

(19)



(10) **LT 4789 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **4789**

(51) Int. Cl.⁷: **C07D333/64**
C07D409/12
C07D413/12
A61K 31/445

(21) Paraiškos numeris: **2000 075**

(22) Paraiškos padavimo data: **2000 07 28**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2001 02 26**

(45) Patent paskelbimo data: **2001 05 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: **146184, 1999 07 29, US**
147642, 1999 08 06, US
149820, 1999 08 19, US

(72) Išradėjas:

Julie Kay BUSH, US
Preston Charles CONRAD, US
Merlyn Gerard FLOM, US

(73) Patent savininkas:

ELI LILLY AND COMPANY an Indiana Corporation, Lilly Corporate Center,
Indianapolis, IN 46285, US

(74) Patentinis patikėtinis:

Marius JAKULIS JASON, A.A.A. Baltic Service Company, Rūdninkų g. 18/2,
2001 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Nauja 6-hidroksi-3(4-[2-(piperidin-1-il)-etoksi]fenoksi)-2-(4-
metoksifenil)benzo[b]tiofeno hidrochlorido kristalinė forma

(57) Referatas:

Šis išradimas yra skirtas naujam kristaliniam 6-hidroksi-3-(4-[2-(piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)benzo[b]tiofeno hidrochloridui ir jo panaudojimui, įskaitant inhibavimą ligų, susijusių su estrogeno stygiu, įskaitant širdies ir kraujagyslių ligas, hiperlipidemiją ir osteoporozę; ir inhibavimą kitų patologinių būklių, tokių kaip endometriozę, gimdos fibrozę, nuo estrogeno priklausomas vėžys (įskaitant krūtis ir gimdos vėžį),

prostatos vėžys, gėrybinė prostatos hiperplazija, CNS sutrikimai, įskaitant Alzheimerio ligą; krūties vėžio profilaktiką ir ChAT sureguliovimą.

5 **Išradimo prielaidos**

6-Hidroksi-3-(4-[2-(piperidin-1-il)-etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)benzo-
[b]tiofeno hidrochloridas (arzoksifenas) pirmą kartą buvo aprašytas JAV patente
Nr. 5510357 ir tiksliai atskleistas JAV patente Nr. 5723474 ('474) ir Europos
10 patento paraiškoje Nr. 0729956. Arzoksifenas yra nesteroidinis mišrus estrogeno
antagonistas/agonistas, galintis, be kita ko, pažeminti serumo cholesterolio lygį ir
inhibuoti hiperlipidemiją, osteoporozę, nuo estrogeno priklausomą vėžį, įskaitant
krūties ir gimdos vėžį, endometriozę, CNS susirgimus, įskaitant Alzheimerio ligą,
aortos lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją ir restenozę.

15 Konkrečiai, arzoksifenas yra naudingas ir klinikiniu požiūriu įvertintas gydant
metastazinį krūties vėžį; kaip pagalbinė priemonė gydant pacientus po tam tikros
sisteminės arba vietinės terapijos; sumažinant invazinio ir neinvazinio krūties vėžio
paplitimą; sumažinant invazinio krūties vėžio ir latakų karcinomos *in situ*
paplitimą. Arzoksifenas taip pat naudingas kartu su radioterapija, aromatazės
20 inhibitoriais, LHRH analogais ir acetilcholino esterazės (AChE) inhibitoriais.

Arzoksifeno, išskirto pagal metodikas, aprašytas '474, miltelių Rentgeno
spinduliuotės difrakcija (XRD), termogravimetrija (TGA), protonų magnetinis
rezonansas (¹H BMR) ir Karl Fischer (KF) analizė vėliau parodė, kad minėta
medžiaga yra hidratuota, menkai kristalinė ir kristale turi įvairius kiekius organinių
25 lakių medžiagų (etilo acetato).

Kompozicijos sudaryme menkai kristalinės medžiagos paprastai mažiau
pageidautinos nei gerai kristalinės. Be to, paprastai nepageidautina įtraukti į
kompoziciją farmacinės medžiagas, turinčias žymų organinio tirpiklio (pavyzdžiui,
etilo acetato) kiekį dėl potencialaus tirpiklio toksiškumo kompozicijos vartotojui ir
30 farmacinės medžiagos veikimo pakitimų dėl tirpiklio buvimo.

Nors arzoksifenas, pagamintas pagal '474 aprašytas metodikas, galėtų būti vartojamas kaip vaistinė medžiaga, būtų labai pageidautina ir naudinga turėti daugiau arzoksifeno kristalinių formų, kurios neturėtų kristalo viduje organinio tirpiklio ir būtų atsikartojančiai ir efektyviai gaminamos komerciniu mastu.

5

Išradimo santrauka

Šis išradimas susijęs su nauja 6-hidroksi-3-(4--[2-(piperidin-1-il)-etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)benzo[b]tiofeno hidrochlorido (F-III) nestechiometriškai hidratuota kristaline forma, turinčia Rentgeno spinduliuotės difrakcijos spektre, gautame su vario radiacijos šaltiniu 25 ± 2 °C temperatūroje ir esant 35 ± 10 % santykiniam drėgnumui, tokius maksimumus: $4,6 \pm 0,2$, $7,8 \pm 0,2$, $9,3 \pm 0,2$, $14,0 \pm 0,2$, $17,6 \pm 0,2$, $20,8 \pm 0,2$ ir $24,3 \pm 0,2$, esant 2θ...

Šis išradimas dar susijęs su farmacine kompozicija, susidedančia iš F-III; vieno arba daugiau farmacinių nešiklių, skiediklių arba užpildų; pasirinktinai, estrogeno, pasirinktinai, progestino, pasirinktinai, aromatazės inhibitoriaus, pasirinktinai, LHRH analogo ir, pasirinktinai, acetilcholinesterazės (AChE) inhibitoriaus.

Be to, šis išradimas yra susijęs su F-III panaudojimo inhibuoti patologines būkles, tokias kaip gimdos fibrozė, endometrioze, aortos lygiųjų raumenų ląstelių proliferacija, restenozė, krūties vėžys, gimdos vėžys, prostatos vėžys, gėrybinė prostatos hiperplazija, kaulų išretėjimas, osteoporozė, širdies ir kraujagyslių susirgimas, hiperlipidemija, CNS sutrikimai ir Alzheimerio liga, būdais ir su F-III panaudojimu gaminti medikamentus tų pačių būklių inhibavimui.

Šis išradimas dar susijęs su F-III panaudojimo cholino acetiltransferazės (ChAT) sureguliuavimui būdais ir su panaudojimu gavimui medikamentų, skirtų šiam sureguliuavimui.

Trumpas brėžinių aprašymas

Fig.1 yra S-II diferencinės skenuojančios kalorimetrijos (DSC)/TGA vaizdas.

Fig.2 yra F-I (DSC)/TGA vaizdas.

5 Fig.3 yra F-III (DSC)/TGA vaizdas.

Fig.4 vaizduoja F-I ir F-III drėgmės sugėrimo izotermas.

Fig.5 vaizduoja S-II desolvacijos priklausomybę nuo džiovinimo laiko ir temperatūros.

10 Smulkus išradimo aprašymas

Arzoksifenas, pagamintas pagal '474 aprašytą metodiką (41 pavyzdys, kristalinimas iš etanolio ir etilo acetato mišinio, filtravimas ir nufiltruotos medžiagos džiovinimas vakuume kambario temperatūroje iki pastovios masės), buvo charakterizuotas XRD duomenimis ir nustatyta, kad medžiaga yra menkai kristalinė. ¹H BMR duomenys patvirtino, kad visoje medžiagoje yra 6 % etilo acetato.

Kristalinimo metodika, aprašyta '474, toliau modifikuota tokiu būdu, kad etanolis pridedamas į nevalyto arzoksifeno suspensiją verdančiame etilo acetate. Atšaldžius ir nufiltravus vakuume, šioje modifikuotoje procedūroje gauta kietą medžiaga yra gerai kristalinis arzoksifeno mišrus solvatas su etilo acetatu ir vandeniu (toliau vadinamas S-II), kuris vėliau tapo pradine medžiaga F-I gamyboje (kita nestechiometrinė hidratuota kristalinė arzoksifeno forma).

F-I gali būti pagamintas pašalinat etilo acetatą iš S-II kristalų džiovinant S-II vakuume/atkaitinant paaukštintose temperatūrose. Laikas ir temperatūra, reikalingi atkaitinti S-II, siekiant gauti F-I, skirsis įvairiuose mėginiuose, tačiau tipiška yra 5 dienų ir maždaug 100 °C eilės. Kad S-II virstų šioje procedūroje į F-I, reikalingos aukštos temperatūros, kadangi S-II sumaišius su vandeniu kambario temperatūroje arba palaikius 3 savaites 98 % santykinio drėgnumo aplinkoje,

negauta jokio virtimo į F-I. Be to, S-II džiovinimas konvekciniėje krosnyje aukštos temperatūrose taip pat nedesolvatuoja medžiagos, kas leidžia manyti, jog etilo acetato išstūmimui iš S-II kristalų reikalingas vakuumas. Geriausia, F-I lengvai gaunamas ir išskiriamas kambario temperatūroje kristalinant arzoksifeną (arba bet kokį jo polimorfą/solvatą) iš tetrahidrofurano.

Pagal šį išradimą arzoksifeno forma, kuriai ypač teikiama pirmenybė yra F-III. F-III lengvai gaunamas ir išskiriamas kambario temperatūroje. Gaunant F-III, mažiems liekamojo kristalizacinio tirpiklio kiekiams pašalinti reikia tik vidutinių džiovinimo sąlygų. Šiose vidutinėse džiovinimo sąlygose pastoviai gaunama kieta didelio švarumo laipsnio (t.y., neturinti liekamojo organinio tirpiklio) ir gerai kristalinė medžiaga, ir, tokiu būdu, F-III panaudojimas eliminuoja toksiškumo priežastį, susijusią su liekamuoju ir kristale esančiu organiniu tirpikliu. Be to, F-III gavimas yra paprastas ir efektyvus, t.y., tinka gamybai dideliu mastu.

F-III lengvai gaunamas ir išskiriamas kambario temperatūroje kristalinant arzoksifeną (arba bet kokį jo polimorfą/solvatą) iš izopropilo alkoholio (IPA) ir vandens mišinio. Paprastai arzoksifenas gali būti suspenduojamas IPA ir vandens mišinyje ir kaitinamas, kad ištirptų pradinė arzoksifeno medžiaga. Kai ji ištirpsta, tirpalui leidžiama lėtai atvėsti iki kambario temperatūros ir po to dar (ledo vonios arba šaldytuvo pagalba) iki 0-5 °C. Kai praeina pakankamai laiko, kad įvyktų kristalizacija, kristalai gali būti atskiriami filtruojant vakuume, ir išdžiovinami vakuume iki pastovios masės, gaunant F-III didesnę nei 80 % išeigą.

Šiam kristalinimui tinkama pradinė arzoksifeno medžiaga apima, bet neapsiriboja, S-II, F-I, pagal '474 metodikas pagamintą arzoksifeną, arba bet kokį jų mišinį. Nesvarbu, nuo kokios arzoksifeno formos pradedama, kadangi kristalinimas iš IPA ir vandens pagal čia aprašytą metodiką duoda F-III kristalus. Vandens santykis su IPA (t/t) paprastai yra maždaug 1:1 iki 9:1. Geriau, kai santykis yra tarp 2,5 ir 5,6:1. Geriausia, kai santykis yra tarp 3 ir 5,6:1. Atskyrus kristalus filtruojant vakuume, drėgnas F-III prieš džiovinimą vakuume gali būti perplautas šaltu dejonizuotu vandeniu. Be to, teikiama pirmenybė šiek tiek

aukštesnėms džiovinimo temperatūroms (apie 50 °C 12-24 val.). Komercinės apimties F-III sintezei gali būti naudinga inicijuoti kristalinimąsi F-III.

Gavimo būde, kuriam teikiama pirmenybė, F-III yra gaunamas, išskiriamas ir išgryninamas chemiškai pašalinant hidroksilą blokuojančią 6-izopropilo grupę nuo 6-izopropoksi-3-(4-[2-(piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)benzo[b]tio-
5 feno hidrochlorido (prekursorius A). Pilnam blokuojančios izopropilo grupės pašalinimui, deblokavimo reakcija sekama ir, kai tik nustatoma, kad deblokavimas pilnai įvyko, reakcijos mišinys apdorojamas taip, kad vyktų kristalizacija, duodanti F-III, kaip aptarta aukščiau ir po to. Prekursoriaus A gavimo ir izopropilo grupės
10 pašalinimo būdai aprašyti JAV patente Nr. 5723474, kuris čia cituojamas.

Kitame gavimo būde, kuriam teikiama pirmenybė, F-III yra gaunamas, išskiriamas ir išgryninamas chemiškai redukuojant S-oksidą ir chemiškai pašalinant blokuojančią benzilo grupę nuo 6-benziloksi-3-(4-[2-(piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-
2-(4-metoksifenil)benzo-[b]tiofeno S-oksido (prekursorius B). Pilnam sulfoksido
15 suredukavimui iki sulfido ir pilnam blokuojančios benzilhidroksigrupės pašalinimui, sekamos redukcijos ir deblokavimo reakcijos. Kai tik nustatoma, kad redukcija/deblokavimas pilnai įvyko, reakcijos mišinys apdorojamas taip, kad vyktų
kristalizacija, duodanti F-III, kaip čia aptarta. Prekursoriaus B gavimo, benzilo
20 grupės pašalinimo ir 1-sulfoksido redukcijos iki atitinkamo sulfido metodikos taip apt gali būti rastos aukščiau čia cituotame JAV patente Nr. 5723474.

Nepriklausomai nuo metodų, panaudotų deblokavimo ir redukcijos stadijose, arzoksifeno kristalinimas iš IPA/vandens tirpalų pastoviai duoda didelio grynumo F-III kristalus.

25 S-II, F-I ir F-III charakterizavimas ir identifikavimas

S-II, F-I ir F-III charakterizuoti naudoti DSC/TGA ir XRD metodai. TGA dažnai gerai tinka skirtingų kietos medžiagos formų identifikavimui, kadangi temperatūra(os), kurioje vyksta medžiagos fizikiniai pokyčiai, paprastai yra

polimorfinės formos arba solvato charakteristika. DSC yra metodas, dažnai naudojamas atrinkti junginius pagal polimorfizmo ir solvato susidarymo požymį. Be to, XRD metodas leidžia kristalinėje medžiagoje nustatyti dideles tvarkingas struktūras.

5 Arzoksifenas, pagamintas pagal '474 aprašytas metodikas, duoda XRD spektrą su prastu signalo-triukšmo santykiu ir aukšta fono linija, kas rodo esant menkai kristalinę medžiagą. Todėl atlikti F-I ir F-III palyginimai su medžiaga (S-II), gauta pagal modifikuotą arzoksifeno kristalinimo metodiką (etanolio pridėjimas į virinamą arzoksifeno suspensiją etilo acetate).

10 Charakterizuojančios S-II, F-I ir F-III DSC/TGA kreivės parodytos, atitinkamai, Fig. 1, 2 ir 3. S-II DSC kreivėje matyti plati endoterma, prasidedanti ties maždaug 62 °C, atitinkanti etilo acetato ir vandens pašalinimą iš kristalo. Endoterma, prasidedanti ties maždaug 152 °C, atspindi lydymąsi. Maždaug 2,5 % masės sumažėjimas pagal TGA vyksta kartu su pirmu perėjimu, tuo tarpu likęs 0,5
15 % masės praradimas vyksta iki pat lydymosi pradžios, kas leidžia manyti, kad kai kurios tirpiklio molekulės yra tvirčiau surištos kristale.

F-I DSC kreivėje matyti plati endoterma, prasidedanti ties maždaug 75 °C, ir antra endoterma, prasidedanti ties maždaug 15 °C, kuri atspindi lydymąsi. F-I TGA kreivė rodo tolygų masės mažėjimą 0,3 % su po to sekančiu staigiu masės
20 sumažėjimu 1,5 %, kai abu mažėjimai rodo kristalo dehidrataciją. Pirmo perėjimo DSC pradžia ir atitinkamas masės sumažėjimas TGA dėl skirtingų kaitinimo greičių yra menkai subalansuoti. Pradinis masės praradimas atspindi silpnai surištą hidratacinį vandenį, tuo tarpu antras masės praradimas susijęs su maždaug 0,5 molio vandens, esančio kristale prie labai mažo drėgnumo (mažiau 5 % - žiūr. drėgmės
25 sugėrimo duomenis).

F-III DSC kreivėje matyti plati žematemperatūre endoterma ties maždaug 30 °C, po to antra plati ir santykinai silpna endoterma, prasidedanti ties maždaug 70 °C ir galutinis perėjimas, prasidedantis ties maždaug 146 °C, atitinkantis lydymąsi. Staigus 1,5 % (~ 0,5 molio) masės praradimas, TGA sutampantis su pirma

endoterma, atitinka silpnai surišų vandens molekulių praradimą, tuo tarpu papildomas ~1,6 % masės praradimas virš 60 °C atspindi stipriau surišų vandens molekulių praradimą, t.y., tų, kurios yra esant labai mažam santykiniam drėgnumui. Masės praradimas, stebimas virš 170 °C, atitinka F-III skilimą.

5 F-I ir F-III XRD spektre matyti ryškūs maksimumai ir žema bazinė linija, kas rodo gerai kristalinę medžiagą. Maksimumų kampo padėtys esant 2θ ir atitinkami I/I₀ duomenys F-I, F-III ir S-II pavyzdžiams pateikti 1 lentelėje. Nors daugelis intensyvių atspindžių paprastai turi panašius difrakcijos kampus, kiekviena iš formų duoda skirtingą miltelių spektrą, kas leidžia aiškiai atskirti S-II, F-I ir F-III.

10 Kristalografijoje gerai žinoma, kad bet kurios polimorfinės formos difrakcijos maksimumų santykiniai intensyvumai gali skirtis dėl vyraujančios orientacijos, atsirandančios dėl tokių faktorių kaip kristalo morfologija. Ten, kur pasireiškia vyraujančios orientacijos efektas, maksimumų intensyvumas yra padidintas, bet charakteringų polimorfinės formos maksimumų padėtis lieka nepakitusi. Žiūr.,
15 pavyzdžiui, The United States Pharmacopeia # 23, National Formulary # 18, p. 1843-1844, 1995. Tokiu būdu, maksimumų intensyvumo ir jų padėties pagrindu F-III gali būti identifikuotas maksimumų ties $4,6 \pm 0,2$, $7,8 \pm 0,2$; $9,3 \pm 0,2$; $14,0 \pm 0,2$; $17,6 \pm 0,2$; $20,8 \pm 0,2$ ir $24,3 \pm 0,2^\circ$, esant 2θ , pagalba, kai spektras gautas su vario radijacijos šaltiniu 25 ± 2 °C temperatūroje ir esant 35 ± 10 % santykiniam
20 drėgnumui.

1 LENTELE

S-II		F-I		F-III	
$2\theta (^{\circ})$	$I/I_0 (\%)$	$2\theta (^{\circ})$	$I/I_0 (\%)$	$2\theta (^{\circ})$	$I/I_0 (\%)$
4,67	1,3	4,92	2,6	4,63	20,8
5,03	6	7,69	34,6	7,82	100
6,83	5,8	7,91	100	9,29	16,9
7,17	16,1	9,89	2,5	10,16	22,7
7,73	100	10,22	2	10,35	5,4
9,03	1,3	10,74	7,4	13,77	10,7
9,31	1,7	14,86	9,1	13,97	15,2
9,66	2,4	15,45	2,3	15,06	6,9
10,27	1,6	15,92	15,9	15,71	22,3
10,47	2,2	16,67	1,7	15,87	7,4
10,91	6,3	16,98	3,1	16,35	34,5
13,63	2,1	18,28	17,8	16,77	12,3
14,09	4,6	18,56	7	17,28	10
15,10	4,1	20,58	13,1	17,62	47,9
15,52	10,5	20,85	8,8	18,09	43,9
16,45	9,1	21,64	3,9	20,43	42
16,67	7,6	22,19	4,8	20,80	33,6
17,21	4,9	22,65	2,9	21,31	42,7
17,53	2,4	23,28	3,4	21,71	13
18,33	28,2	23,97	11,8	21,85	14,5
18,69	11,1	24,31	6,3	22,13	12,8
19,37	3,5	25,52	3,9	22,26	16,3
20,29	8,6	26,20	3,4	23,51	13,2
20,64	17,2	26,47	3,1	23,69	15,9
21,02	12,7	28,84	6,4	23,91	25,6
21,68	5,1	30,13	3,5	24,31	38,7
22,01	8,3	31,12	2,9	25,22	8
22,29	8			25,67	8,9
23,17	7,8			27,05	18,9
23,39	9,1			27,89	13,3
24,30	13,6			28,24	8,6
25,76	3,4			28,71	21,3
26,05	4			29,89	8,9
26,63	5,5			30,24	18,7
27,01	3,1			30,88	5,8
27,49	2,8			31,44	7,6
28,10	1,8			33,06	4,5
28,73	10,9			34,36	6
29,42	3,2				
30,00	3,7				
30,89	2,1				
31,34	2,4				
31,70	1,1				
32,81	1				
32,91	0,8				
33,48	2				

Kitos F-I ir F-III charakteristikos

Atlikti F-I ir F-III higroskopiškumo tyrimai. F-I ir F-II drėgmės sugėrimo izotermos parodytos Fig. 4. Pradžioje patalpinus pavyzdžius maždaug 5 % santykinio drėgnumo aplinkoje, F-I ir F-III masė greitai padidėjo, atitinkamai, 1,5 ir 1,7 %, kas atitinka maždaug 0,5 molio vandens. Abi formos rodo tolygų drėgmės sugėrimą visame drėgmės intervale, kas, matyti, susiję su vandens molekulių įtraukimu į kristalinę gardelę.

Abiejų formų drėgmės sugėrimo skirtumai, matyti, atspindi vandens kiekį, kuris gali būti įtrauktas į kristalinę gardelę (t.y., esamą kristalinėje gardelėje erdvę, kurią gali užimti vandens molekulės). Histerezės nebuvimas F-I ir F-III sorbcijos-desorbcijos izotermose rodo, kad tarp kristalo formų greitai nusistovi pusiausvyra esant bet kokiam drėgnumui.

F-I ir F-III drėgmės sugėrimo profiliai rodo, kad šios formos yra iš esmės nestechiometriniai hidratai. Esant įprastam santykiniam drėgnumui (apie 50 %), F-I turi maždaug 1,7 % vandens, kas atitinka 0,5 molio vandens, tuo tarpu F-III yra sugėręs apie 3 % vandens, kas atitinka maždaug 0,85 molio vandens. Tarp F-I ir F-III bei atmosferos greitai nusistovi pusiausvyra, taigi vandens kiekis, stebimas analitiniais metodais, atspindi santykinį drėgnumą tyrimų momentu. Skirtumai tarp atskirų serijų DSC duomenų, matyti, kyla dėl to, kad atskiri pavyzdžiai dėl skirtingų laikymo sąlygų yra nevienodai hidratuoti.

Gauti F-I ir F-III, laikytų skirtingose santykinio drėgnumo sąlygose (0, 22, 50 ir 80 %) XRD spektrai. Stebimas palaipsnis F-III maksimumų ties maždaug 13,8, 17,6, 18,0, 20,5 ir 24,0°, esant 2 θ , pasislinkimas lyginant su pradiniais (0 % santykinio drėgnumo), taip pat didėjant santykiniam drėgnumui šiek tiek slenkasi mažiau intensyvūs maksimumai. Šie F-III XRD spektre stebimi pokyčiai rodo, jog didėjant santykiniam drėgnumui elementarios gardelės matmenys keičiasi, matyt, kad įjungtų silpnai surištas vandens molekules. Nuoseklus maksimumų pasislinkimas keičiantis drėgnumui gerai koreliuoja su sorbcijos duomenimis, kurie

rodo laipsnišką masės didėjimą šiame santykinio drėgnumo intervale, tuo įrodydami įvairių hidratų susidarymą.

Panašus eksperimentas atliktas su F-I, siekiant nustatyti, ar santykinio drėgnumo kitimai darys panašią įtaką jo kristalui (0, 25, 52, 73 ir 95 % santykinio drėgnumo). Didėjant santykiniam drėgnumui, stebimas labai mažas maksimumų esant 0 % santykinio drėgnumo ties maždaug 7,7; 18,3; 18,5; 20,5; 20,8°, esant 2θ, pasislinkimas. Maksimumai ties maždaug 7,7; 20,8 ir 24,1 esant didesniems drėgnumams taip pat tampa šiek tiek platesni ir silpniau išreikšti, kas rodo, jog vandenį sugeria amorfiniai komponentai (arba plastifikuoja kietą medžiagą), ypač esant 73 ir 95 % santykiniam drėgnumui. Maksimumų pasislinkimas F-I XRD spektre mažiau ryškus nei stebimas F-III atveju skirtinguose santykinuose drėgnumuose. Tai leidžia manyti, kad F-I atveju nevyksta tokie kristalo išsiplėtimai ir/arba susitraukimai kaip F-III atveju.

Nustatyta, kad F-I ir F-III yra stabilūs visame santykinio drėgnumo intervale, nepaisant F-III sugebėjimo sugerti dukart tiek vandens. Nustatyta, kad abi formos turi palyginamus kristalų dydžius, morfologiją, tirpumą ir tirpimo greitį.

Atlikti džiovavimo eksperimentai, siekiant nustatyti S-II desolvacijos priklausomybę nuo džiovavimo laiko ir temperatūros (žiūr. Fig.5). Desolvacijos eksperimento įvairiais momentais užrašyti XRD spektrai. S-II desolvacijos tyrimuose daugelis difrakcijos maksimumų yra prie tų pačių kampų, kaip ir F-I, kas patvirtina, jog S-II ir F-I kristalai yra labai panašūs. Tai, kad po minimalaus džiovavimo išnyksta difrakcijos maksimumai ties maždaug 6,8; 7,2 ir 14,0°, 2θ, leidžia manyti, kad šie atspindžiai susiję su kristalografinėmis plokštumomis, turinčiomis dalį etilo acetato molekulių elektroninio tankio.

Solvatuotos medžiagos atkaitinimas vakuume aukštoje temperatūroje davė F-I. Šiuo būdu gautas F-I pagal XRD duomenis pasižymi dideliu kristališkumu. Todėl medžiaga, gauta kristalinant iš etanolio ir etilo acetato ir po to džiovinta vakuume tik keletą valandų, kaip aprašyta '474, pasižymi labai menku kristališkumu, kadangi pagal šią procedūrą gaunamas dalinai desolvuotas S-II.

Palyginus su aukščiau aprašyta iš technikos lygio žinoma arzoksifeno forma, F-I ir F-III turi keletą privalumų. Lyginant su pagal '474 metodikas gautu arzoksifenu, F-I ir F-III yra stabilesni kambario temperatūroje, todėl labiau pasiduodantys farmaciniais patobulinimams, t.y., dozuotų kompozicijų patobulinimams. Be to, F-I ir F-III yra labiau kristališki negu '474 aprašyta forma. Kristalinės medžiagos paprastai yra mažiau higroskopiškos ir stabilesnės (pavyzdžiui, mažiau linkusios chemiškai skilti, išlaiko pastovų veikimą) negu amorfinės medžiagos ir todėl geriau tinka kompozicijų sudarymui. Be to, priešingai negu pagal '474 metodikas pagamintas arzoksifenas, kuris savo kristaluose turi etilo acetato ir vandens, F-I ir F-III turi tik vandens.

Charakterizavimo metodai

DSC matavimai atlikti TA Instruments 2920 Modulated DSC, sujungtu su Thermal Analyst 3100 ir turinčiu aušinimo sistema. Mėginiai (3-5 mg) buvo kaitinami gofruotuose aliuminio tigluose nuo 10 iki 240 °C, kaitinimo greičiui esant 2 °C/min.

TGA analizė atlikta TA Instruments 2050 termogravimetriniu analizatorium, sujungtu su Thermal Analyst 3100. Mėginiai (5-10 mg) kaitinti atviruose tigluose nuo 25 °C iki 250 °C, kaitinimo greičiui esant 5 °C/min.

XRD spektrai gauti Siemens D5000 miltelių Rentgeno spinduliuotės difraktometru, turinčiu $\text{CuK}\alpha$ šaltinį ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) ir Kevex kieto būvio detektoriumi, dirbančiu prie 50 kV ir 40 mA. Kiekvienas pavyzdys skenuojamas tarp 4° ir 35°, esant 2θ. Prieš registruojant duomenis, pavyzdžiams leidžiama pasiekti pusiausvyrą mažiausiai per 30 minučių norimoje temperatūroje ir/arba santykiname drėgnume.

F-I ir F-III higroskopiškumo matavimai atlikti naudojant VTI metodą kaip aprašyta toliau. Kiekvienas mėginys džiovinamas vakuume 60 °C temperatūroje, kol masė nustoja mažėti ir tuo metu tyrimo kameroje padaromas 0 % santykinis

5 Toliau pateikti pavyzdžiai iliustruoja hidratų gavimo būdą pagal šį išradimą.
Pavyzdžiai jokių požiūriu neriboja šių būdų apimtį.

10

F-III gavimas iš 6-izopropoksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-benzo[b]tiofeno hidroklorido

Į 6-izopropoksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-
15 benzo[b]tiofeno hidrochlorido (10 g, 18 mmol) tirpalą 100 ml metileno chlorido
azoto atmosferoje, temperatūroje nuo -10 iki -20 °C, pridedama BCl₃ (4,23 g, 34
mmol) tokiu greičiu, kad reakcijos mišinio temperatūra liktų žemiau -10 °C.
Sudėjus, reakcijos mišinys maišomas dar 2 val. Žemesnėje nei -10 °C
temperatūroje lėtai sulašinamas izopropilo alkoholis (IPA, 12,35 ml, 167 mmol) ir
20 maišymas tęsiamas dar 30 minučių. Į atskirą kolbą įpilama 100 ml vandens ir ledo
vonioje atšaldoma iki maždaug 0 °C. Produkto tirpalas per piltuvėlį supilamas į
vandenį, energingai maišant. Susidariusi tiršta balta suspensija maišoma 0 °C
temperatūroje 1 val. Produktas atskiriamas filtruojant, praplaunamas 25 ml 40 %
CH₂Cl₂/vandens mišiniu, po to 25 ml šalto vandens. Produktas suspenduojamas 60
25 ml IPA ir 60 ml vandens ir kaitinamas iki 60 °C. Ištirpsta 48 °C temperatūroje.
Pridedama dar 120 ml vandens. Tirpalas atšaldomas iki 35 °C ir suspensija toliau
lėtai šaldoma iki 0-5 °C bei maišoma kelias valandas. Produktas nufiltruojamas ir
praplaunamas šaltu dejonizuotu vandeniu (25 ml). Drėgna F-III medžiaga

džiovinama vakuume 50 °C temperatūroje 12-24 val. iki pastovios masės ir gauna F-III.

2 pavyzdys

- 5 F-III gavimas iš 6-benziloksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-benzo[b]tiofeno S-oksido

- Į 250 ml talpos Paro indą kambario temperatūroje pridedama 5,25 ml dejonizuoto vandens, 1M HCl (7,74 ml, 7,75 mmol), 10 % Pd/C (A32110 tipo, 1,37 g, 1,29 mmol Pd), 6-benziloksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-benzo[b]tiofeno S-oksido (3 g, 5,16 mmol) ir izopropilo alkoholio (32 ml). Indas įtvirtinamas purtyklėje, nuosekliai du kartus išsiurbiamas oras ir prileidžiama azoto, vėl išsiubiama ir prileidžiama vandenilio dujų, kad slėgis būtų 30 psig (206,7 kPa). Paleidžiama purtyklė, ir reakcijos mišinys kaitinamas iki 60 °C.
- 15 Po maždaug 4 val. HPLC metodu nustatoma, kad reakcija pasibaigė. Reakcijos mišinys nufiltruojamas per diatominės žemės filtrą, filtras praplaunamas 0,1 M HCl (2 x 10 ml). Tirpiklis nugarinamas vakuume maždaug 50 °C. Susidariusi liekana ištirpinama izopropilo alkoholio/vandens 50 % mišinyje (30 ml) ir švelniai šildoma garų vonioje, kol gaunamas skaidrus tirpalas. Į tirpalą pridedama 22 ml
- 20 dejonizuoto vandens ir leidžiama atvėsti iki kambario temperatūros. Toliau produkto suspensija atšaldoma iki 0 °C. Produktas atskiriamas filtruojant, praplaunamas šaltu dejonizuotu vandeniu (2 x 15 ml), išdžiovinamas vakuume 50 °C temperatūroje iki pastovios masės, gauna F-III.

3 pavyzdys

F-III gavimas iš 6-izopropoksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-benzo[b]tiofeno S-oksido

5

Sumaišoma 105 l metileno chlorido ir 10,5 kg 6-izopropoksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-benzo[b]tiofeno S-oksido ir atšaldoma iki -15 ÷ -20 °C. Laikant temperatūrą -15 ÷ -20 °C ribose, pridedama boro trichlorido (4,6 kg). Maišoma tol, kol pagal HPLC duomenis pradinės medžiagos lieka mažiau nei 1 %. Naudota HPLC sistema: 4,6 mm ID x 25 cm Zorbax SB-Phenyl kolonėlė, 30 °C, 70:30 metanolis : 0,01 N sulfato rūgštis; tekėjimo greitis 1,5 ml/min; detektorius ties 300 nm. Laikant temperatūrą -15 ÷ -20 °C ribose, pridedama 10,28 kg izopropanolio. Reakcijos mišinys maišomas 30-45 minutes. Nevalytas reakcijos produktas atskiriamas išpilant reakcijos mišinį į 105 l vandens, atšaldyto iki 2-7 °C , tuo pačiu palaikant reakcijos temperatūrą 2-7 °C ribose. Po to pripilama 20 l metileno chlorido, atšaldyto iki 7-2 °C. Kristalinė suspensija maišoma 2-3 val ir nufiltruojama bei nuosekliai praplaunama atšaldytu iki 7-2 °C metileno chloridu (26 l) ir atšaldytu iki 7-2 °C vandeniu (53 l). Nevalyta drėgna medžiaga sumaišoma su 42 l vandens bei 40 l izopropanolio ir pakaitinama iki 65-70 °C , kad ištirptų. Karštas tirpalas nufiltruojamas. Nufiltravus, praplaunama mišiniu iš 20 l izopropanolio ir 21 l vandens, pašildytu iki 65-70 °C. Tirpalas atšaldomas iki 40-45 °C, įnešamas kristalizacijos iniciatorius ir maišoma šioje temperatūroje 25-30 val., leidžiant kristalintis. Suspensija atšaldoma iki 0-5 °C, maišoma 3-4 val. Ir nufiltruojama. Nufiltruota medžiaga praplaunama vandeniu (122,6 l), atšaldytu iki 2-7 °C. Produktas džiovinamas vakuume ne aukštesnėje nei 50 °C temperatūroje, kol masės pokytis per 2-4 val. tampa mažesnis negu 0,05 kg. Išeiga 8,468 kg (87,3 %). Grynumas pagal HPLC 98,5 %. Vandens kiekis pagal Karl Fisher 3,0 %. Bendras susijusios medžiagos kiekis pagal HPLC duomenis 1,79 %.

4 pavyzdys

F-III gavimas iš 6-benziloksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-benzo[b]tiofeno S-oksido

5 Sumaišoma 261 ml tetrahidrofurano, 45 ml vandens, 6,14 g koncentruotos sulfato rūgšties ir 6-benziloksi-3-(4-[2-piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-benzo[b]tiofeno S-oksido (pagal HPLC duomenis: grynumas 99 %, bendras susijusių medžiagų kiekis 0,35 %) ir maišoma, kol mišinys tampa homogenišku. Kartu su 5 ml vandens pridedama 10 % Pd/C (5,6 g suspensija 22 ml
10 vandens). Virš susidariusios suspensijos išsiurbiamas oras ir praleidžiamas vandenilis 60 psi (413,4 kPa) slėgiu. Reakcijos temperatūra nustatoma 30 °C. Po 2 val. pridedama 10 % Pd/C (5,6 g su 30 ml vandens). Hidrinimas 60 psi (413,4 kPa) slėgyje ir 30 °C temperatūroje tęsiamas dar 22 val. Papildomai pridedama 4,40 g 10 % Pd/C 30 ml vandens, ir dar hidrinama 60 psi (413,4 kPa) slėgyje ir 30 °C
15 temperatūroje 2,5 val. Katalizatorius nufiltruojamas, filtrato pH nustatomas 7,24. Pridedama 50 % natrio šarmo tirpalo pagalba. Pridedama 8,66 g natrio chlorido tirpalas 18 ml vandens, ir dvifazis tirpalas maišomas 30 minučių. Fazės atskiriamos, o vandeninga fazė ekstrahuojama 50 ml tetrahidrofurano. Organinės fazės apjungiamos, sukonzentruojamos distiliuojant atmosferos slėgyje iki 50 ml tūrio. Į koncentratą
20 24 °C temperatūroje per 1 val. pridedama 180 ml metanolio. Kietos medžiagos atskiriamos filtruojant ir palaipsniui praplaunamos 39 ml vandens ir 39 ml metanolio, po to per naktį džiovinamos vakuume 50 °C temperatūroje. Išeiga 15,52 g (67,8 %).

Sumaišoma 33 ml izopropanolio, 66 ml vandens ir 10 g aukščiau gautos kietos
25 medžiagos. Į maišomą mišinį 25 °C temperatūroje pridedama 21 ml 1,8 M HCl. Kietą medžiagą greitai ištirpsta, po to iškrenta hidrochlorido druska. Pamašius 30 minučių, suspensija pakaitinama iki 70 °C, kad ištirptų visos kietos medžiagos. Tirpalas atšaldomas iki 60 °C ir pridedama 33 ml vandens. Susidaręs tirpalas atšaldomas iki 25 °C per 3 val., per tą laiką iškrenta hidrochlorido druska.

Suspensija maišoma apie 3 val. 25 °C temperatūroje, nufiltruojama, praplaunama vandeniu (30 ml) ir per naktį džiovinama vakuume 50 °C temperatūroje; gauna 8,9 g (82,7 %) F-III. Grynumas pagal HPLC 96,5 %. Vandens kiekis pagal Karl Fisher 2,44 %. Susijusių medžiagų kiekis pagal HPLC 1,09 %

5

Parankiniai terminai

Čia vartojamas terminas “efektyvus kiekis” reiškia tokį F-I kiekį, kuris sugeba inhibuoti čia aprašytas būkles arba jų neigiamą poveikį. Kai F-I skiriamas kartu su
10 estrogenų, progestinų, aromatazės inhibitorium, LHRH analogu, AChE inhibitorium, terminas “efektyvus kiekis” taip pat reiškia tokio agento kiekį, kuris sukuria siekiamą efektą.

Terminai “inhibuojantis” ir “inhibuoti” apima jų paprastai priimtas reikšmes, t.y., užkertantis kelią, sutrukdantis, apribojantis, palengvinantis, pagerinantis
15 sulėtinantis, sustabdantis, sustabdantis progresavimą ar patologinės būklės rimtumą, ar jos pasekmes, čia aprašytas.

Terminai “užkertantis kelią”, “prevencija”, “profilaktika”, “profilaktinis” ir “užkirsti kelią” čia vartojami kaip pakeičiantys vienas kitą ir reiškia sumažėjimą tikimybės, kad F-I recipientas susirgs arba jam išsivystys bet kokia patologinė
20 būseną ar jos pasekmės, čia aprašytos.

Terminai “netekęs estrogeno” ir “estrogeno nepriteklius” reiškia būklę, tiek natūraliai atsiradusią, tiek kliniškai indukuotą, kai moters organizmas negali išskirti pakankamai endogeninių estrogeninių hormonų, kad palaikytų nuo estrogeno priklausančias funkcijas, pavyzdžiui, menstruacijas, kaulų masės homeostazę,
25 neuronų funkcijas, širdies ir kraujagyslių būklę, ir t.t. Tokios estrogeno trūkumo situacijos kyla dėl menopauzės ir chirurginio ar cheminio kiaušidžių pašalinimo, įskaitant jų funkcinius ekvivalentus, pavyzdžiui, gydymą aromatazės inhibitoriais, GnRH agonistais arba antagonistais, ICI, ir panašiai, tačiau šiomis priemonėmis neapsiriboja. Ligos būklės, susijusios su estrogeno nepritekliu, apima kaulų

masės praradimą, osteoporozę, širdies ir kraujagyslių susirgimus ir hiperlipidemiją, tačiau tuo neapsiriboja.

Čia vartojamas terminas “estrogenas” apima steroidinius junginius, pasižyminčius estrogeniniu aktyvumu, tokie kaip, pavyzdžiui, 17β-estradiolis, etronas, konjuguotas estrogenas (Premarin®), serumo estrogenas 17β-
5 etinilestradiolis, ir pan. Geriausias junginys estrogeno pagrindu yra Premarin® ir noretilnodrelis.

Čia vartojamas terminas “progestinas” apima junginius, pasižyminčius nėštumą išsaugančiu aktyvumu, tokius kaip, pavyzdžiui, progesteronas,
10 noretilnodrelis, nongestrelis, megestolio acetatas, noretindronas ir pan. Noretindronas yra geriausias agentas progestino pagrindu.

Čia vartojamas terminas “aromatazės inhibitorius” apima junginius, gebančius inhibuoti aromatazę, pavyzdžiui, prekyboje esančius inhibitorius, tokius kaip aminoglutemidas (CYTANDREN®), Anastrozolis (ARIMIDEX®),
15 Letrozolis (FEMARA®), Formestanas (LENATRON®), Eksemestanas (AROMASIN®) ir pan.

Čia vartojamas terminas “LHRH analogas” reiškia liuteinizuojantį hormoną atlaisvinančio hormono analogą, kuris inhibuoja estrogeno gamybą moteriai premenopauzės būklėje, įskaitant, pavyzdžiui, goserliną (ZOLADEX®), leuprolidą
20 (LUPRON®) ir pan.

Čia vartojamas terminas “AChE inhibitorius” apima junginius, kurie inhibuoja acetilcholinesterazę, pavyzdžiui, fizostigmino salicilatą, takrino hidrochloridą, donepezilo hidrochloridą ir pan.

Terminas “sureguliuoti ChAT” reiškia ChAT fermentinio aktyvumo padidinimą, t.y., cholino virtimo į acetilcholiną skatinimą. Šis skatinimas apima
25 ChAT ir cholino reakcijos greičio ir/arba efektyvumo padidinimą ir/arba ChAT kiekio, esančio reakcijos vietoje, padidinimą. Šis reakcijos vietoje esančio fermento kiekio padidėjimas gali būti genų reguliavimo dėka arba dėka kitokio fermento

susiformavimo sintezės žingsnio ir/arba dėl fermento deaktyvacijos sumažėjimo ir metabolizmo.

Parinktos tyrimų metodikos

5 Bendra žiurkių paruošimo procedūra: septyniasdešimt penkių dienų amžiaus (jei nenurodyta kitaip) Sprague Dawley žiurkių patelės (masė nuo 200 iki 225 g) buvo gautos iš Charles River Laboratories (Portage, MI). Gyvuliukams arba pašalintos abi kiaušidės (OVX), arba jiems atlikta Sham chirurginė procedūra Charles River laboratorijoje, iš kur jie atvežti po savaitės. Atvežus, jie patalpinami
10 metaliniuose kabančiuose narveliuose grupėmis po 3 arba 4 į narvelį ir vieną savaitę turi *ad libitum* priejimą prie maisto (kalcio kiekis apie 0,5 %) ir vandens. Kambario temperatūra palaikoma $22,2 \pm 1,7$ °C, minimalus santykinis drėgnumas 40 %. Kambario fotoperiodas buvo 12 val. šviesa ir 12 val. tamsa.

Dozavimo režimas ir audinių paėmimas: po vienos savaitės aklimatizacijos
15 (taigi, po dviejų savačių nuo OVX) pradedamas F-III kasdieninis dozavimas. 17 α -etinilestradiolis arba F-III įvedamas peroraliai, jei nenurodyta kitaip, suspensijos 1% karboksimetilceliuliozės pavidale arba ištirpintas 20 % ciklodekstrine. Gyvuliukams preparatas įvedamas kasdien 4 dienas. Baigus įvedimą, gyvuliukai pasveriami, anestezuojami ketamino:ksilazino mišiniu (2:1, t/t) ir paimamas kraujo
20 mėginys padarant širdies punkciją. Tada gyvuliukai numarinami uždusinant CO₂, gimda pašalinama per vidurio pjūvį, nustatomas šlapios gimdos masė. 17 α -etinilestradiolis gautas iš Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.

Širdies ir kraujagyslių ligos/hiperlipidemija

25 Aukščiau aprašytiems kraujo mėginiams leidžiama krešėti kambario temperatūroje 2 val., nucentrifugavus 10 min. 3000 aps/min greičiu, atskiriamas serumas. Serumo cholesterolis nustatomas naudojant Boehringer Mannheim Diagnostics didelio tikslumo cholesterolio tyrimo metodiką. Trumpai tariant, cholesterolis oksidinamas iki cholest-4-en-3-ono ir vandenilio peroksido. Tada

vandenilio peroksidas reaguoja su fenoliu ir 4-aminofenazonu; dalyvaujant peroksidazei, kad susidarytų p-chinono imino dažas, kuris nuskaitomas spektrofotometriškai ties 500 nm. Choleterolio koncentracija apskaičiuojama pagal kalibracinę kreivę. Visas tyrimas yra automatizuotas Biomek Automated Workstation aparatūros pagalba.

Gimdos eozinofilų peroksidazinis tyrimo metodas

Aukščiau aprašyta gimda laikoma 4 °C temperatūroje iki tyrimo fermentiniu metodu laiko. Gimda homogenizuojama 50 tūrių 50 mM Tris buferio (pH 8,0), kuris turi 0,005 % Triton X-100. Pridėjus 0,01 % vandenilio peroksido ir 10 mM o-fenilendiamino Tris-buferyje (galutinės koncentracijos), per vieną minutę matuojamas absorbcijos padidėjimas ties 450 nm. Eozinofilų buvimas gimdoje yra junginio estrogeninio aktyvumo matas. Iš pradinės tiesialinijinės reakcijos kreivės atkarpos per 15 s nustatomas maksimalus reakcijos greitis.

15

Kaulų masės praradimo (osteoporozės) inhibavimo tyrimas

Po aukščiau parašytos pagrindinės paruošimo procedūros žiurkės kasdien trisdešimt penkias dienas gydomos (6 žiurkės vienoje gydymo grupėje) ir 36-tą dieną numarinamos uždusinant anglies dioksidu. Trisdešimt penkių dienų laikas yra pakankamas maksimaliam kaulų tankio sumažėjimui pasiekti, kuris matuojamas kaip čia aprašyta. Numarinimo momentu pašalinama gimda, nupjaustomi pašaliniai audiniai, prieš nustatant šlapią masę išpilamas skystas turinys, siekiant patvirtinti estrogenų trūkumą dėl pilno kiaušidžių pašalinimo. Paprastai dėl kiaušidžių pašalinimo gimdos masė būna sumažėjusi maždaug 75 %. Tada gimda patalpinama į neutralų formaliną iki tolimesnių histologinių tyrimų.

25

Išjaunamas dešinysis šlaunikaulis ir tiriamas rentgeno spinduliais, generuojamais ir analizuojamais vaizdo anlizės programos pagalba (NIH vaizdas) prie distalinio metafizio. Šių gyvūnėlių blauzdikaulių proksimalūs vaizdai taip pat buvo skanuojami skaitmeninės kompiuterinės tomografijos pagalba. Tiriamiems

gyvuliukams pagal aukščiau aprašytas metodikas buvo peroraliai įvedama F-III arba etinilestradiolio (EE2) 20 % hidroksipropil-β-ciklodekstrine. F-III taip pat naudojamas deriniuose su estrogenu arba progestinu.

5 MCF-7 proliferacijos tyrimas

MCF-7 krūties adenokarcinomos ląstelės (ATCC HTB 22) palaikomos MEM (minimalioje esminėje terpėje, neturinčioje fenolio raudonojo, Sigma, St.Louis, MO), papildytoje 10 % (t/t) fetalinio veršiuko serumo (FBS), L-glutaminu (2 mM), natrio piruvatu (1 mM), HEPES ({(N-[2-hidroksietil]piperazin-N'-[2-etansulfonrūgštis] 10 mM)}, pakeičiamosiomis aminorūgštimis ir jaučio insulinu (1 μg/ml) (palaikymo terpė). Dešimt dienų prieš tyrimus MCF-7 ląstelės perkeliama į palaikymo terpę, papildytą 10 % dekstranu padengtų anglies strypelių su fetaliniu veršelių serumu (DCC-FBS tyrimo terpė) vietoje 10 % FBS siekiant išsemti vidines steroidų atsargas. MCF-7 ląstelės pašalinamos iš palaikymo kolbų, naudojant ląstelių disocijacijos terpę (HBSS be $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$), neturinčią fenolio raudonojo, papildytą 10 mM HEPES ir 2 mM EDTA. Ląstelės du kartus praplaunamos tyrimo terpe ir praskiedžiamos iki 80 000 ląstelių/ml. Maždaug 100 μl (8000 ląstelės) pridedama į plokščiadugnes mikrokultivavimo plokštelės duobutes (Costar 3596) ir inkubuojama 37 °C temperatūroje, 5 % CO_2 , drėkinamame inkubatoriuje 48 val., kad ląstelės adsorbuotųsi ir nusistovėtų po pernešimo. Paruošiama serija vaistų arba DMSO, kaip kontrolės, praskiedimų tyrimo terpėje ir 50 μl pernešama į triskart praskiestas mikrokultūras, pridedant 50 μl tyrimo terpės, kad galutinis tūris būtų 200 μl. Po dar 48 val. 37 °C temperatūroje 5 % CO_2 drėkinamame inkubatoriuje, mikrokultūros švitinamos tričio timidinu (1 μCi/duobutei) 4 val.

25 Kultūros užšaldomos -70 °C temperatūroje 24 val., po to atitirpinamos ir auginamos naudojant Skatron pusiauautomatinį ląstelių auginimo aparatą. Pavyzdžiai įvertinami skysčių scintiliacijos metodu, naudojant Wallac BetaPlace β skaitiklį.

DMBA indukuojamo krūties auglio inhibavimas

Sprague-Dawley žiurkių patelėms, gautoms iš Harlan Industries, Indianapolis, Indiana, sukeliami nuo estrogeno priklausomi krūties augliai. Sulaukus maždaug 55 dienų amžiaus, žiurkėms vieną kartą sumaitinama 20 mg 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA). Po maždaug 6 savaitių nuo DMBA įvedimo pieno liaukos palpuojamos laukiant auglių pasirodymo. Kai atsiranda vienas ar keli augliai, kiekvieno jų ilgesnysis ir trumpesnysis diametrai išmatuojami matavimo šakute, išmatavimai užrašomi, o gyvuliukas atrenkamas eksperimentui. Stengiamasi tolygiai paskirstyti įvairių išmatavimų auglius gydymo ir kontrolinėje grupėse, kad vidutinio dydžio augliai vienodai pasiskirstytų tyrimo grupėse. Kiekviename eksperimente kontrolinėse ir tyrimo grupėse buvo 5-9 gyvuliukai.

F-III įvedamas arba intraperitoninių injekcijų 2 % gumiarabike pavidale, arba peroraliai. Peroraliai įvedami junginiai ištirpinami arba suspenduojami 0,2 ml kukurūzų aliejaus. Kiekvienas gydymas, įskaitant kontrolinį veikimą gumiarabiku ir kukurūzų aliejumi, vyksta kasdien vieną kartą per dieną kiekvienam tiriamam gyvuliukui. Po pradinio auglių išmatavimo ir tiriamų gyvuliukų atrinkimo, augliai matuojami kas savaitę aukščiau aprašytu būdu. Gyvuliukų gydymas ir matavimas tęsiasi 3-5 savaites, po to nustatomas galutinis auglių plotas. Kontroliniam gydymui ir gydymui kiekvienu junginiu nustatomas vidutinio auglio ploto pokytis.

20

Gimdos fibrozės tyrimo metodika

1 bandymas: 3-20 moterų, kurioms pasireiškia gimdos fibrozė, skiriamas F-III. Skiriamas junginio kiekis yra 0,1-1000 mg/dienai, o vartojimo trukmė 3 mėn. Moterys stebimos vartojimo metu ir 3 mėn. nutraukus vartojimą gimdos fibrozės atžvilgiu.

25

2 bandymas: naudojama ta pati metodika kaip ir 1 bandyme, tik vaisto vartojimo trukmė yra 6 mėn.

3 bandymas: naudojama ta pati metodika kaip ir 1 bandyme, tik vaisto vartojimo trukmė yra 1 metai.

4 bandymas: lytiškai subrendusių jūros kiaulyčių patelių lejomiai indukuoti naudojamas ilgalaikis stimuliavimas estrogenu. Gyvuliukai gauna estradiolio injekcijų pavidale 3-5 kartus per savaitę 2-4 mėn. arba kol atsiranda auglys. Vaistas, susidedantis iš F-III arba nešiklio, įvedamas kasdien 3-16 savaičių, po to gyvuliukai numarinami, o gimda atskiriama ir nalizuojama auglio regresijos požiūriu.

5 bandymas: žmogaus lejomios audiniai implantuojami į lytiškai subrendusių kastruotų beplaukių pelių patelių pilvo ertmę ir/arba gimdos raumeninį audinį. Duodama egzogeninio estrogeno, siekiant indukuoti eksplantuoto audinio augimą. Kai kuriais atvejais atskirtos auglio ląstelės prieš implantavimą auginamos *in vitro*. Vaistas, susidedantis iš F-III arba nešiklio, įvedamas kasdien 3-16 savaičių, implantai pašalinami ir išmatuojama, ar paaugo, ar sumažėjo. Numarinus gyvuliukus, gimdos išimamos, kad būtų galima įvertinti organo būklę.

15 6 bandymas: moters gimdos fibroidinio auglio audiniai atskiriami ir laikomi *in vitro* kaip pirminė netransformuota kultūra. Chirurginiai mėginiai praleidžiami per sterilų sieta, arba, alternatyviai, pašalinami aplinkiniai audiniai, kad gautume vienų ląstelių suspensiją. Ląstelės auginamos terpėje, turinčioje 10 % serumo ir antibiotiko. Nustatomas augimo greitis esant ir nesant estrogeno. Ląstelės tiriamos jų sugebėjimo gaminti komplemento komponentę C3 požiūriu ir pagal jų atsaką į augimo faktorių ir augimo hormoną. *In vitro* kultūra įvertinama pagal jos išvešėjimą paveikus progestiniais, GnRH, F-III ir nešikliu. Steroidinio hormono receptorių kiekis įvertinamas kas savaitę, siekiant nustatyti, ar ši svarbi ląstelės savybė išlieka *in vitro*. Naudojami audiniai iš 5-25 pacienčių.

25 7 bandymas: F-III sugebėjimas inhibuoti estrogeno stimuliuojamą iš lejomios kilusių ELT ląstelių linijos proliferaciją išmatuojamas iš esmės taip pat kaip aprašyta Fuchs et al., "Inhibition of Estrogen-Stimulated Growth of Uterine Leiomyomas by Selective Estrogen Receptor Modulators", *Mol. Car.*, 17(3):151-159 (1996), kuris čia cituojamas.

Endometriožės tyrimo metodika

1 bandymas: tirta 12-30 suaugusių CD kamieno žiurkių patelių. Jos po lygiai padalinamos į tris grupes. Stebimas visų gyvuliukų estrogeninis ciklas. Ovuliacijos dieną kiekvienai patelei atliekama chirurginė operacija. Kiekvienos grupės patelėms išpjaunamas kairysis gimdos ragas, supjaustomas smulkiais ploteliais, kurie laisvai prisiuvami įvairiose vietose, gretimose mezenterinei kraujosrovei. Be to, 2 grupės patelėms pašalintos kiaušidės. Kitą dieną po operacijos 1 ir 2 grupės gyvuliukai gavo intraperitonines vandens injekcijas 14 dienų, tuo tarpu 3 grupė gavo intraperitonines F-III 1,0 mg kilogramui kūno masės injekcijas. Po 14 dienų gydymo kiekviena patelė numarinama ir išimami gimdos gleivinės eksplantai, antinksčiai, likusi gimda ir kiaušidės, kur įmanoma, ir paruošiami histologiniam tyrimui. Kiaušidės ir antinksčiai pasveriami.

2 bandymas: tirta 12-30 suaugusių CD kamieno žiurkių patelių. Jos po lygiai padalinamos į tris grupes. Stebimas visų gyvuliukų estrogeninis ciklas. Ovuliacijos dieną kiekvienai patelei atliekama chirurginė operacija. Kiekvienos grupės patelėms išpjaunamas kairysis gimdos ragas, supjaustomas smulkiais ploteliais, kurie laisvai prisiuvami įvairiose vietose, gretimose mezenterinei kraujosrovei. Po maždaug 50 dienų nuo operacijos 1 grupės gyvuliukai gavo vandens intraperitonines injekcijas 21 dieną, tuo tarpu 2 grupės gyvuliukai gavo intraperitonines F-III 1,0 mg kilogramui kūno masės injekcijas tokį pat laiką. Po 21 dienos gydymo patelės numarinamos, endometriumo eksplantai ir antinksčiai išimami ir pasveriami. Eksplantai išmatuojami augimo įvertinimui. Stebimas estrogeninis ciklas.

3 bandymas: endometriumo audinių autografai naudojami endometriožės indukavimui žiurkėms ir/arba triušiams. Lytiškai subrendusioms patelėms pašalinamos abi kiaušidės, estrogenas tiekiamas egzogeniškai, tokiu būdu užtikrinant pastovų tam tikrą hormono lygį. 5-150 gyvuliukų į pilvo ertmę implantuojama endometriumo audinys, ir įvedama estrogeno eksplantuotų audinių

augimui skatinti. Gydomo tikslais kasdien 3-16 savaičių per skrandžio zondą įvedama šio išradimo junginio, po to implantai pašalinami ir vertinamas jų augimas ar regresija. Numarinus, paimama likusi gimdos dalis endometriumo būklės įvertinimui.

5 4 bandymas: moters endometriumo audiniai implantuoti į lytiškai subrendusių kastruotų plikųjų pelių patelių pilvo retmę. Estrogenas tiekiamas egzogeniškai eksplantuotų audinių augimo skatinimui. Kai kuriais atvejais endometriumo ląstelės prieš implantavimą kultivuojamos *in vitro*. Gydomo tikslais kasdien 3-16 savaičių per skrandžio zondą įvedama F-III, po to implantai
10 pašalinami ir vertinamas jų augimas ar regresija. Numarinus, paimama gimda nepaliesto endometriumo būklės įvertinimui.

5 bandymas: paimami moters endometriumo audinių ir jie auginami *in vitro* kaip pirminės netransformuotos kultūros. Chirurginiai mėginiai praleidžiami per sterilų sieta, arba, alternatyviai, pašalinami aplinkiniai audiniai, kad gautume vieno
15 ląstelių suspensiją. Ląstelės auginamos terpėje, turinčioje 10 % serumo ir antibiotiko. Nustatomas augimo greitis esant ir nesant estrogeno. Ląstelės tiriamos jų sugebėjimo gaminti komplemento komponentę C3 požiūriu ir pagal jų atsaką į augimo faktorių ir augimo hormoną. *In vitro* kultūra įvertinama pagal jos proliferaciją paveikus progestiniais, GnRH, F-III ir nešikliu. Steroidinio hormono
20 receptorių kiekis įvertinamas kas savaitę, siekiant nustatyti, ar ši svarbi ląstelės savybė išlieka *in vitro*. Naudojami audiniai iš 5-25 pacientų.

CNS susirgimai, įskaitant Alzheimerio ligą

Estrogenai, tokie kaip 17β-estradiolis, reguliuoja genų transkripciją
25 susirišdami su estrogeno receptoriais (ER), kurių yra tam tikrų ląstelių populiacijų citoplazmoje. ER ligandų aktyvavimas yra būtina komplekso branduolių transporto sąlyga, kur susirišimas su 13 bazių porų pasikartojančia DNR seka (atsako į estrogeną elementas arba ERE) pradeda transkripcijos aparato sudarymą, kuris baigiasi atitinkamų tikslo genų aktyvavimu. Nustatyti įvairūs genai, kuriuos

reguliuoja estrogenas. Jų tarpe yra citoskeleto baltymai, neurotransmiterių biosintetiniai ir metaboliniai fermentai ir receptoriai, taip pat kiti hormonai ir neuropeptidai. ERE buvo identifikuoti įvairiems nuo estrogeno priklausomiems genams, įskaitant vitelogeniną, c-fos, prolaktiną ir liuteinizuojantį hormoną.

- 5 ERE tipo sekos, reikšmingos centrinei nervų sistemai, buvo identifikuotos p75^{ngr} ir trkA, abiem atvejais veikė kaip signalinės neurotrofinų molekulės: nervų augimo faktoriaus (NGF), smegenų kilmės nervų augimo faktoriaus (BDNGF) ir neurotropino-3. Postuluojama, kad sąveika tarp neurotrofinų ir estrogenų yra svarbi bazalinių priekinių smegenų neuronų (kurie degeneruoja esant Alzheimerio
- 10 ligai) išsivystymui ir išgyvenimui, taigi, klinikinės sąlygos, kuriose pasireiškia estrogeno deficitas (kaip po menopauzės) gali prisidėti prie šių neuronų praradimo.

- Siekiant nustatyti panašumus ir/arba skirtumus tarp F-III ir estrogeno daromos įtakos genų ekspresijai įvairiose smegenų srityse, atliktas eksperimentas
- 15 su žiurkėmis, kurioms pašalintos kiaušidės (paruoštomis kaip aprašyta aukščiau). Šešių savaičių amžiaus žiurkėms kasdien įvedama estradiolio benzoato (0,03 mg/kg), F-III arba nešiklio (kontrolė) dozuota subkutaninė injekcija. Po penkių savaičių gydymo gyvuliukai numarinami, jų smegenys pašalinamos ir mikropjūvio pagalba atskiriamas hipokampus. Hipokampus iš karto atšaldomas skystu azotu ir
- 20 laikomas -70 °C temperatūroje. Iš atitinkamą gydymą turėjusių ir kontrolinių grupių audinių išskiriama totalinė RNR, ir atliekama atvirkštinė transkripcija, naudojant 3' oligonukleotidinį praimerį, kuris yra parinktas specifinėms iRNR (poly-A+) populiacijoms. Polimerazinė grandinės sintezė (PGS) vykdoma mišinyje, susidedančiame iš atsitiktinių 5' oligonukleotidų (10 bazių porų ilgio; iš
- 25 viso 150), reakcijos buferio, Taq polimerazės ir ³²PdTCP.

Po 40 amplifikacijos ciklų reakcijos produktai išskirstomi pagal dydį 6 % TBE-karbamido gelyje, išdžiovinami ir fotografuojami Rentgeno spinduliais. Gauti gydymo grupių iRNR vaizdai palyginami tarpusavyje.

F-III naudojimas kartu su estrogenu

Moterims peri- ir postmenopauzinėje fazėje dažnai skiriama pakaitinė hormonų terapija (PHT) negatyvių pasekmių, susijusių endogeninio estrogeno cirkuliacijos nutrūkimu, pavyzdžiui, karščio bangų, pašalinimui. Tačiau PHT siejasi su padidėjusia kai kurių vėžio rūšių, įskaitant gimdos ir krūties vėžį, rizika. F-III gali būti naudojamas kartu su PHT šios rizikos panaikinimui.

F-III naudojimas kartu su aromatazės inhibitoriumi

Teoriškai moters postmenopauzėje kiaušidės nefunkcionuoja. Jos organizme vienintelis estrogeno šaltinis yra antinksčių androgenų virtimas į estrogenus, veikiant fermentui aromatazei, kuri randama periferiniuose audiniuose (įskaitant riebalus, raumenis ir patį auglį). Tokiu būdu, vaistai, inhibuojantys aromatazę (aromatazės inhibitoriai) išvalo moters postmenopauzėje organizmą nuo cirkuliuojančio estrogeno. Estrogeno pašalinimas inhibuojant aromatazę yra reikšmingas gydymo pasirinkimas pacientėms su metastaziniu krūties vėžiu. Gydant aromatazės inhibitoriumi, cirkuliuojančio estrogeno trūkumas gali sąlygoti negatyvius nepageidautinus pašalinius efektus, pavyzdžiui, serumo lipidų lygį. F-III galima naudoti šių negatyvių efektų inhibavimui.

F-III naudojimas kartu su LHRH analogu

Pastovus LHRH (liutenizuojantį hormoną atlaisvinantis hormonas) analogo naudojimas inhibuoja estrogeno gamybą premenopauzėje esančios moters organizme, desensibilizuodamas hipofizę, kuri tuomet nustoja stimuliuoti estrogeno gamybą kiaušidėse. Klinikinis efektas yra "farmacinė ovariectomija", kuri yra grįžtama nutraukus LHRH naudojimą. Gydant LHRH analogu, cirkuliuojančio estrogeno trūkumas gali sąlygoti negatyvius nepageidautinus pašalinius efektus, pavyzdžiui, serumo lipidų lygį. F-III galima naudoti šių negatyvių efektų inhibavimui.

Acetilcholino kiekio didinimas

Žinoma, kad pacientų, sergančių Alzheimerio liga, hipokampe yra žymiai mažesnis cholinerginių neuronų kiekis, lyginant su sveikais žmonėmis. Panašu, kad progresuojantis šių cholinerginių neuronų mažėjimas atspindi šių pacientų
5 progresuojantį atminties ir pažinimo funkcijos praradimą. Manoma, kad šių neuronų kiekio mažėjimo viena iš priežasčių yra neurotransmiterio acetilcholino kiekio arba funkcijos sumažėjimas.

Acetilcholino kiekis neuronuose paprastai nustatomas pagal tai, kur pasistūmusi pusiausvyra tarp jo biosintezės ir biosuskaidymo. Fermentas cholino
10 acetiltransferazė (ChAT) tiesiogiai atsako už jo sintezę, o acetilcholinesterazė (AChE) už suskilimą.

Siekiant įvertinti F-III įtaką ChAT kiekiui, atliktas toks eksperimentas: paruošus žiurkes pagal aukščiau aprašytą metodiką, 40 žiurkių kasdien subkutaninės injekcijos būdu arba per skrandžio zondą įvedama 3 mg/kg/per dieną
15 F-III nešiklyje, turinčiame 10 % ciklodekstrino, 0,03-0,3 mg/kg/per dieną, arba nešiklio kaip kontrolės. Gyvuliukai veikiami 3-10 dienų. Kiekviename dozavimo režime buvo dvidešimt gyvuliukų. Tam tikrais laiko tarpais gyvuliukai numarinami ir smegenys išimamos. Hipokampus ir priekinės srities žievė homogenizuojama, ChAT aktyvumas nustatomas pagal acetilcholino biosintezę radioaktyvių žymių
20 metodu. Ši metodika aprašyta Schoepp *et al.*, *J. Neural Transmiss.*, 78:183-193, 1989, kuris čia cituojamas.

Kaip ir buvo tikėtasi, OVX gyvuliukuose ChAT kiekis yra sumažintas >50 % ($p < 0,001$), lyginant su kontrole.

Kitame šio išradimo įgyvendinime F-III naudojamas derinyje su AChE
25 inhibitoriumi. AChE inhibitoriaus naudojimas padidina acetilcholino kiekį, blokuodamas jo suskilimą per AChE inhibiciją.

Gėrybinė prostatos hiperplazija (BPH)

Ryšys tarp estrogeno veikimo ir BPH bei prostatos karcinomos gydymo bendrais bruožais aprašytas PCT paraiškoje Nr. WO 98/07274, tarptautinės publikacijos data 1998 spalio 15 d.

- 5 Toliau aprašytuose eksperimentuose keliose žmogaus prostatos vėžio ląstelių linijose įvertintas F-III sugebėjimas surišti estrogeno receptorius.

Žmogaus prostatos vėžio ląstelių linijų LNCaP, DU-45 ir PC-3 lizatai pagaminti TEG terpėje, susidedančioje iš 50 nM Tris•HCl pH 7,4, 1,5 mM etilendiamino tetraacto rūgšties (EDTA) 0,4 M KCl, 10 % glicerolio, 0,5 mM 2-ME
10 ir 10 mM natrio molibdato ir dar turinčioje proteazės inhibitorius pepstatiną (1 mg/ml), leupeptiną (2 mg/ml), aprotiną (5 mg/ml) ir fenilmetilsulfonilfluoridą (PMSF 0,1 mM) (TEGP).

Ląstelių lizatai nucentrifuguojami, nuosėdos resuspenduojamos šaltame TEGP (1 ml TEGP/100 mg nuosėdų) ir 30 sekundžių veikiamos ultragarsu Branson
15 Model 450 ultragarso aparatu. Lizatai nusodinami centrifuguojant 10000xG greičiu 15 minučių 4 °C temperatūroje, po to supernatantai atskiriami ir arba naudojami iškart, arba laikomi -70 °C temperatūroje.

Konkurencinio surišimo tyrimas: surišimo buferis yra TEG, kuriame 0,4 M KCl pakeistas 50 mM NaCl, ir į kurį dar pridėta 1 mg/ml ovalbumino (TEGO). F-
20 III praskiedžiamas iki 20 nM TEGO, iš kurio paruošiamos triskartinio praskiedimo serijos. Analizė atliekama apvaliadugnėse polipropileno mikroplokštelės duobutėse, pakartojant tris kartus. Į kiekvieną duobutę įpilama 35 µl tričiu pakeisto 17β-estradiolio (0,5 nM, specifinis aktyvumas 60,1 Ci/mmol, DuPont-New England Nuclear, Boston, MA) ir 35 µl konkuruojančio tiriamojo junginio
25 šalto tirpalo (0,1 nM - 5 mM) arba TEGO, ir po 5 min. inkubavimo 4 °C temperatūroje purtant pridedama 70 µl MCF-7 ląstelių linijos lizato.

Plokštelės 24 val. inkubuojamos 4 °C temperatūroje, po to į kiekvieną duobutę pridedama 70 µl dekstranu padengtos anglies (DCC) ir 4 °C temperatūroje energingai purtoma 8 minutes. Po to plokštelės 10 min.

centrifuguojamos 1500xG greičiu 4 °C temperatūroje. Iš kiekvienos duobutės supernatantas surenkamas į polistireno mikroplokštelę scintiliacijos matavimams Wallac Microbeta Model 1450 skaitikliu. Įvedus pataisą nuskaitymo efektyvumui (35-40 %) ir fonui, radioaktyvumas išreiškiamas skilimais per minutę (DPM).

- 5 Papildoma kontrolė yra visų impulsų skaičius ir visų impulsų + DCC skaičius, siekiant įvertinti apatinę DCC ištraukiamų impulsų ribą. Šių konkuruojančio surišimo tyrimų rezultatai išreiškiami vidutiniu procentiniu surišimu (surišimo % +/- standartinė paklaida, naudojant formulę:

$$10 \quad \text{surišimo \%} = \frac{\text{DPM}_{\text{tir.jung.}} - \text{DPM}_{\text{visi imp. + DCC}}}{\text{DPM}_{\text{be jokio tir.jung.}} - \text{DPM}_{\text{visi imp. + DCC}}} \times 100$$

15 Krūties vėžio profilaktika

- Šis išradimas taip pat susijęs su F-III skyrimu pacientams, turintiems *de novo* krūties vėžio išsivystymo rizikos faktorių. Čia vartojamas terminas *de novo* reiškia normalių krūties ląstelių transformacijos arba metamorfozės į vėžines ar piktybines ląsteles nebuvimą. Tokia transformacija gali atsirasti pirminės ar dukterinės ląstelės stadijoje evoliucinio proceso metu, arba gali būti vienintelis lemiamas įvykis. Šis *de novo* procesas skiriasi nuo jau transformuotų arba supiktybėjusių ląstelių metastazavimo, kolonizacijos ar paplitimo iš pirminio auglio vietos į naujas vietas.

- 25 Asmuo, neturintis konkretaus krūties vėžio išsivystymo rizikos faktoriaus, yra toks, kuriam gali atsirasti *de novo* krūties vėžys ir kuris neturi jokių įrodymų ar įtarimo dėl potencialios galimybės ligai atsirasti bei kuriam niekada nebuvo diagnozuotas šis susirgimas. Didžiausias rizikos faktorius, įtakoiantis krūties vėžio atsiradimui, yra asmeninė susirgimo šia liga istorija arba ankstesnis šios ligos

pasirodymas, net jeigu liga yra remisijoje be jokių jos buvimo įrodymų. Dar vienas rizikos faktorius yra ligos buvimas giminėje.

Krūties auglių sukėlimas žiurkėms, įvedant joms karcinogeninio N-itrozo-N-metilkarbamido yra plačiai priimtas krūties vėžio tyrimo gyvuliukuose modelis, 5 pripažintas tinkamu cheminių profilaktikos agentų įtakos tyrimui.

Dviejuose atskiruose tyrimuose 55 dienų amžiaus Sprague-Dawley žiurkės gavo intaveninę (1 tyrimas) arba intraperitoninę (2 tyrimas) 50 mg N-nitrozo-N-metilkarbamido dozę kilogramui kūno masės savaitę prieš pašeriant *ad libitum* maistu, į kurį primaišyti įvairūs kiekiai F-I, (Z)-2-[4-(1,2-difenil-1-butenil)fenoksi]- 10 N,N-dimetiletanamino bazės (tamoksifeno bazė) arba kontrolės.

1 tyrime maisto kiekis 60 mg/kg ir 20 mg/kg atitinka apytikriai palyginamas dozes 3 ir 1 mg/kg kūno masės tiriamiems gyvuliukams.

2 tyrime maisto kiekis 20, 6, 2 mg/kg ir 0,6 mg/kg atitinka apytikriai palyginamas dozes 1, 0,3, 0,1 ir 0,03 mg/kg kūno masės tiriamiems gyvuliukams.

15 Žiurkės buvo stebimos dėl toksiškumo pasireiškimo ir kartą per savaitę sveriamos bei palpuojama laukiant auglio atsiradimo. Gyvuliukai numarinami po trylikos savaičių (1 tyrimas) arba aštuoniolikos savaičių (2 tyrimas), augliai identifikuojami ir po autopsijos pasveriami.

20

Kompozicijos

Čia vartojamas būdvardžiu terminas “farmacinis” reiškia, kad tai yra iš esmės nekenksminga recipientui-žinduoliui. “Farmacinė kompozicija” reiškia, kad nešikliai, skiedikliai, užpildai ir aktyvus ingredientas(ai) turi būti suderinami su 25 kitais kompozicijos ingredientais ir nekenksmingi jos vartotojui.

Geriausia, kai F-III yra įjungiamas į kompoziciją prieš įvedimą. Vaisto formos parinkimas turėtų būti nuspręstas gydančio gydytojo, remiantis tais pačiais faktoriais, kaip ir apsprendžiant efektyvų kiekį.

Visi aktyvūs ingredientai tokiose kompozicijose sudaro 0,01-99,9 % kompozicijos masės. Geriausia, kai minėtoje kompozicijoje yra ne daugiau kaip du aktyvūs ingredientai. Tai yra, teikiama pirmenybė sudaryti F-III kompoziciją su antru aktyviu ingredientu, parinktu iš estrogeno, progestino, aromatazės inhibitoriaus, LHRH analogo ir AChE inhibitoriaus. Geriausios kompozicijos yra tos, kuriose F-III yra vienintelis aktyvus ingredientas.

Šio išradimo farmacinės kompozicijos sudaromos pagal metodikas, žinomas šioje srityje, naudojant gerai žinomus ir lengvai prieinamus ingredientus. Pavyzdžiui, F-III, tiek vienas, tiek derinyje su estrogenu, progestinu, aromatazės inhibitoriumi, LHRH analogu arba AChE inhibitoriumi, sudaro kompozicijas su įprastais užpildais, skiedikliais arba nešikliais kurios suformuojamos į tabletes, kapsules, suspensijas, tirpalus, injekuojamus tirpalus, aerozolius, miltelius ir pan.

Šio išradimo farmacinės kompozicijos parenteraliniam įvedimui susideda iš sterilių vandeninių arba nevandeninių tirpalų, dispersijų, suspensijų arba emulsijų, taip pat iš sterilių miltelių, iš kurių prieš pat vartojimą pagaminamas sterilus tirpalas arba suspensija. Tinkamų vandeninių ir nevandeninių nešiklių, skiediklių, tirpiklių arba rišiklių pavyzdžiai apima vandenį, fiziologinį druskos tirpalą, etanolį, poliolių (tokius kaip glicerolis, propilenglikolis, polietilenglikolis) ir pan., bei tinkamus jų mišinius, augalinius aliejus (tokius kaip alyvų aliejus), ir injekuojamus organinius esterius, tokius kaip etiloleatas. Tinkamas takumas palaikomas, pavyzdžiui, naudojant padengiančias medžiagas, tokias kaip lecitinas, palaikant tinkamą dalelių dydį dispersijų ir suspensijų atveju, ir naudojant paviršiuje aktyvias medžiagas.

Parenterinės kompozicijos taip pat gali turėti pagalbinių medžiagų, tokių kaip prezervantai, drėkinimo agentai, emulsikliai ir disperguojantys agentai. Apsaugau nuo mikroorganizmų poveikio užtikrinama įvedant antibakterinių ir priešgrybelinių agentų, pavyzdžiui, parabeno, chlorbutanolio, fenolio, sorbo rūgšties, ir pan. Taip pat gali būti naudinga įterpti izotoninius agentus, tokius kaip cukrai, natrio chloridas ir pan. Ištesta injekuojamų kompozicijų absorbcija gali būti įgyvendinta

įjungiant agentus, kurie sulėtina absorbciją, tokius kaip aliuminio monostearatas ir želatina.

Kai kuriais atvejais, siekiant prailginti vaisto veikimą, yra naudinga sulėtinti vaisto, įvesto po oda ar į raumenis, absorbciją. Tai gali būti įgyvendinta naudojant 5 kristalinės medžiagos, mažai tirpstančios vandenyje, skystą suspensiją arba ištirpinant ar resuspenduojant vaistą aliejingame nešiklyje. Injekuojant vaisto formas, pasižyminčios žemu tirpumu vandenyje, suspensiją po oda arba į raumenis, vaisto absorbcijos greitis priklauso nuo tirpimo greičio.

Injekuojama F-III "depo" kompozicija padaroma įterpiant vaistą į 10 biosuskaidomo polimero, tokio kaip polipieno rūgštis, poliglikolio rūgštis, pieno ir glikolio rūgšties kopolimerai, medžiagų, žinomų šioje srityje, poliortoesteriai ir polianhidridai, mikrokapsules. Vaisto atpalaidavimo greitis gali būti parenkamas priklausomai nuo vaisto ir polimero santykio ir konkrečių naudojamų polimerų charakteristikų.

15 Injekuojamos kompozicijos sterilizuojamos, pavyzdžiui, filtruojant per bakterijas sulaikantį filtrą, arba pasterizuojant komponentus prieš jų sumaišymą, arba gamybos metu, arba prieš pat įvedimą (kaip, pavyzdžiui, dviejų kamerų švirkšto pakuotėje).

Kietos dozavimo formos peroraliniam įvedimui apima kapsules, tabletes, 20 piliules, miltelius ir granules. Tokiose kietose dozavimo formose F-III sumaišomas su mažiausiai vienu inertišku farmaciniu nešikliu, tokiu kaip natrio citratas arba dikalcio fosfatas ir/arba a) užpildais, tokiais kaip krakmolai, cukrai, įskaitant laktozę ir gliukozę, manitolį ir silicio rūgštį, (b) rišikliais, tokiais kaip karboksimetilceliuliozė ir kiti celiuliozės dariniai, alginatai, želatina, 25 polivinilpirolidonas, sacharozė ir gumiarabikas, (c) drėkikliais, tokiais kaip glicerolis, (d) dezintegruojančiais agentais, tokiais kaip agar-agaras, kalcio karbonatas, natrio bikarbonatas, bulvių arba tapijokos krakmolai, algino rūgštys, silikatai ir natrio karbonatas, (e) drėkinančiais agentais, tokiais kaip glicerolis, (f) tirpimą stabdančiais agentais, tokiais kaip parafinas, (g) absorbciją spartinančiais

agentais, tokiais kaip ketvirtiniai amonio junginiai, (h) drėkinančiomis medžiagomis, tokiomis kaip cetilo alkoholis ir glicerolio monostearatas, (i) absorbentais, tokiais kaip kaolinas ir bentonitas ir (j) lubrikantais, tokiais kaip talkas, kalcio stearatas, magnio stearatas, kieti polietilenglikoliai, natrio laurilsulfatas, bei jų mišiniais. Kapsulių, tablečių ir piliulių atvejais dozuota forma gali turėti buferinių agentų

Panašaus tipo kietos kompozicijos taip pat gali užpildyti minkštą arba kietą želatininę kapsulę, naudojant užpildus, tokius kaip laktozė, o taip pat didelės molekulinės masės polietilenglikoliai, ir pan.

10 Tokios kietos dozavimo formos kaip tabletės, dražetės, kapsulės, piliulės ir granulės taip pat gali būti pagamintos su dangomis arba apvalkalais, tokiais kaip enterinė danga, arba kitomis farmacinių kompozicijų sudarymo srityje gerai žinomomis dangomis. Dangos gali savo sudėtyje turėti drumstiklių arba agentų, atlaisvinančių aktyvų ingredientą(us) tam tikroje virškinamojo trakto dalyje, kaip, pavyzdžiui, rūgštyje tirpios dangos, atlaisvinančios aktyvų ingredientą(us) skrandyje, arba šarminėje terpėje tirpios dangos, atlaisvinančios aktyvų ingredientą(us) žarnyne.

Aktyvus(ūs) ingredientas taip pat gali būti mikrokapsulėse po sulėtinto atpalaidavimo danga, kai mikrokapsulė yra kapsulės vaisto formos piliulė.

20 Skystos F-III dozavimo formos peroraliniam vartojimui apima tirpalus, emulsijas, suspensijas, sirupus ir eliksyrus. Be aktyvių ingredientų skysta kompozicija gali taip pat apimti inertinius skiediklius, įprastus šioje srityje, tokius kaip vanduo arba kiti farmaciniai tirpikliai, tirpinančių agentų ir emulsiklių, tokių kaip etanolis, izopropanolis, etilkarbonatas, etilacetatas, benzilo alkoholis, benzilbenzoatas, propilenglikolis, 1,3-butilenglikolis, dimetilformamidas, aliejai (konkrečiai, medvilnės, žemės riešutų, kukurūzų, gemalų, alyvų, ricinos ir sezamo aliejai), glicerolis, tetrahidrofurfurilo alkoholis, polietilenglikoliai, sorbitolio riebalų rūgščių esteriai ir jų mišiniai.

Be inertinių skiediklių, skystos peroralinės kompozicijos gali apimti pagalbines medžiagas, tokias kaip drėkinantys agentai, emulsikliai ir suspenduojantys agentai, bei saldiklius ir kvapą bei skonį suteikiančias medžiagas.

Skystos suspensijos be aktyvaus ingrediento(u) gali turėti savyje
5 suspenduojančius agentus, tokius kaip etoksilinti izostearilo alkoholiai, polioksietileno sorbitolio ir sorbitano esteriai, mikrokristalinė celiuliozė, aliuminio metahidroksidas, bentonitas, agaras ir tragakantas, bei jų mišiniai.

Kompozicijos rektaliniam arba intravaginaliniam įvedimui gaminamos sumaišant F-III su tinkamais nedirginančiais užpildais, tokiais kaip kakavos sviestas, polietilenglikolis arba bet koks žvakučių vaškas, kuris yra kietas kambario temperatūroje, bet suskystėja kūno temperatūroje ir todėl išsilydo tiesiojoje žarnoje arba makštyje, atlaisvindamas aktyvų komponentą(us). Junginiai ištirpinami išlydytame vaške, suteikiamas norimas pavidalas ir leidžiama sukietėti, sudarant išbaigtą žvakučių kompoziciją.

15 F-III taip pat gali būti įvedamas liposomų pavidale. Kaip yra žinoma šioje srityje, liposomos paprastai sudarytos iš fosfolipidų ir kitų lipidinių medžiagų. Liposomų kompozicijas sudaro mono- arba multisluosniai hidratuoti skysti kristalai, kurie disperguojami vandeninėje terpėje. Liposomų suformavimui gali būti naudojami bet kurie netoksiški farmaciniai ir metabolizuojami lipidai. Šio
20 išradimo kompozicijos liposomų pavidale be F-III gali turėti stabilizatorių, užpildų, prezervantų ir pan. Iš lipidų teikiama pirmenybė fosfolipidams ir fosfatidilcholinams (lecitinams), tiek natūralios kilmės, tiek sintetiniams.

1 kompozicija: želatininė kapsulė

25

	Kiekis (mg/kapsulei)
F-III	0,1 - 1000
Krasmolas, NF	0 - 650
Krasmolo takūs milteliai	0 - 650
Silikono skystis, 350 centistoksai	0 - 15

Aukščiau pateikta kompozicija gali keistis, atsižvelgiant į pateiktas pagrįstas variacijas.

Tabletės kompozicija gaminama naudojant žemiau išvardintus ingredientus:

5

2 kompozicija: tabletės

Ingredientas	Kiekis (mg/tabletei)
F-III	2,5 - 1000
Celiuliozė, mikrokristalinė	200 - 650
Silicio dioksidas, išgarintas	10 - 650
Stearato rūgštis	5 - 15

Komponentai sumaišomi ir suspaudžiami į tabletes.

10 3 kompozicija: tabletės, turinčios maždaug 10 ir 50 mg, atitinkamai, F-III, gali būti pagamintos taip:

Ingredientas	Kiekis (mg/tabletei)	Kiekis (mg/tabletei)
F-III	11,3	56,5
Bevandenė laktozė	176,8	128,2
Laktozė, džiovinta purškiant	44,2	32,0
Povidonas	11,0	13,0
Polisorbatas 80	2,5	2,6
Krospovidonas (viduje)	6,25	6,24
Krospovidonas (išorėje)	6,25	6,5
Magnio stearatas	1,5	1,7
Mikrokristalinė celiuliozė (išorėje)	0,0	13,0

Komponentai sumaišomi ir suspaudžiami į tabletes.

Alternatyviai, tabletės, turinčios kiekviena 2,5-1000 mg F-III, gaminamos taip:

4 kompozicija: tabletės

5

Ingredientas	Kiekis (mg/tabletei)
F-III	25 - 1000
Kraskmolas	45
Celiuliozė, mikrokristalinė	35
Polivinilpirolidonas (10 % tirpalas vandenyje)	4
Natrio karboksietilceliuliozė	4,5
Magnio stearatas	0,5
Talkas	1

F-III, kraskmolas ir celiuliozė praleidžiami per 45 mešų (JAV) sieta ir kruopščiai išmaišomi. Polivinilpirolidono tirpalas sumaišomas su gautais milteliais, kurie po to praleidžiami per 14 mešų (JAV) sieta. Taip gautos granulės džiovinamos 50-60 °C temperatūroje ir praleidžiamos per 18 mešų (JAV) sieta. Karboksietilnatrio kraskmolas, magnio stearatas ir talkas pridedami į granules, prieš tai juos praleidus per 60 mešų (JAV) sieta, ir, sumaišius, suspaudžiama į tabletes tablečių presavimo mašina.

15 Suspensijos, turinčios 0,1-1000 mg medikamento 5 ml dozėje, gaminamos taip:

5 kompozicija: suspensijos

Ingredientas	Kiekis (mg/5 ml)
F-III	0,1 - 1000 mg
Natrio karboksimetilceliuliozė	50 mg
Sirupas	1,25 mg
Benzenkarboksirūgšties tirpalas	0,10 ml
Kvapioji medžiaga	q.v.
Dažiklis	q.v.
Valytas vanduo, iki	5 ml

Medikamentas praleidžiamas per 45 mešų sietą (JAV) ir sumaišomas su
 5 natrio karboksimetilceliulioze ir sirupu, kad susidarytų tolydi pasta.
 Benzenkarboksirūgšties tirpalas, kvapioji medžiaga ir dažiklis praskiedžiami tam
 tikru vandens kiekiu ir pridedami maišant. Tada pridedamas pakankamas
 reikalaujamam tūriui gauti vandens kiekis.

Aerolinis tirpalas, turintis šiuos ingredientus, gaminamas taip:

10

6 kompozicija: aerosolis

Ingredientas	Kiekis (masės %)
F-III	0,25
Etanolis	25,75
Disperguojanti medžiaga-22 (chlordifluormetanas)	70,00

F-III sumaišomas su etanolio ir mišinys pridedamas į dalį disperguojančios
 15 medžiagos-22, atšaldomas iki 30 °C ir pernešamas į užpildymo įrenginį. Po to
 reikalingas kiekis supilamas į plieninį konteinerį ir praskiedžiamas likusiu
 disperguojančios medžiagos kiekiu. Po to prie konteinerio pritvirtinamas vožtuvas.

Žvakutės gaminamos taip:

7 kompozicija: žvakutės

Ingredientas	Kiekis (mg/žvakutei)
F-III	250
Sočiųjų riebalų rūgščių gliceridai	2000

5

F-III praleidžiamas per 60 mešų sietą (JAV) ir suspenduojamas sočiųjų riebalų rūgščių gliceriduose, kurie prieš tai atsargiai išlydomi. Tada mišinys išpilamas į 2 g talpos liejimo formą ir atšaldomas.

Intraveninė kompozicija gaminama taip:

10

8 kompozicija: intraveninis tirpalas

Ingredientas	Kiekis
F-III	25 mg
Izotoninis tirpalas	1000 ml

15

Aukščiau išvardintų ingredientų tirpalas intraveniniu būdu įvedamas pacientui maždaug 1 ml per minutę greičiu.

9 kompozicija: derinio kapsulė I

Ingredientas	Kiekis (mg/kapsulei)
F-III	50
Premarinas	1
Avicel pH 101	50
Kraskmolas 1500	117,50

Silikoninė alyva	2
Tween 80	0,50
Cab-O-Sil	0,25

10 kompozicija: derinio kapsulė II

Ingredientas	Kiekis (mg/kapsulei)
F-III	50
Noretilnodrelis	5
Avicel pH 101	82,50
Kraskmolas pH 101	90
Silikoninė alyva	2
Tween 80	0,50

5

11 kompozicija: derinio tabletė

Ingredientas	Kiekis (mg/tabletei)
F-III	50
Premarinas	1
Kukurūzų kraskmolas, NF	50
Povidonas K29-32	6
Avicel pH 101	41,50
Avicel pH 102	136,50
Krospovidonas XL10	2,50
Magnio stearatas	0,50
Cab-O-Sil	0,50

Dozavimas

Pagal šį išradimą specifinės įvedamo F-III dozės nustatomos pagal konkrečias aplinkybes kiekvienoje situacijoje. Šios aplinkybės apima įvedimo būdą, ankstesnę recipiento gydymo istoriją, patologinę būklę ar simptomą, kurią gydome, gydomos

5 būklės/simptomo rimtumą ir recipiento amžių bei lytį.

Efektyvi minimali F-III dienos dozė paprastai yra maždaug 1, 5, 10, 15 arba 20 mg. Tipiniu atveju maksimali efektyvi dozė yra maždaug 800, 100, 60, 50, ar 40 mg. Tipiškiausiu atveju dozė svyruoja 15-60 mg ribose. Sutinkamai su standartine medicinos srityje “dozės titravimo” recipientui praktika gali būti nustatyta tiksli

10 dozė; t.y., pradžioje paskyrus mažą junginio dozę, dozė palaipsniui didinama, kol pasiekiamas norimas terapinis efektas.

Nors aukščiau aptartos terapijos deriniais atveju gali reikėti dozę titruoti, tipiškos kitų aktyvių ingredientų, išskyrus F-III, dozės yra tokios: etinilestrogeno (0,01-0,03 mg/per dieną), mestranolio (0,05-0,15 mg/dieną), konjuguotų

15 estrogeninių hormonų (pavyzdžiui., Premarin®, Wyeth-Ayerst; 0,3-2,5 mg/per dieną) medroksiprogesterono (2,5-10 mg/per dieną), noretinodrelis (1,0-10,0 mg/per dieną), nonetindrono (0,5-2,0 mg/per dieną), aminoglutemido (250-1250 mg/per dieną, geriausia po 250 mg keturis kartus per dieną), anastrazolo (1-5 mg/per dieną, geriausia 1 mg vieną kartą per dieną), letrozolo (2,5-10 mg/per

20 dieną, geriausia 2,5 mg vieną kartą per dieną), formestano (250-1250 mg/per savaitę, geriausia po 250 mg dukart per savaitę, eksemestano (25-100 mg/per dieną, geriausia 25 mg vieną kartą per dieną), goserlino (3-15 mg per tris mėnesius, geriausia 3,6-7,2 mg kartą per tris mėnesius) ir leuprolido (3-15 mg/per mėnesį, geriausia 3,75-7,5 mg kartą per mėnesį).

25

Ivedimo būdas

F-III gali būti įvedamas įvairiais būdais, įskaitant peroralinį, rektalinį, transderminį, subkutaninį, intraveninį, į raumenis ir intranazalinį. Kiekvieno agento estrogeno arba progestino pagrindu įvedimo būdas priklauso nuo to, kas

žinoma šioje srityje. F-III, tiek vienas ar derinyje su estrogenu, progestinu arba AChE inhibitoriumi, paprastai skiriamas įprastinės kompozicijos pavidale.

Šio išradimo farmacinės kompozicijos gali būti įvedamos žmonėms ir kitiems žinduoliams (pavyzdžiui, šunims, katėms, arkliams, kiaulėms ir pan.) peroraliniu, 5 rektaliniu, intravaginaliniu, parenteraliniu, vietiniu būdu, per burną arba po liežuviu, arba per nosį. Terminas "parenteralinis įvedimas" reiškia įvedimo būdą, apimantį injekcijas arba infuzijas į veną, į raumenis, į pilvą, į krūtinkaulį, po oda, intraartikuliniu (į sanario vidų) būdu.

10

Ivedimo pobūdis ir trukmė

Daugeliu šio išradimo būdų F-III įvedamas pastoviai, nuo 1 iki 3 kartų per dieną, arba tokiu dažniu, kokio reikia įvesti recipientui efektyvų F-III kiekį. Ciklinė terapija gali būti ypač naudinga gydant endometriozę arba gali būti naudojama ūmiu skausmo priepuolio atveju. Restenozės atveju gydymas gali būti apribotas 15 trumpais intervalais (1-6 mėn.) po kitų medicininių procedūrų, tokių kaip angioplastija.

20

25

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Kristalinis 6-hidroksi-3-(4-[2-(piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-
5 metoksifenil)-benzo[b]tiofeno hidrochlorido hidratas (F-III), turintis Rentgeno
spinduliuotės difrakcijos spektrą, gautą 25 ± 2 °C temperatūroje ir esant 35 ± 10 %
santykiniam drėgnumui su vario spinduliuotės šaltiniu, kuris susideda iš tokių
maksimumų: $4,6 \pm 0,2$, $7,8 \pm 0,2$, $9,3 \pm 0,2$, $14,0 \pm 0,2$, $17,6 \pm 0,2$, $20,8 \pm 0,2$ ir $24,3 \pm$
0,2°, esant 2θ.

10

2. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad susideda iš
kristalinio junginio pagal 1 punktą, vieno arba daugiau farmacinių nešiklių,
skiediklių arba užpildų ir, pasirinktinai, estrogeno, pasirinktinai, progestino,
pasirinktinai, aromatazės inhibitoriaus, pasirinktinai, LHRH analogo ir
15 pasirinktinai, acetilcholino esterazės (AChE) inhibitoriaus.

20

3. Farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad
susideda iš kristalinio junginio pagal 1 punktą, vieno arba daugiau farmacinių
nešiklių, skiediklių arba užpildų ir estrogeno.

4. Farmacinė kompozicija pagal 3 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad
estrogenas yra Premarin®.

5. Farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad
25 susideda iš kristalinio junginio pagal 1 punktą, vieno arba daugiau farmacinių
nešiklių, skiediklių arba užpildų ir progestino.

6. Farmacinė kompozicija pagal 5 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad progestinas yra parinktas iš grupės, susidedančios iš noretinodrelio ir noretindrono.

5 7. Farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad susideda iš kristalinio junginio pagal 1 punktą, vieno arba daugiau farmacinių nešiklių, skiediklių arba užpildų ir AChE inhibitoriaus.

8. Farmacinė kompozicija pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad
10 AChE inhibitorius yra parinktas iš grupės, susidedančios iš fizostigmino salicilato, takrino hidrochlorido ir donepezilo hidrochlorido.

9. Farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad
15 susideda iš kristalinio junginio pagal 1 punktą, vieno arba daugiau farmacinių nešiklių, skiediklių arba užpildų, estrogeno ir progestino.

10. Junginio pagal 1 punktą gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad
susideda iš 6-hidroksi-3-(4-[2-(piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)-
benzo[b]tiofeno hidrochlorido iškristalinimo iš izopropanolio ir vandens mišinio.

20

11. Būdas pagal 10 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad vandens santykis su izopropanoliu (t/t) yra 1-9 : 1.

12. Būdas pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad santykis yra 2,5-5,6
25 : 1.

13. Būdas pagal 12 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad santykis yra 3-5,6 :
1.

14. Junginys pagal 1 punktą, skirtas patologinės būklės, parinktos iš grupės, susidedančios iš gimdos fibrozės, endometrioze, aortos lygiųjų raumenų ląstelių proliferacijos, restenozės, krūties vėžio, gimdos vėžio, prostatos vėžio, gėrybinės prostatos hiperplazijos, kaulų išretėjimo, osteoporozės, širdies ir kraujagyslių susirgimo, hiperlipidemijos, CNS susirgimo ir Alzheimerio ligos, inhibavimui.

15. Junginys pagal 10 punktą, skirtas krūties vėžio inhibavimui.

16. Junginys pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad inhibavimo pobūdis yra profilaktinis.

17. Junginys pagal 10 punktą, skirtas kiaušidžių vėžio inhibavimui.

18. Junginys pagal 10 punktą, skirtas gimdos gleivinės vėžio inhibavimui.

15

19. Junginys pagal 1 punktą, skirtas cholinacetiltransferazės (ChAT) suregulavimui žinduoliuose.

16. Junginio pagal 1 punktą gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad susideda iš 6-hidroksi-3-(4-[2-(piperidin-1-il)etoksi]fenoksi)-2-(4-metoksifenil)benzo[b]tiofeno hidrochlorido iškristalinimo iš tetrahidrofurano.

20

FIG. 1

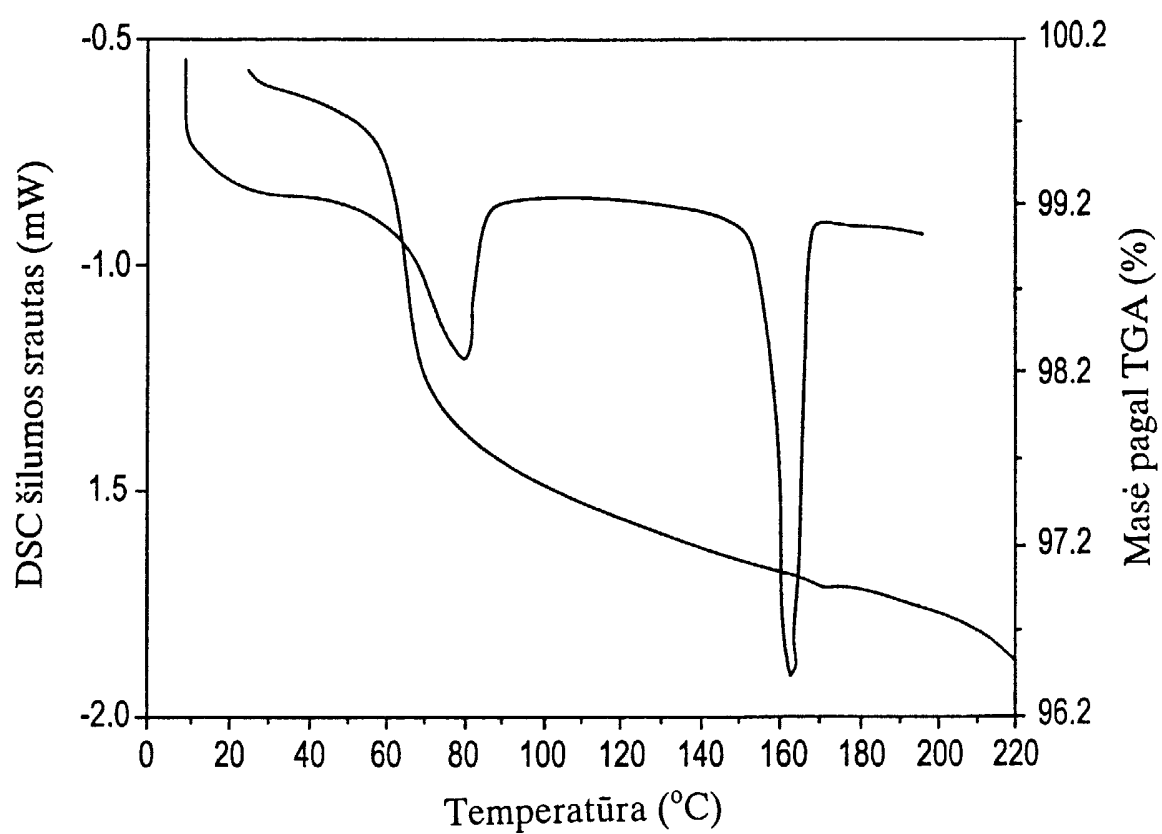


FIG. 2

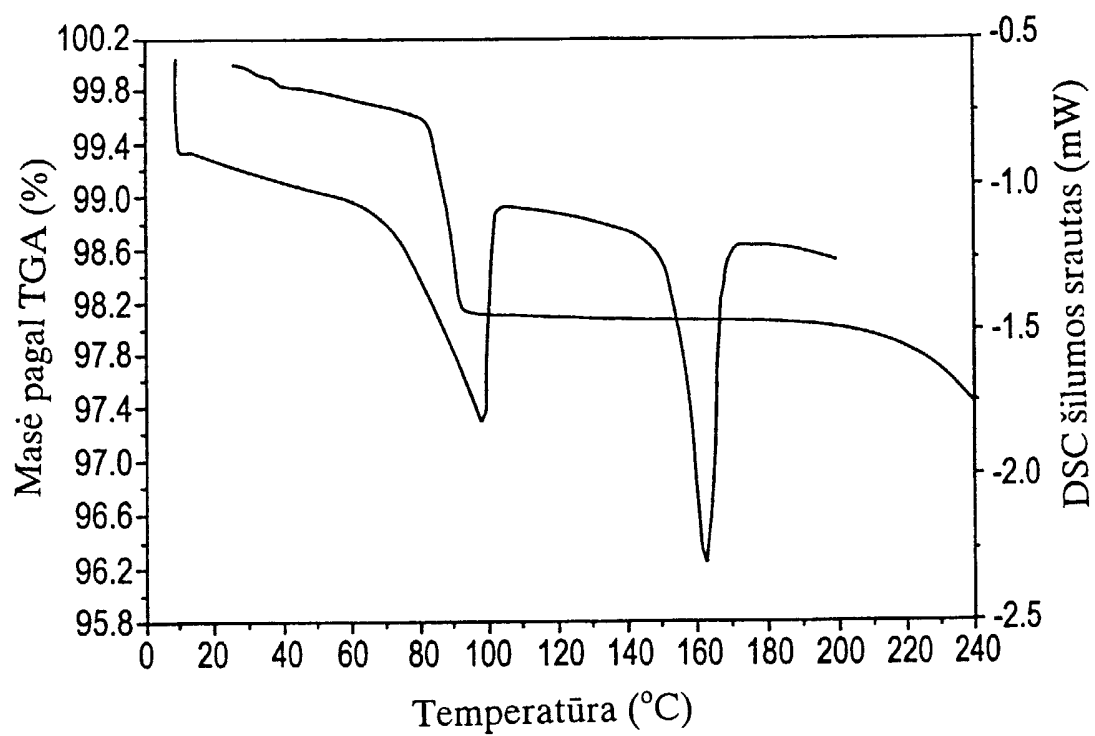


FIG. 3

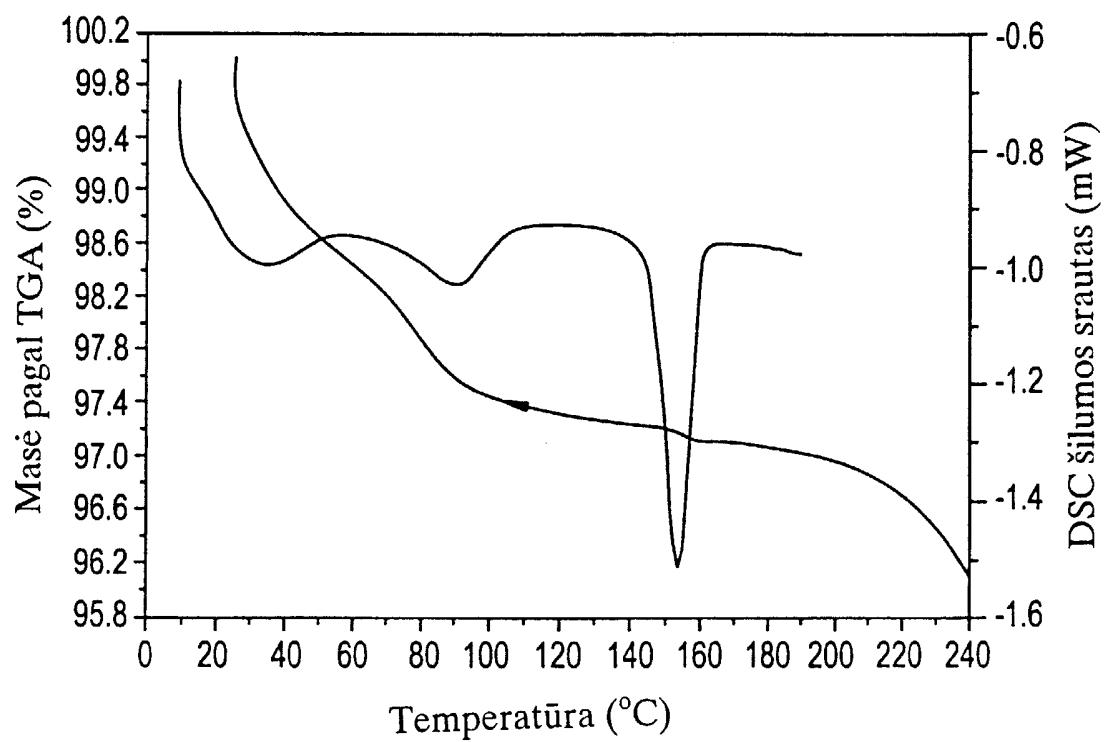


FIG. 4

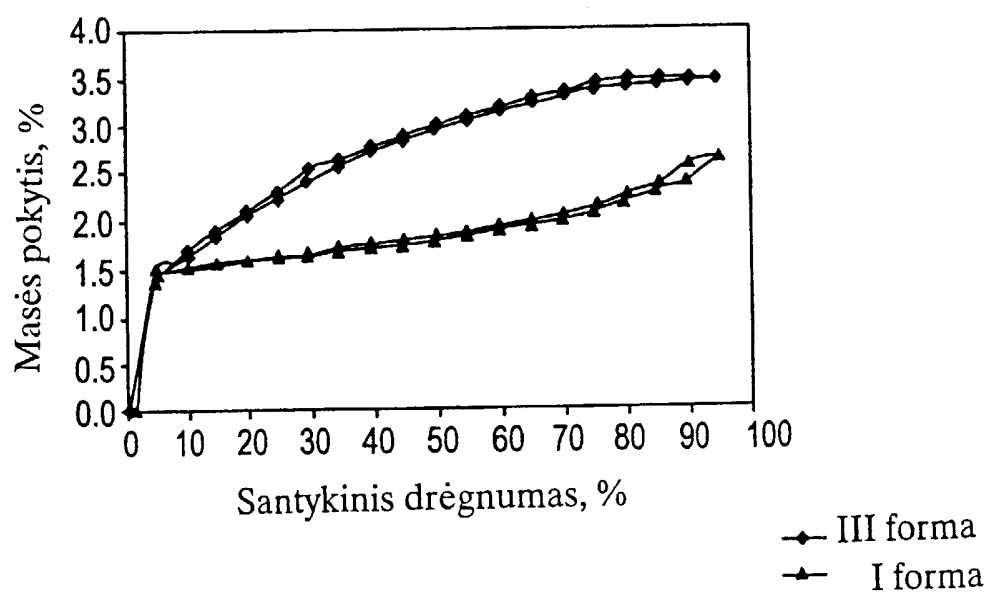


FIG. 5

