітриту натрію (1,86 г, 27,0 ммоль) і суміш перемішували ще 15 хвилин і використовували в наступній реакції.

При охолодженні на бані лід-вода, дигідрат хлориду олова (24,4 г, 108,0 ммоль) розчиняли в 10 мл концентрованої хлорводневої кислоти після чого додавали згадану вище суміш. Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури і витримували 1,5 годин. Потім суміш доводили до pH 9 40% розчином гідроксиду натрію при охолодженні на бані лід-вода. Суміш екстрагували 400 мл етилацетату і об'єднані органічні екстракти концентрували при пониженому тиску і сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, індан-5-іл-гідазин, 1h (2,05 г, вихід 51,3%) як руду тверду речовину.

МС m/z (ESI): 149 [M+1]

Стадія 7

2-Індан-5-іл-5-метил-2,4-дигідро-піразол-3-он

Індан-5-іл-гідазин 1h (2,05 г, 13,8 ммоль) розчиняли в 50 мл оцтової кислоти після чого додавали етилацетоацетат (1,76 мл, 13,8 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при 100 °C протягом ночі. Суміш концентрували при пониженому тиску і одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 2-індан-5-іл-5-метил-2,4-дигідро-піразол-3-он, 1i (1,84 г, вихід 62,3%) як жовту тверду речовину.

МС m/z (ESI): 215 [M+1]

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 7,69 (с, 1H), 7,60 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,24 (д, J = 8 Гц, 1H), 3,44 (с, 2H), 2,90-2,97 (м, 4H), 3,21 (с, 3H), 2,07-2,14 (м, 2H)

Стадія 8

(Z)-2'-Гідрокси-3'-[H'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідазино]-біфеніл-3-карбонова кислота

При охолодженні на бані лід-вода, 3'-аміно-2'-гідрокси-біфеніл-3-карбонової кислоти гідробромід 1f (267 мг, 1,16 ммоль) розчиняли в 10 мл 1М хлорводневої кислоти після чого краплями додавали 10 мл розчину нітриту натрію (88 мг, 1,28 ммоль) і 2-індан-5-іл-5-метил-2,4-дигідро-піразол-3-он 1i (249 мг, 1,16 ммоль). Суміш доводили до pH 8 насиченим розчином бікарбонату натрію, після чого додавали 10 мл етанолу. Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури протягом ночі. Суміш фільтрували, сушили і перекристалізували з метанолу одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідазино]-біфеніл-3-карбонову кислоту, 1j (60 мг, вихід 11,4%) як жовту тверду речовину.

МС m/z (ESI): 453 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 13,76 (ш с, 1H), 13,03 (ш с, 1H), 9,66 (ш с, 1H), 8,13 (с, 1H), 7,96-7,98 (д, J= 8,1 Гц, 1H), 7,60-7,82 (м, 5H), 7,28-7,30 (д, J = 8,1 Гц, 1H), 7,13-7,17 (м, 2H), 2,86-2,93 (м, 4H), 2,34 (с, 3H), 2,03-2,10 (м, 2H)

Стадія 9

5 (Z)-2'-Гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(етаноламін)

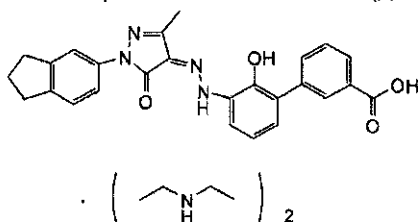
(Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонову кислоту 1j (454 мг, 1,0 ммоль) розчиняли в 16 мл тетрагідрофурану. До реакційної суміші додавали етаноламін (143 мг, 2,35 ммоль) і перемішували 3 години. Суміш фільтрували, залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (2 мл×3), і тверду речовину сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(етаноламін), 1 (553 мг, вихід: 96,0%) як темно-червону тверду речовину.

МС m/z (ESI): 453 [M-1]

15 ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,13 (с, 1H), 7,92 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,69 (м, 3H), 7,61 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,45 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,25 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,17 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,98 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,65 (т, J=5,2 Гц, 4H), 2,95 (м, 4H), 2,86 (т, J=5,2 Гц, 4H), 2,41 (с, 3H), 2,12 (м, 2H)

Приклад 2

20 (Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(діетиламін)



2

(Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонову кислоту 1j (150 мг, 0,33 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червоний розчин. До розчину краплями додавали діетиламін (48 мг, 0,66 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували 2 години. Тверда речовина випадала в осад з розчину. Суміш фільтрували, залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і тверду речовину сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(діетиламін), 2 (132 мг, вихід: 66,7%) як червону тверду речовину.

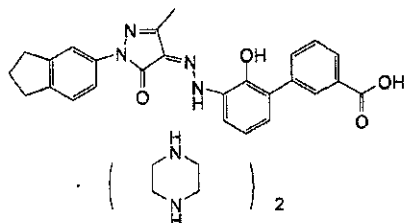
ВЕРХ: 99,2%

МС m/z (ESI): 452,9 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,08 (м, 1H), 7,94 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,72 (м, 2H), 7,62 (м, 2H), 7,55 (м, 1H), 7,25 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,14 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,07 (м, 1H), 2,89-2,98 (м, 12H), 2,38 (с, 3H), 2,09-2,14 (м, 2H), 1,34 (м, 12H)

Приклад 3

(Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(піперазин)



3

40 (Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонову кислоту 1j (150 мг, 0,33 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали піперазин (57 мг, 0,66 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин і перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин. Тверда речовина випадала в осад з розчину, її фільтрували, потім залишок на фільтрі

промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонової кислоти біс-(піперазин), 3 (130 мг, вихід: 62,8%) як темно-червону тверду речовину.

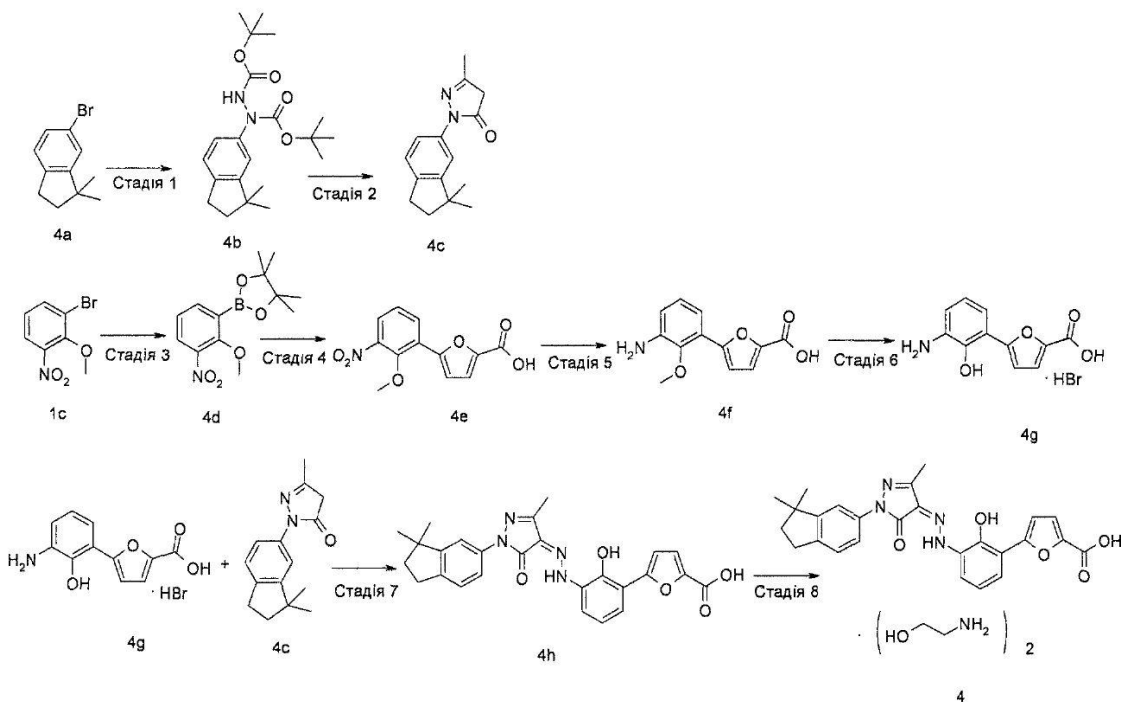
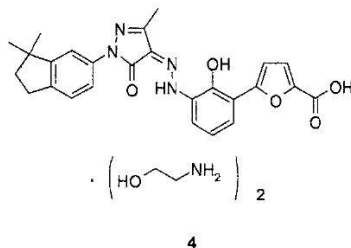
5 ВЕРХ: 98,5%

МС m/z (ESI): 452,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,10 (с, 1H), 7,92 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,68 (м, 3H), 7,61 (м, 1H), 7,43 (м, 1H), 7,24 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,15 (м, 1H), 7,00 (м, 1H), 2,89-2,95 (м, 4H), 2,84 (с, 16H), 2,39 (с, 3H), 2,09-2,12 (м, 2H)

10 Приклад 4

(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)



Стадія 1

15 Ди-трет-бутил 1-(3,3-диметил-інден-5-іл)гідразин-1,2-дикарбоксилат

6-Бром-1,1-диметил-індан (одержували використовуючи добре відому методику: заявка WO2Q05066115) 4a (4,32 г, 19,27 ммоль) розчиняли в 40 мл тетрагідрофурану і потім краплями при -78 °С додавали бутиллітій (15,67 мл, 1,6 М, 25,05 ммоль). Після реагування реакційної суміші 40 хвилин, додавали розчин ди-трет-бутилазодикарбоксилату (5,32 г, 23,12 ммоль) в 30 мл тетрагідрофурану. Реакційна суміш реагувала ще 3 години при -78 °С. До реакційної суміші додавали 5 мл метанолу, потім нагрівали до кімнатної температури і фільтрували через силікагель. Фільтрат концентрували при пониженому тиску і одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, ди-трет-бутил 1-(3,3-диметил-1H-інден-5-іл)гідразин-1,2-дикарбоксилат, 4b (2,70 г, вихід 37,2%) як жовту тверду речовину.

Стадія 2

2-(3,3-Диметил-індан-5-іл)-5-метил-2,4-дигідро-піразол-3-он

Ди-трет-бутил 1-(3,3-диметил-1H-інден-5-іл)гідразин-1,2-дикарбоксилат 4b (2,70 г, 7,18 ммоль) розчиняли в 100 мл оцтової кислоти після чого додавали 20 мл трифтороцтової кислоти.

Після реагування суміші при кімнатній температурі протягом 2 годин, додавали етилацетоацетат (0,98 г, 7,54 ммоль). Потім суміш нагрівали до 100 °C і вона реагувала 2 години. Суміш охолоджували до кімнатної температури і концентрували при пониженому тиску видаляючи оцтову кислоту. Реакційну суміш нейтралізували насиченим розчином бікарбонату

5

натрію і потім екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розсолон, сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували при

пониженому тиску. Одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі,

одержуючи вказану в заголовку сполуку, 2-(3,3-диметил-індан-5-іл)-5-метил-2,4-дигідро-піразол-

3-он, 4с (1,0 г, вихід 47,7%) як світло-коричневу тверду речовину.

10

МС m/z (ESI): 243 [M+1]

Стадія 3

2-(2-Метокси-3-нітро-феніл)-4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]діоксаборолан

1-Бром-2-метокси-3-нітро-бензол 1с (67 г, 289 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-бі-

1,3,2-діоксаборолан (110 г, 433 ммоль), тетракіс(трифенілфосфін)паладій (11,80 г, 14,44 ммоль)

15

і ацетат калію (71 г, 724 ммоль) розчиняли в 600 мл диметилового естеру щавлевої кислоти. Суміш нагрівали із зворотнім холодильником протягом 17 годин. Суміш концентрували при

пониженому тиску і одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі,

одержуючи вказану в заголовку сполуку, 2-(2-метокси-3-нітро-феніл)-4,4,5,5-тетраметил-

[1,3,2]діоксаборолан, 4d (50,5 г, 61,9%) як жовті кристали.

20

Стадія 4

5-(2-Метокси-3-нітро-феніл)фуран-2-карбонова кислота

2-(2-Метокси-3-нітро-феніл)-4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]діоксаборолан 4d (10 г, 35,85 ммоль),

5-бромфуран-2-карбонову кислоту (5,47 г, 28,66 ммоль), тетракіс(трифенілфосфін)паладій (2,07

25

г, 1,79 ммоль) і карбонат натрію (7,60 г, 71,66 ммоль) розчиняли в суміші розчинників 200 мл

1,4-діоксану і 30 мл води. Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником протягом 2,5

годин. Суміш фільтрували і фільтрат концентрували при пониженому тиску. Залишок розводили

150 мл води і коригували рН до 3 використовуючи 1 М хлорводневу кислоту. Потім суміш

фільтрували і залишок на фільтрі промивали 50 мл суміші розчинників н-гексан/етилацетат (о/о

= 1:1). Залишок сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 5-(2-метокси-3-нітро-феніл)

30

фуран-2-карбонову кислоту, 4e (4,23 г, вихід 56,1%) як сіру тверду речовину.

МС m/z (ESI): 262 [M-1]

Стадія 5

5-(3-Аміно-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонова кислота

5-(2-метокси-3-нітро-феніл)фуран-2-карбонову кислоту 4e (4,23 г, 16,09 ммоль) розчиняли в

35

125 мл етилацетату після чого додавали 423 мг паладію на вугіллі (10%) і форміат амонію

(4,054 г, 64,35 ммоль). Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником протягом 3,5

годин. Суміш концентрували при пониженому тиску і одержаний залишок очищали колонковою

хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 5-(3-аміно-2-метокси-

феніл)-фуран-2-карбонову кислоту, 4f (2,79 г, вихід 74,4%) як світло-зелену тверду речовину.

40

МС m/z (ESI): 232 [M-1]

Стадія 6

5-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти гідробромід

5-(3-Аміно-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 4f (2,79 г, 11,97 ммоль) розчиняли в

45

25 мл дихлорметану після чого краплями додавали трибромід бору (23,9 мл, 2.0 М). Реакційна

суміш реагувала при кімнатній температурі протягом 1 години. Суміш концентрували при

пониженому тиску після додавання 5 мл метанолу. Залишок розводили 100 мл етилацетату і

перемішували 1 годину. Потім суміш фільтрували і залишок на фільтрі сушили, одержуючи

вказану в заголовку сполуку, 5-(3-аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти

гідробромід, 4g (1,24 г, вихід 47,2%) як жовту тверду речовину.

50

МС m/z (ESI): 218 [M-1]

Стадія 7

(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-іл-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-

гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонова кислота

(Z)-5-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти гідробромід 4g (333 мг, 1,1

55

ммоль) розчиняли в хлорводневій кислоті (3,7 мл, 1 М) при охолодженні на бані лід-вода, після

чого краплями додавали 1,5 мл розчину нітриту натрію (85 мг, 1,22 ммоль). Після реагування

суміші 20 хвилин, послідовно додавали 2-(3,3-диметил-індан-5-іл)-5-метил-2,4-дигідро-піразол-

3-он 4с (242 мг, 1,0 ммоль), бікарбонат натрію (1,4 г, 16,67 ммоль) і 3 мл етанолу. Реакційна

суміш реагувала протягом ночі при кімнатній температурі. Суміш фільтрували і до залишку на

60

фільтрі додавали 20 мл води. Суміш доводили до рН 3~4 концентрованою хлорводневою

кислотою. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі сушили і очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту, 4h (190 мг, вихід 40,3%) як червону тверду речовину.

5 МС m/z (ESI): 470,9 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСO-d₆): δ 13,74(ш с, 1H), 13,15(ш с, 1H), 9,99 (ш с, 1H), 7,71 (м, 3H), 7,55 (д, J=6,8 Гц, 1H), 7,37 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,20 (м, 2H), 7,15 (м, 1H), 2,86 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,33 (с, 3H), 1,92 (т, J=7,2 Гц, 2H), 1,26 (с, 6H)

Стадія 8

10 (Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)

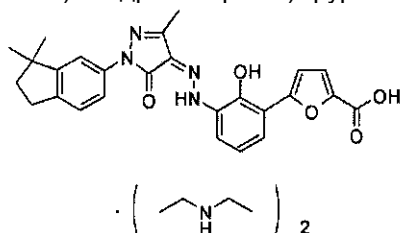
(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 4h (2,3 г, 4,87 ммоль) розчиняли в 20 мл тетрагідрофурану. До розчину додавали етаноламін (594 мг, 9,75 ммоль) і перемішували 1 годину при кімнатній температурі. Суміш фільтрували, залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін) 4 (2,5 г, вихід: 86,4%) як чорну тверду речовину.

20 МС m/z (ESI): 470,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,57 (м, 4H), 7,19 (м, 1H), 7,03 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,95 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,71 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,73 (т, J=5,2 Гц, 4H), 2,98 (м, 4H), 2,88 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,36 (с, 3H), 1,96 (т, J=7,2 Гц, 2H), 1,29 (с, 6H)

Приклад 5

25 (Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)



5

(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 4h (150 мг, 0,32 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали діетиламін (46 мг, 0,63 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Розчин концентрували при пониженому тиску, одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, (гексан: етилацетат = 10:1) і тверду речовину сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін) 5 (170 мг, вихід: 86,7%) як темно-червону тверду речовину.

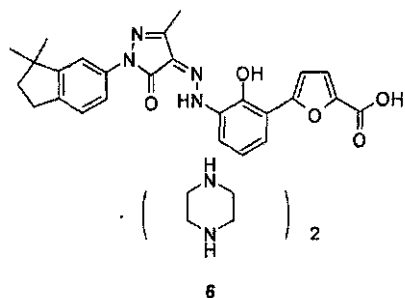
ВЕРХ: 94,6%

МС m/z (ESI): 471,9 [M-1]

40 ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,60 (м, 4H), 7,19 (м, 1H), 7,04 (м, 1H), 6,87 (м, 2H), 2,98 (к, J=7,2 Гц, 8H), 2,89 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,36 (с, 3H), 1,96 (т, J=7,2 Гц, 2H), 1,27 (т, J=7,2 Гц, 12H), 1,25 (с, 6H)

Приклад 6

(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)



(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 4h (150 мг, 0,32 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали піперазин (55 мг, 0,64 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш фільтрували, залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3), і тверду речовину сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин), 6 (158 мг, вихід: 77,1%) як червону тверду речовину.

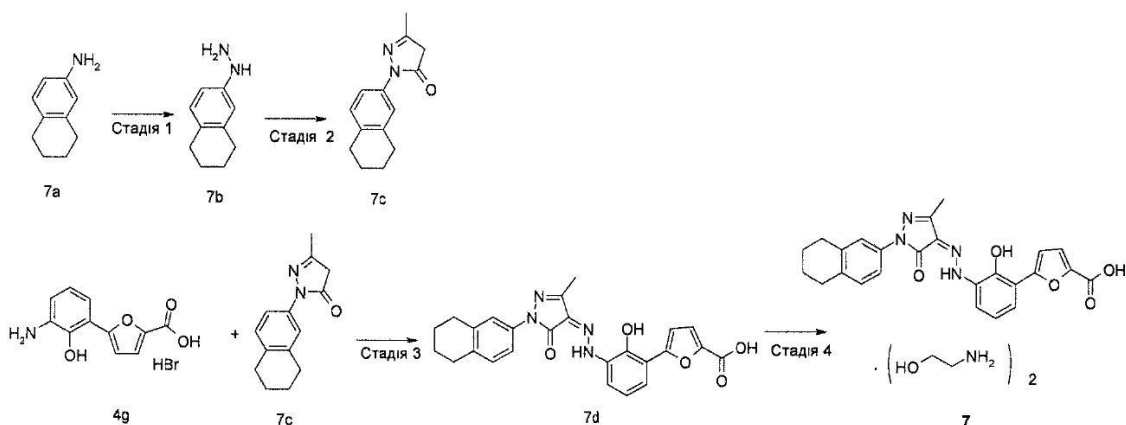
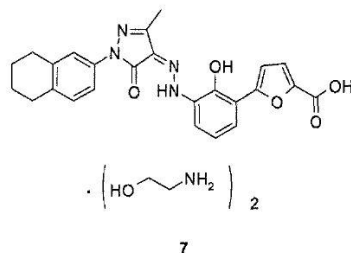
ВЕРХ: 99,28%

МС m/z (ESI): 471,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,64-7,66 (м, 3H), 7,55 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,21 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,04 (м, 1H), 6,87-6,88 (м, 2H), 3,01 (с, 16H), 2,90 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,38 (с, 3H), 1,97 (т, J=7,2 Гц, 2H), 1,29 (с, 6H)

Приклад 7

(Z)-5-{2-гідрокси-3-({N'-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)



Стадія 1

(5,6,7,8-Тетрагідро-нафталін-2-іл)-гідразин

5,6,7,8-Тетрагідро-нафталін-2-іламін 7a (3,68 г, 25,0 ммоль) розчиняли в 20 мл концентрованої хлорводневої кислоти і суміш перемішували 10 хвилин при охолодженні на бані лід-вода. Краплями додавали 10 мл розчину нітриту натрію (1,72 г, 25,0 ммоль) і суміш перемішували ще 15 хвилин і використовували в наступній реакції.

При охолодженні на бані лід-вода, дигідрат хлориду олова (22,6 г, 100 ммоль) розчиняли в 10 мл концентрованої хлорводневої кислоти після чого додавали до згаданої вище суміші. Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури і вона реагувала 1,5 годин. Потім суміш

доводили до pH 9 40% розчином гідроксиду натрію. Суміш екстрагували 400 мл етилацетату, потім об'єднані органічні екстракти концентрували при пониженому тиску і сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-гідразин, 7b (2,19 г, вихід 53,7%) як жовте масло.

5 MS m/z (ESI): 163 [M+1]

Стадія 2

5-Метил-2-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-2,4-дигідро-піразол-3-он

10 (5,6,7,8-Тетрагідро-нафталін-2-іл)-гідразин 7b (2,0 г, 12,3 ммоль) розчиняли в 50 мл оцтової кислоти після чого додавали етилацетоацетат (1,57 мл, 12,3 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при 100 °C протягом ночі. Суміш концентрували при пониженому тиску і одержаний залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 5-метил-2-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-2,4-дигідро-піразол-3-он, 7c (1,58 г, вихід 56,2%) як безбарвне масло.

MS m/z (ESI): 457 [2M+1]

15 ¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,54-7,58 (м, 2H), 7,09 (д, J=8 Гц, 1H), 3,43 (с, 2H), 2,77-2,81 (м, 4H), 2,21 (с, 3H), 1,80-1,83 (м, 4H).

Стадія 3

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонова кислота

20 5-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти гідробромід 4д (292 мг, 0,98 ммоль) розчиняли в 3,3 мл 1М хлорводневої кислоти при охолодженні на бані лід-вода, після чого краплями додавали 1,3 мл розчину нітриту натрію (74 мг, 1,07 ммоль). Після перемішування суміші протягом 20 хвилин, додавали 5-метил-2-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-2,4-дигідро-піразол-3-он 7c (200 мг, 0,88 ммоль). Суміш доводили до pH 8-9 додаючи порцію розчину бікарбонату натрію (1,226 г, 14,6 ммоль). Кипіння гасили 2 мл етанолу. Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури і вона реагувала протягом ночі. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі розчиняли в 20 мл води. Після перемішування, суміш доводили до pH 3-4 концентрованою хлорводневою кислотою, фільтрували і сушили. Неочищений продукт очищали ВЕРХ одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову

кислоту, 7d (160 мг, вихід 39,8%) як червону тверду речовину.

MS m/z (ESI): 457 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 7,71 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,63 (м, 2H), 7,56 (д, J=7,6 Гц, 1 H), 7,37 (д, J=3,2 Гц, 1 H), 7,22 (т, J=8,0 Гц, 1 H), 7,13 (м, 2H), 2,75 (м, 4H), 2,33 (с, 3H), 1,76 (м, 4H)

35 Стадія 4

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)

40 (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 7d (3,3 г, 7,2 ммоль) розчиняли в 15 мл тетрагідрофурану. До реакційного розчину повільно краплями додавали етаноламін (0,88 г, 13 ммоль) і перемішували 1,5 годин при 15-20°C. З розчину в осад випадала велика кількість осаду, його фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (10 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін), 7 (3 г, вихід: 74%) як темно-червону тверду речовину.

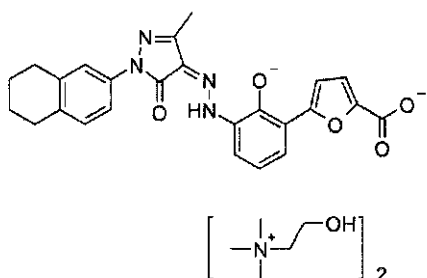
ВЕРХ: 99,3%

MS m/z (ESI): 456,8 [M-1]

50 ¹H ЯМР (400 МГц, CH₃OD): 67,51 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,44-7,46 (м, 3H), 6,93-6,98 (м, 2H), 6,88 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,67 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,61 (т, J=5,2 Гц, 4H), 2,86 (т, J=5,2 Гц, 4H), 2,65-2,70 (м, 4H), 2,24 (с, 3H), 1,70-1,72 (с, 3H)

Приклад 8

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(холін)



8

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл}-фуран-2-карбонову кислоту 7d (100 мг, 0,22 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали 45% розчин гідроксиду холіну в метанолі (45 мг, 0,44 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували 1 годину при кімнатній температурі. Тверда речовина випадала в осад, фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(холін), 8 (140 мг, вихід: 96,6%) як темно-червону тверду речовину.

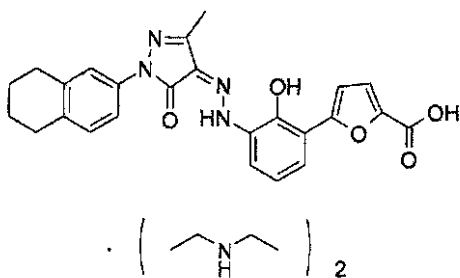
ВЕРХ: 98,82%

МС m/z (ESI): 457,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,74 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,60 (м, 3H), 7,08 (м, 3H), 6,91 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,96 (м, 4H), 3,45 (т, J=4,8 Гц, 4H), 3,18 (с, 18H), 2,80 (м, 4H), 2,38 (с, 3H), 1,84 (м, 4H)

Приклад 9

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)



9

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл}-фуран-2-карбонову кислоту 7d (100 мг, 0,22ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші краплями додавали діетиламін (32 мг, 0,44 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Тверда речовина випадала в осад, фільтрували, і залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3), тверду речовину сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін), 9 (77 мг, вихід: 58,3%) як темно-червону тверду речовину.

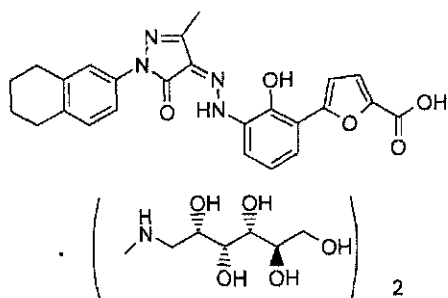
ВЕРХ: 99,1%

МС m/z (ESI): 457,9 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,59 (м, 4H), 7,08 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,04 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,94 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,82 (т, J=8,0 Гц, 1H), 2,99 (к, J=7,2 Гц, 8H), 2,79 (м, 4H), 2,36 (с, 3H), 1,82 (т, J=3,2 Гц, 4H), 1,27 (т, J=7,2 Гц, 12H)

Приклад 10

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(меглумін)



10

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 7d (100 мг, 0,22 ммоль) суспендували в 5 мл тетрагідрофурану, одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали меглумін (85 мг, 0,44 ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. До одержаного розчину додавали 4 мл метанолу і концентрували при пониженому тиску одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(меглумін), 10 (168 мг, вихід: 90,8%) як темно-червону тверду речовину.

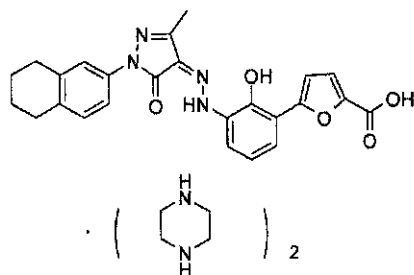
ВЕРХ: 97,7%

МС m/z (ESI): 457,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,56 (м, 4H), 7,06 (м, 2H), 6,98 (д, J=3,2 Гц, 1H), 6,75 (т, J=7,6 Гц, 1H), 4,08 (м, 2H), 3,81 (м, 2H), 3,77 (м, 2H), 3,63 (м, 6H), 3,11 (м, 4H), 2,76 (м, 4H), 2,64 (с, 6H), 2,33 (с, 3H), 1,79 (м, 4H)

Приклад 11

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)



11

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 7d (100 мг, 0,22 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали піперазин (37 мг, 0,44 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували 2 годин при кімнатній температурі. Тверда речовина випадала в осад, фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин), 11 (120 мг, вихід: 87,6%) як темно-червону тверду речовину.

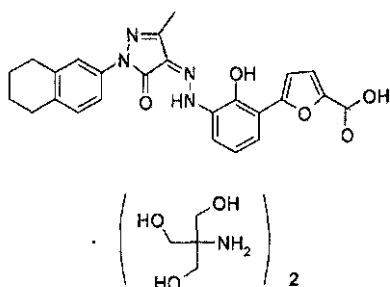
ВЕРХ: 98,8%

МС m/z (ESI): 457,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,59 (м, 4H), 7,08 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,04 (д, J=3,2 Гц, 1H), 6,87 (д, J=3,2 Гц, 1H), 6,82 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,00 (с, 16H), 2,78 (м, 4H), 2,36 (с, 3H), 1,81(м, 4H)

Приклад 12

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(триметамол)



12

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 7d (100 мг, 0,22 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали триметамол (53 мг, 0,44 ммоль), одержуючи коричневий розчин, і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Тверда речовина випадала в осад, фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоту біс-(триметамол), 12 (142 мг, вихід: 92,8%) як темну тверду речовину.

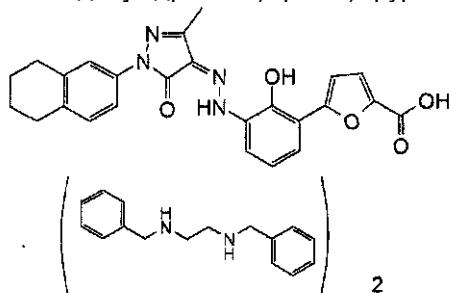
ВЕРХ: 94,0%

МС m/z (ESI): 457,8 [M-1]

¹H ЯМР (400М Гц, CD₃OD): δ 7,58 (м, 4H), 7,05 (м, 2H), 6,96 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,90 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,65 (с, 12H), 2,76 (м, 4H), 2,33 (с, 3H), 1,80 (м, 4H)

Приклад 13

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоту біс-(дибензилетилендіамін)



13

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 7d (100 мг, 0,22 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану, одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали дибензилетилендіамін (104 мг, 0,44 ммоль), одержуючи коричневий розчин, і перемішували 2 години при кімнатній температурі. До одержаного розчину додавали 4 мл метанолу і концентрували при пониженому тиску одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоту біс-(дибензилетилендіамін), 13 (167 мг, вихід: 81,8%) як темну тверду речовину.

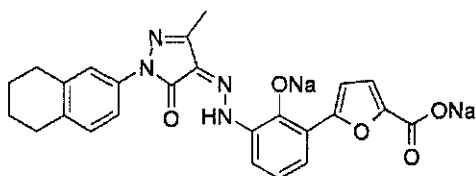
ВЕРХ: 96,8%

МС m/z (ESI): 457,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,52-7,54 (м, 3H), 7,39 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,24-7,28 (м, 20H), 7,01-7,04 (м, 2H), 6,65-6,72 (м, 1H), 3,89 (с, 8H), 3,01 (с, 8H), 2,73 (м, 4H), 2,32 (с, 3H), 1,78 (м, 4H)

Приклад 14

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоту динатрієва сіль



14

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 7d (110 мг, 0,24 ммоль) розчиняли в 4 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші краплями додавали 1 М розчин гідроксиду натрію (0,4 мл, 0,44 ммоль), перемішували 2 години при кімнатній температурі. Реакційну суміш фільтрували, потім до фільтрату додавали 4 мл метанолу і концентрували при пониженому тиску. Одержану тверду речовину промивали гексаном одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти динатрієву сіль, 14 (115 мг, вихід: 81,8%) як темну тверду речовину.

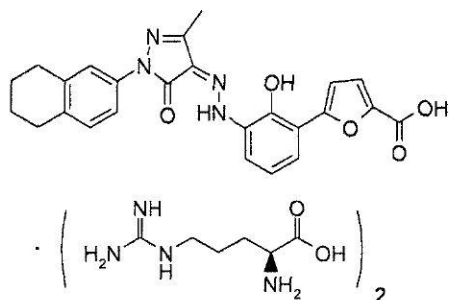
ВЕРХ: 96,8%

МС m/z (ESI): 457,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,79 (дд, J=7,6 Гц, J₂=1,2 Гц, 1H), 7,52 (м, 3H), 7,18 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,05 (м, 2H), 6,70 (м, 1H), 2,78 (м, 4H), 2,41 (с, 3H), 1,82 (м, 4H)

Приклад 15

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(L-аргінін)



15

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 7d (100 мг, 0,22 ммоль) розчиняли в 5 мл 1 тетрагідрофурану, одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали L-аргінін (76 мг, 0,44 ммоль) і 2 мл води, перемішували 2 години при кімнатній температурі. Реакційний розчин концентрували при пониженому тиску, додавали 5 мл етилацетату. Тверда речовина випадала в осад з розчину, її фільтрували, потім залишок на фільтрі сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(L-аргінін), 15 (168 мг, вихід: 95,5%) як темну тверду речовину.

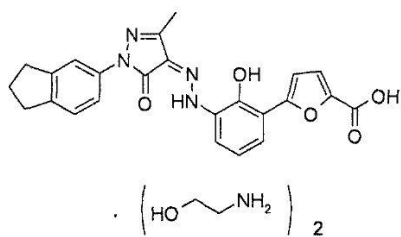
ВЕРХ: 97,5%

МС m/z (ESI): 457,9 [M-1]

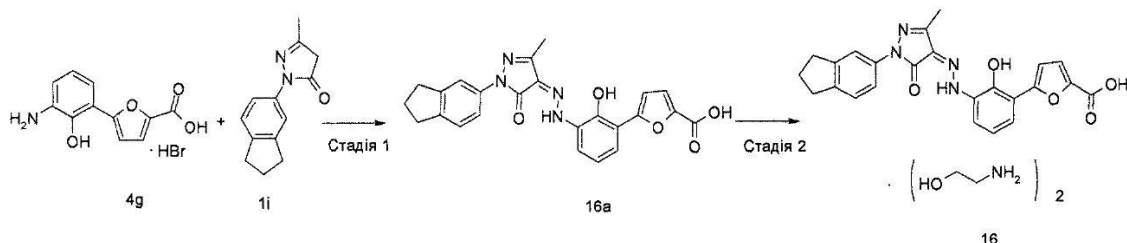
¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,59 (м, 4H), 7,06 (м, 2H), 6,98 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,92 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,57 (т, J=6,4 Гц, 2H), 3,19 (м, 4H), 2,78 (м, 4H), 2,36 (с, 3H), 1,83 (м, 8H), 1,73 (м, 4H)

Приклад 16

(Z)-5-{2-гідрокси-3-{N'-[1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино-1-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)



16



16

Стадія 1

(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонова кислота

5-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти гідробромід 4g (300 мг, 1,0 ммоль) розчиняли в хлорводневій кислоті (3,4 мл, 1 М) після чого краплями додавали 1,2 мл розчину нітриту натрію (73 мг, 1,05 ммоль) при охолодженні на бані лід-вода. Після реагування суміші протягом 10 хвилин, послідовно додавали 2-індан-5-іл-5-метил-2,4-дигідро-піразол-3-он 1i (193 мг, 0,9 ммоль), бікарбонат натрію (1,26 г, 15 ммоль) і 4,4 мл етанолу. Суміш реагувала при кімнатній температурі протягом 24 годин. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі промивали 20 мл води і потім розчиняли в 20 мл води. При охолодженні на бані лід-вода, суміш доводили до pH < 5 використовуючи концентровану хлорводневу кислоту, фільтрували і сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку,

(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонову кислоту, 16a (287 мг, вихід 71,8%) як жовту тверду речовину.

МС m/z (ESI): 443 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 13,73 (ш с, 1 H), 9,97 (ш с, 1 H), 7,78 (с, 1 H), 7,70 (м, 2H), 7,57 (м, 1H), 7,36 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,29 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,22 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,15 (м, 1H), 2,89 (м, 4H), 2,32 (с, 3H), 2,03 (м, 2H)

Стадія 2

(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)

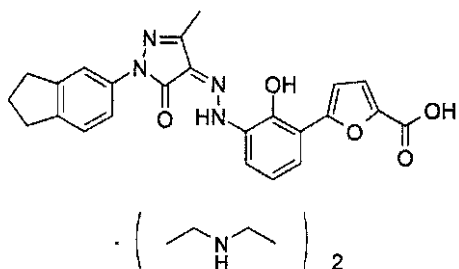
(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонову кислоту 16a (1,825 г, 4,11 ммоль) розчиняли в 20 мл тетрагідрофурану. До реакційної суміші додавали етаноламін (501 мг, 8,22 ммоль) і перемішували 2 години при кімнатній температурі. Тверда речовина випадала в осад, її фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін), 16 (1,615 г, вихід: 69,4%) як темно-червону тверду речовину.

МС m/z (ESI): 443 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,67(с, 1H), 7,53 (м, 3H), 7,21 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,02 (м, 1H), 6,97 (д, J=3,2 Гц, 1H), 6,70 (м, 1H), 3,70 (м, 4H), 2,92 (м, 4H), 2,88 (м, 4H), 2,35 (с, 3H), 2,08 (м, 2H)

Приклад 17

(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)



17

(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонову кислоту 16a (150 мг, 0,38 ммоль) суспендували в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші краплями додавали діетиламін (49 мг, 0,67 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і його перемішували 2 години при кімнатній температурі. Тверда речовина випадала в осад, її фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін), 17 (163 мг, вихід: 81,9%) як темно-червону тверду речовину.

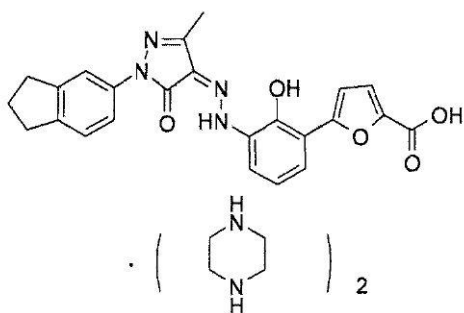
ВЕРХ: 99,18%

МС m/z (ESI): 442,7 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,71 (с, 1H), 7,60 (м, 3H), 7,24 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,04 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,95 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,82 (м, 1H), 3,73 (м, 2H), 2,95 (м, 8H), 2,37 (с, 3H), 2,13 (м, 2H), 1,87 (м, 2H), 1,28 (м, 12H)

Приклад 18

(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)



18

(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонову кислоту 16a (150 мг, 0,38 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали піперазин (58 мг, 0,68 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин і перемішували 3 години при кімнатній температурі. Тверда речовина випадала в осад, її фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонової кислоти біс-(піперазин), 18 (185 мг, вихід: 88,9%) як темно-червону тверду речовину.

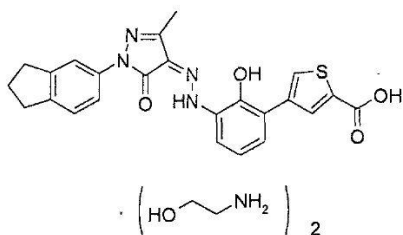
ВЕРХ: 96,52%

МС m/z (ESI): 443,2 [M-1]

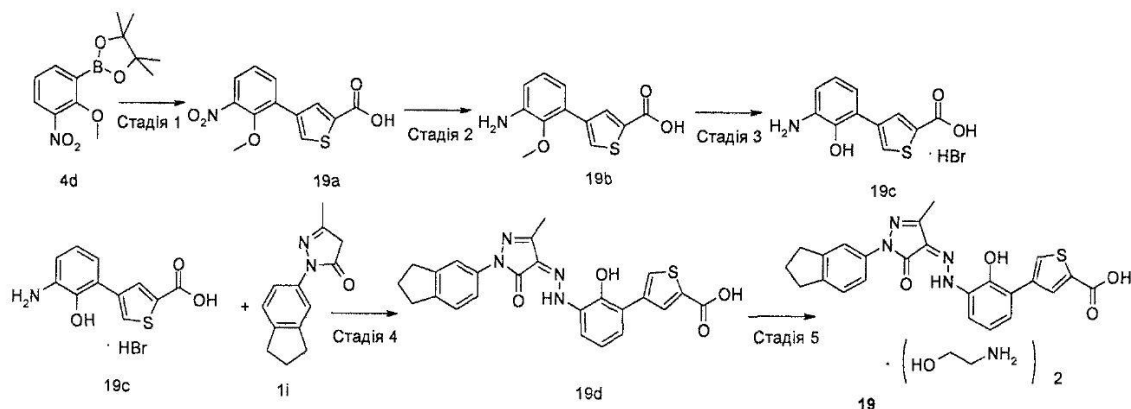
¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,73 (с, 1H), 7,61-7,64 (м, 2H), 7,55 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,23 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,05 (д, J=8,8 Гц, 1H), 6,78-6,90 (м, 2H), 3,03 (с, 16H), 2,89-2,95 (м, 4H), 2,35 (с, 3H), 2,12 (т, J=7,2 Гц, 4H)

Приклад 19

(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)



19



Стадія 1

4-(3-Нітро-2-метокси-феніл)-тіофен-2-карбонова кислота

2-(2-Метокси-3-нітро-феніл)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан 4d (0,81 г, 2,9 ммоль), 4-бром-тіофен-2-карбонову кислоту (0,3 г, 1,45 ммоль), тетракіс(трифенілфосфін)паладій (80 мг, 0,073 ммоль) і карбонат натрію (0,31 г, 2,9 ммоль) розчиняли в суміші розчинників 20 мл 1,4-діоксану і 10 мл води. Реакцію нагрівали із зворотнім холодильником протягом 0,5 годин. Суміш доводили до pH 3 1N хлорводневою кислотою і екстрагували етилацетатом (20 мл×3). Об'єднані органічні екстракти концентрували при пониженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 4-(3-нітро-2-метокси-феніл)-тіофен-2-карбонову кислоту, 19a (0,54 г) як коричневе масло, яке безпосередньо використовували на наступній стадії.

МС m/z (ESI): 277,6 [M-1]

Стадія 2

4-(3-Аміно-2-метокси-феніл)-тіофен-2-карбонова кислота

4-(3-Нітро-2-метокси-феніл)-тіофен-2-карбонову кислоту 19a (400 мг, 1,45 ммоль) розчиняли в 30 мл етилацетату після чого додавали 100 мг паладію на вугіллі (10%) і форміат амонію (360 мг, 5,8 ммоль). Суміш нагрівали із зворотнім холодильником протягом 3 годин. Суміш фільтрували і концентрували при пониженому тиску одержуючи вказану в заголовку сполуку, 4-(3-аміно-2-метокси-феніл)-тіофен-2-карбонову кислоту, 19b (410 мг) як коричневе масло, яке безпосередньо використовували на наступній стадії.

МС m/z (ESI): 247,8 [M-1]

Стадія 3

4-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-тіофен-2-карбонової кислоти гідробромід

4-(3-Аміно-2-метокси-феніл)-тіофен-2-карбонової кислоти гідробромід 19b (360 мг, 1,45 ммоль) розчиняли в 5 мл дихлорметану після чого краплями додавали трибромід бору (2,8 мл, 5,6 ммоль). Реакційну суміш реагувала при кімнатній температурі протягом 4,5 годин. До реакційної суміші додавали 5 мл метанолу і концентрували при пониженому тиску. Залишок розводили 10 мл етилацетату і перемішували 0,5 годин. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 4-(3-аміно-2-гідрокси-феніл)-тіофен-2-карбонової кислоти гідробромід, 19c (80 мг, вихід 17,5%) як сіру тверду речовину.

МС m/z (ESI): 236,1 [M+1]

Стадія 4

(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонова кислота

4-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-тіофен-2-карбонової кислоти гідробромід 19c (120 мг, 0,38 ммоль) розчиняли в 2,7 мл 1M хлорводневої кислоти при охолодженні на бані лід-вода, після чого краплями додавали 0,45 мл розчину нітриту натрію (29 мг, 0,42 ммоль). Після реагування

суміші 20 хвилин, додавали 2-індан-5-іл-3-метил-2,4-дигідро-піразол-3-он 1i (73 мг, 0,34 ммоль). Суміш доводили до pH 8 насиченим розчином бікарбонату натрію після чого додавали 2 мл етанолу. Реакційна суміш реагувала протягом ночі при кімнатній температурі. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі додавали до 20 мл води. Суміш доводили до pH 3~4 концентрованою хлорводневою кислотою і фільтрували. Потім до залишку на фільтрі додавали 5 мл етилацетату і суміш перемішували 1 годину. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонову кислоту, 19d (45 мг, вихід 28,7%) як жовту тверду речовину.

МС m/z (ESI): 458,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 13,79 (ш с, 1H), 9,68 (ш с, 1H), 8,13 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,05 (д, J=1,6 Гц, 1H), 7,78 (с, 1H), 7,67 (м, 2H), 7,32 (м, 2H), 7,13 (т, J=8,0 Гц, 1H), 2,87 (м, 4H), 2,32 (с, 3H), 2,05 (м, 2H)

Стадія 5

(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)

(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонову кислоту 19d (1,3 г, 2,83 ммоль) розчиняли в 40 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали етаноламін (344 мг, 5,65 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували 2 години при кімнатній температурі. Більша частка твердої речовини випадала в осад з розчину, її фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін), 19 (1,513 г, вихід: 92,0%) як темно-червону тверду речовину.

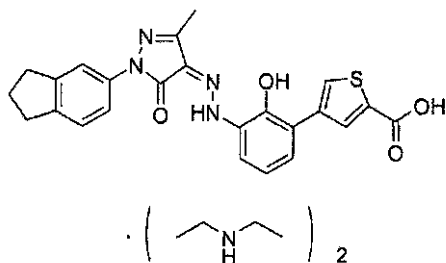
ВЕРХ: 98,65%

МС m/z (ESI): 458,7 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,94 (с, 1H), 7,88 (с, 1H), 7,68 (с, 1H), 7,55-7,59 (м, 2H), 7,28-7,30 (м, 1H), 7,22 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,83 (т, J=8,0 Гц, 3H), 3,65-3,68 (м, 4H), 2,88-2,92 (м, 8H), 2,38 (с, 3H), 2,06-2,14 (м, 2H)

Приклад 20

(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін)



20

(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонову кислоту 19d (150 мг, 0,33 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші краплями додавали діетиламін (49 мг, 0,66 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували 2 години при кімнатній температурі. Тверда речовина випадала в осад, її фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(діетиламін), 20 (157 мг, як темно-червону тверду речовину). Вихід: 79,3%.

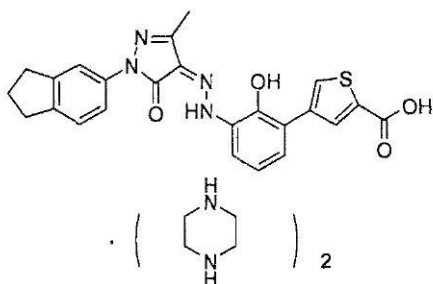
ВЕРХ: 98,98%

МС m/z (ESI): 458,8 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,81 (с, 1H), 7,73 (с, 1H), 7,68-7,70 (м, 2H), 7,62 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,22-7,26 (м, 2H), 7,06 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,03 (к, J=7,2 Гц, 8H), 2,90-2,97 (м, 4H), 2,37 (с, 3H), 2,07-2,15 (м, 2H), 1,29 (т, J=7,2 Гц, 12H)

Приклад 21

(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гіdraзино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(піперазин)



21

5 (Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гіdraзино]-феніл}-тіофен-2-карбонову кислоту 19d (150 мг, 0,33 ммоль) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали піперазин (56 мг, 0,65 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували 2 години при кімнатній температурі. Тверда речовина випадала в осад, її фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гіdraзино]-феніл}-тіофен-2-карбонової кислоти біс-(піперазин), 21 (195 мг, вихід: 94,7%) як темно-червону тверду речовину.

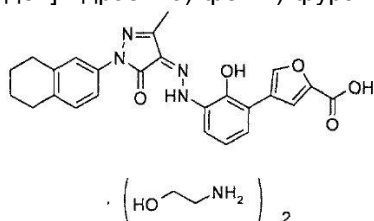
ВЕРХ: 98,17%

МС m/z (ESI): 458,8 [M-1]

15 ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): 67,85 (с, 1 H), 7,75 (с, 1 H), 7,71 (с, 1 H), 7,62 (м, 2H), 7,26 (м, 2H), 6,95 (т, 1H), 2,96 (м, 16H), 2,91 (м, 4H), 2,37 (с, 3H), 2,11 (м, 2H)

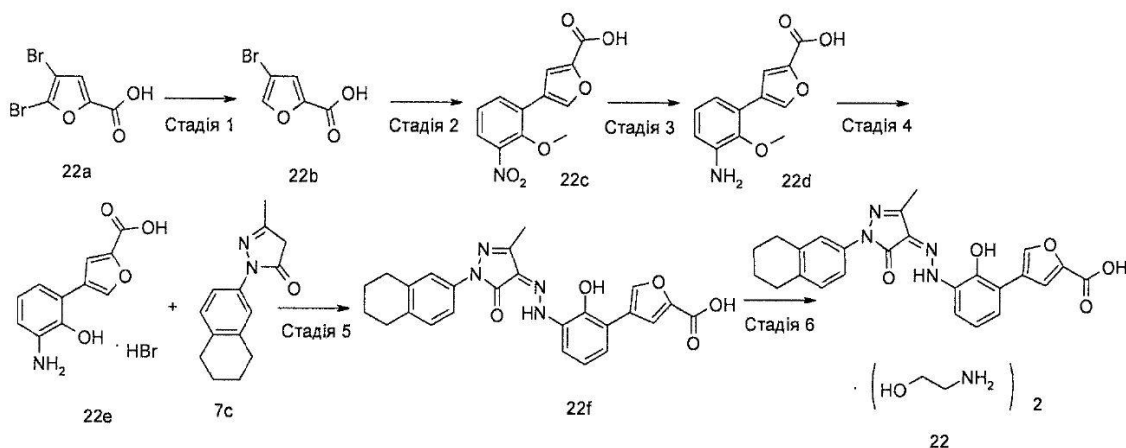
Приклад 22

(Z)-4-(2-Гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафтал-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гіdraзино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)



22

20



Стадія 1

4-Бром-фуран-2-карбонова кислота

25 Суміш 4,5-дибром-фуран-2-карбонової кислоти 22a (5,5 г, 20,3 ммоль) і 18 мл гідроксиду амонію додавали до 63 мл води після чого додавали цинковий порошок (1,46 г, 22,33 ммоль). Після завершення додавання, реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин. Суміш доводили до pH 3 1М хлорводневою кислотою, одержуючи велику

кількість осаду. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі промивали н-гексаном (15 мл×4) і сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 4-бром-фуран-2-карбонову кислоту, 22b (3,2 г, вихід 83,1%) як білу тверду речовину. МС m/z (ESI): 188,7 [M-1]

Стадія 2

5 4-(3-нітро-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонова кислота

2-(2-Метокси-3-нітро-феніл)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан 4d (4 г, 14,34 ммоль), 4-бром-фуран-2-карбонову кислоту 22b (2,18 г, 11,47 ммоль), тетракіс(трифенілфосфін)паладій (829 мг, 0,717 ммоль) і карбонат калію (3,96 г, 28,68 ммоль) розчиняли в суміші розчинників 80 мл 1,4-діоксану і 30 мл води. Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником протягом 10 2,5 годин. Суміш доводили до рН 3 1 М хлорводневою кислотою і потім екстрагували етилацетатом (80 мл×3). Об'єднані органічні екстракти концентрували при пониженому тиску. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 4-(3-нітро-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту, 22c (3,42 г, вихід 90,7%) як коричневе масло.

15 МС m/z (ESI): 261,8 [M-1]

Стадія 3

4-(3-Аміно-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонова кислота

4-(3-нітро-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 22c (500 мг, 1,9 ммоль) розчиняли в 15 мл етилацетату після чого додавали 100 мг паладію на вугіллі і форміат амонію (429 мг, 7,6 ммоль). Реакційну суміш нагрівали із зворотнім холодильником протягом 3 годин. Суміш фільтрували видаляючи паладій на вугіллі і концентрували при пониженому тиску одержуючи вказану в заголовку сполуку, 4-(3-аміно-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту, 22d (325 мг, вихід 73,4%) як жовте масло.

МС m/z (ESI): 231,8 [M-1]

25 Стадія 4

4-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти гідробромід

4-(3-Аміно-2-метокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 22d (325 мг, 1,4 ммоль) розчиняли в 5 мл дихлорметану після чого краплями додавали трибромід бору (2,8 мл, 5,6 ммоль). Суміш реагувала при кімнатній температурі протягом 4,5 годин. Додавали 5 мл метанолу і потім суміш концентрували при пониженому тиску. Залишок розводили 10 мл етилацетату і перемішували 0,5 годин. Суміш фільтрували і залишок на фільтрі сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, 4-(3-аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти гідробромід, 22e (174 мг, вихід 57,1%) як сіру тверду речовину.

МС m/z (ESI): 217,7 [M-1]

35 Стадія 5

(Z)-4-(2-Гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафтал-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонова кислота

4-(3-Аміно-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 22e (170 мг, 0,57 ммоль) розчиняли в хлорводневій кислоті (1,9 мл, 1 М) при охолодженні на бані лід-вода, після чого краплями додавали 0,7 мл розчин нітриту натрію (43 мг, 0,63 ммоль). Після реагування суміші 20 хвилин, додавали 5-метил-2-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-2,4-дигідро-піразол-3-он 7c (116 мг, 0,51 ммоль). Суміш доводили до рН 8~9 насиченим розчином бікарбонату натрію після чого додавали 2 мл етанолу. Суміш реагувала при кімнатній температурі протягом 24 годин. Суміш фільтрували і потім до залишку на фільтрі додавали 15 мл води. При охолодженні на бані лід-вода, суміш доводили до рН 2~3 концентрованою хлорводневою кислотою і фільтрували. Залишок на фільтрі промивали етилацетатом і сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-4-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафтал-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту, 22f (13 мг, вихід 5,5%) як червону тверду речовину.

50 МС m/z (ESI): 456,7 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 13,75 (шс, 1H), 13,20 (шс, 1H), 9,68 (шс, 1H), 8,37 (с, 1H), 7,62-7,68 (м, 4H), 7,41-7,43 (м, 1H), 7,11-7,15 (м, 2H), 2,67-2,76 (м, 2H), 2,31 (с, 3H), 1,75 (м, 4H)

Стадія 6

55 (Z)-4-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафтал-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін)

(Z)-4-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафтал-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту 22f (1,2 г, 2,6 ммоль) розчиняли в 20 мл тетрагідрофурану одержуючи темно-червону суспензію. До реакційної суміші додавали етаноламін (399 мг, 6,5 ммоль), одержуючи пурпуровий розчин, і перемішували 6 годин при 60 кімнатній температурі. Велика кількість твердої речовини випадала в осад з розчину, її

фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали тетрагідрофураном (1 мл×3) і сушили у вакуумі, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-4-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафтал-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти біс-(етаноламін), 22 (1,51 г, як червону тверду речовину), вихід 72,8%.

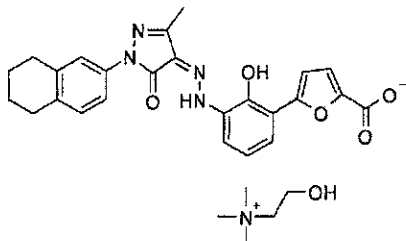
5 ВЕРХ: 97,16%

МС m/z (ESI): 456,7 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,20 (с, 1H), 7,51-7,56 (м, 3H), 7,31-7,35 (м, 2H), 7,07 (д, J=9,2 Гц, 1H), 6,89 (т, J=8,0 Гц, 1H), 3,68-3,71 (м, 4H), 2,90-2,95 (м, 4H), 2,76-2,81 (м, 4H), 2,39 (с, 3H), 1,80-1,85 (м, 4H)

10 Приклад 23

(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти холін



15 (Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонову кислоту (1,1 г, 2,4 ммоль) розчиняли в 19 мл суміші розчинників - етилацетат і етанол (О/О = 12:7), потім реакційну суміш нагрівали до 40 °С і перемішували 15 хвилин одержуючи суспензію. До реакційної суміші повільно додавали 1 М розчин холіну в метанолі (2,4 мл, 2,4 ммоль) одержуючи чорний розчин і зникненням твердої речовини. До реакційного розчину додавали 1 мл води, потім охолоджували до 35 °С і залишали на 3 години, потім перемішували ще 72 години при кімнатній температурі. Утворювалась оранжева тверда речовина, її фільтрували, потім залишок на фільтрі промивали етилацетатом (5 мл×3) і сушили, одержуючи вказану в заголовку сполуку, (Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонової кислоти холін, (620 мг, вихід: 46,0%) як оранжеву тверду речовину.

25 МС m/z (ESI): 456,7 [M-1]

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 7,66-7,57 (м, 4H), 7,09-7,04 (м, 3H), 6,92 (д, J=3,6Гц, 1H), 4,03-3,99 (м, 2H), 3,51-3,48 (м, 2H), 3,22 (с, 9H), 2,81-2,75 (м, 4H), 2,33 (с, 3H), 1,83-1,81 (м, 4H)

Приклад 24

Склад таблетки

30 Лактозу, мікрокристалічну целюлозу, натрій крохмальгліколят, стеарат магнію і Сполука Прикладу 7 змішували в пропорціях показаних в Таблиці 1, нижче. Суміш потім пресували в таблетки.

Таблиця 1

Інгредієнт	мг
Сполука Прикладу 7	8,45
Мікрокристалічна целюлоза	112
лактоза	70
натрій крохмальгліколят	8
стеарат магнію	2

35 Приклад 25

Ін'єкційна парентеральна композиція

Ін'єкційну форму для введення Сполуки Прикладу 7 одержували шляхом перемішування 5,0 мг сполуки в 1,0 мл нормального саліну.

Приклад тестування

40 Дослідження розчинності

Згідно із звичайною методикою для визначення розчинності, визначали розчинність сполук Прикладів і їх солей в трьох різних системах: вода, 0,1% хлорводнева кислота і метанол.

Розчинність характеризували наступним чином:

Термін "дуже розчинний" означає, що 1 г (мл) речовини може розчинитись в менше ніж 1 мл розчинника;

Термін "добре розчинний" означає, що 1 г (мл) речовини може розчинитись в 1 мл - 10 мл, не включаючи 10 мл розчинника;

5 Термін "розчинний" означає, що 1 г (мл) речовини може розчинитись в 10 мл - 30 мл, не включаючи 30 мл розчинника;

Термін "погано розчинний" означає, що 1 г (мл) речовини може розчинитись в 30 мл - 100 мл, не включаючи 100 мл розчинника;

10 Термін "злегка розчинний" означає, що 1 г (мл) речовини може розчинитись в 100 мл - 1000 мл, не включаючи 1000 мл розчинника;

Термін "дуже злегка розчинний" означає, що 1 г (мл) речовини може розчинитись в 1000 мл - 10000 мл, не включаючи 10000 мл розчинника;

Термін "практично нерозчинний або нерозчинний" означає, що 1 г (мл) речовини не може повністю розчинитись в 10000 мл розчинника.

15 Результати розчинності показані далі:

Приклад №	Розчинність (мг/мл)		
	0,1% хлорводнева кислота	Вода	метанол
1j	<0,001	<0,001	<0,001
1	<0,001	0,003	1,469
3	<0,001	2,290	1,534
4h	<0,001	<0,001	<0,001
4	0,024	2,905	19,001
6	<0,001	0,001	3,009
7d	<0,001	<0,001	<0,001
7	0,029	3,960	22,377
8	<0,001	5,049	4,595
9	<0,001	9,974	19,331
10	<0,001	3,715	3,417
11	<0,001	3,003	3,617
12	<0,001	5,945	18,823
13	<0,001	<0,001	15,432
14	<0,001	1,876	3,722
15	<0,001	0,645	3,023
16a	<0,001	<0,001	<0,001
17	<0,001	2,000	5,849
18	<0,001	2,741	6,096
19d	<0,001	<0,001	<0,001
20	<0,001	0,068	2,221
21	<0,001	0,814	2,416
23	0,001	0,286	22,597

Результати показали, що порівнявши сполуки Прикладу 1j, Прикладу 4h, Прикладу 7d, Прикладу 16a і Прикладу 19d, розчинність їх солей значно збільшилась, особливо у воді і метанолі. Особливо, солі Прикладу 4 і Прикладу 7 мали відносно кращу розчинність в 0,1% хлорводневій кислоті і дві солі були дуже злегка розчинними, в той час як інші були практично нерозчинними або нерозчинними.

Структури Сполук Прикладу 1j, Прикладу 4h, Прикладу 7d, Прикладу 16a і Прикладу 19d показані далі:

25

Приклад №	Структура	Назва
1j		(Z)-2'-гідрокси-3'-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-карбоніл-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-біфеніл-3-карбонова кислота 1j
4h		(Z)-5-(3-{N'-[1-(3,3-диметил-індан-5-іл)-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-2-гідрокси-феніл)-фуран-2-карбонова кислота
7d		(Z)-5-(2-гідрокси-3-{N'-[3-метил-5-оксо-1-(5,6,7,8-тетрагідро-нафталін-2-іл)-1,5-дигідро-піразол-4-іліден]-гідразино}-феніл)-фуран-2-карбонова кислота
16a		(Z)-5-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-фуран-2-карбонова кислота
19d		(Z)-4-{2-гідрокси-3-[N'-(1-індан-5-іл-3-метил-5-оксо-1,5-дигідро-піразол-4-іліден)-гідразино]-феніл}-тіофен-2-карбонова кислота

Дослідження гігроскопічності

Тест на гігроскопічність сполук представленого опису проводили після стояння 48 годин

5 Протокол:

1. Суху скляну зважену пляшку з пробкою (зовнішній діаметр 50 мм, висота 15 мм) поміщали при 25°C±1°C у придатну термостатичну сушарку (насичений розчин сульфату амонію поміщали в нижню частину, вологість була 79%) за день до дослідження, вимірювали точну масу як (m_1);

10 2. У згаданій вище пляшці закривали сполуки винаходу (приблизно 1 г) і товщина шару сполук зазвичай була 1 мм, вимірювали точну масу як (m_2);

3. Горловину зваженої пляшки відкривали і поміщали з пробкою у згадані вище умови з постійною температурою і вологістю на 48 годин;

4. Вставляли пробку у пляшку, вимірювали точну масу як (m_3)

15 Відсоток збільшення маси = $\frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1}$

Ступінь гігроскопічності визначали наступним чином:

Тане: перетворюється на рідину абсорбуючи достатньо води.

Високо гігроскопічна: відсоток збільшення гігроскопічної маси менше ніж 15%.

Гігроскопічна: відсоток збільшення гігроскопічної маси менше ніж 15%, але не менше за 2%.

20 Помірно гігроскопічна: відсоток збільшення гігроскопічної маси менше ніж 2%, але не менше за 0,2%.

Не гігроскопічна або майже не гігроскопічна: відсоток збільшення гігроскопічної маси менше ніж 0,2%.

Результати гігроскопічності сполук представленого опису показані далі:

25

Приклад №	Відсоток збільшення маси	Гігроскопічність
7	1,2%	Помірно гігроскопічна
8	13,9%	Гігроскопічна
10	15,7%	Високогігроскопічна
12	2,71%	Гігроскопічна
23	8,48%	Гігроскопічна

Результати показали, що порівняно з іншими солями, сіль Прикладу 7, тобто, біс-(етаноламінова) сіль сполуки 7d, є менш гігроскопічною, і має кращу стабільність до вологості, і може уникнути потенційних проблем зміни маси активних компонентів під час одержання капсул або таблеток, вона стабільна в газі, і вона придатна для одержання звичайної рецептури і може зберігатись тривалий час.

Біологічне дослідження

Приклад тестування 1: вплив на проліферацію ряду TPO сполук в BAF3-TPOR клітинах.

1. Матеріал і реагенти.

a) RPMI середовище 1640, порошок, 10*1 л, що містить HEPES (Gibco каталожний №23400021).

b) Сироватка ембріону теляти (Gibco каталожний № 10099-141).

c) PENICILLIN STREPTOMYCIN SOL (Gibco каталожний № 15140-122).

d) Генетицин (G418) (Gibco каталожний № 11811-098).

e) Рекombінантний мишачий IL-3 (Chemicon каталожний № IL015).

f) Тромбопоетин R Mab людини (TPO) (R&D каталожний № MAB1016).

g) DMSO, (AppliChem каталожний № A3672).

h) QuikChange® Multi Site Directed Mutagenesis Kit, 10 поргонів (Stratagene ST200515).

i) Набір-8 для підрахунку клітин (Dojindo, каталожний № CK04-13)

j) BaF3 клітини (Об'єднаний центр культури клітин, каталожний № 0095)

k) EX-EGFP-M02 (FulenGen каталожний № EX-EGFP-M02 Control)

l) EX-B0010-M02 (FulenGen каталожний № EX-B0010-M02)

2. Процес експлуатації:

(1) Плазмідні конструкти: на основі інформаційної послідовності TPO рецептора (TPOR) від Entrez (Gene ID: 4325, Refseq: NMJD05373), проводили подвійну мутацію на EX-B0010-M02 плазміді використовуючи QuikChange® Multi Site Directed Mutagenesis Kit (Stratagene). Послідовність праймерів, що містять подвійну мутацію позначали наступним чином:

g491a: 5'-gggaactcagatcagctgggaggagccg-3'

g491a_antisense: 5'-cggctcctcccagctgatctgaagttccc-3';

c965t: 5'-caggaccatgctagctcccaaggctctctt-3',

c965t_antisense: 5'-agaagaagcctgggagctagcatggtcctg-3'.

E.coli. DH5α компетентні клітини трансформували мутантною плазмідною і позитивні колонії відбирали використовуючи відбір ампіциліном. Результат мутації підтверджували аналізом послідовності.

(2) BAF3-TPOR стабільно трансфектована лінія клітин: наступний спосіб використовували для конструювання BaF3 клітин, які стабільно надмірно експресують функціональний TPOR людини. Успішно мутований EX-B0010-M02 плазмід (25 мкг), який експресує TPOR людини і відібраний ген неоміцину трансфектували в BaF3 клітини дикого типу (1×10^7) електропорацією при 250 В протягом 18 мс використовуючи електроімпульсатор (Electro Square Porator ECM830, BTX Division of Genetronic, Inc. US). Відбирали стабільно трансфектовані клітини BAF3-TPOR використовуючи G418 (Gibco, US), потім інкубували в RPMI1640 середовищі плюс 10% FBS (Gibco, US), 800 нг/мл G418, 5 нг/мл, rmlL-3 (Chemicon, US).

3. Дослідження сполук

(1) Промивання клітин центрифугуванням: придатну кількість суспензії клітин центрифугували при 1000 об/хв протягом 5 хвилин і надосадкову рідину відкидали. Додавали 10 мл культурального середовища клітин без IL-3. Потім одержану суспензію центрифугували при 1000 об/хв протягом 5 хвилин і надосадкову рідину відкидали.

(2) Додавали 1 мл культурального середовища клітин без IL-3 для приведення їх до рівноваги і підраховували кількість придатної кількості суспензії клітин після розведення.

(3) Згідно з результатами підрахунку клітин, одержували клітинну суспензію з концентрацією 100000 клітин/мл.

(4) 100 мкл клітинної суспензії трансфектували до кожної лунки 96-лункового культурального планшету і були 3 паралельні лунки, тобто, це були група пустого контролю (B), група негативного контролю (N), група позитивного контролю TPO (P) і група тестованої сполуки (S).

(5) Тестовану сполуку розчиняли в ДМСО одержуючи 10 мМ готовий розчин і потім розчин розводили RPMI 1640 середовищем одержуючи ряд зразків для тестування з різними концентраціями: 30 мкМ, 10 мкМ, 3 мкМ, 1 мкМ, 0,3 мкМ, 0,1 мкМ, 0,03 мкМ, 0,01 мкМ, 0,003 мкМ, 0,001 мкМ.

5 (6) 10 мкл розчину тестованої сполуки переносили до кожної лунки відповідно; 1 мкл rhTPO (10 мкг/мл) додавали до лунки позитивного контролю.

(7) Планшети інкубували в інкубаторі при 5% CO₂ і 37°C протягом 24 годин.

(8) Після інкубування, до кожної лунки додавали 10 мкл ССК-8 розчину і планшети інкубували в інкубаторі протягом 24 годин.

10 (9) Визначали OD значення при 450 нм використовуючи зчитувач планшету VICTOR3 (Perkin Elmer 1420-120).

4. Аналітичний розрахунок

(1) Розраховували коефіцієнт проліферації наступним чином:

Коефіцієнт = [(S-B)/ (P-B)] * 100%

15 S: OD значення лунок, які містили тестовану сполуку.

B: OD значення лунок пустого контролю

P: OD значення лунок позитивного контролю

(2) Розраховували EC₅₀ значення використовуючи програмне забезпечення Origin 7.0.

5. Результати:

20 EC₅₀ активності TPO сполук представленого опису

Приклад	EC ₅₀ (нМ)
Елтромбопаг	299
1j	200
1	150
4h	32
4	25
5	19
6	36
7d	21
7	19
8	4,4
9	14
10	16
11	21
12	14
13	20
14	19
15	16
16a	100
16	18
17	55
18	29
19d	43
19	37
20	51
21	116
22f	42
22	39
23	43

Результати дослідження показали, що порівняно з вільною кислотою, солі представленого опису мали сильнішу про-проліфераційну дію стосовно BAF3-TPOR клітин. Порядок був наступним: солі представленого опису > вільна кислота > Елтромбопаг, і активність солі представленого опису була вищою порівняно з Елтромбопагом.

Фармакокінетичні дослідження

Приклад тестування 1: Фармакокінетичне дослідження сполук представленого опису на щурах

1. Ціль

Сполуки представленого опису вводили у шлунок щурів для визначення концентрації лікарського засобу в плазмі в різний час використовуючи ВЕРХ-УФ.

5 Досліджували і оцінювали фармакокінетичну поведінку сполук представленого опису у щурів.

2. Протокол

2.1 Зразки

10 Сполуки Прикладу 1j, Прикладу 1-3, Прикладу 4h, Прикладу 4, Прикладу 5, Прикладу 6, Прикладу 7d, Прикладу 7-15, Прикладу 16a, Прикладу 16-18, Прикладу 19d, Прикладу 19, Прикладу 20, Прикладу 21, Прикладу 22f, Прикладу 22 і Прикладу 23

2.2 Експериментальні тварини

Здорових дорослих SD щурів, самці і самиці порівну, одержували від SINO-BRITISH SIPPR/BK LAB.ANIMAL LTD., CO, Номер ліцензії: SCXK (Shanghai) 2003-0002

2.3 Інструменти

15 Waters 2695-2996 вискоєфективний рідинний хроматограф, Waters Corp., USA;

2.4 Одержання тестованих сполук

Тестовану сполуку розводили перед використанням 1% суспензією натрій карбоксиметилцелюлози до 5 мг/мл (розраховували як вільну кислоту).

2.5 Введення

20 Здорових дорослих SD щурів, самці і самиці порівну, розділяли на 23 групи. Після голодування протягом ночі, щурам вводили у шлунок дозу 50,0 мг/кг (розраховану на вільну кислоту), в об'ємі 10 мл/кг.

2.6 Відбір зразка

25 Відбирали зразки крові (0,2 мл) з зіниці до введення і після 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 8,0, 11,0, 14,0, 24,0, 36,0 і 48,0 годин після введення, які збирали в гепаринізовані пробірки і центрифугували 10 хвилин при 3500 об/хв. Зразки плазми зберігали при -20 °C до аналізу. Щурів годували через 2 годин після введення.

2.7 Аналітичні способи

30 50 мкл плазми щура, одержані в різний час після введення, 50 мкл внутрішнього стандартного розчину і 20 мкл суміші розчинників метанол і вода (80:20, о/о) добре змішували і потім додавали 100 мкл метанолу для осадження протеїну. Потім суміш перемішували 3 хвилини використовуючи струшувач і центрифугували 10 хвилин при 13500 об/хв. 40 мкл надосадкової рідини аналізували за допомогою ВЕРХ-УФ.

2.8 Розрахунок фармакокінетичних параметрів

35 Будуvalи компартментну модель фармакокінетики для тестованих сполук і розраховували основні фармакокінетичні параметри, в яких насправді визначали значення C_{\max} і t_{\max} .

3. Результати фармакокінетичних параметрів

Фармакокінетичні параметри сполук представленого опису показані далі:

Номер	Фармакокінетичні дослідження (50 мг/кг)						
	Конц. в плазмі	Час до піку	Площа під кривою	Час напівжиття	Середній час перебування	Кліренс	Уявний об'єм розподілення
	C _{max} (мкг/мл)	T _{max} (г)	AUC (мкг/мл*г)	t _{1/2} (г)	MRT (h)	CL/F (л/г/кг)	Vz/F (л/кг)
Елтромбог	61,8±18,7	5,5±1,0	680±255	7,82±1,34	11,2±2,6	0,089±0,052	0,95±0,42
1j	29,05±11,44	4,00±1,41	131±47	4,21±1,86	3,89±1,78	0,049±0,035	0,29±0,18
1	90,1±35,3	3,25±1,5	501±178	5,39±0,94	4,96±1,16	0,098±0,072	0,45±0,32
2	83,9±11,2	5,0±1,16	833±64	9,55±1,44	11,08±0,76	0,06±0,005	0,83±0,16
3	79±9,3	5,5±1,0	842±185	8,87±0,78	13,0±0,9	0,062±0,013	0,78±0,15
4h	1,29±0,38	2,5±1,0	9,5±8,3	19,8±16,4	31,7±24,6	3,26±1,93	83,4±54,8
4	2,32±1,80	2,25±2,47	19,0±12,6	27,0±31,5	38,3±36,5	2,42±1,60	58,1±47,7
5	19,8±3,8	3,25±1,5	255±95	15,0±6,2	20,8±9,1	0,22±0,07	4,23±0,42
6	13,0±6,5	2,5±1,0	175±41	45,0±70,3	60,4±90,2	0,30±0,084	16,0±22,8
7d	16,2±3,9	2,5±1,0	132±124	7,42±7,19	11,0±8,13	8,14±8,44	36,1±17,9
7	74,1±34,5	1,75±0,5	469±274	13,9±6,07	13,3±5,12	0,175±0,169	2,48±0,92
8	36,2±46,2	1,38±1,11	352±586	10,6±9,02	12,1±8,23	0,926±1,013	8,55±9,08
9	21,2±10,4	2,88±2,59	146±69,7	9,65±2,48	10,5±1,18	0,391±0,145	5,15±1,46
10	65,6±44,5	1,63±0,75	381±306	12,9±6,32	11,5±5,72	0,494±0,754	4,54±4,17
11	40,2±24,3	1,5±0,58	270±178	12,1±7,19	10,0±3,90	0,877±1,465	5,80±5,30
12	17,8±10,3	1,38±1,11	58,5±23,8	5,1±2,41	5,87±1,68	1,00±0,504	6,35±1,38
13	8,10±3,35	1,38±1,11	42,8±33,2	5,70±2,50	8,05±2,01	1,63±0,83	14,9±12,1
14	17,8±22,6	5,25±1,5	132±189	4,72±2,82	7,20±2,13	2,40±2,41	9,54±8,03
15	23,3±13,6	2,0±1,16	168±118	6,56±3,80	8,92±2,04	0,758±0,995	3,65±1,79
16a	6,81±6,23	2,75±0,96	15,0±17,2	1,82±0,68	4,03±2,55	2,98±2,75	11,5±7,5
16	19,6±16,3	2,00±0,82	52,4±48,0	2,08±1,74	3,84±1,03	1,94±0,64	6,33±4,57
17	21,5±10,5	3,38±3,04	138±33	12,7±14,7	14,0±12,0	0,38±0,093	8,16±11,09
18	23,3±11,6	1,63±1,63	119±102	3,99±1,60	5,31±2,64	0,63±0,35	3,02±1,01
19d	7,91±6,84	2,50±0,58	36,1±36,4	1,84±1,05	3,01±1,99	1,44±0,83	10,4±8,4
19	20,8±17,3	1,81±2,79	89,2±7,2	5,71±3,68	7,85±2,92	0,88±0,61	5,47±2,72
20	46,1±15,7	4,5±1,0	275±116	7,24±2,45	7,59±1,33	0,21±0,088	2,05±0,68
21	61,1±1,38	5,5±1,0	380±109	6,86±0,48	8,61±0,31	0,14±0,04	1,37±0,32
22f	8,73±2,58	4,25±1,26	151±97	9,21±1,57	11,8±4,5	0,69±0,55	8,49±2,16
22	39,8±18,2	5,0±2,0	603±240	9,95±0,60	14,8±1,0	0,24±0,11	3,41±1,75
23	17,2±12,3	3,25±3,18	123±89,5	7,61±1,34	11,7±1,15	0,527±0,24	5,52±2,18

Результати дослідження показали, що після введення щурам, порівняно з вільною кислотою, фармакокінетичні параметри і біодоступність солей представленого опису значно поліпшувались. Фармакокінетичні дані солей Прикладу 7, тобто, бі-(моноетаноламінових) солей Прикладу 7d, є кращими, і мали добрі фармакокінетичні характеристики.

Приклад тестування 2: Фармакокінетичні дослідження сполук представленого опису у бітів

1. Ціль

Сполуки Прикладу 7, Прикладу 8, Прикладу 10 і Прикладу 12 вводили у шлунок бітів для визначення концентрації лікарського засобу в плазмі в різний час використовуючи ВЕРХ-УФ. Досліджували і оцінювали фармакокінетичну поведінку сполук представленого опису у бітів.

2. Протокол

2.1 Зразки

Сполуки Прикладу 7, Прикладу 8, Прикладу 10 і Прикладу 12

2.2 Експериментальні тварини

12 Здорових дорослих бітів, самці, одержували від Suzhou Xishan Drug Research and Development CO., LTD. Номер ліцензії: SCXK(Suzhou)2007-0005.

2.3 Інструмент

Agilent 1100 high високоефективний рідинний хроматограф, Agilent Corp., USA.

2.4 Одержання тестованих сполук

Тестовану сполуку розводили перед використанням 0,5% суспензією натрій карбоксиметилцелюлози до 2,5 мг/мл (розраховували як вільну кислоту).

2.5 Введення

12 Здорових дорослих бітів, самці, розділяли на 4 групи. Після голодування протягом ночі, собакам вводили у шлунок дозу 5,0 мг/кг (розраховану на вільну кислоту), в об'ємі 2 мл/кг.

2.6 Відбір зразка

Відбирали зразки крові (1,2 мл) з вени передньої лапи до введення і після 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 5,0, 6,0, 8,0, 12,0, 14,0, 24,0, і 48,0 годин після введення, які збирали в гепаринізовані пробірки і центрифугували 10 хвилин при 3500 об/хв. Зразки плазми зберігали при -20 °С до аналізу. Бітів годували через 2 годин після введення.

5 2.7 Аналітичні способи

До 50 мкл плазми бітів, одержані в різний час після введення, 20 мкл внутрішнього стандартного розчину і додавали 150 мкл метанолу для осадження протеїну. Потім суміш перемішували 1 хвилину використовуючи струшувач і центрифугували 5 хвилин при 11000 об/хв. 50 мкл надосадкової рідини аналізували за допомогою ВЕРХ-УФ.

10 2.8 Розрахунок фармакокінетичних параметрів

Будували компартментну модель фармакокінетики для тестованих сполук і розраховували основні фармакокінетичні параметри, в яких насправді визначали значення C_{\max} і t_{\max} .

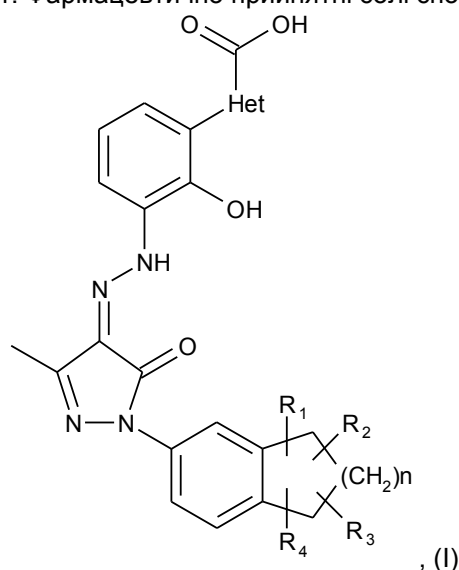
Номер	Фармакокінетичні дослідження (5 мг/кг)						
	Конц. в плазмі	Час до піку	Площа під кривою	Час напівжиття	Середній час перебування	Кліренс	Уявний об'єм розподілення
	C_{\max} (мкг/мл)	T_{\max} (г)	AUC (мкг/мл*г)	$t_{1/2}$ (г)	MRT(h)	CL/F (л/г/кг)	V_z/F (л/кг)
7	0,985	1,2	12,2	8,24	13,3	0,498	5,72
8	0,6	0,5	7,91	7,67	12,3	0,879	9,58
10	0,81	0,7	9,76	8,07	12,9	0,606	6,81
12	0,811	0,5	11,0	6,86	11,6	0,659	4,86

15 Дані чотирьох солей в даному дослідженні показали, що сполуки Прикладу 7 були значно кращими за фармакокінетичними параметрами.

Таким чином, одержання сполук представленого опису було простим і мало добрий вихід. Спеціально, етаноламінові солі, холінові солі, дітиламінові солі і піперазинові солі мали переваги в способі синтезу, оскільки, вони можуть кристалізуватись безпосередньо. Порівняно з вільними кислотами, розчинність солей представленого опису значно збільшувалась у звичайних розчинниках. Етаноламінові солі були менш гігроскопічними і були придатними для одержання звичайної рецептури і легкими для перетворення. Біоактивність солей представленого опису значно поліпшувалась. Фармакокінетичні параметри також значно поліпшувались у щурів і бітів і особливо етаноламінові солі мали кращі фармакокінетичні характеристики.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Фармацевтично прийнятні солі сполуки формули (I):



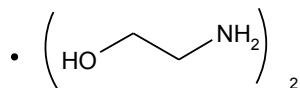
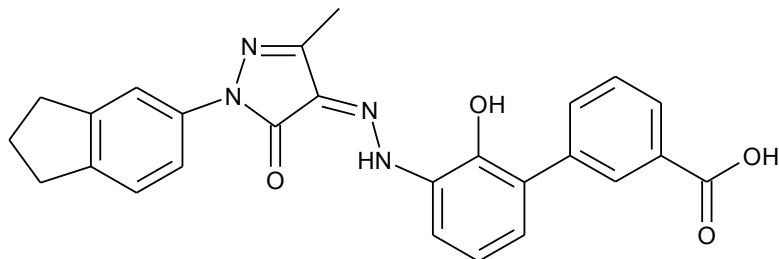
де:

Het вибирають з групи, що містить феніл, фурил і тієніл;

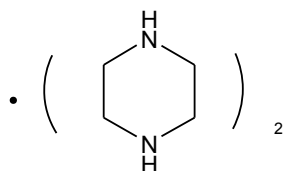
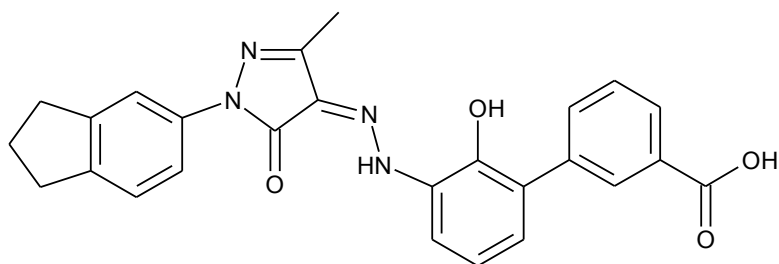
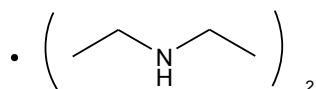
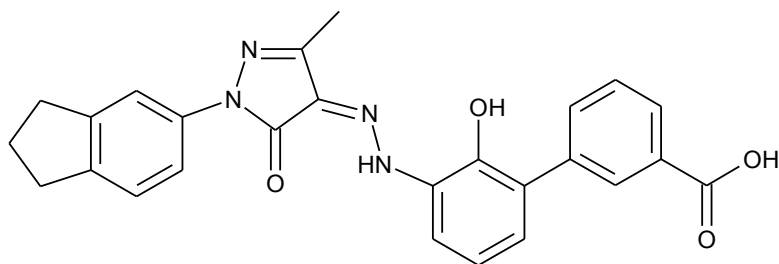
R_1 , R_2 , R_3 і R_4 кожен незалежно вибирають з групи, що містить водень і алкіл;

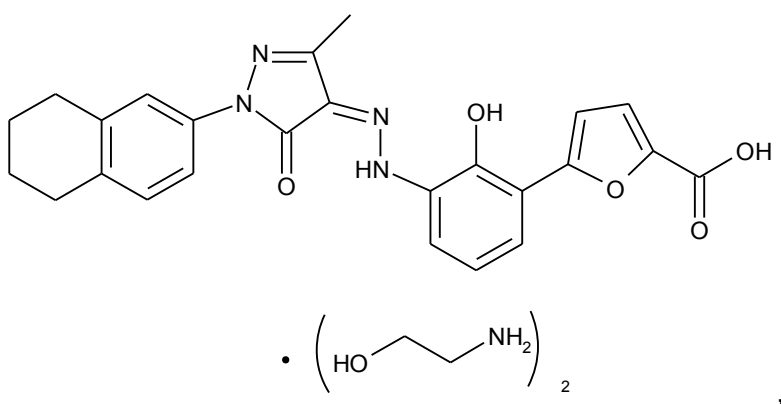
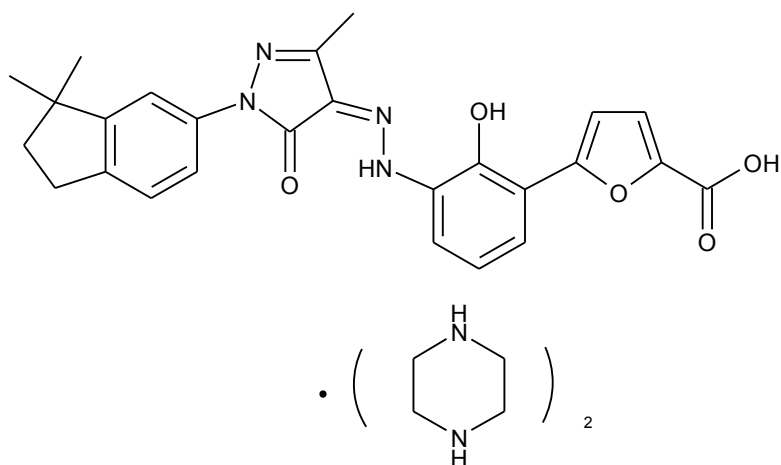
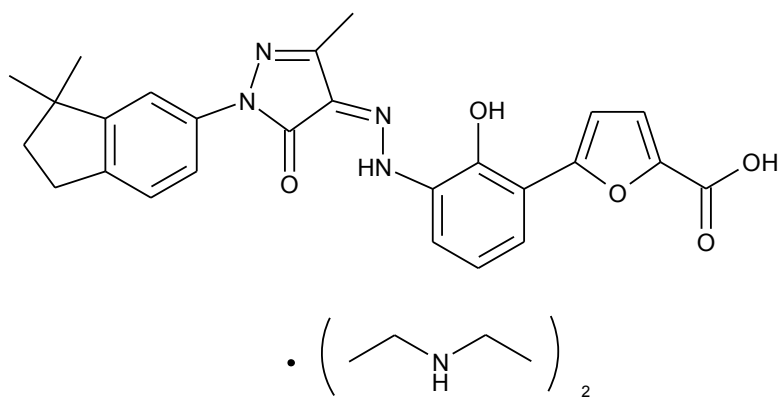
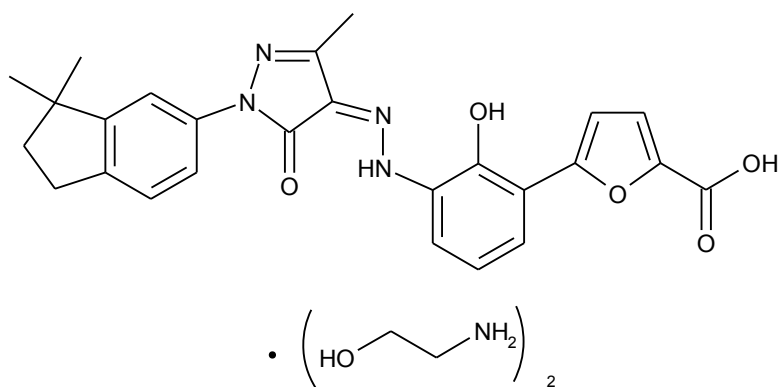
$n \in 0, 1$ або 2 ;

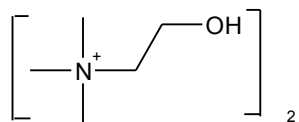
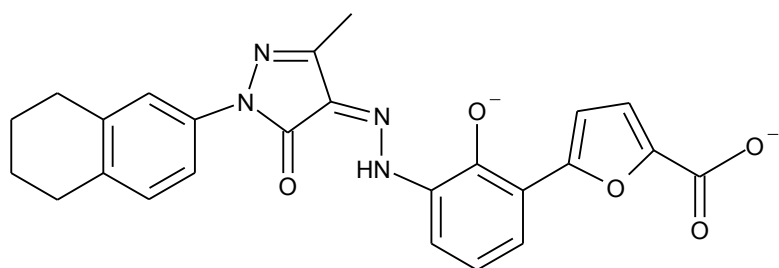
- де солі є основно-адитивними солями, які вибирають з групи, що містить натрієву сіль, літієву сіль, калієву сіль, кальцієву сіль, магнієву сіль, аргінінову сіль, лізинову сіль, метанамінову сіль, диметиламінову сіль, триметиламінову сіль, етиламінову сіль, діетиламінову сіль, триетиламінову сіль, етаноламінову сіль, піперазинову сіль, дибензилетилендіамінову сіль, меглумінову сіль, трометамінову сіль, тетраметиламонієву сіль, тетраетиламонієву сіль і холінову сіль, переважно діетиламінову сіль, етаноламінову сіль, холінову сіль, піперазинову сіль, меглумінову сіль і трометамінову сіль, більш переважно етаноламінову сіль, холінову сіль, меглумінову сіль і трометамінову сіль і найбільш переважно етаноламінову сіль.
2. Фармацевтично прийнятні солі за пунктом 1, де солі вибирають з групи, що містить:



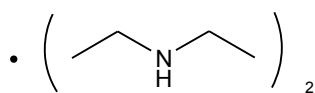
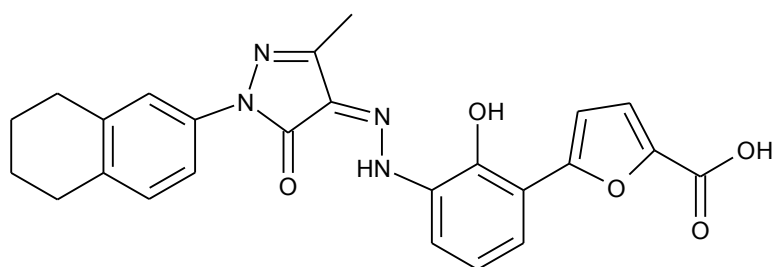
10



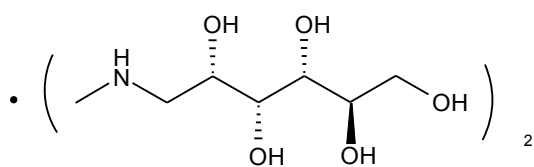
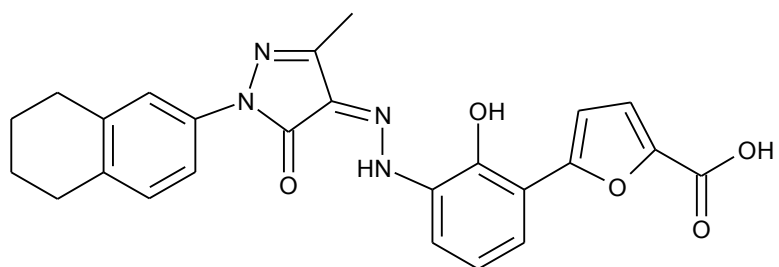




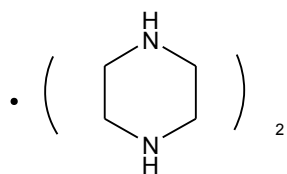
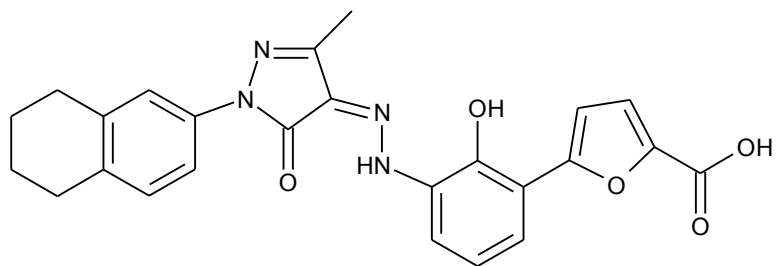
,



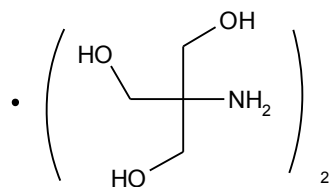
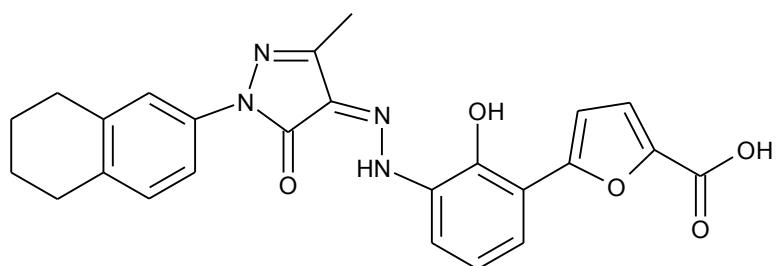
,



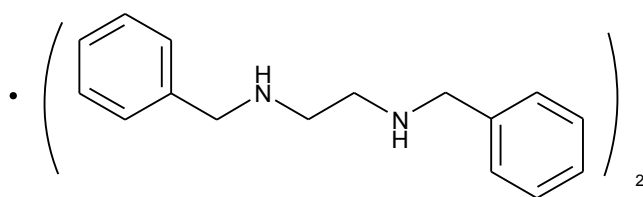
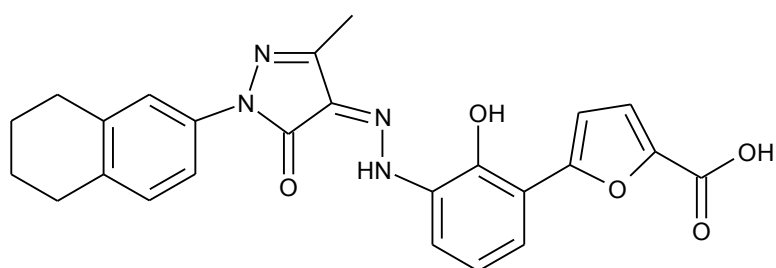
,



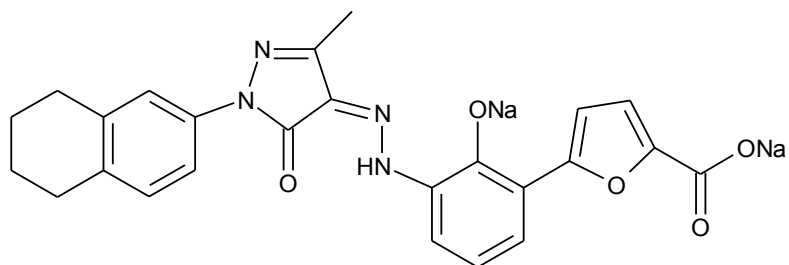
,



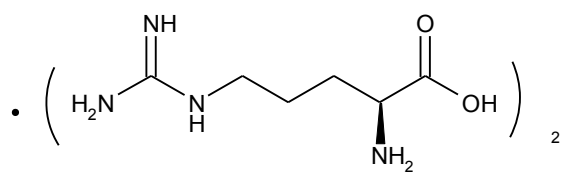
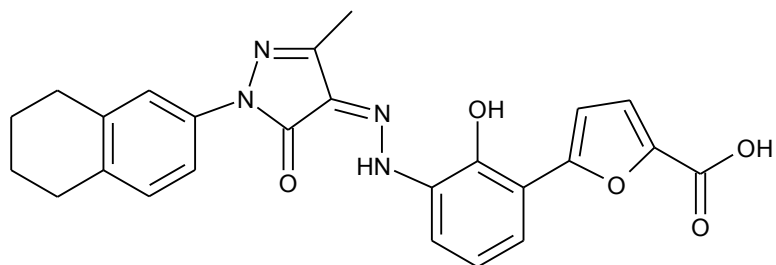
,



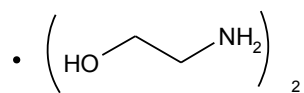
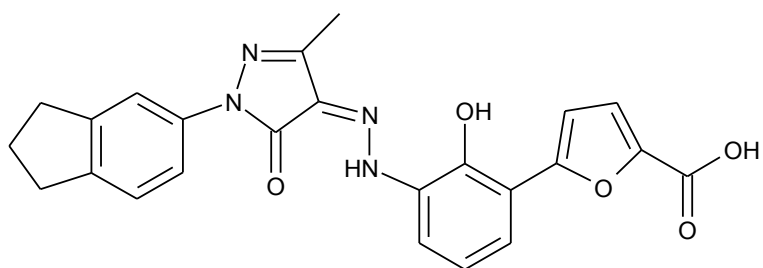
,



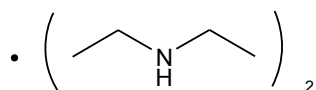
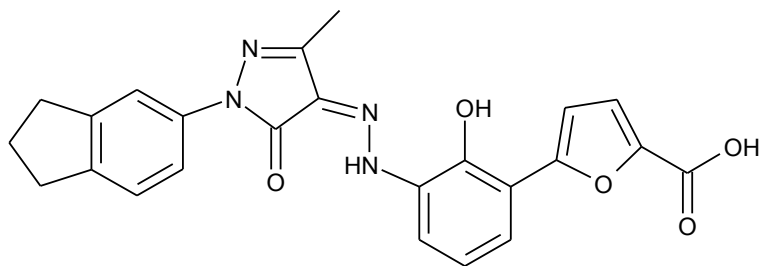
,



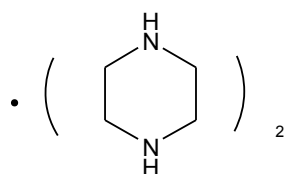
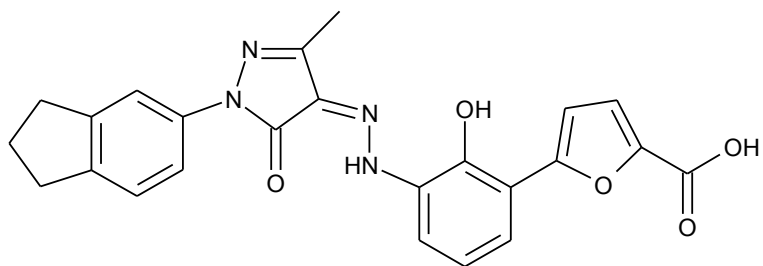
,



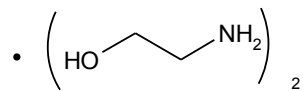
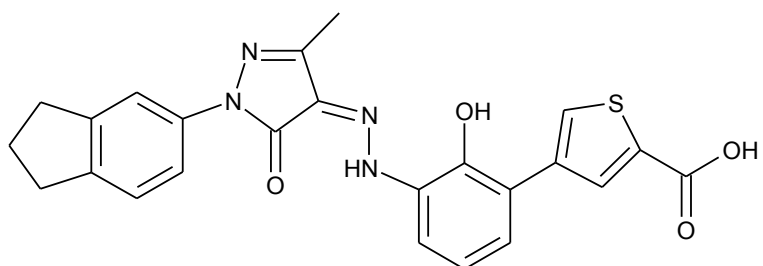
,



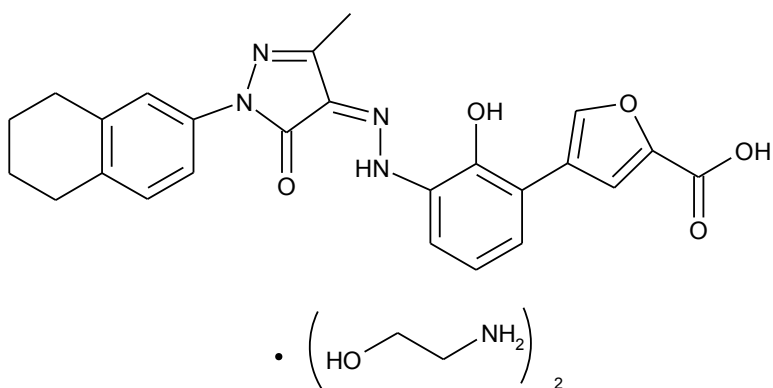
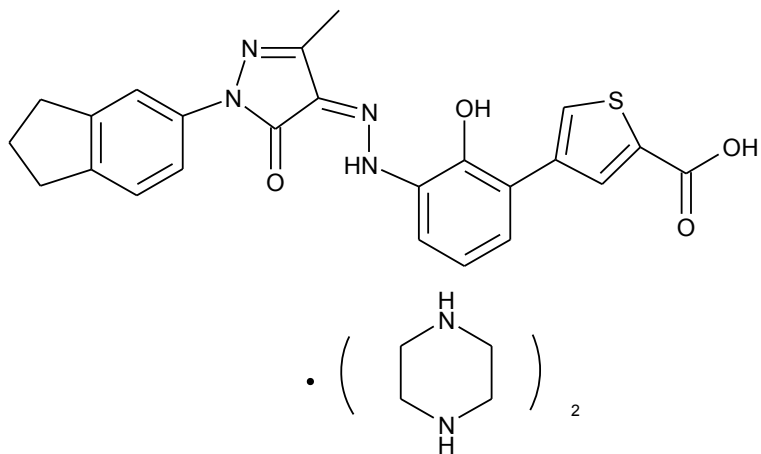
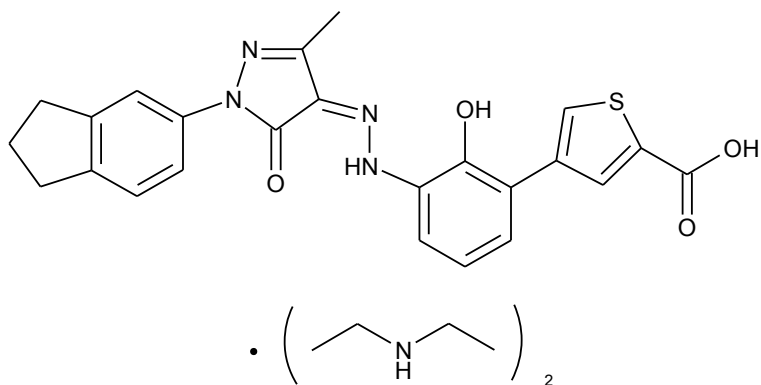
,



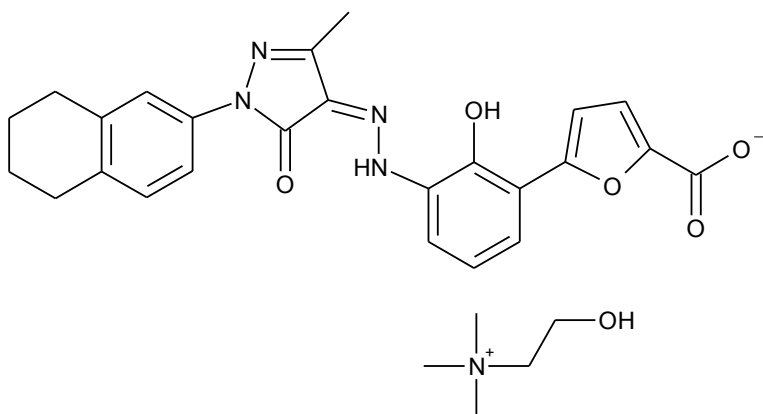
,



,



або



5

3. Спосіб одержання фармацевтично прийнятних солей за пунктом 1 або 2, за яким здійснюють стадії:

(а) розчинення або суспендування сполуки формули (I) в органічному розчиннику, де органічний розчинник вибирають з групи, що містить метанол, етанол, ацетон, етилацетат і тетрагідрофуран, переважно тетрагідрофуран;

5 (b) додавання до суміші при перемішуванні основи, яку вибирають з групи, що містить гідроксид натрію, гідроксид літію, гідроксид калію, гідроксид кальцію, гідроксид магнію, лізин, аргінін, метанамін, диметиламін, триметиламін, етиламін, діетиламін, триетиламін, етаноламін, піперазин, дибензилетилендіамін, меглумін, трометамін, тетраметиладельмоній, тетраетиладельмоній і гідроксид холіну, переважно діетиламін, етаноламін, гідроксид холіну, піперазин, меглумін і трометамін, більш переважно етаноламін, гідроксид холіну, меглумін і трометамін, найбільш

10 переважно етаноламін;
(с) одержання фармацевтично прийнятної солі сполуки формули (I).

4. Спосіб за пунктом 3, де співвідношення сполуки формули (I) і основи становить 1:5~5:1, переважно 1:1~1:3 і більш переважно 1:1~1:2.

15 5. Фармацевтична композиція, що містить терапевтично ефективну кількість фармацевтично прийнятних солей за будь-яким з пунктів 1 або 2 і фармацевтично прийнятні носії або розріджувачі.

6. Фармацевтична композиція за пунктом 5, де композиція необов'язково додатково містить лікарський засіб, який вибирають групи, що містить: колонієстимулюючий фактор, цитокін, хемокін, інтерлейкін і агоніст рецептора цитокіну.

20 7. Спосіб одержання композиції за пунктом 5, за яким здійснюють стадію комбінування сполуки за пунктом 1 або 2 з фармацевтично прийнятними носіями або розріджувачами.

8. Застосування фармацевтично прийнятних солей сполуки формули (I) за пунктом 1 або 2 при одержанні агоніста рецептора тромбопоетину.

25 9. Застосування фармацевтично прийнятних солей сполуки формули (I) за пунктом 1 або 2 при одержанні медикаменту для лікування тромбоцитопенії.

10. Застосування за пунктом 9, де медикамент є у формі оральної дозованої форми.

11. Застосування за пунктом 9, де медикамент є у формі парентеральної дозованої форми.

12. Спосіб лікування тромбоцитопенії, за яким суб'єкту вводять фармацевтично прийнятні солі сполуки формули (I) за пунктом 1 або 2.

30 13. Спосіб за пунктом 12, де фармацевтично прийнятні солі сполуки формули (I) за пунктом 1 або 2 вводять разом з лікарським засобом, який вибирають з групи, що містить колонієстимулюючий фактор, цитокін, хемокін, агоніст або антагоніст рецептора інтерлейкіну або цитокіну, розчинний рецептор, рецептор агоніста або антагоніста антитіла або один або більше пептидів, або низькомолекулярні сполуки, що мають такий же самий механізм, як і лікарський засіб.