

(19)



(10) **LT 3441 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **3441**

(51) Int.Cl.⁵: **C07D 233/54,
C07D 233/64,
A61K 31/41**

(21) Paraiškos numeris: **IP582**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 05 31**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1994 12 27**

(45) Patent paskelbimo data: **1995 10 25**

(60) SU duomenys: **SU 5001670, 1991 09 20**

(31,32,33) Prioritetas: **9020629, 1990 09 21, GB**

(72) Išradėjas:

**Arto Johannes Karjalainen, FI
Arja Marketta Kalapudas, FI
Reino Olavi Pelkonen, FI
Marja-Liisa Soedervall, FI
Matti Antero Laehde, FI
Risto Arvo Sakari Lammintausta, FI**

(73) Patent savininkas:

Orlon-yhtymä Oy, Orlonintie 1, PL 65, SF-02101 Espoo, FI

(74) Patentinis patikėtinis:

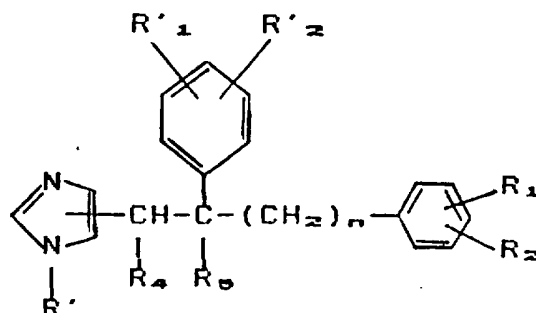
**Marius Jakulis-Jason, 3, A.A.A.Baltic Service Company, Rūdninkų g. 18/2-12, 2001
Vilnius, LT**

(54) Pavadinimas:

Aromatažę inhibuojantys 4(5)-imidazoliai

(57) Referatas:

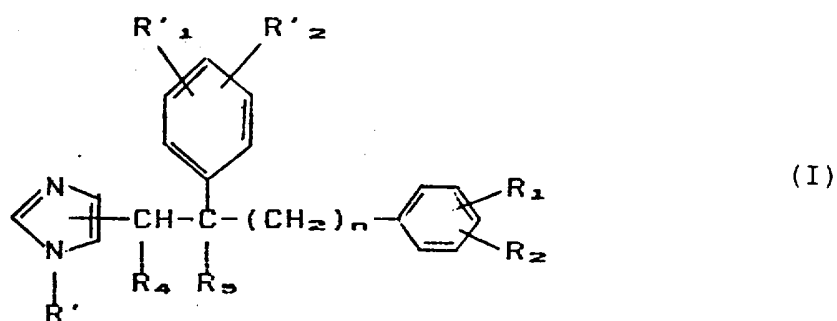
Nauji imidazolų dariniai, turintys formulę



kurioje R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NO_2 , NH_2 , CN , CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas; R' yra H arba $-\text{CH}_2-$  R_3 , kur R_3 yra H, CH_3 arba halogenas; R_4 yra H arba OH, R_5 yra H arba OH, arba R_4 ir R_5 kartu gali būti jungtis, o n yra nuo 1 iki 4, ir jų netoksiškos druskos turi aromatazę ir desmolazę inhibuojančių savybių. Selektyviai aromatazę inhibuojantys junginiai yra naudingi estrogenų sąlygojamoms ligoms, pavyzdžiui krūties vėžiui ar gerybinei prostatos hiperplazijai gydyti.

Šis išradimas siejamas su pakeistais imidazolo dariniais ir jų netoksinėmis, farmacijai tinkamomis druskomis, kurias jie sudaro su rūgštimis, bei šių junginių turinčiais farmaciniais preparatais ir jų naudojimu.

Šiame išradime aprašomi imidazolo dariniai turi bendrą formulę (I),



10

kurioje R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NO_2 , NH_2 , CN , CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas; R' yra H arba

15

$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{R}_3$, kur R_3 yra H, CH_3 arba halogenas; R_4 yra H

arba OH, R_5 yra H arba OH, arba R_4 ir R_5 kartu gali būti jungtis, o n yra nuo 1 iki 4.

20

Išradimas apima ir netoksiškas, farmacijai tinkamas šių junginių druskas su rūgštimis.

25

(I) formulę turintys junginiai gali sudaryti druskas tiek su organinėmis, tiek su neorganinėmis rūgštimis. Taigi jie gali sudaryti daug farmacijai tinkamų druskų, pavyzdžiui, chloridų, bromidų, sulfatų, nitratų, fosfatų, sulfonatų, formiatų, tartratų, maleatų, citratų, benzoatų, salicilatų, askorbatų ir panašių.

Pageidautinos R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 reikšmės yra H, CN arba halogenas, ypač H, CN arba F. Fenilo grupė gali būti pakeista orto-, meta-, arba para- pozicijoje. Jei fenilo grupė yra monopakeista, pageidautina, kad ji
5 būtų pakeista para- pozicijoje.

Pageidautina, R' reikšmė yra H; pageidautinos R_4 ir R_5 reikšmės yra H.

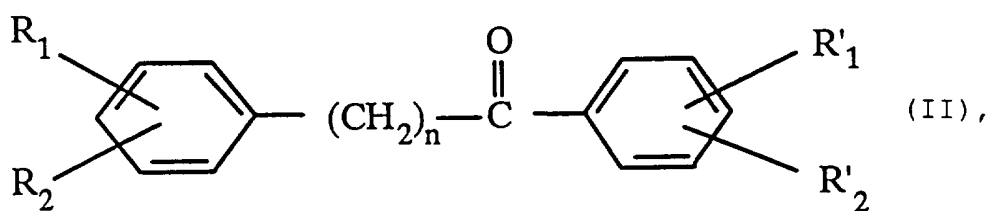
10 EP-A-0311447 aprašo difenilu pakeistus imidazolo darinius, pasižyminčius aromatazės inhibuojančiomis savybėmis. Junginiai, kuriuose fenilo žiedas yra pakeistas ciano grupe, čia nėra atskleisti. EP-A-0390558 aprašo difenilu pakeistus imidazolo darinius, kurie, kaip
15 tvirtinama, yra aromatazės inhibitoriai. Tačiau junginiams, kuriuose fenilo žiedas pakeistas ciano grupe, nėra pateikta jokių bandymų duomenų.

Šis išradimas apima farmacinius preparatus, į kurių
20 sudėtį įeina bent vienas (I) formulę turintis junginys arba netoksiška farmacijai tinkama jo druska ir farmacijai tinkamas užpildas. Nustatyta, kad šiame išradime aprašomi junginiai, priklausomai nuo pakaitų R' , R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 , turi įvairaus intensyvumo aromatazės ir
25 desmolazės inhibuojančių savybių. Jų tarpe yra labai selektyvių fermentų inhibuojančių junginių, kurie naudingi, gydant estrogeno sąlygojamas ligas, pavyzdžiui, krūties vėžį ar gerybinę prostatos hiperplaziją (BPH).

30

Be to šiame išradime teikiamas (I) formulę turinčių junginių ir netoksinių farmacijai tinkamų jų druskų panaudojimas aromatazės inhibuojančių vaistų gamyboje.

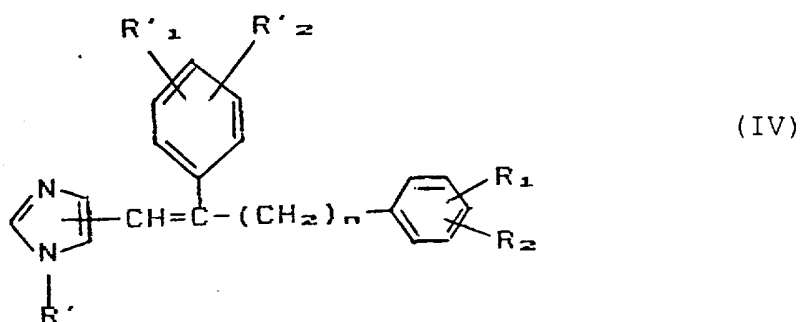
35 (I) formulę turinčius junginius galima gauti pagal McMurry reakciją, kuri apima difenilketono (II)



5 kuriame R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 , kurie gali būti tokie patys arba skirtingi yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NH_2 , CN , CF_3 , CHF_3 , CH_2F arba halogenas, o n yra nuo 1 iki 4, redukcini jungimą su 4(5)-imidazolo aldehidu (III)



10 kurioje R' apibrėžtas anksčiau, tinkamame tirpiklyje, pavyzdžiui tetrahidrofurane arba dimetoksietane, dalyvaujant mažo valentingumo titano reagentui, inertinėje, tarkim azoto ar argono atmosferoje. Gaunami (I) formulę turintys junginiai, kuriuose R_4 ir R_5 kartu sudaro jungtį (IV)

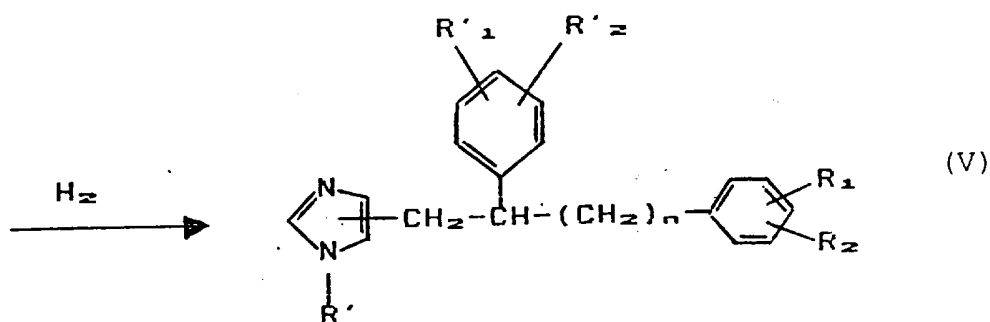
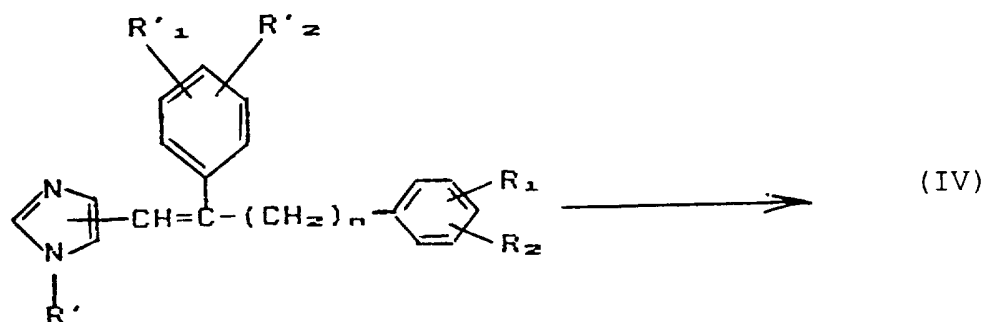


15 Nesotūs (IV) junginiai išskiriami, o po to hidrinami. Juos galima hidrinti ir tiesiogiai rūgštinėje aplinkoje, prieš tai neišskyrus. Paprastai šie junginiai hidrinami kambario temperatūroje energingai maišant alkoholyje, pavyzdžiui etanolyje, vandenilio atmo-

20

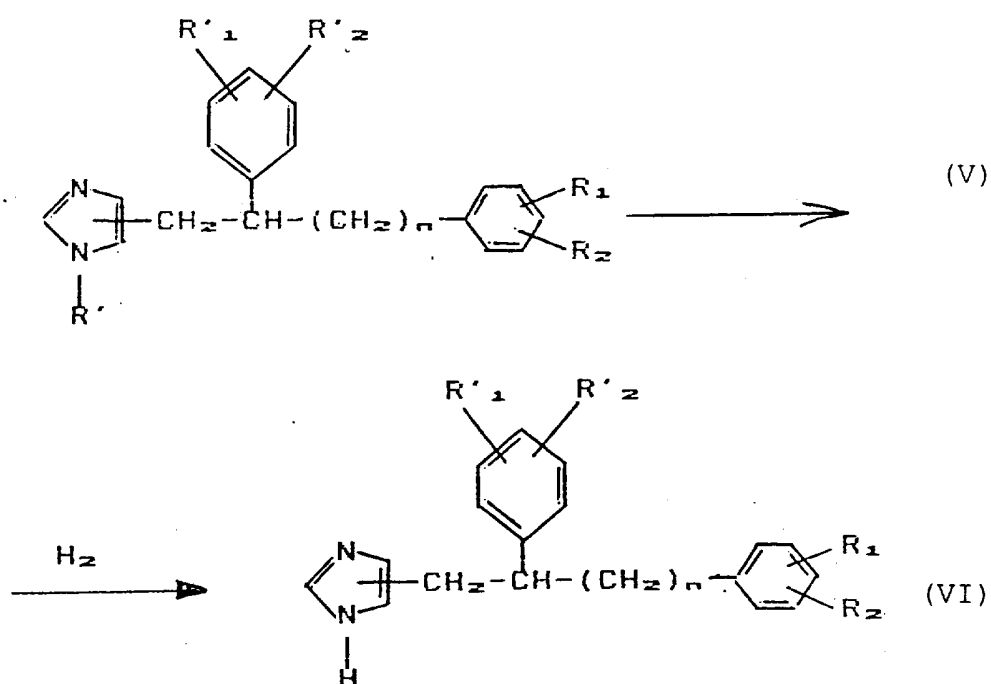
sferoje, dalyvaujant katalizatoriui. Tinkami katalizatoriai yra, pavyzdžiui, platinos oksidas, paladis ant anglies arba Renėjaus nikelis.

- 5 Šios stadijos reakcijos schemą galima pavaizduoti taip:



- 10 Jei R' yra pakeistas arba nepakeistas benzilas, šią grupę irgi galima pakeisti hidrinimo būdu. Šiuo atveju hidrinimas atliekamas rūgštinėje terpėje, tarkim druskos rūgšties ir etanolio mišinyje.

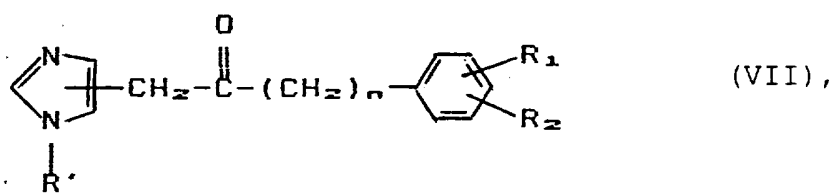
- 15 Šios hidrinimo reakcijos, kurios metu susidaro (I) formulę turintys junginiai, kuriuose R' , R_4 ir R_5 kiekvienas yra vandenilis, schemą galima pavaizduoti taip:



Kitas benzilo grupės R' pašalinimo metodas yra vandenilio pernešimo reakcija, kurios metu (V) pradinis junginys, amonio formiatas ir 10% Pd/C virinami su grįžtamu šaldytuvu tinkamame žemesniame alkoholyje, pavyzdžiui metanolyje arba etanolyje, arba jo vandeniniame tirpale. Be to (VI) formulę turinčius junginius galima gauti iš (IV) formulę turinčių junginių vandenilio pernešimo reakcijos su amonio formiatu metu arba hidrinant tuo pačiu metu dvigubą jungtį ir apsauginę benzilo grupę. Jei vienas ar keli R_1 , R_2 , R'_1 ar R'_2 pakaitai yra CN, vandenilio pernešimo reakcijos metu juos reikia apsaugoti.

(II) formulę turintį ketoną galima gauti, pavyzdžiui, iš tinkamo pakeisto acetofenono ir benzaldehido kondensacijos ir hidrinimo būdu.

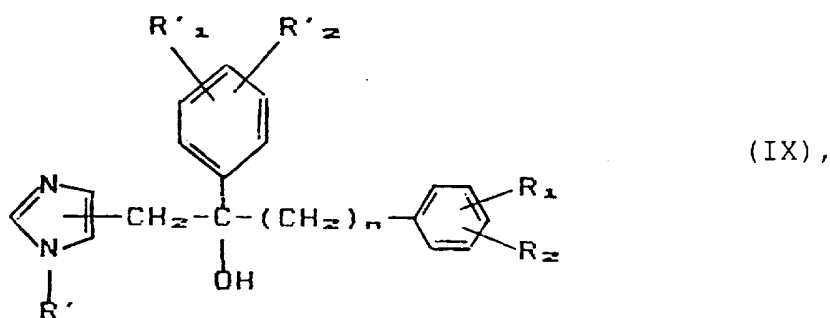
Kitas (I) formulę turinčių junginių būdas yra ketono, turinčio (VII) formulę,



kurioje R' ir n apibrėžti anksčiau, o R₁ ir R₂ (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, OCH₃, NO₂, CF₃, CHF₂, CH₂F arba halogenas, jungimas su tinkamu halogenido dariniu, turinčiu (VIII) formulę,



kurioje R'₁ ir R'₂ (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH₃, C₂H₅, C₃H₇, OCH₃, NO₂, CF₃, CHF₂, CH₂F arba halogenas, dalyvaujant alkil-ličiui, pavyzdžiui n-butil-ličiui, arba magniui tinkamame tirpiklyje, tarkim tetrahidrofurane. Gaunamas junginys, turintis (IX) formulę,

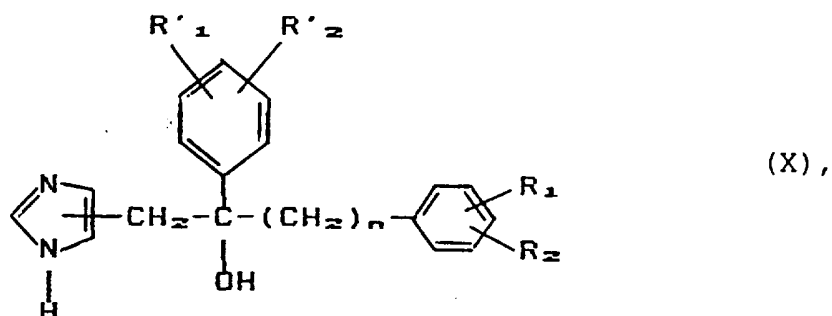


15

kurioje R', R₁, R₂, R'₁, R'₂ ir n apibrėžti prie (VII) ir (VIII) formulių. Tada (IX) formulę turintys junginiai dehidrinami ir gaunami junginiai, turintys (I) formulę, kurioje R₄ ir R₅ kartu sudaro jungtį (IV). Vanduo eliminuojamas tradiciniais metodais, t. y. kaitinant su sausu hidrosulfatu. Nesotūs (IV) formulę turintys junginiai hidrinami anksčiau aprašytais metodais. (IX)

20

formulę turinčiame junginyje benzilo grupę R' irgi galima pašalinti su vandenilio pernešimo reakcijos pagalba, ir gauti junginį, turintį (X) formulę



5

kurioje R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra tokie patys, kaip apibrėžti (IX) formulėje.

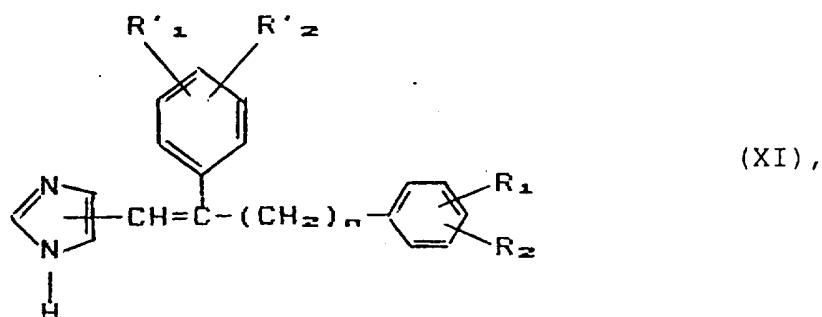
(VII) formulę turinčius junginius galima gauti, pavyzdžiui, iš 4(5)-imidazolo acetaldehido ir atitinkamo arilalkilhalogenido su po to sekančia oksidacija.

(I) formulę turinčius junginius, kuriuose vienas ar daugiau pakaitų yra CN, irgi galima gauti anksčiau aprašytu būdu, tačiau tada CN grupė(s) (VII) ir (VIII) formulę turinčiuose junginiuose turi būti apsaugota tret-butylaminokarbonilo grupe arba oksazolino grupe, o R' yra apsauginė benzilo grupė. NO_2 negali būti toks pakaitas. (IX) formulę turintys junginiai su viena ar keliomis pakeistomis tret-butylaminokarbonilo grupėmis arba oksazolino grupe (IX') dehidrinami ir higrogeninami anksčiau aprašytais būdais, o po to virinami su grįžtamu šaldytuvu su $SOCl_2$. Taip gaunami (VI) formulę turintys junginiai, kuriuose viena ar kelios pakeistos grupės R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra CN.

(I) formulę turinčius junginius, kuriuose vienas ar keli pakaitai R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra CN, taip pat galima gauti virinant su grįžtamu šaldytuvu junginius,

turinčius (IX) formulę, kurioje vienas ar keli pakaitai yra tret-butilaminokarbonilo grupės arba oksazolino grupė (IX') su, pavyzdžiui, SOCl_2 , POCl_3 arba PCl_5 tinkamame tirpiklyje, tokiame kaip acetonitrilas. Gaunami (I) formulę turintys junginiai, kuriuose R' yra benzilo grupė, R_4 ir R_5 kartu sudaro jungtį, o vienas ar keli pakaitai R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra CN. Kiti, skirtingi nuo CN pakaitai yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas. Nesotūs junginiai hidrogeninami anksčiau aprašytais būdais.

(X) formulę turintys junginiai, kuriuose vienas ar keli pakaitai yra tret-butilaminokarbonilo arba oksazolino grupė (X') gali būti dehidrinami, pavyzdžiui, su SOCl_2 , POCl_3 ar PCl_5 , kaip aprašyta anksčiau. Gaunami junginiai, turintys (XI) formulę



kurioje vienas ar keli pakaitai R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra CN, o tie pakaitai, kurie nėra CN, yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas.

Kitas būdas gauti (I) formulę turintiems junginiams su (XI) formulėje apibrėžtais pakaitais yra (IX') arba (X') formulę turinčių junginių virinimas su grįžtamu šaldytuvu tinkamame tirpiklyje, tokiame kaip dichlormetanas, dalyvaujant SOCl_2 . Gaunami (IV) formulę turintys junginiai, kuriuose R' yra H arba apsauginė grupė, o pakaitai E_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra tokie, kaip

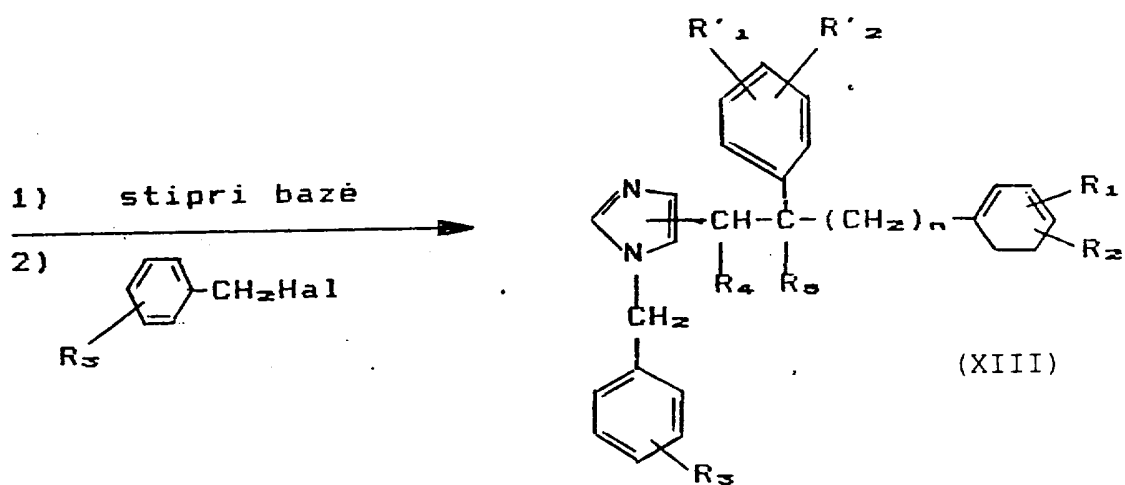
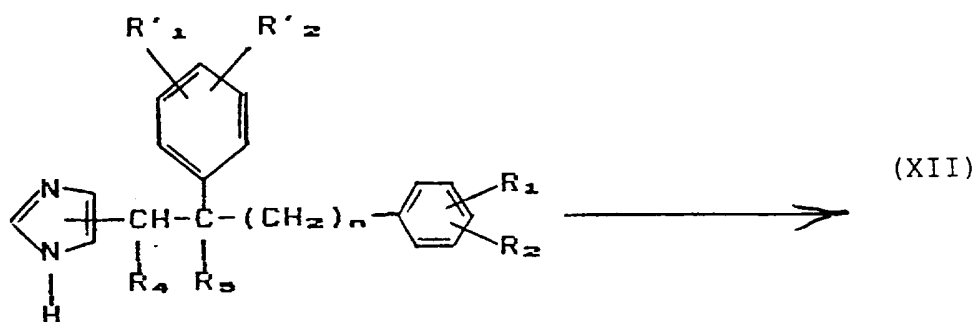
apibrėžti (X') formulėje. Nesotūs junginiai toliau dalyvauja vandenilio pernešimo reakcijoje arba hidrinami. Gaunamas (VI) junginys, kurio pakaitai apibrėžti (X') formulėje. Šis junginys toliau veikiamas, SOCl_2 .
5 Gaunamas (I) formulę turintis junginys, kurio pakaitai yra tokie, kaip apibrėžti (XI) formulėje.

(VI) formulę turinčius junginius su tokiais pakaitais, kaip apibrėžti (X') formulėje, galima gauti vandenilio pernešimo reakcijos būdu iš (IX') formulę turinčių junginių.
10

(I) formulę turinčius junginius, kuriuose vienas ar daugiau pakaitų yra CN, galima gauti diazotavimo būdu iš atitinkamų junginių, kuriuose vienas ar keli pakaitai R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra NH_2 .
15

(I) formulę turinčius junginius, kuriuose vienas ar keli pakaitai R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 yra NH_2 , galima gauti hidrinant atitinkamus junginius, kuriuose vienas ar keli pakaitai yra NO_2 . (I) formulę turinčius junginius, kuriuose vienas ar keli pakaitai yra NO_2 , galima gauti nitrinimo būdu.
20

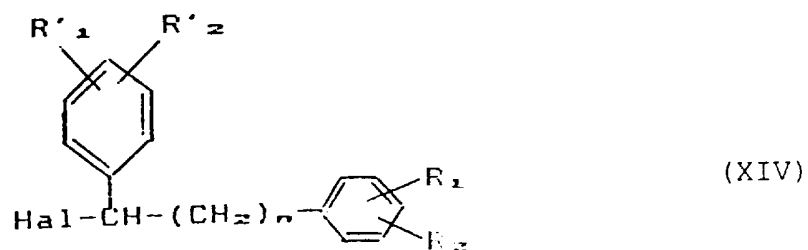
(I) formulę turinčius junginius, kuriuose R' yra benzilo grupė, galima gauti benzilinant atitinkamus junginius, kuriuose R' yra vandenilis. Pirmiausiai junginys veikiamas stipria baze, tokia kaip natrio hidroksidas vandenyje arba natrio hidroksidas atitinkamame tirpiklyje, pavyzdžiui dimetilformamide. Gaunama imidazolo šarminio metalo druska. Po to antrame etape pridedama benzilhalogenido. Reakcijos schemą galima pavaizduoti taip:
25
30



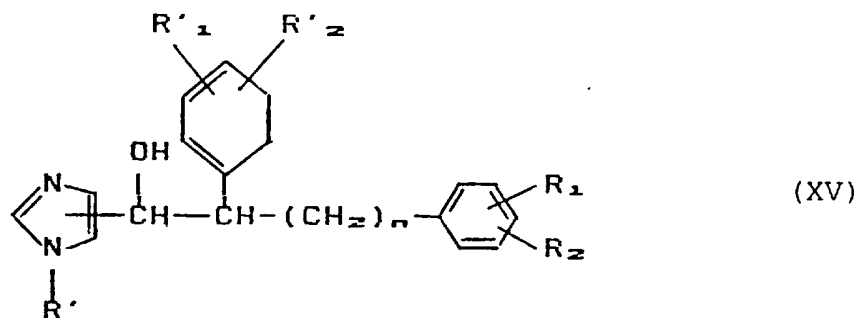
Laisvas NH_2 pakaitas benzilinio reakcijos metu turi būti apsaugotas.

5

Kitas (IV) formulę turinčių junginių gavimo būdas yra difenilhalogeninto junginio (XIV),

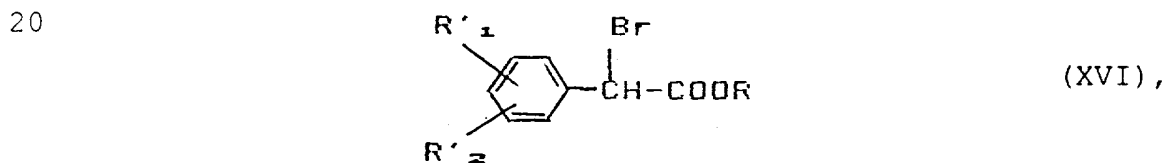


kuriame R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 (kurie tokie patys arba skirtingi) yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NO_2 , CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas, n yra nuo 1 iki 4, o kai Hal yra halogenas, reakcija su 4(5)-imidazolo aldehidu (III),
 5 naudojant kaip reagentą n-butil-litį. Gaunami junginiai, turintys (XV) formulę

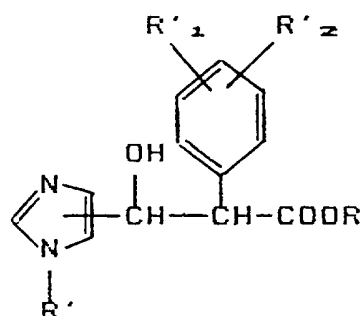


(XV) formulę turinčius junginius galima dehidrinti ir gauti junginius, turinčius (IV) formulę, kurioje pakaitai R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NO_2 , CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas. (IV) formulę turinčius junginius, kuriuose vienas ar keli pakaitai yra CH, galima gauti tuo pačiu būdu, apsaugojus CN grupę(es).
 15

Dar vienas (I) formulę turinčių junginių gavimo būdas yra Reformatskio reakcija tarp 4(5)-imidazolo aldehido (III) ir α -bromfenilacto rūgšties esterio (XVI),

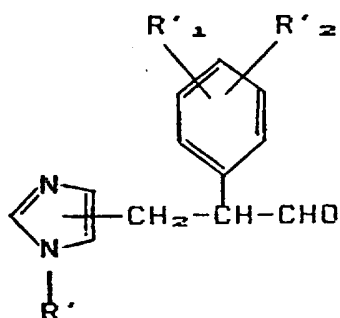


kuriame R'_1 ir R'_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NO_2 , CF_3 , CH_2F arba halogenas, o R yra žemesnis alkilas. Gaunamas β -hidroksi- α -fenilimidazolpropiono rūgšties esteris (XVII)
 25



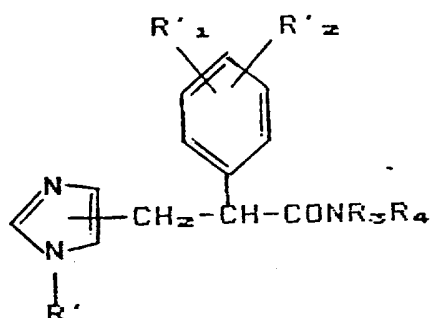
(XVII)

(XVII) formulę turinčius junginius galima dehidrinti bei hydrogeninti ir gauti sočius α -fenilimida-
 5 zolpropiono rūgšties esterius (XVIII), kuriuos galima redukuoti iki aldehydų, turinčių (XIX) formulę



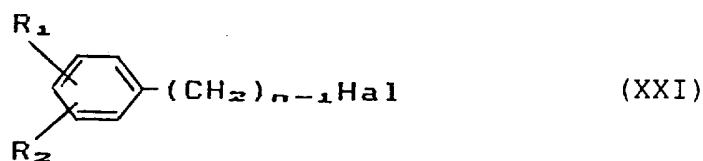
(XIX)

arba paversti amidais, turinčiais (XX) formulę,

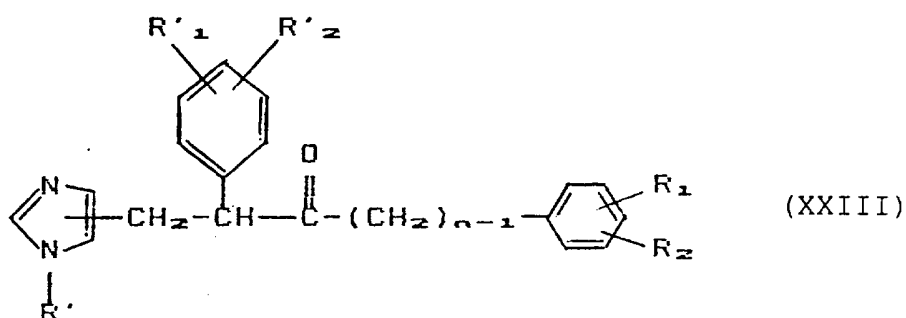
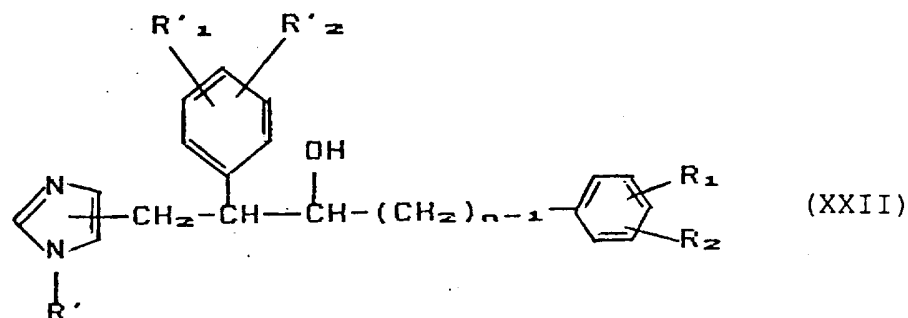


(XX),

10 kurioje R_3 ir R_4 yra žemesnis alkilas arba N, R_3 ir R_4 kartu sudaro žiedą. Junginių, turinčių (XIX) arba (XX) formulę reakcijoje su tinkamais aril- arba arilalkilhalogenidais (XXI)



kuriuose R_1 ir R_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NO_2 , NH_2 , CN, CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas, o n yra nuo 1 iki 4, dalyvaujant alkil-ličiui, pavyzdžiui n-butil-ličiui, arba magniui, gaunami atitinkamai alkoholiai (XXII) arba ketonai (XXIII). Jei halogenido (XXI) pakaitai R_1 ir R_2 yra NH_2 arba CN, juos reikia apsaugoti.



Junginius, turinčius (XXII) ir (XXIII) formules, galima toliau redukuoti, dehidratuoti ir hidrinti, gaunant junginius, turinčius (I) formulę, kurioje R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H,

CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NH_2 , CN , CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas.

(I) formulę turintys junginiai, netoksiškos, farmacijai
5 tinkamos jų druskos su rūgštimis bei jų mišiniai gali
būti naudojami parenteraliu, intraveniniu arba pero-
raliniu būdu. Efektyvus junginio kiekis paprastai
maišomas su farmacijai tinkamu užpildu. Čia naudojamas
terminas "efektyvus kiekis" reiškia kiekį, kuris
10 užtikrina norimą aktyvumą, nesukeldamas neigiamo
pašalinio poveikio. Tikslus kiekis, naudojamas konkre-
čioje situacijoje, priklauso nuo daugelio faktorių,
kaip naudojimo būdas, žinduolio tipas, naudojimo
sąlygos ir t.t., ir, žinoma, nuo junginio struktūros.
15 Farmaciniai junginiai, kurie paprastai naudojami su šio
išradimo junginiais, gali būti skysti arba kieti, ir
parenkami, atsižvelgiant į planuojamą būdą. Taip,
pavyzdžiui, kieti užpildai gali būti laktozė, sacha-
rozė, želatina arba agaras, o skysti užpildai gali būti
20 vanduo, sirupas, žemės riešutų aliejus arba alyvų
aliejus. Kvalifikuoti farmacijos specialistai gerai
žino ir kitus tinkamus užpildus. Iš įvairių junginių ir
užpildų kombinacijų galima paruošti daugybę tinkamų
vaistų formų, tarkim tablečių, kapsulių, žvakučių,
25 tirpalų emulsijų ir miltelių.

Šio išradimo junginiai ypač vertingi kaip aromatazė
inhibuojantys agentai ir todėl naudotini esterogenų
sąlygojamoms ligoms, pavyzdžiui krūties vėžiui ar
30 gerybinei prostatos hiperplazijai (BPH) gydyti.

Estrogenai vaidina esminį vaidmenį normalaus moters
krūtų ir lyties organų vystymosi fiziologijoje ir
funkcionavime. Kita vertus, kad estrogenai skatina
35 estrogenų sąlygojamų vėžių, ypač krūties ir endo-
metriumo vėžių, augimą. Duodant ligoniui ilgą laiką
farmakologines estrogenų dozes, padidėja krūties vėžio

atsiradimo rizika. Per didelis estradiolio susidarymas irgi gali sukelti kitus, gerybinius organų, priklausančių nuo hormonų veiklos, sutrikimus. Estrogenų kaip vėžio augimo stimuliatorių ir/arba reguliatorių reikšmę ypač pabrėžia tai, kad antiestrogenai tapo pagrindine priemone daug estrogenų receptorių turinčiam krūties vėžiui gydyti. Antiestrogenai suriša estrogenų receptorius ir tai inhibuoja biologinį poveikį. Klinikoje šis efektas gaunamas, naudojant nespecifinį steroidų sintezės inhibitorių aminogliutetimidą. Estrogenų sintezę specifiškai galima blokuoti, inhibuojant fermentą aromatazę, kuri yra pagrindinis biocheminės estrogenų sintezės fermentas. Aromatazės inhibicija labai svarbi, nes kai kuriuose krūties augliuose estradiolis ir estronas sintezuojamas in situ ir todėl nuolat stimuliuoja augimą (Alan Lipton et al., Cancer, 59:770-782, 1987).

Šio išradimo junginių galia inhibuoti fermentą aromatazę buvo pademonstruota in vitro įvertinimo metodu pagal M. Pasaneną (Biological Research in Pregnancy, vol. 6, No. 2, 1985, pp. 94-99). Naudotas žmogaus fermentas aromatazė. Fermentas gautas iš žmogaus placentos, kurioje šio fermento yra daug. Mikrosomų frakcija (100000 g nuosėdos) paruošta centrifugavimo būdu. Fermento preparatas naudotas be papildomo valymo. Bandomi junginiai, išvardinti 1 lentelėje, buvo pridedami kartu su 100000 dpm 1,2[³H]-androsteno-3,17-dionu ir NADPH generacijos sistema. Bandomų junginių koncentracijos buvo 0,001; 0,01; 0,1 ir 1,0 mM. Inkubuota 40 min. 37°C temperatūroje. 1,2[³H]-androsteno-3,17-diono aromatizacijos metu susidaro ³H₂O. Tričio vanduo ir substratas su tričiu lengvai atskiriamas Sep-Pak[®] minikolonėlėje, kuri absorbuoja steroidą, bet laisvai praleidžia vandenį. Radioaktyvumas matuotas skystos scinciliacijos skaitikliu. Aromatazės inhibicija įvertinta, palyginus inhibitoriumi paveiktų

bandinių $^3\text{H}_2\text{O}$ radioaktyvumą su kontrolinių bandinių be inhibitoriaus radioaktyvumu. Apskaičiuotos IC-50 reikšmės, reiškiančios koncentracijas, kurios inhibuoja fermento aktyvumą 50 %. Šios koncentracijos pateiktos 2 lentelėje.

Cholesterolio šoninių grandinių atskėlimo (SCC) aktyvumas (desmolazė) matuotas Pasaneno ir Pelkoneno metodu (Steroids 43:517-727, 1984). Inkubuota 1,5 ml Eppendorfo plastmasiniuose mėgintuvėliuose, o Eppendorfo kratiklis, centrifuga ir inkubatorius naudoti kaip blokas. 300 μl inkubuojamo tūrio substratas (5 μM) paruoštas pagal Hanukoglu ir Jefcoate'ą (J. Chromatogr. 190:256-262, 1980, ir į jį pridėta 100000 dpm radioktyvaus ^3H -4-cholesterolio (junginio grynumas patikrintas plonasluoksne chromatografija), ištirpinto 0,5 % Tween 20, 10mM MgCl_2 , 5 μM cianoketono ir 2 mM NADPH. Kontroliniuose bandiniuose buvo tos pačios medžiagos, tačiau prieš inkubaciją fermento preparatas buvo inaktyvuotas, pridėjus 900 μl metanolio. Kaip fermento šaltinis naudota žmogaus placentos arba jaučio antinksčių mitochondrijos frakcija (1 mg proteino). Po 30 min. inkubacijos 37°C temperatūroje reakcija nutraukta, pridėjus 900 μl metanolio. Pridėjus į kiekvieną inkubatą po 1500 dpm žymėto ^{14}C -4-pregnenolono, mėgintuvėliai buvo energingai purtomi. Po 10 min., pasiekus pusiausvyrą, metanolio nusodinti proteinais atskirti centrifugoje (8000 x g, 2 min.), o viršuje esantis skystis nusiurbtas į 1 ml plastmasinę injekcijų švirkštą ir suleistas į pusiausvyroje esančią (75 % metanolio) minikolonėlę. Kolonėlė perplauta vienu ml 75 % metanolio, po to 3 ml 80 % metanolio. 80 % metanolio eliuatas suleistas į matavimo indą, į kurį pridėta 10 ml scinciliacijos skysčio. Radioaktyvumas matuotas skystos scinciliacijos skaitikliu (LKB RackBeta), naudojant dvigubo žymėjimo programą. Tipiškos placentos ir jaučio antinksčių preparatų aktyvumo reikšmės buvo atitinkamai

0,5-3 ir 50-100 pmol susidariusio pregnenolono/mg proteino/min.

5 Inhibicijos bandymuose medžiaga (galutinių koncentracijų ribos nuo 1 iki 1000 μM) buvo pridedama į inkubacijos mišinį po 10-20 μl , paprastai ištirpinta metanolyje arba etanolyje. Toks pat tirpalo kiekis buvo pridedamas į kontrolinį inkubacijos indą. IC-50 reikšmės (koncentracijos, sąlygojančios 50 % inhibiciją) nustatytos grafiškai ir pateiktos 2 lentelėje.

1 lentelė. Bandyti junginiai

Nr. Pavadinimas

1. 4-(2,4-difenilbutil)-1H-imidazolas
2. 4-[2-(4-fluorfenil)-4-fenilbutil]-1H-imidazolas
3. 4-[2,4-bis(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolas
4. 4-[2-(4-cianofenil)-4-(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolas

15 **2 lentelė. Žmogaus aromatazės ir desmolazės inhibicija bandomais junginiais. IC-50 reiškia koncentraciją, kuri inhibuoja fermentą 50 %**

Junginio	AROMATAZĖ	DESMOLAZĖ
Nr.	IC-50, $\mu\text{mol/l}$	IC-50, $\mu\text{mol/l}$
1.	5,5	12
2.	2,2	28
3.	1,3	20
4.	0,5	6,6

20 Peroralinė dienos dozė pacientui yra maždaug nuo 20 iki 200 mg.

25 Aštrus toksiškumas (LD_{50}) nustatytas jaunoms suaugusioms NMRI kamieno pelėms. Junginiai duoti peroraliai. 4-[2,4-bis(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolo LD_{50} reikšmė yra 400 mg/kg.

Išradimą iliustruoja šie pavyzdžiai.

¹H BMR spektrai nustatyti Bruker AC-P300 prietaisu.

- 5 Standartas - tetrametilsilanas. MS spektrai nustatyti Kratos MS80RF Autoconsole prietaisu.

1 pavyzdys

- 10 a) 1-benzil-5-[2-(4-fluorfenil)-4-fenil-1-butenil]-1H-imidazolas

I kolbą pridėta Zn (41,7 g, 0,642 mol) ir 200 ml tetrahidrofurano. I mišinį 0-10°C temperatūroje sulašintas TiCl₄ (60,3 g, 0,321 mol), tada mišinys viena valandą virintas su grįžtamu šaldytuvu. Po to kambario temperatūroje i mišinį pridėta 12,2 g (0,054 mol) 4'-fluorpropiofenono ir 14,9 g (0,080 mol) 1-benzil-5-imidazolilaldehido, ištirpintų 250 ml THF. Mišinys užvirintas ir virintas su grįžtamu šaldytuvu 3 valandas. Atšaldžius iki kambario temperatūros, mišinys išpiltas i 10 % K₂CO₃ tirpalą. Pridėjus tolueno, mišinys nufiltruotas per kvarcinį smėlį, tolueno fazė atskirta, o vandens sluoksnis vėl ekstrahuotas toluenu. Tolueno ekstraktai sujungti, perplauti vandeniu, išdžiovinti MgSO₄ ir išgarinti iki sausumo. Gautas produktas išgrynintas "flash" (staigia) chromatografija metileno chloridu ir metanoliu (9,75:0,25) kaip eliuentu.

- 30 MS: 382(14, M⁺), 291(34), 200(4), 91(100)

Tuo pačiu būdu gauti, pavyzdžiui, tokie šiuo išradimu apimami junginiai:

- 35 1-benzil-5-(2,4-difenil-1-butenil)-1H-imidazolas

MS: 364(30, M⁺), 273(72), 182(9), 91(100), 65(11)

1-benzil-5-[2,4-bis(4-fluorfenil)-1-butenil]-1H-imidazolas

MS: 400(31, M^+), 291(73), 200(9), 109(35), 91(100)

5

^1H NMR (kaip HCl druska, CDCl_3):

2.62 (trūkės t, 2H), 2.82 (trūkės t, 2H), 5.34 (s, 2H),
6.20 (s, 1H), 6.43 (s, 1H), 6.86-7,5 (m, 13 H), 8,93
10 (s, 1H).

b) 4-[2-(4-fluorfenil)-4-fenilbutil]-1H-imidazolas

1-benzil-5-[2-(4-fluorfenil)-4-fenil-1-butenil]-1H-
15 imidazolas (4,58 g, 0,0012 mol) ištirpintas etanolio-
vandens mišinyje (25:15). Į mišinį pridėta 0,46 g 10 %
Pd/C ir 3,8 g (0,06 mol) amonio formiato, ištirpinto 15 ml
vandens. Po dviejų valandų virinimo su grįžtamu
šaldytuvu mišinys nufiltruotas, o filtratas išgarintas
20 iki sausumo. Liekana ištirpinta metileno chloride ir
kelis kartus perplauta vandeniu. Metileno chloridas
išgarintas, o liekana ištirpinta 2 M vandenilio chlo-
rido tirpale. Tirpalas du kartus ekstrahuojamas dietilo
eteriu. Vandens sluoksnis pašarintas ir ekstrahuotas
25 metileno chloridu. Metileno chlorido fazė išdžiovinta
ir išgarinta iki sausumo. Tada produktas paverstas į
hidrochlorido druską dietilo eteriųjų sausomis vande-
nilio chlorido dujomis.

30 MS: 294(12, M^+), 203(36), 190(28), 109(28), 91(100),
82(42)

Tuo pačiu būdu gauti, pavyzdžiui, tokie šio išradimo
apimami junginiai:

35

4-(2,4-difenilbutil)-1-H-imidazolas

MS: 276(14, M^+), 185(31), 172(24), 91(100), 82(43)

^1H NMR (kaip bazė, CDCl_3):

5 1.9-2.1 (m, 2H), 2.4-2.5 (m, 2H), 2.8-3.0 (m, 3H), 6.53 (s, 1H), 7.0-7.4 (m, 11H).

4-[2,4-bis(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolas

10 MS: 312(4, M^+), 203(16), 190(22), 109(100), 91(9), 81(52)

^1H NMR (kaip HCl druskos, MeOH-d_4):

15 1.95-2.1 (m, 2H), 2.4-2.5 (m, 2H), 2.9-3.1 (m, 3H), 6.9-7.25 (m, 9H), 8.68 (s, 1H).

2 pavyzdys

20 4-[2-(4-cianofenil)-4-(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolas

a) 1-benzil-5-[2-(4-cianofenil)-4-(4-fluorfenil)-1-butenil]-1H-imidazolas

25 4,46 g titano tetrachlorido -10°C temperatūroje sauso azoto atmosferoje sulašinti į cinko miltelių (3,08 g) suspensiją tetrahidrofurane (50 ml). Mišinys užvirintas ir virintas su grįžtamu šaldytuvu 1 valandą. Tirpalas atšaldytas iki kambario temperatūros ir į jį atitinkamai 1,0 g 1-(4-cianofenil)-3-(4-fluorfenil)-propan-1-ono tirpalas 25 ml tetrahidrofurano ir 0,73 g 1-benzil-5-imidazolkarbaldehido tirpalas 25 ml tetrahidrofurano. Mišinys 2 valandas maišytas kambario temperatūroje ir 6 valandas virintas su grįžtamu šaldytuvu. Tamsus mišinys išpiltas į vandenį (60 ml), pašarmintas 10 % kalio karbonato tirpalu ir ekstrahuotas toluolu. Toluolo tirpalas perfiltruotas per

30

35

kvarcinį smėlį, filtratas išgarintas, o liekana išgryninta "flash" (staigia) chromatografija.

MS: 407(M^+ , 8), 298(35), 109(13), 91(100).

5

b) 4-[2-(4-cianofenil)-4-(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolas

1-benzil-5-[2-(4-cianofenil)-4-(4-fluorfenil)-1-butenil]-1H-imidazolo hidrochloridas ištirpintas etanolyje ir pridėta 10 % Pd/C katalizatoriaus. Reakcijos mišinys energingai maišytas kambario temperatūroje vandenilio atmosferoje iki redukcijos ir debenzilinimo pabaigos. Reakcijos mišinys nufiltruotas ir išgarintas iki sausumo. Produktas išgrynintas "flash" (staigia) chromatografija.

15

^1H NMR (kaip HCl druskos, MeOH-d_4):

2.0-2.15 (m, 2H), 2.46 (t, 2H), 3.0-3.16 (m, 3H), 6.96 (t, 2H), 7.0-7.11 (m, 3H), 7.38 (d, 2H), 7.68 (d, 2H), 8.70 (s, 1H).

20

25

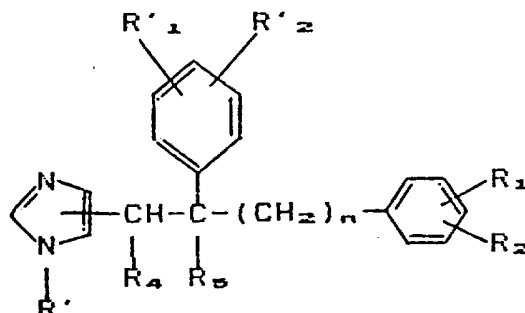
30

35

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Junginys, kuris yra pakeistas imidazolas, turintis formulę

5



kurioje R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra H, CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , OCH_3 , NO_2 , NH_2 , CN, CF_3 , CHF_2 , CH_2F arba halogenas;

10

R' yra H arba $-\text{CH}_2-$  $-\text{R}_3$, kur R_3 yra H, CH_3 arba halogenas; R_4 yra H

15

arba OH; R_5 yra H arba OH, arba R_4 ir R_5 kartu gali būti jungtis, o n yra nuo 1 iki 4, arba jo netoksiška farmacijai tinkama druska, kurią jis sudaro su rūgštimi.

20

2. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad R_4 ir R_5 abu yra H.

3. Junginys pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad R_1 , R_2 , R'_1 ir R'_2 visi yra H.

25

4. Junginys pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad R_1 ir R'_1 abu yra H, o R_2 ir R'_2 , kurie apibrėžti 1 punkte, abu yra fenilo grupės para- pozicijoje.

5. Junginys pagal 4 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad R_2 ir R'_2 (kurie gali būti tokie patys arba skirtingi) yra CN arba halogenas.
- 5 6. Junginys pagal 5 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad halogenas yra F.
7. Junginys pagal 1-6 punktus, b e s i s k i r i a n - t i s tuo, kad R' yra H.
- 10 8. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra 4-(2,4-difenilbutil)-1H-imidazolas arba netoksiška farmacijai tinkama jo druska, kurią jis sudaro su rūgštimi.
- 15 9. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis yra 4-[2-(4-fluorfenil)-4-fenilbutil]-1H-imidazolas arba netoksiška farmacijai tinkama jo druska, kurią jis sudaro su rūgštimi.
- 20 10. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n - t i s tuo, kad jis yra 4-[2,4-bis(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolas arba netoksiška farmacijai tinkama jo druska, kurią jis sudaro su rūgštimi.
- 25 11. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n - t i s tuo, kad jis yra 4-[2-(4-cianofenil)-4-(4-fluorfenil)butil]-1H-imidazolas arba netoksiška farma- cijai tinkama jo druska, kurią jis sudaro su rūgštimi.
- 30 12. Farmacinis preparatas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis susideda iš pakeisto imidazolo pagal bet kurį iš 1-11 punktų ir farmacijai tinkamo užpildo.
- 35 13. Junginys pagal bet kurį iš 1-12 punktų, skirtas naudoti aromatazės inhibavimui.