



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83620** (13) **C2**

(51) МПК (2006)

<i>C07D 263/56</i> (2006.01)	<i>A61P 13/08</i> (2006.01)
<i>A61K 31/423</i>	<i>A61P 15/00</i>
<i>A61K 31/427</i>	<i>A61P 17/02</i> (2006.01)
<i>A61P 1/04</i> (2006.01)	<i>A61P 19/02</i> (2006.01)
<i>A61P 3/06</i> (2006.01)	<i>A61P 25/00</i>
<i>A61P 3/10</i> (2006.01)	<i>A61P 25/22</i> (2006.01)
<i>A61P 5/30</i> (2006.01)	<i>A61P 25/28</i> (2006.01)
<i>A61P 7/00</i>	<i>A61P 29/00</i>
<i>A61P 9/00</i>	<i>A61P 35/00</i>
<i>A61P 9/10</i> (2006.01)	<i>C07D 235/18</i> (2006.01)
<i>A61P 9/12</i> (2006.01)	<i>C07D 263/57</i> (2006.01)
<i>A61P 11/06</i> (2006.01)	<i>C07D 277/66</i> (2006.01)
<i>A61P 13/00</i>	<i>C07D 413/04</i> (2006.01)
<i>A61P 13/02</i> (2006.01)	<i>C07D 417/04</i> (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАМІЩЕНІ БЕНЗОКСАЗОЛИ ТА ЇХ АНАЛОГИ ЯК ЕСТРОГЕННІ АГЕНТИ

1

2

(21) 20040705301

(22) 03.12.2002

(24) 11.08.2008

(86) PCT/US02/38513, 03.12.2002

(31) 60/336,663

(32) 05.12.2001

(33) US

(46) 11.08.2008, Бюл.№ 15, 2008 р.

(72) МАЛАМАС МАЙКЛ СОТІРІОС, US/US, МАК-ДЕВІТТ РОБЕРТ ЕММЕТТ, ГУНАВАН ІВАН, МАНАС ЕРІК СТВЕН, КОЛЛІНІ МАЙКЛ ДЕВІД, ХАРРІС ХІТЕР ЕНН, КЕЙТ ДЖЕЙМС КАРЛ, МОЛ., ЕЛБЕРТ ЛЕО МАССІЛЛАМАНІ, ЛІТТЛ СЕСІЛ РІЧАРД

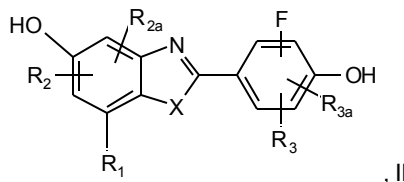
(73) УАЙТ

(56) STEVENS M.F.G. ET AL: "Structural studies on bioactive compounds. 23. Synthesis of polyhydroxylated 2-phenylbenzothiazoles and a comparison of their cytotoxicities and pharmacological properties with genistein and quercetin" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 37, no. 11, 27.05.1994, P. 1689-1695

WO, 02/051821, A1, 2002

WO, 02/46168, A1, 2002

(57) 1. Сполука формули (II), що має структуру



де

R<sub>1</sub> означає алкеніл з 2-7 атомів вуглецю, де група алкеніл необов'язково заміщена гідроксилом, -CN, галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомів вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомів вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, -NO<sub>2</sub>, CONR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> або -N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>;

R<sub>2</sub> і R<sub>2a</sub>; кожний незалежно, означають водень, гідроксил, галоген, алкіл з 1-6 атомів вуглецю, алкокси з 1-4 атомів вуглецю, алкеніл з 2-7 атомів вуглецю, алкініл з 2-7 атомів вуглецю, трифторалкіл з 1-6 атомів вуглецю або трифторалкокси з 1-6 атомів вуглецю, де групи алкіл, алкеніл або алкініл необов'язково заміщені гідроксилом, -CN, галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомів вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомів вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, -NO<sub>2</sub>, CONR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> або N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>;

R<sub>3</sub> і R<sub>3a</sub>, кожний незалежно, означають водень, алкіл з 1-6 атомів вуглецю, алкеніл з 2-7 атомів вуглецю, алкініл з 2-7 атомів вуглецю, галоген, алкокси з 1-4 атомів вуглецю, трифторалкіл з 1-6 атомів вуглецю або трифторалкокси з 1-6 атомів вуглецю, де групи алкіл, алкеніл або алкініл не-

(13) **C2**(11) **83620**(19) **UA**

обов'язково заміщені гідроксилом, -CN, галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомів вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомів вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, -NO<sub>2</sub>, CONR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> або -N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>;

R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, кожний незалежно, означають водень, алкіл з 1-6 атомів вуглецю або арил з 6-10 атомів вуглецю;

Хозначає O, S або NR<sub>7</sub>;

R<sub>7</sub> означає водень, алкіл з 1-6 атомів вуглецю, арил з 6-10 атомів вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub> або -SO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>;

або її фармацевтично прийнятна сіль.

2. Сполука за п. 1, де Хозначає O.

3. Сполука за п. 1 або 2, де R<sub>1</sub> означає алкеніл з 2-3 атомів вуглецю, який необов'язково заміщений гідроксилом, -CN, галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомів вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомів вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, -NO<sub>2</sub>, CONR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> або -N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>.

4. Сполука за п. 1, якою є 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

5. Сполука за п. 1, якою є 2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

6. Сполука за п. 1, якою є 2-(2,3-дифтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

7. Сполука за п. 1, якою є 4-бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

8. Сполука за п. 1, якою є 4,6-дибром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

9. Сполука за п. 1, якою є 7-(1-бромвініл)-2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

10. Сполука за п. 1, якою є 7-(1-бромвініл)-2-(2,3-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

11. Сполука за п. 1, якою є 7-аліл-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

12. Сполука за п. 1, якою є 2-(3,5-дифтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

13. Сполука за п. 1, якою є 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-(1-фторвініл)-1,3-бензоксазол-5-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

14. Сполука, якою є:

- a) 2-(5-гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,4-діол,
- b) 3-(5-гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,2-діол,
- c) 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- d) 2-(3-хлор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- e) 2-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- f) 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол,
- g) 2-(3-трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол,
- h) 2-(6-гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,4-діол,

- i) 3-(6-гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,2-діол,
- j) 4-(6-гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,2-діол,
- k) 2-(3-хлор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол,
- l) 4-(5-гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,3-діол,
- m) 4-(6-гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,3-діол,
- n) 6-хлор-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- o) 6-бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- p) 6-хлор-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- q) 5-хлор-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол,
- r) 7-бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- s) 7-бром-2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- t) 7-бром-2-(2,3-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- u) 2-(4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол,
- v) 7-(1,2-диброметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- w) 7-(1-бромвініл)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- x) 7-етиніл-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- y) 2-(4-гідроксифеніл)-7-пропіл-1,3-бензоксазол-5-ол,
- z) 7-бутил-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- aa) 7-циклопентил-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- bb) етил 5-гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбоксилат,
- cc) 2-(4-гідроксифеніл)-7-феніл-1,3-бензоксазол-5-ол,
- dd) 2-(4-гідроксифеніл)-7-метокси-1,3-бензоксазол-5-ол,
- ee) 7-етил-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- ff) 7-етил-2-(2-етил-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- gg) 5-гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбальдегід,
- hh) 7-(гідроксиметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- ii) 7-(бромметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- jj) [5-гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-іл]ацетонітрил,
- kk) 7-(1-гідрокси-1-метилетил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- ll) 2-(4-гідроксифеніл)-7-ізопропеніл-1,3-бензоксазол-5-ол,
- mm) 2-(4-гідроксифеніл)-7-ізопропіл-1,3-бензоксазол-5-ол,
- nn) 7-бром-2-(4-гідрокси-3-(трифторметил)феніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,
- oo) 7-(2-фурил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,

pp) 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-(2-фурил)-1,3-бензоксазол-5-ол,  
 qq) 2-(4-гідроксифеніл)-7-тієн-2-іл-1,3-бензоксазол-5-ол,  
 rr) 2-(4-гідроксифеніл)-7-(1,3-тіазол-2-іл)-1,3-бензоксазол-5-ол,  
 ss) 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-5-гідрокси-1,3-бензоксазол-7-карбонітрил,  
 tt) 4-бром-2-(4-гідроксифеніл)-7-метокси-1,3-бензоксазол-5-ол,  
 uu) 4,6-дибром-2-(4-гідроксифеніл)-7-метокси-1,3-бензоксазол-5-ол,  
 vv) 7-бром-2-(3,5-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол,  
 або її фармацевтично прийнятна сіль.

15. Спосіб лікування або інгібування простатиту або інтерстиціального циститу у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

16. Спосіб лікування або інгібування запальної хвороби кишечника, хвороби Крона, виразкового проктиту або коліту у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

17. Спосіб лікування або інгібування гіпертрофії простати, лейоміоми матки, раку молочної залози, внутрішньоматкового раку, синдрому полікістозного яєчника, внутрішньоматкових поліпів, доброякісної хвороби молочної залози, аденоміозу, раку яєчників, меланоми, раку простати, раку товстої кишки, гліоми або астіобластоми у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

18. Спосіб зниження рівнів вмісту холестерину, тригліцеридів, Lp(a) або LDL; інгібування або лікування гіперхолестеринемії, гіперліпідемії, серцево-судинної хвороби, атеросклерозу, гіпертензії, хвороби периферичних судин, рестенозу або вазоспазму, або інгібування ушкодження стінок судин від клітинних випадків, що ведуть до імуноопосередкованого судинного ураження, у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

19. Спосіб поліпшення пізнавальної здатності або нейрозахисту, або лікування або інгібування старечого слабоумства, хвороби Альцгеймера, зниження пізнавальної здатності, удару, тривоги або нейродегенеративних розладів у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

20. Спосіб лікування або інгібування хворобливих станів, що індукуються вільними радикалами, у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

21. Спосіб лікування або інгібування вагінальної або вульварної атрофії, атрофічного вагініту, вагінальної сухості, пруриту, диспареунії, дизурії, частого сечовипускання, нетримання сечі, інфекції сечових шляхів у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вво-

дять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

22. Спосіб лікування або інгібування вазомоторних симптомів у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

23. Спосіб інгібування зачаття у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

24. Спосіб лікування або інгібування артриту у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

25. Спосіб за п. 24, де артритом є ревматоїдний артрит, остеоартрит або спондилоартропатії.

26. Спосіб лікування або інгібування опухання або ерозії сулобів, або лікування або інгібування ураження суглоба після артроскопічних або хірургічних процедур у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

27. Спосіб лікування або інгібування псоріазу або дерматиту у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

28. Спосіб лікування або інгібування ішемії, реперфузійного ураження, астми, плевриту, розсіяного склерозу, системного червоного вовчака, увеїту, сепсису, геморагічного шоку або діабету типу II у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

29. Спосіб лікування або інгібування ендометріозу у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-13.

30. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп. 1-13 і фармацевтичний носій.

31. Спосіб лікування або інгібування запальної хвороби кишечника у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість селективного відносно ER- $\beta$  ліганду, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 20 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ , і селективний відносно ER- $\beta$  ліганд являє собою сполуку за будь-яким з пп. 1-14.

32. Спосіб за п. 31, де запальною хворобою кишечника є хвороба Крона, виразковий коліт, недетермінантний коліт, інфекційний коліт або виразковий проктит.

33. Спосіб за п. 32, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 50 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ .

34. Спосіб за п. 33, де селективний відносно ER- $\beta$  ліганд викликає збільшення маси вологої матки, яке менше ніж близько 10 % від того, яке спостерігається для максимально ефективної дози 17 $\beta$ -естрадіолу у стандартній фармакологічній тест-

процедурі, що вимірює утеротрофічну активність, і селективний відносно ER- $\beta$  ліганд викликає збільшення mRNA казеїнкінази II, яке менше ніж близько 10 % від того, яке спостерігається для максимально ефективної дози 17 $\beta$ -естрадіолу у стандартній фармакологічній тест-процедурі, що вимірює мамотрофічну активність.

35. Спосіб за п. 34, де селективний відносно ER- $\beta$  ліганд не збільшує значно ( $p > 0,05$ ) масу вологої матки у порівнянні з контролем, тобто позбавлений утеротрофічної активності, і не збільшує значно ( $p > 0,05$ ) mRNA казеїнкінази II у порівнянні з контролем, тобто позбавлений мамотрофічної активності.

36. Спосіб лікування або інгібування артриту у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість неутеротрофічного немамотрофічного селективного відносно ER- $\beta$  ліганду, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 20 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ , і селективний відносно ER- $\beta$  ліганд являє собою сполуку за будь-яким з пп. 1-14.

37. Спосіб за п. 36, де артритом є ревматоїдний артрит, остеоартрит або спондилоартропатії.

38. Спосіб за п. 37, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 50 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ .

39. Спосіб за п. 38, де селективний відносно ER- $\beta$  ліганд викликає збільшення маси вологої матки, яке менше ніж близько 10 % від того, що спостерігається для максимально ефективної дози 17 $\beta$ -естрадіолу у стандартній фармакологічній тест-процедурі, що вимірює утеротрофічну активність, і селективний відносно ER- $\beta$  ліганд викликає збільшення mRNA казеїнкінази II, яке менше ніж близько 10 % від того, що спостерігається для максимально ефективної дози 17 $\beta$ -естрадіолу у стандартній фармакологічній тест-процедурі, що вимірює мамотрофічну активність.

40. Спосіб за п. 39, де селективний відносно ER- $\beta$  ліганд не збільшує значно ( $p > 0,05$ ) масу вологої матки у порівнянні з контролем, тобто позбавлений утеротрофічної активності, і не збільшує значно ( $p > 0,05$ ) mRNA казеїнкінази II у порівнянні з контролем, тобто позбавлений мамотрофічної активності.

41. Спосіб лікування або інгібування опухання або ерозії суглобів, або лікування або інгібування ураження суглоба після артроскопічних або хірургічних процедур у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість неутеротрофічного немамотрофічного селективного відносно ER- $\beta$  ліганду, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 20 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ , і селективний відносно ER- $\beta$  ліганд являє собою сполуку за будь-яким з пп. 1-14.

42. Спосіб за п. 41, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 50 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ .

найменше приблизно у 50 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ .

43. Спосіб лікування або інгібування ендометріозу у ссавця, який потребує цього, що характеризується тим, що вказаному ссавцю вводять ефективну кількість селективного відносно ER- $\beta$  ліганду, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 20 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ , і селективний відносно ER- $\beta$  ліганд являє собою сполуку за будь-яким з пп. 1-14.

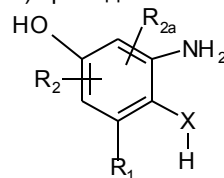
44. Спосіб за п. 43, де спорідненість зв'язування селективного відносно ER- $\beta$  ліганду з ER- $\beta$  щонайменше приблизно у 50 разів більша, ніж його спорідненість зв'язування з ER- $\alpha$ .

45. Спосіб за п. 44, де селективний відносно ER- $\beta$  ліганд викликає збільшення маси вологої матки, яке менше ніж близько 10 % від того, що спостерігається для максимально ефективної дози 17 $\beta$ -естрадіолу у стандартній фармакологічній тест-процедурі, що вимірює утеротрофічну активність, і селективний відносно ER- $\beta$  ліганд викликає збільшення mRNA казеїнкінази II, яке менше ніж близько 10 % від того, що спостерігається для максимально ефективної дози 17 $\beta$ -естрадіолу у стандартній фармакологічній тест-процедурі, що вимірює мамотрофічну активність.

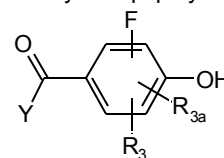
46. Спосіб за п. 45, де селективний відносно ER- $\beta$  ліганд не збільшує значно ( $p > 0,05$ ) масу вологої матки у порівнянні з контролем, тобто позбавлений утеротрофічної активності, і не збільшує значно ( $p > 0,05$ ) mRNA казеїнкінази II у порівнянні з контролем, тобто позбавлений мамотрофічної активності.

47. Спосіб одержання сполуки за будь-яким з пп. 1-13, що містить одне з наступного:

a) проводять взаємодію сполуки формули



де R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>2a</sub> і X є такими, як визначено у п. 1, зі сполукою формули



де R<sub>3</sub> і R<sub>3a</sub> є такими, як визначено у п. 1, і Y означає галоген, -OH або алкокси з 1-6 атомів вуглецю; або

b) проводять перетворення сполуки формули II, яка визначена у п. 1, на її фармацевтично прийнятну сіль; або

c) проводять розділення ізомерної суміші сполук формули II, щоб ізолювати енантіомер сполуки формули II або її фармацевтично прийнятної солі.

Даний винахід відноситься до заміщених бензоксазолів, які можуть застосовуватися як естрогенні агенти.

Плейотропні ефекти естрогенів у тканинах ссавців одержали хороше документальне підтвердження і у наш час визнано, що естрогени впливають на багато систем органів [Mendelsohn and Karas, *New England Journal of Medicine* 340: 1801-1811 (1999), Epperson, et al., *Psychosomatic Medicine* 61: 676-697 (1999), Crandall, *Journal of Womens Health & Gender Based Medicine* 8: 1155-1166 (1999), Monk and Brodaty, *Dementia & Geriatric Cognitive Disorders* 11: 1-10 (2000), Hum and Macrae, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 20: 631-652 (2000), Calvin, *Maturitas* 34: 195-210 (2000), Finking, et al., *Zeitschrift fur Kardiologie* 89: 442-453 (2000), Brincat, *Maturitas* 35: 107-117 (2000), Al-Azzawi, *Postgraduate Medical Journal* 77: 292-304 (2001)]. Естрогени можуть здійснювати впливи на тканини різними шляхами, і найбільш добре охарактеризованим механізмом дії є їх взаємодія з естрогенними рецепторами, що веде до альтерацій у генній транскрипції. Естрогенні рецептори є лігандактивованими факторами транскрипції і належать до надсімейства нуклеарних гормональних рецепторів. До інших членів вказаного сімейства відносяться рецептори прогестерону, андрогену, глюкокортикостероїду та мінералокортикоїду. Під дією зв'язувального ліганду вказані рецептори димеризуються і можуть активувати генну транскрипцію або безпосереднім зв'язуванням зі специфічними послідовностями DNA (відомими як чутливі елементи), або шляхом взаємодії з іншими факторами транскрипції (такими як API), які, у свою чергу, зв'язуються безпосередньо зі специфічними послідовностями DNA [Moggs and Orphanides, *EMBO Reports* 2: 775-781 (2001), Hall, et al., *Journal of Biological Chemistry* 276: 36869-36872 (2001), McDonnell, *Principles of Molecular Regulation*, p.351-361 (2000)]. Клас "корегуляторних" протеїнів, які можуть також взаємодіяти з лігандзв'язувальним рецептором і далі модулювати його транскрипційну активність [McKenna, et al., *Endocrine Reviews* 20: 321-344 (1999)]. Було також показано, що естрогенні рецептори можуть пригнічувати NFkB-опосередковувану транскрипцію як залежним від ліганду, так і незалежним чином [Quaedackers, et al., *Endocrinology* 142: 1156-1166 (2001), Bhat, et al., *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 67: 233-240 (1998), Pelzer, et al., *Biochemical & Biophysical Research Communications* 286: 1153-7 (2001)].

Естрогенні рецептори також можуть бути активовані фосфорилуванням. Дане фосфорилування опосередковується ростовими факторами, такими як EGF, і викликає зміни у генній транскрипції за відсутності ліганду [Moggs and Orphanides, *EMBO Reports* 2: 775-781 (2001), Hall, et al., *Journal of Biological Chemistry* 276: 36869-36872 (2001)].

Менш добре охарактеризовані механізми, за допомогою яких естрогени можуть впливати на клітини, - це через так званий мембранний рецептор. Існування такого рецептора є спірним, але

документально добре підтверджено, що естрогени можуть викликати дуже швидкі негеномні відгуки від клітин. Молекулярна суть, що відповідає за трансдукцію вказаних ефектів, остаточно не виділена, але є підстави стверджувати, що вона щонайменше відноситься до нуклеарних форм естрогенних рецепторів [Levin, *Journal of Applied Physiology* 91: 1860-1867 (2001), Levin, *Trends in Endocrinology & Metabolism* 10: 374-377 (1999)].

На даний момент відкрито два естрогенних рецептори. Перший естрогенний рецептор клонований близько 15 років тому і у наш час згадується як ER $\alpha$  [Green, et al., *Nature* 320: 134-9 (1986)]. Друга форма естрогенного рецептора виявлена порівняно нещодавно і названа ER $\beta$  [Kuiper, et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 5925-5930 (1996)]. Початкова робота по ER $\beta$  була сфокусована на визначенні його спорідненості з різноманітними лігандами і, дійсно, були виявлені деякі відмінності з ER $\alpha$ . Тканинний розподіл ER $\beta$  був добре картований на гризунах, і він не співпадає з ER $\alpha$ . Тканини, такі як матка мишей і щурів, експресують переважно ER $\alpha$ , тоді як легеня мишей і щурів експресує переважно ER $\beta$  [Couse, et al., *Endocrinology* 138: 4613-4621 (1997), Kuiper, et al., *Endocrinology* 138: 863-870 (1997)]. Навіть всередині одного і того ж органу розподіл ER $\alpha$  і ER $\beta$  може бути розмежований. Наприклад, в яєчнику мишей ER $\beta$  високо експресується у зернистих клітинах, і ER $\alpha$  обмежується оболонковими клітинами і клітинами, що відносяться до строми, [Sar and Welsch, *Endocrinology* 140: 963-971 (1999), Fitzpatrick, et al., *Endocrinology* 140: 2581-2591 (1999)]. Однак є приклади, де рецептори спільно експресуються, і є підстава, виходячи з досліджень *in vitro*, вважати, що ER $\alpha$  і ER $\beta$  можуть утворювати гетеродимери [Cowley, et al., *Journal of Biological Chemistry* 272: 19858-19862 (1997)].

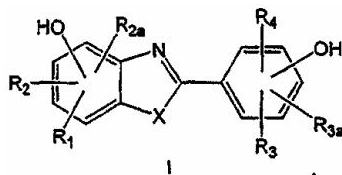
Була описана велика кількість сполук, які або стимулюють, або блокують активність 17 $\beta$ -естрадіолу. Сполуки, що мають приблизно такі ж біологічні ефекти, як 17 $\beta$ -естрадіол, найбільш сильний ендогенний естроген, названі "агоністами естрогенного рецептора". Ті ж, які у поєднанні з 17 $\beta$ -естрадіолом блокують його ефекти, названі "антагоністами естрогенного рецептора". У реальності ж існує континуум між активністю агоніста естрогенного рецептора і антагоніста естрогенного рецептора, і, насправді, деякі сполуки поведуться як агоністи естрогенного рецептора у деяких тканинах і як антагоністи естрогенного рецептора в інших. Такі сполуки зі змішаною активністю названі селективними модуляторами естрогенного рецептора (SERMS) і є терапевтично застосовними агентами (напр. EVISTA) [McDonnell, *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 7: S 10-SI 5 (2000), Goldstein, et al., *Human Reproduction Update* 6: 212-224 (2000)]. Точна причина, чому одна і та ж сполука може мати специфічні відносно клітин ефекти, не з'ясована, але відмінності у конформа-

ції рецептора і/або серед корегуляторних протеїнів підтверджені.

Відомо, що на якийсь час естрогенні рецептори приймають різні конформації, коли зв'язуються з лігандами. Однак наслідок і тонка відмінність вказаних змін виявлені тільки нещодавно. Тривимірні структури ER $\alpha$  і ER $\beta$  були розділені спільною кристалізацією з різними лігандами і чітко показали репозиціювання спіралі 12 у присутності антагоніста естрогенного рецептора, яке стерично утруднює послідовності протеїну, необхідні для взаємодії рецептор-корегуляторний протеїн [Pike, et al., *Embo* 18: 4608-4618 (1999), Shiau, et al., *Cell* 95: 927-937 (1998)]. На додаток, методика демонстрації фагів була застосована для ідентифікації пептидів, які взаємодіють з естрогенними рецепторами у присутності різних лігандів [Paige, et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 3999-4004 (1999)]. Наприклад, був ідентифікований пептид, який відрізняє ER $\beta$ , зв'язаний з повними агоністами естрогенного рецептора 17 $\beta$ -естрадіолом і діетилstilбестеролом. Був виявлений інший пептид, який відрізняє кломіфен, зв'язаний з ER $\alpha$  і ER $\beta$ . Ці дані показують, що кожний ліганд потенційно розташовує рецептор в унікальній і непередбачуваній конформації, яка, ймовірно, має біологічні активності, що відрізняються.

Як згадувалося вище, естрогени впливають на захисні біологічні процеси. На додаток, коли родові відмінності описані (напр..., частота захворювань, відгуки на виклик і т.п.), можливо, що пояснення передбачає відмінність у рівнях вмісту естрогену між чоловічими і жіночими особинами.

Винахід відноситься до естрогенної сполуки формули (I), що має структуру



де R<sub>1</sub> означає водень, гідроксил, галоген, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкіл з 1-6 атомами вуглецю, циклоалкіл з 3-8 атомами вуглецю, алкокси з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, тіоалкіл з 1-6 атомами вуглецю, сульфоксоалкіл з 1-6 атомами вуглецю, сульфаноалкіл з 1-6 атомами вуглецю, арил з 6-10 атомами вуглецю, 5- або 6-членне гетероциклічне кільце, що має від 1 до 4 гетероатомів, вибраних з O, N або S, -NO<sub>2</sub>, -NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, -N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>, -CN, -CHFCN, -CF<sub>2</sub>CN, алкініл з 2-7 атомами вуглецю або алкеніл з 2-7 атомами вуглецю, де групи алкіл або алкеніл необов'язково заміщені гідроксильом, -CN, галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, -NO<sub>2</sub>, CONR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> або N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>;

R<sub>2</sub> і R<sub>2a</sub>, кожний незалежно, означають водень, гідроксил, галоген, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, алкокси з 1-4 атомами вуглецю, алкеніл з 2-7 атомами вуглецю або алкініл з 2-7 атомами вуглецю,

трифторалкіл з 1-6 атомами вуглецю або трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, де групи алкіл або алкеніл необов'язково заміщені гідроксильом, -CN, галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, -NO<sub>2</sub>, CONR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> або N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>;

R<sub>3</sub>, R<sub>3a</sub> і R<sub>4</sub>, кожний незалежно, означають водень, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, алкеніл з 2-7 атомами вуглецю, алкініл з 2-7 атомами вуглецю, галоген, алкокси з 1-4 атомами вуглецю, трифторалкіл з 1-6 атомами вуглецю або трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, де групи алкіл або алкеніл необов'язково заміщені гідроксильом, -CN, галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>, -NO<sub>2</sub>, CONR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> або N(R<sub>5</sub>)COR<sub>6</sub>;

R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, кожний незалежно, означають водень, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, арил з 6-10 атомами вуглецю;

X означає O, S або NR<sub>7</sub>;

R<sub>7</sub> означає водень, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, арил з 6-10 атомами вуглецю, -COR<sub>5</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>5</sub> або -SO<sub>2</sub>R<sub>5</sub>;

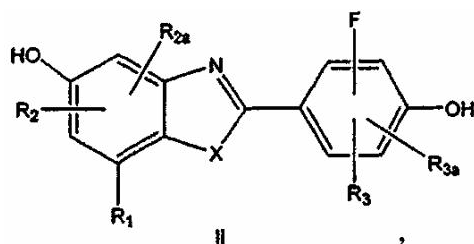
або до її фармацевтично прийнятної солі.

Фармацевтично прийнятні солі можуть бути утворені з органічних і неорганічних кислот, наприклад, оцтової, пропіонової, молочної, лимонної, винної, бурштинової, фумарової, малеїнової, малінової, мигдалевої, яблучної, фталевої, хлористоводневої, бромистоводневої, фосфорної, азотної, сірчаної, метансульфонової, нафталінсульфонової, бензолсульфонової, толуолсульфонової, камфорсульфонової і подібних відомих прийнятних кислот, коли сполука за винаходом містить групу основного характеру. Солі також можуть бути утворені з органічних і неорганічних основ, такі як солі лужних металів (наприклад, натрію, літію або калію), солі лужноземельних металів, солі амонію, солі алкіламонію, що містять 1-6 атомів вуглецю або солі діалкіламонію, що містять 1-6 атомів вуглецю у кожній алкілгрупі, і солі триалкіламонію, що містять 1-6 атомів вуглецю у кожній алкілгрупі, коли сполука за винаходом містить кислотну групу.

Терміни алкіл, алкеніл і алкініл включають групи як з розгалуженим, так і з прямим ланцюгом. Приклади включають метил, етил, пропіл, бутіл, ізопропіл, втор-бутил, трет-бутил, вініл, аліл, ацетил, 1-метилвініл і тому подібне. Коли групи алкіл- і алкенілзаміщені, вони звичайно можуть бути моно-, ди-, три- і перзаміщеними. Приклади для галогензамісника включають 1-бромвініл, 1-фторвініл, 1,2-дифторвініл, 2,2-дифторвініл, 1,2,2-трифторвініл, 1,2-діброметан, 1,2-дифторетан, 1-фтор-2-брометан, CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> і тому подібне. Термін галоген включає бром, хлор, фтор і йод. Термін арил означає феніл, 1-нафтил або 2-нафтил. Переважні 5-6-членні гетероциклічні кільця включають фуран, тіофен, пірол, ізопірол, піразол, імідазол, триазол, дітіол, оксатіол, ізоксазол, оксазол, тіазол, ізотіазолем, оксатіазол, фуразан, оксатриазол, діоксазол, оксатіазол, тетразол, піран, піридин, піридазин, піримідин, піразин, триазин, оксазин, оксатіазин або оксатіазин. Більш

переважно, коли гетероциклічним кільцем є фуран, тіофен або тіазол.

Зі сполук за даним винаходом переважна сполука формули (I), яка має структуру



де  $R_1$  означає алкеніл з 2-7 атомами вуглецю, де група алкеніл необов'язково заміщена гідроксильом,  $-CN$ , галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю,  $-COR_5$ ,  $-CO_2R_5$ ,  $-NO_2$ ,  $CONR_5R_6$ ,  $NR_5R_6$  або  $N(R_5)COR_6$ ;

$R_2$  і  $R_{2a}$ , кожний незалежно, означають водень, гідроксил, галоген, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, алкокси з 1-4 атомами вуглецю, алкеніл з 2-7 атомами вуглецю, алкініл з 2-7 атомами вуглецю, трифторалкіл з 1-6 атомами вуглецю або трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, де групи алкіл, алкеніл або алкініл необов'язково заміщені гідроксильом,  $-CN$ , галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю,  $-COR_5$ ,  $-CO_2R_5$ ,  $-NO_2$ ,  $CONR_5R_6$ ,  $NR_5R_6$  або  $N(R_5)COR_6$ ;

$R_3$  і  $R_{3a}$ , кожний незалежно, означають водень, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, алкеніл з 2-7 атомами вуглецю, алкініл з 2-7 атомами вуглецю, галоген, алкокси з 1-4 атомами вуглецю, трифторалкіл з 1-6 атомами вуглецю або трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю, де групи алкіл, алкеніл або алкініл необов'язково заміщені гідроксильом,  $-CN$ , галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю,  $-COR_5$ ,  $-CO_2R_5$ ,  $-NO_2$ ,  $CONR_5R_6$ ,  $NR_5R_6$  або  $N(R_5)COR_6$ ;

$R_5$ ,  $R_6$ , кожний незалежно, означають водень, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, арил з 6-10 атомами вуглецю;

$X$  означає  $O$ ,  $S$  або  $NR_7$ ;

$R_7$  означає водень, алкіл з 1-6 атомами вуглецю, арил з 6-10 атомами вуглецю,  $-COR_5$ ,  $-CO_2R_5$  або  $-SO_2R_5$ ;

або її фармацевтично прийнятна сіль.

Більш переважно, коли  $X$  означає  $O$ , і ще більш переважно, коли  $X$  означає  $O$  і  $R_1$  означає алкеніл з 2-3 атомами вуглецю, який необов'язково заміщений гідроксильом,  $-CN$ , галогеном, трифторалкілом з 1-6 атомами вуглецю, трифторалкокси з 1-6 атомами вуглецю,  $-COR_5$ ,  $-CO_2R_5$ ,  $-NO_2$ ,  $CONR_5R_6$ ,  $NR_5R_6$  або  $-N(R_5)COR_6$ .

Використовуваний відповідно до даного винаходу термін "забезпечення" по відношенню до забезпечення сполуки або речовини, що охоплюється даним винаходом, означає або безпосередньо введення такої сполуки або речовини, або введення проліків, похідного або аналога, які будуть утворювати ефективну кількість сполуки або речовини всередині організму.

Використовуваний відповідно до даного винаходу термін "селективний відносно  $ER\beta$  ліганд" означає, що спорідненість зв'язування (яку вимірюють по  $IC_{50}$ , де  $IC_{50}$   $17\beta$ -естрадіолу дорівнює не більш ніж 3-разовий диферент між  $ER\alpha$  і  $ER\beta$ ) ліганду з  $ER\beta$  щонайменше приблизно у 10 разів більше ніж його спорідненість зв'язування з  $ER\alpha$  у стандартній фармакологічній тест-процедурі, яка служить для вимірювання величин спорідненості зв'язування з  $ER\alpha$  і  $ER\beta$ . Переважно, коли селективний відносно  $ER\beta$  ліганд матиме спорідненість зв'язування з  $ER\beta$ , яка щонайменше приблизно у 20 разів більше, ніж його спорідненість зв'язування з  $ER\alpha$ . Більш переважно, коли селективний відносно  $ER\beta$  ліганд матиме спорідненість зв'язування з  $ER\beta$ , яка щонайменше приблизно у 50 разів більше, ніж його спорідненість зв'язування з  $ER\alpha$ . Додатково переважно, коли селективний відносно  $ER\beta$  ліганд є неутеротрофічним і немамотрофічним.

Використовуваний відповідно до даного винаходу термін "неутеротрофічний" означає збільшення маси вологої матки у стандартній фармакологічній тест-процедурі на менш ніж близько 50% від збільшення маси матки, що спостерігається для максимально ефективної дози  $17\beta$ -естрадіолу або  $17\alpha$ -етиніл- $17\beta$ -естрадіолу у такій же процедурі. Переважно, щоб збільшення маси вологої матки було менше ніж близько 25% від того, що спостерігається для естрадіолу і більш переважно, щоб збільшення маси вологої матки було менше ніж близько 10% від того, що спостерігається для естрадіолу. Найбільш переважно, щоб неутеротрофічний селективний відносно  $ER\beta$  ліганд не збільшував помітно вологу масу матки ( $p > 0,05$ ) у порівнянні з контролем, який не має утеротрофічної активності (наприклад носій).

Використовуваний відповідно до даного винаходу термін "немамотрофічний" означає формування збільшення mRNA казеїн-кінази II у стандартній фармакологічній тест-процедурі менш ніж близько 50% від збільшення mRNA казеїн-кінази II, що спостерігається для максимально ефективної дози  $17\beta$ -естрадіолу або  $17\alpha$ -етиніл- $17\beta$ -естрадіолу у такій же процедурі. Переважно, щоб збільшення mRNA казеїн-кінази II було менше ніж близько 25% від того, що спостерігається для естрадіолу і більш переважно, щоб збільшення mRNA казеїн-кінази II було менше ніж близько 10% від того, що спостерігається для естрадіолу. Найбільш переважно, щоб немамотрофічний селективний відносно  $ER\beta$  ліганд не збільшував помітно mRNA казеїн-кінази II ( $p > 0,05$ ) у порівнянні з контролем, який позбавлений мамотрофічної активності (наприклад носій).

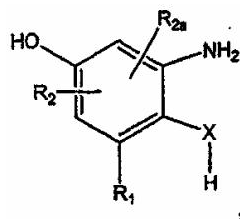
Винахід також відноситься до застосування селективного відносно  $ER\beta$  ліганду у лікуванні або пригніченні артриту, запальної хвороби кишечника та ендометріозу. Більш конкретно, селективні відносно  $ER\beta$  ліганди застосовні у лікуванні або пригніченні ревматоїдного артриту, остеоартриту або спондилоартропатії і хвороби Крона, виразкового коліту, недетермінантного коліту, інфекційного коліту або виразкового проктиту. Даний винахід додатково відноситься до застосування селектив-

ного відносно ER $\beta$  ліганду у лікуванні або пригніченні опухання або ерозії суглобів, або у лікуванні або пригніченні ураження суглоба після артроскопічних або хірургічних процедур. Переважно, щоб селективний відносно ER $\beta$  ліганд був би неутеротрофічним і немамнотрофічним.

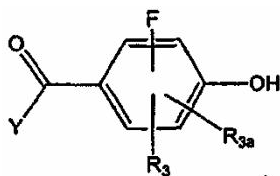
Реагенти, що використовуються для одержання сполук за даним винаходом, можуть бути або комерційно доступні, або можуть бути одержані стандартними процедурами, описаними у літературі.

В іншому аспекті даний винахід відноситься до способу одержання сполуки за винаходом, що містить одне з наступного:

а) взаємодію сполуки формули



де R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>S і X є такими, як визначено вище, зі сполукою формули



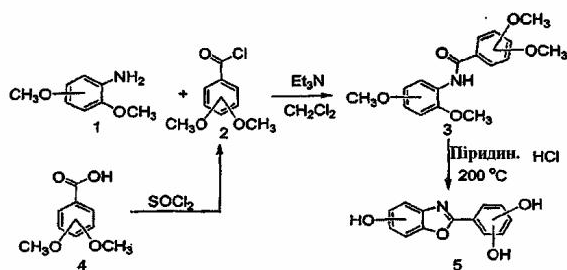
де R<sub>3</sub> і R<sub>3a</sub> є такими, як визначено вище, і Y означає галоген, -OH або алкокси з 1-6 атомами вуглецю; або

б) перетворення сполуки формули (II), як визначено вище, в її фармацевтично прийнятну сіль; або

с) розділення ізомерної суміші сполук формули (II), щоб ізолювати енантіомер сполуки формули (II) або її фармацевтично прийнятної солі.

Сполуки за даним винаходом можуть бути одержані, наприклад відповідно до наступних схем синтезу (I-VIII)

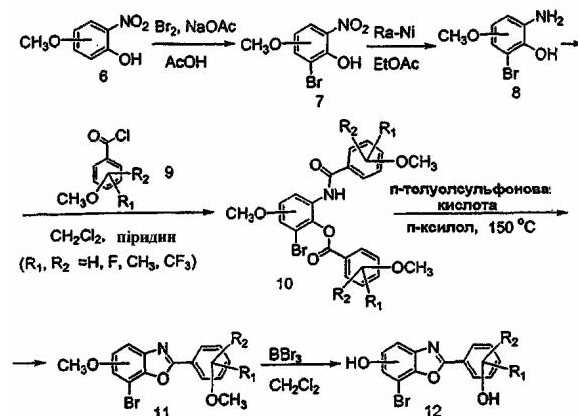
Схема I



На схемі I, комерційно доступний диметоксіанілін 1 обробляють комерційно доступним бензоїлхлоридом 2 у присутності триетиламіну, щоб одержати амід 3. Необхідний бензоїлхлорид 2 також одержують з комерційно доступної бензойної кислоти 4 при кип'ятінні з тіонілхлоридом зі зворот-

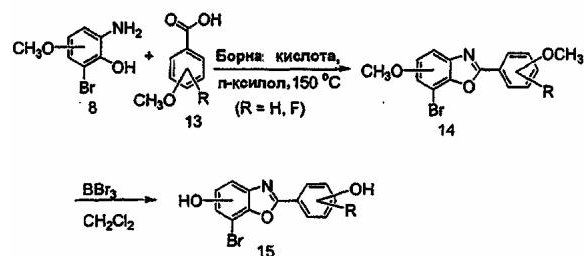
ним холодильником. Амід 3 перетворюють у фенольний бензоксазол 5 шляхом обробки гідрохлоридом піридину при високій температурі (200 °C).

Схема II



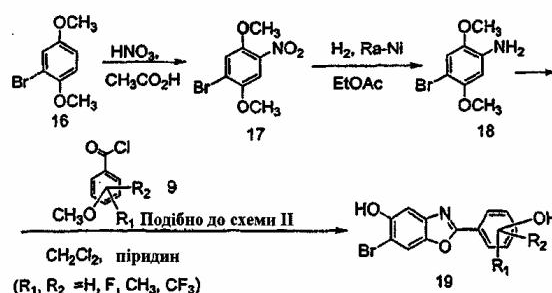
На схемі II, комерційно доступний нітрофенол 6 піддають бромованню Br<sub>2</sub>/NaOAc в оцтовій кислоті, щоб одержати бромфенол 7. Каталітичне гідрювання бромфенолу 7 з використанням Ra-Ni в EtOAc дає анілін 8. Сполука аніліну 8 з бензоїлхлоридом 9 (комерційно доступним або одержаним з відповідної бензойної кислоти і тіонілхлориду) у присутності піридину дає амід-окладний ефір 10. Перетворення сполуки 10 у бензоксазол 11 здійснюють у кислотних умовах (п-толуолсульфонова кислота) при високій температурі (150 °C). Деметилування сполуки 11 трибромідом бору у дихлорметані дає фенольний бензоксазол 12.

Схема III



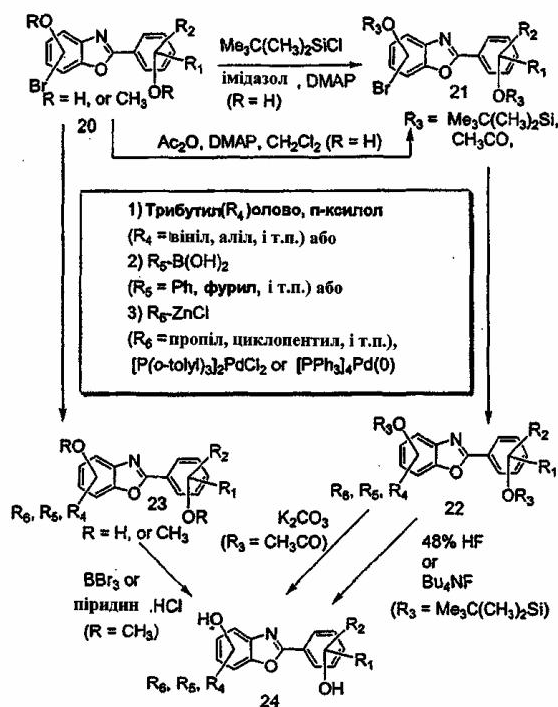
На схемі III, анілін 8 перетворюють у бензоксазол 14 при обробці бензойною кислотою 13 і борною кислотою у п-ксилолі при високій температурі (150 °C). Деметилування сполуки 14 трибромідом бору у дихлорметані дає фенольний бензоксазол 15.

Схема IV



На схемі IV, нітрування сполуки 16 азотною кислотою в оцтовій кислоті дає сполуку 17, яку відновлюють воднем у присутності Ra-Ni, щоб одержати анілін 18. Анілін 18 перетворюють у бензоксазол 19 подібно до того, як описано на схемі II, за винятком того, що стадію деметилювання здійснюють з гідрохлоридом піридину при високій температурі (200°C).

Схема V

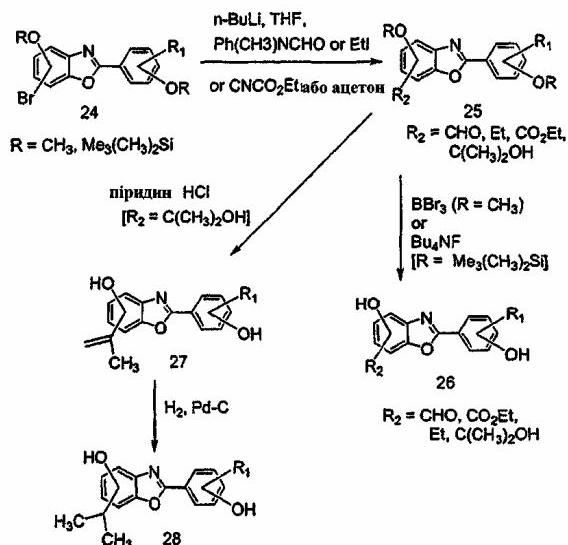


На схемі V, гідроксильні групи бензоксазолу 20 захищають або як прості силіл-ефіри 21 (R<sub>3</sub>=Me<sub>3</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si), використовуючи трет-бутилдиметил-силілхлорид/імідазол/4-диметиламінопіридин в N,N-диметилформаміді, або як складні ефіри 21 (R<sub>3</sub>=CH<sub>3</sub>CO), використовуючи оцтовий ангідрид/4-диметиламінопіридин у дихлорметані. Бензоксазоли 20 і 21 з'єднують з різними реагентами олова (такими як трибутил(вініл)олово, трибутил(аліл)олово, трибутил(2-фурил)олово), бороновими кислотами або хлоридами цинку у присутності паладієвого каталізатора [наприклад, дихлор-біс(три-о-толілфосфін)паладію(II) або тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0)] у п-киполі, толуолі, тетрагідрофурані, диметоксиметані або 1,2-диметоксіетані у присутності основи (наприклад Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) Для реакції сполуки з борною кислотою при температурах у межах від 20°C до 150°C, щоб одержати бензоксазоли 22 і 23.

Видалення захисних груп простого силілового ефіру зі сполуки 22 (R<sub>3</sub>=Me<sub>3</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si) за допомогою фтористоводневої кислоти (48мас.% у воді) або фториду тетрабутиламонію дає бензоксазол 24. Омилання сполуки 22 (R<sub>3</sub>=CH<sub>3</sub>CO) з використанням карбонату калію у діоксані дає бензоксазол 24. Бензоксазол 23 (R=CH<sub>3</sub>) піддають деметилюванню з використанням трибромиду бору у дихло-

рметані або гідрохлориду піридину при високій температурі (200°C), щоб одержати бензоксазол 24.

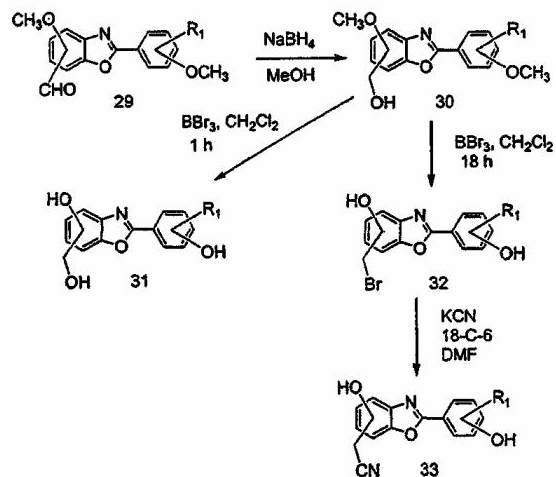
Схема VI



На схемі VI, бензоксазол 24 обробляють н-бутиллітієм при низьких температурах (-78°C) з подальшим додаванням електрофілу (наприклад, CNCO<sub>2</sub>Et, Ph(CH<sub>3</sub>)NCHO, EtI і т.п.), щоб одержати сполуку 25. Видалення захисних груп сполуки 25 трибромідом бору (R=CH<sub>3</sub>) або фторидом тетрабутиламонію (R=Me<sub>3</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si) дає бензоксазол 26 [R=CHO, CO<sub>2</sub>Et, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH].

Третинний спирт 25 (R=C(CH<sub>3</sub>)OH) обробляють гідрохлоридом піридину при високій температурі (200°C), щоб одержати 1-метил-вініл-бензоксазол 27. Відновлення сполуки 27 H<sub>2</sub>/Pd-C дає аналог ізопропілу 28.

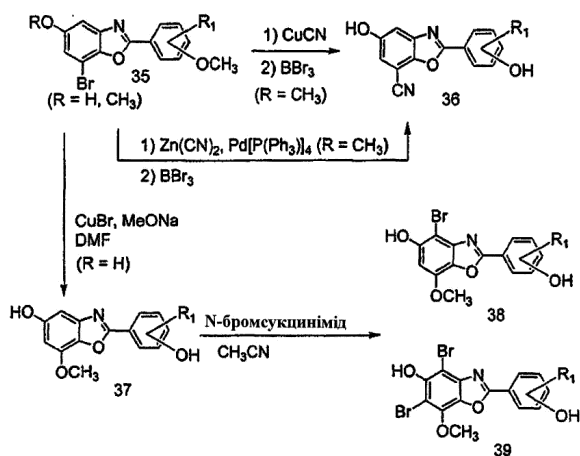
Схема VII



На схемі VII, відновлення бензоксазолу 29 боргідридом натрію у метанолі дає спирт 30. Обробка спирту 30 трибромідом бору в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> протягом 1 години дає бензоксазол 31, тоді як тривала (18 годин) обробка дає бромід 32. Бромід 32 перетворюють в ацетонітрил 33 при обробці ціанідом ка-

лію і 18-краун-6-простим ефіром в N,N-диметилформаміді.

Схема VIII



На схемі VIII, бромбензоксазол 35 ( $R=CH_3$ ) спочатку обробляють ціанідом міді(I) у ДМФ, щоб одержати відповідний арил-нітрил, який при обробці трибромідом бору дає бензоксазол 36. Бензоксазол 36 також одержують по другому шляху синтезу, де бромбензоксазол 35 обробляють ціанідом цинку у присутності паладієвого каталізатора [наприклад тетракіс(трифеніл-фосфін)паладію(0)], щоб одержати відповідний арил-нітрил, який при деметилуванні трибромідом бору дає бензоксазол 36. Бензоксазол 35 ( $R=H$ ) обробляють бромідом міді(I) і свіжоприготованим метоксидом натрію у ДМФ, щоб одержати метоксибензоксазол 37. Бромовання бензоксазолу 37 N-бромсукцинімідом в ацетонітрилі дає монобром-бензоксазол 38 (головний продукт) і дибромбензоксазол 39 (малий продукт).

Стандартні фармакологічні тест-процедури легко доступні для визначення профілю активності даної випробовуваної сполуки. Наступне стисло підсумовує деякі приклади тест-процедур і може включати дані для прикладів сполук за винаходом. Всі аналізи, за винятком аналізу зв'язування радіоактивного ліганду, можуть бути використані для визначення активності сполук як агоністів або антагоністів естрогенного рецептора. Як правило, активність агоніста естрогенного рецептора вимірюють, порівнюючи активність сполуки з естрогеном, вибраним для порівняння (наприклад таким як  $17\beta$ -естрадіол,  $17\alpha$ -етиніл,  $17\beta$ -естрадіол, естрон, діетилстилбестерол і т.п.). Активність антагоніста естрогенного рецептора звичайно вимірюють шляхом спільної обробки випробовуваною сполукою з естрогеном порівняння і порівняння результату з результатом, одержаним тільки з естрогеном порівняння. Стандартні фармакологічні тест-процедури для SERMS також наведені у [патентах США 4418068 і 5998402, які таким чином залучені до цього за допомогою посилання].

Оцінка величин спорідненості зв'язування з  $ER\alpha$  і  $ER\beta$

Приклади зразків за винаходом оцінюють за їх здатністю конкурувати з  $17\beta$ -естрадіолом за  $ER\alpha$  і  $ER\beta$  у звичайному аналізі зв'язування радіоактив-

ного ліганду. Дана тест-процедура забезпечує методологію визначення відносних величин спорідненості зв'язування для рецепторів  $ER\alpha$  і  $ER\beta$ . Використовувана процедура стисло описана нижче.

Одержання екстрактів рецептора для характеристики селективності зв'язування. Домени зв'язування ліганду, що звичайно визначаються тут як вся послідовність нижче по потоку від домену зв'язування DNA, одержують PCR, використовуючи cDNA повної довжини як матриці і праймери, що містять відповідні сайти рестрикції для субклонування, забезпечуючи у той же час відповідну рамку зчитування для експресії. Вказані матриці містять амінокислоти  $M_{250}-V_{595}$   $ER\alpha$  людини [Green, et al., Nature 320: 134-9 (1986)] і  $M_{214}-O_{530}$   $ER\beta$  людини [Ogawa, et al., Biochemical & Biophysical Research Communications 243: 122-6 (1998)].  $ER\beta$  людини клонують в pET15b (Novagen, Madison WI) як фрагмент NcoI-BamHI, що несе C-кінцевий Flag tag.  $ER\alpha$  людини клонують як  $ER\beta$  за винятком того, що додають N-кінцевий His tag. Послідовності всіх використовуваних конструктів перевіряють встановленням повної послідовності обох ниток.

Клітини BL21(DE3) використовують для експресії протеїнів людини. Звичайно 10мл культури, витриманої протягом ночі, використовують для інокуляції 1л культури середовища LB, що містить 100мкг/мл ампіциліну. Після інкубації протягом ночі при  $37^\circ\text{C}$  додають IPTG до кінцевої концентрації 1мМ і продовжують інкубацію при  $25^\circ\text{C}$  протягом 2 годин. Клітини збирають центрифугуванням (1500xg) і осад промивають і повторно суспендують в 100мл 50мМ Tris-Cl (pH 7,4), 150мМ NaCl. Клітини піддають лізису пропускання двічі через French прес при 12000фунтах на кв. дюйм. Лізат освітлюють центрифугуванням при 12000xg протягом 30 хвилин при  $4^\circ\text{C}$  і зберігають при  $-70^\circ\text{C}$ .

Оцінка екстрактів відносно специфічного зв'язування [ $^3\text{H}$ ]-естрадіолу. Фізіологічний розчин з фосфатним буфером Dulbecco (Gibco, 1 x кінцева концентрація), збагачений 1мМ EDTA використовують як буфер для аналізу. Щоб оптимізувати кількість рецептора для використання в аналізі, [ $^3\text{H}$ ]- $17\beta$ -естрадіол (New England Nuclear; кінцева концентрація = 2нМ)  $\pm 0,6\text{мМ}$  діетилстилбестеролу і 100мкл різних розведень лізату E. coli додають у кожну ямку високо зв'язувального масованого титраційного мікропланшету (EG&G Wallac). Кінцевий об'єм для аналізу дорівнює 120мкл, і концентрація DMSO  $\leq 1\%$ . Після інкубації при кімнатній температурі протягом 5-18 годин незв'язаний матеріал відсмоктують і планшет промивають три рази приблизно 300мкл буферу для аналізу. Після промивання в ямки додають 135мкл суміші для сцинтиляції (Optiphase Supremix, EG&G Wallac) і планшет герметизують і струшують щонайменше 5 хвилин, щоб змішати сцинтилянт з залишковим промивальним буфером. Зв'язану радіоактивність оцінюють шляхом сцинтиляційного відліку рідини (EG&G Wallac Microbeta Plus).

Після визначення розведення кожного препарату рецептора, яке забезпечує максимальне специфічне зв'язування, аналіз далі оптимізують ви-

значенням  $IC_{50}$  неміченого 17 $\beta$ -естрадіолу, використовуючи різні розведення препарату рецептора. Кінцеве робоче розведення для кожного препарату рецептора вибирають таке, де  $IC_{50}$  неміченого 17 $\beta$ -естрадіолу дорівнює 2-4нМ.

Процедура випробовування конкуренції при зв'язуванні ліганду. Випробовувані сполуки спочатку солюбілізують у DMSO, і кінцева концентрація DMSO в аналізі зв'язування дорівнює  $\leq 1\%$ . Вісім розведень кожної випробовуваної сполуки використовують як немічений конкурент для [ $^3H$ ]-17 $\beta$ -естрадіолу. Звичайно набір розведень сполуки випробовують одночасно на ER $\alpha$  і ER $\beta$  людини. Результати наносять на графік як виміряний DPM проти концентрації випробовуваної сполуки. Для підбору кривої для реакції на дозу підбирають чотирипараметричну логістичну модель на перетворених вагових даних і визначають  $IC_{50}$  як концентрацію сполуки, що знижує максимальне зв'язування [ $^3H$ ]-естрадіолу на 50%.

Величини спорідненості зв'язування для ER $\alpha$  і ER $\beta$  (які вимірюють за  $IC_{50}$ ) для типових прикладів за винаходом показані у таблиці (1).

Таблиця 1

Величини спорідненості зв'язування ER для типових сполук за винаходом

Приклад	ER $\beta$ $IC_{50}$ (нМ)	ER $\alpha$ $IC_{50}$ (нМ)
1	140	720
2	963	5110
3	66	1570
4	239	5280
5	59	139
6	39	843
7	1600	5000
8	181	2353
9	440	1500
10	105	2040
11	703	>5000
12	49	1227
13	25	190
14	50	902
15	3	82
16	64	1813
17	42	1210
18	16	464
19	157	2765
20	2	155
21	3	260
22	1	47
23	3	113
24	6	1217
25	2	227
26	4	474
27	4	409
28	25	1036
29	155	803
30	134	3080
31	31	352
32	16	196
33	31	352

34	14	1101
35	15	481
36	11	390
37	79	498
38	102	1010
39	190	7827
40	235	1300
41	6	411
42	95	9620
43	59	2557
44	13	537
45	84	655
46	59	2638
47	1340	Не визначено
48	40	2975
49	1042	5230
50	399	>5000
51	142	775
52	82	1200
53	166	1870
54	135	809
55	313	1980
56	97	1030
57	366	1340
58	26	1435
59	52	2668
60	64	559
61	93	1180
62	201	>10000
63	1	44
64	3	376

Результати, одержані у стандартній фармакологічній тест-процедурі, описаній вище, показують, що сполуки за даним винаходом зв'язують обидва підтипи естрогенного рецептора. Величини  $IC_{50}$  звичайно нижче для ER $\beta$ , що вказує на те, що дані сполуки є лігандами селективними переважно відносно ER $\beta$ , але все ще вважаються активними відносно ER $\alpha$ . Сполуки за даним винаходом будуть виявляти діапазон активності на підставі, що найменше частково, їх профілів селективності спорідненості до рецептора. Оскільки сполуки за винаходом зв'язують ER $\beta$  з більш високою спорідненістю, ніж ER $\alpha$ , вони можуть бути корисні при лікуванні або пригніченні хвороб, які можуть бути регульованими за допомогою ER $\beta$ . Додатково, оскільки кожний комплекс рецептора з лігандом є унікальним і, отже, його взаємодія з різними корегуляторними протеїнами є унікальною, сполуки за даним винаходом будуть виявляти різні і непередбачувані активності в залежності від клітинного контексту. Наприклад, у деяких типах клітин можливо, що сполука буде поводитися як агоніст естрогенного рецептора, тоді як в інших тканинах як антагоніст естрогенного рецептора. Сполуки з такою активністю іноді можна віднести до SERM (селективних модуляторів естрогенного рецептора). На відміну від багатьох естрогенів, однак, багато SERM не викликають збільшень маси вологої матки. Дані сполуки є антиестрогенними у матці і можуть повністю антагонізувати трофічні ефекти агоністів естрогенного рецептора у тканині матки.

Дані сполуки, однак, діють як агоністи естрогенного рецептора у кістковій, серцево-судинній і центральній нервовій системах. Завдяки селективному характеру даних сполук відносно тканин, вони застосовні для лікування або пригнічення хворобливих станів або синдромів у ссавців, які викликаються або асоціюються з недостатністю естрогену (у конкретних тканинах, таких як кісткова або серцево-судинна) або з надлишком естрогену (у матці або молочних залозах). На додаток, сполуки за даним винаходом також мають можливість поводитися як агоністи естрогенного рецептора на одному типі рецептора, у той же час виявляючи себе як антагоністи естрогенного рецептора на іншому. Наприклад, продемонстровано, що сполуки можуть антагонізувати дію  $17\beta$ -естрадіолу через  $ER\beta$ , виявляючи у той же час активність агоніста естрогенного рецептора з  $ER\alpha$  [Sun, et al., *Endocrinology* 140: 800-804 (1999)]. Така активність ERSAA (селективного агоніста-антагоніста естрогенного рецептора) забезпечує різну естрогенну активність у даних серіях сполук.

#### Регуляція mRNA металотіонеїну II

Естрогени, діючи через  $ER\beta$ , але не  $ER\alpha$ , можуть ап-регулювати рівні mRNA металотіонеїну II у клітинах Saos-2, як описано Harris [*Endocrinology* 142: 645-652 (2001)]. Результати цієї тест-процедури можуть бути об'єднані з результатами тест-процедури, описаної нижче (ERE-репортерна тест-процедура), щоб створити профіль селективності для сполук за даним винаходом [дивись також WO 00/37681]. Дані для типових сполук за винаходом показані у таблиці (2).

Таблиця 2

Регуляція  
mRNA металотіонеїну-II у клітинах Saos-2

Сполука	Кратна регуляція
Приклад 12	9,6
Приклад 14	12,4
Приклад 13	9,7

Оцінка випробовуваної сполуки у ракових клітинах молочної залози MCF-7 з використанням ERE-репортерної тест-процедури

Вихідні розчини випробовуваних сполук (звичайно 0,1M) готують в DMSO і потім розводять DMSO у 10-100 разів, щоб одержати робочі розчини 1 або 10mM. Вихідні розчини в DMSO зберігають або при 4°C (0,1M), або при -20°C (<0,1M). Клітини MCF-7 пасирують двічі на тиждень з ростовим середовищем [D-MEM/F-12 середовище, що містить 10% (об./об.) інактивованої теплом фетальної телячої сироватки, 1% (об./об.) пеніциліну-стрептоміцину і 2mM glutamax-1]. Клітини підтримують у склянках, що вентилуються, при 37°C всередині інкубатора, де 5% CO<sub>2</sub>/95% вологого повітря. За добу до обробки клітини поміщають з ростовим середовищем у 96-ямкові планшети при 25000клітин/ямка та інкубують при 37°C протягом ночі.

Клітини інфікують протягом 2 годин при 37°C 50мкл/ямка розведеного 1:10 розчину аденовірус-

ної 5-EKE-tk-люциферази в експериментальному середовищі [середовище D-MEM/F без фенольного червоного, що містить 10% (об./об.) інактивованої теплом, десорбованої вугіллям фетальної телячої сироватки, 1% (об./об.) пеніциліну-стрептоміцину, 2mM glutamax-1, 1mM пірувату натрію]. Ямки потім промивають один раз 150мкл експериментального середовища. І нарешті, клітини обробляють протягом 24 годин при 37°C у реплікатах з 8ямок/обробка 150мкл/ямка носія ( $\leq 0,1\%$  об./об. DMSO) або сполукою, яку розводять у  $\geq 1000$  разів в експериментальному середовищі.

Початковий скринінг випробовуваних сполук здійснюють при разовій дозі 1мкM, тобто випробовують окремо (спосіб дії агоніста естрогенного рецептора) або у поєднанні з 0,1нM  $17\beta$ -естрадіолом (EC<sub>80</sub>; спосіб дії антагоніста естрогенного рецептора). Кожний 96-ямковий планшет також містить контрольну групу носія (0,1% об./об. DMSO) і контрольну групу агоніста естрогенного рецептора (або 0,1, або 1нM  $17\beta$ -естрадіол). Експерименти реакції на дозу здійснюють у способах дії або агоніста естрогенного рецептора і/або антагоніста естрогенного рецептора на активні сполуки при лог збільшеннях від  $10^{-14}$  до  $10^{-5}$ M. З цих кривих реакції на дозу виробляють величини EC<sub>50</sub> і IC<sub>50</sub>, відповідно. Остання ямка у кожній групі обробки містить 5мкл  $3 \times 10^{-5}$ M ICI-182780 (кінцева концентрація  $10^{-6}$ M) як контроль антагоніста естрогенного рецептора.

Після обробки клітини піддають лізису на шейкері протягом 15хв. з 25мкл/ямка IX реагенту лізису клітинної культури (Promega Corporation). Лізати клітин (20мкл) переносять на 96-ямковий планшет люмінометра і активність люциферази вимірюють у люмінометрі MicroLumat LB 96 P (EG & G Berthold), використовуючи 100мкл/ямка субстрату люциферази (Promega Corporation). За 1 секунду перед уприскуванням субстрату здійснюють вихідне вимірювання для кожної ямки. Після уприскування субстрату активність люциферази вимірюють через 10 секунд після 1-секундної відстрочки. Дані переносять з люмінометра у персональний комп'ютер Macintosh і аналізують за допомогою програмного забезпечення JMP (Інститут SAS); дана програма віднімає вихідне зчитування з вимірювання люциферази для кожної ямки і потім визначає середнє і стандартне відхилення для кожної обробки.

Дані по люциферазі піддають логарифмічному перетворенню і оператор оцінки Huber M використовують, щоб відсікти перетворені спостереження, що знаходяться поза межами. Програмне забезпечення JMP використовують, щоб аналізувати перетворені і вагові дані для однонаправленого ANOVA (тест Dunnett). Обробки сполукою порівнюють з результатами контролю носія у способі дій агоніста естрогенного рецептора або з результатами позитивного контролю агоніста естрогенного рецептора (0,1нM  $17\beta$ -естрадіол) у способі дій антагоніста естрогенного рецептора. Для експерименту вихідної разової дози, якщо результати обробки сполукою значно відрізняються від відповідного контролю ( $p < 0,05$ ), тоді результати надають як процент по відношенню до контролю  $17\beta$ -естрадіолу [тобто ((сполука-контроль) но-

сія)/(контроль 17 $\beta$ -естрадіолу-контроль носія)х100]. Програмне забезпечення JMP використовують також для визначення величин EC<sub>50</sub> і/або IC<sub>50</sub> з нелінійних кривих реакції на дозу.

Оцінка утеротрофічної активності

Утеротрофічна активність випробовуваної сполуки може бути виміряна відповідно до наступних стандартних фармакологічних тест-процедур.

Процедура 1: Незрілих у статевому відношенні (у віці 18 днів) щурів Sprague-Dawley одержують від Тасопіс і забезпечують їм необмежений доступ до раціону на основі казеїну (Purina Mills 5K96C) і води. На 19, 20 і 21 день щурам підшкірно вводять дозу 17 $\alpha$ -етиніл-17 $\beta$ -естрадіолу

(0,06мкг/щур/доба), випробовуваної сполуки або носія (50% DMSO/50% Dulbecco's PBS). Щоб оцінити активність антагоніста естрогенного рецептора, сполуку вводять спільно з 17 $\alpha$ -етиніл-17 $\beta$ -естрадіолом (0,06мкг/щур/доба). У групах по шість щурів, і їх умертвляють шляхом асфіксії CO<sub>2</sub> і пневмотораксу приблизно через 24 години після останньої ін'єкції. Матки виймають і зважують після зрізання зв'язаного з ними жиру і віджимання якої-небудь внутрішньої рідини. Зразок тканини також може бути різко заморожений для аналізу генної експресії (mRNA комплементарного фактора 3). Результати, одержані від типових сполук за винаходом, показані у таблиці (3).

Таблиця 3

Оцінка вибраних сполук в утеротрофічній тест-процедурі на щурах

Сполука	Середня маса матки (мг) $\pm$ SEM
Носій	21,4 $\pm$ 1,59
17 $\alpha$ -етиніл, 17 $\beta$ -естрадіол (0,06мкг/щур)	85,5 $\pm$ 3,1
Приклад 12 (2мг/щур)+17 $\alpha$ -етиніл, 17 $\beta$ -естрадіол (0,06мкг/щур)	60,2 $\pm$ 4,0
Приклад 41 (2мг/щур)	30,3 $\pm$ 1,5
Приклад 41 (2мг/щур)+17 $\alpha$ -етиніл, 17 $\beta$ -естрадіол (0,06мкг/щур)	76,6 $\pm$ 3,0
Приклад 24 (2мг/щур)	14,18 $\pm$ 1,1
Приклад 24 (2мг/щур)+17 $\alpha$ -етиніл, 17 $\beta$ -естрадіол (0,06мкг/щур)	80,7 $\pm$ 5,3
Носій	30,5 $\pm$ 3,2
17 $\alpha$ -етиніл, 17 $\beta$ -естрадіол (0,06мкг/щур)	104,7 $\pm$ 5,4
Приклад 20 (2мг/щур)	39,2 $\pm$ 0,7
Приклад 20 (2мг/щур)+17 $\alpha$ -етиніл, 17 $\beta$ -естрадіол (0,06мкг/щур)	95,9 $\pm$ 5,5
Приклад 21 (2мг/щур)	38,8 $\pm$ 1,7
Приклад 21 (2мг/щур)+17 $\alpha$ -етиніл, 17 $\beta$ -естрадіол (0,06мкг/щур)	93,9 $\pm$ 5,9

Процедура 2: Незрілих у статевому відношенні (у віці 18 днів) мишей 129SvEv одержують від Тасопіс і забезпечують їм необмежений доступ до раціону на основі казеїну (Purina Mills 5K96C) і води. На 22, 23, 24 і 25 день мишам підшкірно вводять дозу сполуки або носія (кукурудзяна олія). У групах по шість мишей, і їх умертвляють шляхом асфіксії CO<sub>2</sub> і пневмотораксу приблизно через 6 годин після останньої ін'єкції. Матки виймають і зважують після зрізання зв'язаного з ними жиру і віджимання якої-небудь внутрішньої рідини. Наступні результати (таблиця 4) одержують для типових сполук за винаходом.

Таблиця 4

Оцінка вибраних сполук в утеротрофічній тест-процедурі на мишах

Сполука	Середня маса матки (мг) $\pm$ SEM
Носій	10,2 $\pm$ 2,1
17 $\beta$ -естрадіол (50мг/кг)	41,7 $\pm$ 3,6
Приклад 21 (20мг/кг)	12,1 $\pm$ 1,7
Носій	11,7 $\pm$ 0,5
17 $\beta$ -естрадіол (50мг/кг)	41,9 $\pm$ 2,9
Приклад 24 (50мг/кг)	10,7 $\pm$ 0,9

Носій	9,6 $\pm$ 0,4
17 $\beta$ -естрадіол (50мг/кг)	40,0 $\pm$ 2,0
Приклад 34 (50мг/кг)	10,3 $\pm$ 0,7
Носій	9,4 $\pm$ 0,4
17 $\beta$ -естрадіол (50мг/кг)	35,6 $\pm$ 4,4
Приклад 25 (50мг/кг)	9,7 $\pm$ 1,0
Носій	13,7 $\pm$ 2,0
17 $\beta$ -естрадіол (50мг/кг)	40,5 $\pm$ 5,84
Приклад 12 (50мг/кг)	13,7 $\pm$ 0,82
Приклад 20 (50мг/кг)	13,1 $\pm$ 0,86
Носій	9,6 $\pm$ 0,36
17 $\beta$ -естрадіол (50мг/кг)	40,0 $\pm$ 2,0
Приклад 34 (50мг/кг)	10,3 $\pm$ 0,69
Носій	9,8 $\pm$ 1,2
17 $\beta$ -естрадіол (50мг/кг)	42,9 $\pm$ 4,8
Приклад 26 (50мг/кг)	9,0 $\pm$ 0,3
Приклад 42 (50мг/кг)	9,5 $\pm$ 0,6
Приклад 64 (50мг/кг)	9,8 $\pm$ 0,7

Оцінка остеопорозу і ліпідного регулювання (кардіозахист)

Самок щурів Sprague-Dawley, підданих оварио-ектомії або фіктивній операції, одержують через 1 день після операції від Taconic Farms (межі маси 240-275г). Їх утримують по 3 або 4 щури на клітку у кімнаті при режимі 12/12 (світло/темрява) і забезпечують кормом (щуряча жуйка Purina 5K96C) і водою при вільному доступі до них. Обробку для всіх досліджень починають через 1 день після прибуття, і щури одержують дозу 7 днів на тиждень, як вказано для 6 тижнів. Група підібраних за віком щурів, яким була зроблена фіктивна операція, що не одержує ніякої обробки, служить як інтактна контрольна група, добре забезпечена естрогеном, для кожного дослідження.

Всі випробовувані сполуки готують у носії з 50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/1х фосфатний фізіологічний розчин Dulbecco (GibcoBRL, Grand Island, NY) при конкретних концентраціях, так що об'єм для обробки дорівнює 0,1мл/100г маси тіла. 17 $\beta$ -естрадіол розчиняють у кукурудзяній олії (20мкг/мл) і вводять підшкірно, 0,1мл/щур. Всі дози коректують при тритижневих інтервалах відповідно до вимірювань середньої маси тіла у групі і вводять підшкірно.

Через п'ять тижнів після початку обробки і за один тиждень до закінчення дослідження кожного щура оцінюють за мінеральною щільністю кістки (BMD). Загальну і трабекулярну щільність проксимальної великої гомілкової кістки оцінюють на анестезованих щурах за допомогою ХСТ-960М (pQCT; Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Germany). Вимірювання проводять наступним чином: за п'ятнадцять хвилин перед скануванням кожного щура анестезують інтраперитонеальною ін'єкцією 45мг/кг кетаміну, 8,5мг/кг ксилазину і 1,5мг/кг ацепромазину.

Праву задню кінцівку пропускають через полікарбонатну трубку з діаметром 25мм і прив'язують до акрилової рами з гомілковостопним суглобом при куті 90° і колінному суглобі при 180°. Полікар-

бонатна трубка є приналежністю ковзної платформи, яка підтримує її перпендикулярно до отвору pQCT. Платформу регулюють так, щоб дистальний кінець стегнової кістки і проксимальний кінець великої гомілкової кістки знаходилися у ділянці сканування. Двовимірний пошуковий огляд проводять на довжину 10мм і при лінійному розрізненні 0,2мм. Потім пошуковий огляд відтворюють на моніторі, проксимальний кінець великої гомілкової кістки закріплюють. Сканування pQCT починають на віддаленні 3,4мм від цієї точки. Одержане скануванням pQCT зображення має товщину 1мм, має розмір елемента об'ємного зображення (тривимірного мінімального елемента зображення) 0,140мм і складається з 145 проєкцій через шар.

Після завершення сканування pQCT зображення відтворюють на моніторі. Ділянку, що представляє інтерес, яка включає велику гомілкову кістку, але виключає стегнову кістку, обрисовують. М'яку тканину математично виключають, використовуючи ітераційний алгоритм. Щільність іншої кістки (загальну щільність) повідомляють у мг/см<sup>3</sup>. Зовнішні 55% кістки математично відщеплюють по концентричній спіралі. Щільність іншої кістки (трабекулярну щільність) повідомляють у мг/см<sup>3</sup>.

Через один тиждень після оцінки BMD щурів умертвляють шляхом асфікції CO<sub>2</sub> і пневмотораксу і кров збирають для визначення холестерину. Матки також виймають і зважують після зрізання зв'язаного з ними жиру і віджимання якої-небудь порожнинної рідини. Загальний холестерин визначають за допомогою клінічного аналізатора Boehringer-Mannheim Hitachi 911 з використанням набору Cholesterol/HP. Статистичні дані порівнюють, використовуючи однонаправлений дисперсійний аналіз з тестом Dunnett.

Наступні результати одержують з типовими сполуками за винаходом (таблиця (5)).

Таблиця 5

Оцінка мінеральної щільності кістки у щура  
з видаленими яєчниками після введення вибраних сполук за винаходом

Сполука	Загальна мінеральна щільність кістки (середнє мг/см <sup>3</sup> ±SEM)	Трабекулярна мінеральна щільність кістки (середнє мг/см <sup>3</sup> ±SEM)
Носій	543,49±14,24	353,96±13,46
17 $\beta$ -естрадіол (2мкг/щур)	639,49±14,47	453,28±24,93
Приклад 24 (10мг/кг)	517,56±9,67	321,16±9,04
Приклад 21 (10мг/кг)	501,40±11,97	312,34±19,73
Приклад 20 (10мг/кг)	525,51±7,93	287,56±17,56
Приклад 20 (10мг/кг)+17 $\beta$ -естрадіол (2мкг/щур)	682,41±24,01	491,43±36,43
Фіктивно оперовані (немає маніпуляції)	685,28±15,68	510,96±16,99

#### Оцінка антиоксидантної активності

Свинячі аорти одержують з бойні, промивають, переносять в охолоджений PBS і збирають ендотеліальні клітини аорти. Щоб зібрати клітини, мікроберні судини аорти перев'язують і один кінець аорти затискають. Свіжу стерильну фільтровану 0,2% колагеназу (Sigma тип I) поміщують у

судину і інший кінець судини потім затискають, щоб одержати закриту систему. Аорту інкубують при 37°C протягом 15-20 хвилин, після чого розчин колагенази збирають і центрифугують протягом 5 хвилин при 2000хg. Кожний осад суспендують у 7мл середовища для ендотеліальної клітинної культури, що містить звільнене від фенольного

червоного середовище DMEM/Ham's F12, збагачене десорбованою вугіллям FBS (5%), NuSerum (5%), L-глутаміном (4мМ), пеніциліном-стрептоміцином (1000од./мл, 100мкг/мл) і гентаміцином (75мкг/мл), висівають в 100мм чашки Петрі та інкубують при 37°C у 5% CO<sub>2</sub>. Через 20 хвилин, клітини промивають PBS і додають свіже середовище, це повторюють знову через 24 години. Клітини зникають приблизно через 1 тиждень. Ендотеліальні клітини звичайно підживлюють двічі на тиждень і, коли вони зникають, обробляють трипсином і висівають при співвідношенні 1:7. Опосередкованому клітинами окисленню при 12,5мкг/мл LDL дозволяють відбуватися у присутності сполуки, яка повинна бути оцінена, (5мкМ) протягом 4 годин при 37°C. Результати виражають як процентне інгібування окислювального процесу, яке визначають методом TBARS (реакційноздатними речовинами тіобарбітурової кислоти) для аналізу вільних альдегідів [Yagi, Biochemical Medicine 15: 212-6 (1976)].

Стандартна фармакологічна тест-процедура регуляції mRNA рецептора прогестерону

Дана тест-процедура може бути використана для оцінки естрогенної або антиестрогенної активності сполук за даним винаходом [Shughrue, et al., Endocrinology 138: 5476-5484 (1997)]. Дані для типових сполук за даним винаходом показані у таблиці (6).

Таблиця 6

Вплив типових сполук за винаходом на регуляцію mRNA прогестерону у передзоровому полі щурячого мозку

Сполука (10мг/кг)	mRNA рецептора прогестерону (довільні одиниці; середнє±ст. відх.)
Носій	22,0±10,1
Приклад 21	110,5±19,3
Приклад 20	238,6±36,3
Приклад 12	256,2±42,3
Носій	189,2±27,2
Приклад 34	511,5±23,7
Приклад 25	447,0±60,7
Приклад 26	467,8±66,7
Приклад 64	431,3±65,6

Тест-процедура "припливів" у щурів

Вплив випробовуваних сполук на "припливи" може бути оцінений у стандартній фармакологічній тест-процедурі, за допомогою якої вимірюють здатність випробовуваної сполуки притупляти підвищення температури шкіри хвоста, яке трапляється, коли щурів, які мають залежність від морфіну, різко відлучують від ліків за допомогою налоксону [Merchenthaier, et al. Maturitas 30: 307-16 (1998)]. Це також може бути використано для виявлення активності антагоніста естрогенного рецептора шляхом спільного дозування випробовуваної сполуки з естрогеном порівняння. Наступні дані були одержані від типових сполук за винаходом (таблиця (7)).

Вплив вибраних сполук за винаходом на щурячу модель "припливу"

Сполука	Зміна температури через 15 хвилин після ін'єкції налоксону (середнє±SEM)
Носій	4,63±0,79
17α-етиніл, 17β-естрадіол (0,3мг/кг)	2,12±1,14
Приклад 20 (15мг/кг)	5,28±0,71
Приклад 41 (15мг/кг)	5,25±0,72

Оцінка вазомоторної функції на ізольованих кільцях щурячої аорти

Щурів Sprague-Dawley (240-260 грамів) ділять на 4 групи:

1. Нормальні, не піддані оваріоектомії (інтактні)
2. Піддані оваріоектомії (ovex), оброблені носієм
3. Піддані оваріоектомії, оброблені 17β-естрадіолом (1мг/кг/доба)
4. Піддані оваріоектомії тварини, оброблені випробовуваною сполукою (різні дози)

Тварин піддають оваріоектомії приблизно за 3 тижні перед обробкою. Кожна тварина одержує або сульфат 17β-естрадіолу (1мг/кг/доба), або випробовувану сполуку, суспендовану у дистильованій деіонізованій воді з 1% Tween-80, шляхом годування через шлунковий зонд. Тварини, які обробляються носієм, одержують відповідний об'єм носія, використовуюваного у групах, що обробляються ліками.

Тварин умертвляють інгаляцією CO<sub>2</sub> і знекровленням. Грудну аорту швидко виймають і поміщають при 37°C у сольовий розчин наступного складу (мМ): NaCl (54,7), KCl (5,0), NaHCO<sub>3</sub> (25,0), MgCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (2,5), D-глюкоза (11,8) і CaCl<sub>2</sub> (0,2), газований CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>, 95%/5% до кінцевого pH 7,4. Адвентиційну оболонку видаляють із зовнішньої поверхні і судину ріжуть на кільця шириною 2-3мм. Кільця суспендують у 10мл тканинній ванні так, що один кінець прикріплений до дна ванни, а інший - до динамометричного датчика. Навантаження натягу у спокої 1 г поміщають на кільця. Кільця доводять до рівноважного стану протягом 1 години, сигнали приймають і аналізують.

Після приведення у рівноважний стан кільця піддають впливу зростаючих концентрацій фенілеприну (10<sup>-8</sup> до 10<sup>-4</sup>М) і натяг реєструють. Ванни потім промивають 3 рази свіжим буфером. Після промивання додають 200мМ L-NAME у тканинну ванну і доводять до рівноважного стану протягом 30 хвилин. Криву реакції на концентрацію фенілеприну потім повторюють.

Оцінка кардіозахисної активності

Мишей C57/B1J з недостатністю аполіпопротеїну Е (аро Е КО) одержують від Taconic Farms. Всі процедури з тваринами проводять суворо відповідно до правил IACUC. Підданих оваріоектомії самок мишей аро Е КО у віці 4-7 тижнів утримують у клітках типу коробок для черевиків і забезпечують вільний доступ до їжі і води. Тварин розподіляють

довільно за масою у групи ( $n=12-15$  мишей на групу). Тваринам вводять дози випробовуваних сполук або естрогену (сульфат  $17\beta$ -естрадіола при  $1\text{мг/кг/доба}$ ) в їжу, використовуючи Протокол точного дозування, де кількість споживаної їжі щотижня вимірюють і відповідно доводять дозу на основі маси тварини. Використовуваною їжею є корм Western-style (57U5), який готує Purina і який містить 0,50% холестерину, 20% ляду і  $25\text{мг/кг}$  вітаміну Е. Тваринам вводять дози/годує їх, використовуючи вказаний принцип, протягом 12-тижневого періоду. Контрольним тваринам дають корм Western-style, і вони не одержують сполуки. У кінці періоду дослідження тварин умертвляють і відбирають проби плазми. Серця піддають перфузії на місці, спочатку фізіологічним розчином і потім нейтральним забуференим 10% розчином формаліну.

Для визначення ліпідів і ліпопротеїнів плазми визначають загальний холестерин і тригліцериди, використовуючи ферментативні методи з комерційно доступними наборами від Boehringer Mannheim і Wako Biochemicals, відповідно, і аналізують за допомогою аналізатора Boehringer Mannheim Hitachi 911. Розділення і кількісний аналіз ліпопротеїнів плазми здійснюють, використовуючи фракціонування за розміром FPLC. Коротше кажучи, 50-100мл сироватки фільтрують і уприскують в колонки Superose 12 і Superose 6, з'єднані послідовно, та елюють при постійному витрачанні  $1\text{мМ}$  натрієвою сіллю EDTA і  $0,15\text{М}$  NaCl. Ділянки кожної кривої, що представляють VLDL, LDL і HDL, інтегрують, використовуючи програмне забезпечення Waters Millennium™, і кожну фракцію ліпопротеїну кількісно визначають, помножуючи величину загального холестерину на відносну процентну площу кожного відповідного піка хроматограми.

Для кількісної оцінки атеросклерозу аорти, аорти обережно ізолюють і поміщають у формаліновий фіксатив на 48-72 години до маніпуляцій з ними. Атеросклеротичні ураження ідентифікують за допомогою забарвлювання масляним червоним О. Барвник судин швидко видаляють і потім одержують їх зображення за допомогою мікроскопа Nikon SMU800, обладнаного системою відеокмери Sony 3CCD у взаємодії з сервісною програмою IMAQ Configuration Utility (National Instrument) як програмного забезпечення, що приймає зображення. Ураження кількісно визначають на поверхні вздовж дуги аорти за допомогою замовленого пакету порогових сервісних програм (Coleman Technologies). Автоматизовану оцінку ураження здійснюють на судинах, використовуючи порогову функцій програми, конкретно на ділянці, що знаходиться всередині дуги аорти від проксимального краю плече-головного стовбура до дистального краю лівої підключичної артерії. Дані по атеросклерозу аорти виражають як процентне залучення до патологічного процесу строго у межах визначеної ділянки просвіту.

Оцінка поліпшення пізнавальної здатності

Підданих оваріоектомії щурів ( $n=50$ ) привчають до 8-рукавного радіального лабіринту періодами по 10 хвилин протягом 5 послідовних днів. Тварин позбавляють води перед привчанням і

випробовуванням. Аліквотні проби  $100\text{мкл}$  води, розміщені на кінцях всіх рукавів, служать як поповнення. Освоєння завдання виграшного переміщення у радіальному рукавному лабіринті досягають, дозволяючи тварині мати доступ до одного рукава з приманкою. Після пиття тварина виходить з рукава і повертається у центральне відділення, де вона тепер має доступ у рукав, де вона раніше побувала, або у новий рукав. Правильна реакція реєструється, коли тварина вибирає вхід у новий рукав. Кожній тварині дають 5 спроб на день протягом 3 днів. Після останньої спроби освоєння тварину заносять в одну з наступних 4 груп:

1. Негативні контролю: одержують ін'єкції носія 10% DMSO/кунжутну олію один раз щодня протягом 6 днів ( $1\text{мл/кг}$ , SC)

2. Позитивні контролю: одержують ін'єкції бензоату  $17\beta$ -естрадіолу 2 дні і їх піддають випробуванню через 4 дні після другої ін'єкції (бензоат  $17\beta$ -естрадіолу при  $10\text{мг/0,1мл}$  на щура)

3. Естрадіол:  $17\beta$ -естрадіол уприскують щодня протягом 6 днів ( $20\text{мг/кг}$ , SC)

4. Випробовувана сполука: уприскують щодня протягом 6 днів (دوزи змінюють).

Всі ін'єкції починають після випробовування в останній день привчання. Остання ін'єкція для груп 1, 3 і 4 має місце за 2 години до випробовування робочої пам'яті.

Випробовування робочої пам'яті - це задача відстроченого не узгодження зі зразком (DNMS) з використанням затримок 15, 30 або 60 секунд. Дана задача є варіантом задачі освоєння, де щура поміщають на центральну арену і дозволяють увійти в один рукав, як раніше. Другий рукав відкривають, як тільки щур подолає півдороги вниз по першому рукаву, і знову щуру потрібно вибрати цей рукав. Коли він подолає півдороги вниз по цьому другому рукаву, обидві дверцята закривають і вводять затримку. Як тільки затримка закінчується, обидві первинні дверцята і треті нові дверцята відкривають одночасно. Правильну реакцію реєструють, коли тварина долає півдороги вниз по третьому новому рукаву. Неправильну реакцію реєструють, коли тварина проходить півдороги вниз або по першому, або по другому рукаву. Кожна тварина одержує по 5 спроб при кожному з трьох інтервалів затримки, в цілому 15 спроб на тварину.

Оцінка впливу на плеврит

Здатність зменшувати симптоми експериментально викликаного плеврит у щурів може бути оцінена відповідно до процедури Cuzzocrea [Endocrinology 141: 1455-63 (2000)].

Оцінка захисту проти цитотоксичності (нейрозахисту), що викликається глутаматом

Нейрозахисна активність сполук за даним винаходом може бути оцінена у стандартній фармакологічній тест-процедурі *in vitro* з використанням глутаматної провокаційної проби [Zaulyanov, et al., Cellular & Molecular Neurobiology 19: 705-18 (1999); Prokai, et al., Journal of Medicinal Chemistry 44: 110-4 (2001)].

Оцінка у процедурі випробовування кінцевих потовщень молочних залоз

Естрогени потрібні для повного подовження і розгалуження молочних проток і подальшого роз-

витку лобуло-альвеолярних кінцевих потовщень під впливом прогестерону. У даній тест-процедурі мамотрофічну активність вибраних сполук за винаходом оцінюють відповідно до наступної стандартної фармакологічної тест-процедури. Щурів Sprague-Dawley у віці двадцяти восьми днів (Taconic Fams) піддають оваріоектомії і дають їм відпочити протягом дев'яти днів. Тварин утримують при 12-годинному циклі світло/темрява, годують їжею на основі казеїну Purina Laboratory Rodent Diet 5K96 (Purina, Richmond, IN) і забезпечують вільний доступ до води. Потім щурам протягом 6 днів підшкірно вводять дози носія (50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/50% 1x фізіологічний розчин з фосфатним буфером Dulbecco (GibcoBRL), 17 $\beta$ -естрадіолу (0,1мг/кг) або випробовуваної сполуки (20мг/кг). Останні три дні щурам також вводять підшкірно дози прогестерону (30мг/кг). На сьомий день щурів умертвляють і вирізають жирову грудку молочної залози. Дану жирову грудку аналізують на mRNA казеїн-кінази II

як маркера проліферації кінцевого потовщення. mRNA казеїн-кінази II аналізують у режимі реального часу RT-PCR. Коротше кажучи, RNA ізолюють, діючи згідно з Trizol (GibcoBRL), відповідно до вказівок виробника. Зразки обробляють DNAазою I, використовуючи набір без DNA (Ambion), і вимірюють рівні вмісту mRNA казеїн-кінази II шляхом RT-PCR у режимі реального часу, використовуючи процедуру Taqman Gold (PE Applied Biosystems). В цілому 50нг RNA аналізують у триплікаті, використовуючи специфічну по відношенню до казеїн-кінази II пару праймерів (5' праймер, CACACGGATGGCGCATACT; 3' праймер, CTCGGGATGCACCATGAAG) і замовлений зонд (TAMRA-CGGCACTGGTTTCCCTCATATGCT-FAM). Рівні mRNA казеїн-кінази II нормалізують до 18s рибосомної RNA, що міститься у реакційній суміші кожного зразка, з використанням праймерів і зонда, які постачаються PE Applied Biosystems. Наступні результати одержані для типових сполук за винаходом (таблиця (8)).

Таблиця 8

Оцінка сполук у мамотрофічному аналізі на щурах

Сполука	mRNA казеїн-кінази II/18S rRNA (середнє $\pm$ SEM)
Носій+Прогестерон (30мг/кг)	1,61 $\pm$ 0,36
17 $\beta$ -естрадіол (0,1мг/кг)+прогестерон (30мг/кг)	39,0 $\pm$ 5,36
Приклад 24 (20мг/кг)+прогестерон (30мг/кг)	3,98 $\pm$ 0,79

Оцінка відносно запальної хвороби кишечника у стандартній фармакологічній тест-процедурі на щурах HLA

Типові сполуки за винаходом оцінюють на щурах HLA у стандартній фармакологічній тест-процедурі, яка імітує запальну хворобу кишечника у людей. Далі стисло описана використовувана процедура і досягнуті результати. Самців щурів HLA-B27 одержують від Taconic і забезпечують їм необмежений доступ до їжі (PMI Lab diet 5001) і води. Якість випорожнень спостерігають щодня і класифікують відповідно до наступної шкали: діарея=3, м'які випорожнення=2, нормальні випорожнення=1. У кінці дослідження сироватку збирають і зберігають при -70°C. Частину товстої кишки препарують для гістологічного аналізу і додатковий сегмент аналізують на активність мієлопероксидази.

У дослідженні А щурам (у віці 22-26 тижнів) підшкірно вводять дози один раз на день протягом семи днів відповідно до одного з режимів, вказаних нижче. У кожній групі п'ять урів, і останню дозу вводять за дві години до умертвіння.

- Носій (50% DMSO/50% Dulbecco's PBS)
- Приклад 24 (50мг/кг)

Результати дослідження А показані у таблиці (9). У щурів, яким вводили дози носія, діарея продовжувалася протягом курсу дослідження. Якість випорожнень поліпшувалася у щурів, оброблених сполукою прикладу 24.

Таблиця 9

Оцінка характеру випорожнень у щурів HLA, оброблених підшкірно сполуками протягом 5 днів. Представлені величини - середні оцінки групи

День	Носій	Приклад 24 (50мг/кг)
1	3	2,8
2	3	2
3	3	1,8
4	3	1,6
5	3	1,6
6	3	1,4

3=діарея,  
2=м'які випорожнення,  
1=нормальні випорожнення.

У дослідженні В щурам (у віці 8-10 тижнів) дози вводили через рот протягом двадцяти шести днів, як йде далі:

- Носій (2% Tween-80/0,5% метилцелюлоза)
- Приклад 25 (10мг/кг у дні з 1 по 14, потім з 15 дня збільшували до 20мг/кг)
- Приклад 34 (10мг/кг)

Одержані наступні результати (таблиця (10)), і вони показують, що характер випорожнень поліпшився у всіх щурів, оброблених типовими сполуками за винаходом.

Таблиця 10

Оцінка характеру випорожнень у щурів HLA, оброблених через рот носієм або типовими сполуками за винаходом.

Представлені величини - середні оцінки групи

День	Носій	Приклад 25	Приклад 34
1	1	1	1
2	1	1	1
3	1	1,25	1
4	1,25	1,25	1,25
5	2,5	1,75	2
6	2,75	1,5	1,75
7	2,75	2	1,75
8	2,75	2	1,5
9	3	1,75	1,5
10	3	1,5	1,25
11	2,75	2	1,5
12	2,75	1,75	1,5
13	2,75	2,25	1,25
14	2,75	2	1,25
15	2,75	2	1,25
16	3	1,5	1
17	2,75	1,5	1
18	2,75	1,5	1,25
19	2,75	1,25	1
20	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND
22	3	1,25	1
23	3	1,25	1
24	3	1,25	1
25	3	1,25	1
26	3	1,25	1

ND: не визначено

3=діарея,

2=м'які випорожнення,

1=нормальні випорожнення.

У дослідженні С шурам (у віці 8-10 тижнів) дози одного зі складів, перерахованих нижче, вводили через рот один раз на день протягом сорока шести днів. У кожній групі було по 4 щури, і останню дозу вводили за дві години до умиріння.

- Носій (2% Tween-80/0,5% метилцелюлоза)

- Приклад 21 (10мг/кг у дні з 1 по 18, потім з 19 дня збільшували до 20мг/кг)

- Приклад 24 (10мг/кг у дні з 1 по 24, потім з 25 дня збільшували до 20мг/кг)

Одержані наступні результати (таблиця (11)), і вони показують, що характер випорожнень поліпшувався з введенням всіх селективних по відношенню до ERβ сполук:

Таблиця 11

Оцінки випорожнень у щурів HLA, оброблених через рот носієм або типовими сполуками за винаходом.

Представлені величини - середні оцінки групи

День	Носій	Приклад 24	Приклад 21
1	2,75	2,75	2,75
2	3	2,75	3
3	3	2,75	2,75
4	3	2,5	2,75
5	3	2	2,75
6	3	2,5	2,5
7	3	2,25	2,5
8	3	2,25	2,75
9	3	2,25	2,5
10	3	2,25	2,75
11	3	2,25	2,5
12	3	1,75	2,5
13	3	2,25	2,5
14	3	2	2,5
15	3	1,75	2,5
16	3	1,75	2,5
17	3	1,75	2,5
18	3	1,75	2,5
19	3	1,75	2,75
20	3	1,75	2,5
21	3	1,75	2,75
22	3	1,75	2,5
23	3	1,75	2,25
24	3	2	1,75
25	3	2	2
26	2,75	2,25	2
27	3	1,75	2
28	3	1,75	2
29	3	1,5	2
30	2,75	1,5	2,25
31	3	1,5	2,25
32	3	1,5	2
33	3	1,75	1,5
34	3	1,75	1,75
35	3	1,5	1,5
36	3	1,5	1,75
37	3	1,25	1,5
38	3	1,75	1,5
39	3	1,75	2
40	3	1,5	1,75
41	3	1,75	2
42	3	1,5	2
43	3	1,5	2
44	3	1,5	2
45	3	1,25	2
46	3	1,25	2

ND: не визначено

3=діарея,

2=м'які випорожнення,

1=нормальні випорожнення.

## Гістологічний аналіз

Тканину товстої кишки занурюють у 10% нейтральний забуферений формалін. Кожний екземпляр товстої кишки розділяють на чотири зразки для оцінки. Фіксовані формаліном тканини переробляють у вакуумному інфільтраційному процесорі Tissue Tek (Miles, Inc.; West Haven, Connecticut) для закладання у парафін. Зі зразків виготовляють зрізи товщиною 5мкм і потім їх забарвлюють гематоксиліном і еозином (H&E) для гістологічних оцінок сліпим методом з використан-

ням шкали, модифікованої після Boughton-Smith. Після завершення оцінки зразки розшифровують і дані заносять у таблицю і аналізують лінійним моделюванням ANOVA з множинними порівняннями середніх значень. Зрізи тканини товстої кишки оцінюють за різними показниками хвороби і дають відносні оцінки. Як показано у таблиці (12) (композиція двох досліджень підшкірного введення доз, включаючи дослідження А), приклад 24 є ефективним відносно зменшення декількох вимірювань ураження тканини.

Таблиця 12

Гістологічна оцінка тяжкості хвороби на щурчій моделі HLA-B27;  
Композиція двох досліджень з використанням підшкірного введення доз протягом 5 днів

Група	Укривання виразками (0-2)	Запалення (0-3)	Глибина ураження (0-2)	Фіброз (0-2)	Загальна оцінка
Носій	1,38	2,69	1,19	0,88	6,13
Приклад 24 (50мг/кг)	0,25*#	1,05*#	0,2*#	0*	1,5*#
Приклад 24 (10мг/кг) <sup>a</sup>	0,81*	1,63*	0,69*	0,50*	3,6*
Приклад 24 (1мг/кг) <sup>a</sup>	1,25	1,63*	0,88*	0,75	4,4*

<sup>a</sup> дані, взяті з другого дослідження

\*sig < носій або EE+ICI

# sig < EE

Кишкову тканину з дослідження В (дивись вище) також досліджують гістологічно. Як показано

нижче (таблиця (13)), обидві сполуки значно знижують загальну оцінку хвороби.

Таблиця 13

Гістологічна оцінка тяжкості хвороби у товстій кишці від тварин,  
яким протягом 4 тижнів вводили через рот типові сполуки за винаходом.  
Середні±SD

Група	Укривання виразками (0-2)	Запалення (0-3)	Глибина ураження (0-2)	Фіброз (0-2)	Загальна оцінка
Носій	1,44±0,66	2,88±0,14	1,56±0,63	1,06±0,32	6,94±1,51
Приклад 25	0,44±0,24*	1,50±0,35*	0,44±0,24*	0,31±0,13*	2,69±0,52*
Приклад 34	0,75±0,46*	1,81±0,13*	0,63±0,32*	0,31±0,32*	3,50±1,10*

\*sig < носій

Кишкову тканину з дослідження С (дивись вище) також досліджують гістологічно. Як показано нижче (таблиця (14)), приклад 24 значно знижує загальну оцінку хвороби. Оцінки прикладу 21

по всіх параметрах хвороби, хоча і статистично незначно, були нижчими, ніж відповідні оцінки від оброблених носієм щурів.

Таблиця 14

Гістологічна оцінка тяжкості хвороби у товстій кишці від тварин,  
яким протягом 7 тижнів вводили через рот типові сполуки за винаходом.  
Середні±SD

Група	Укривання виразками (0-2)	Запалення (0-3)	Глибина ураження (0-2)	Фіброз (0-2)	Загальна оцінка
Носій	1,19±0,69	2,38±0,32	1,0±0,54	0,94±0,75	5,50±2,1
Приклад 21	0,81±0,47	2,06±0,43	0,75±0,50	0,56±0,32	4,19±1,74
Приклад 24	0*	0,69±0,24*	0*	0*	0,69±0,24*

\*sig < носій

Оцінка на двох моделях артриту

Аналіз на щурах Lewis викликаного ад'ювантом артриту. Шістдесят самок щурів Lewis у віці 12 тижнів утримують відповідно до стандартних процедур, що полегшують роботу. Вони одержують стандартний раціон при вільному доступі до їжі і води. Кожну тварину ідентифікують картою на клітці, яка вказує групу проекту і номер тварини. Номер кожного щура наносять маркером з фарбою, що не змивається, на хвіст. Щонайменше за 10-21 день до дослідження їх анестезують і піддають овариоектомії стандартними хірургічними методами в асептичних умовах.

Щоб викликати артрит, використовують повний ад'ювант Фрейнда (Sigma Immuno Chemicals, St. Louis, MO), кожний мл містить 1мг вбитих теплом і висушених *Mycobacterium tuberculosis*, 0,85мл мінеральної олії і 0,15мл моноолеату маніду Lot No. 084H8800.

Наступне являє собою приклади двох тест-процедур. Тест-процедура інгібування: Тридцять щурам уприскують підшкірно при основі хвоста 0,1мл повного ад'юванта Фрейнда. Тварин довільно розбивають на чотири групи, кожна група містить шість щурів. Кожний день групи одержують носій (50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/1х фосфатний фізіологічний розчин Dulbecco (GibcoBRL, Grand Island, NY)) або випробовувану сполуку (вводять підшкірно). Обробку всіх щурів починають у 1 день. Дані для типових сполук за винаходом показані у таблиці (15).

Тест-процедура обробки: Тридцять щурам уприскують підшкірно при основі хвоста 0,1мл повного ад'юванта Фрейнда. Тварин довільно розбивають на чотири групи, кожна група містить шість щурів. Кожний день групи одержують носій (50% DMSO (JT Baker, Phillipsburg, NJ)/1х фосфатний фізіологічний розчин Dulbecco (GibcoBRL, Grand Island, NY)) або випробовувану сполуку (вводять підшкірно). Обробку всіх щурів починають на 8 день після ін'єкції ад'юванта. Дані для типових сполук за винаходом показані у таблицях (16), (17) і (18).

Статистичний аналіз проводять з використанням Abacus Concepts Super ANOVA (Abacus Concepts, Inc. Berkeley, CA). Всі параметри, що представляють інтерес, піддають дисперсійному аналізу з новим множинним post hoc (лат.) тестуванням діапазонів за Duncan між групами. Дані скрізь представлені як середнє±стандартне відхилення (SD), і відмінності вважаються значними, якщо  $p < 0,05$ .

Ступінь тяжкості артриту відстежують щодня з точки зору наступних виявів хвороби: еритема задньої лапи, опухання задньої лапи, хворобливість суглобів і переміщення та положення тіла. Числову шкалу від 0 до 3 використовують для кількісної оцінки ступеня еритеми (0=нормальна лапа, 1=слабка еритема, 2=помірна еритема,

3=тяжка еритема) і опухання (0=нормальна лапа, 1=слабка припухлість, 2=помірне опухання, 3=сильне опухання задньої лапи). Максимальна оцінка за день дорівнює 12.

У кінці дослідження щурів умертвляють  $\text{CO}_2$ , задні кінцівки відділяють при розтині трупа і фіксують у 10% забуференому формаліні і заплеснові суглоби декальцифікують і закладають у парафін. Гістологічні зрізи забарвлюють гематоксиліном і еозином або барвником Saffranin O - Fast Green.

Слайди кодують так, щоб експерт не знав їх приналежності до груп обробки. Синовіальну тканину з заплеснових суглобів оцінюють на основі синовіальної гіперплазії, інфільтрації запалених клітин і утворення пануса [Poole and Coombs, International Archives of Allergy & Applied Immunology 54: 97-113 (1977)], як описано у загальних рисах нижче.

Категорія	Ступінь
1. Синовіальні вистильні клітини	
a. Немає змін	0
b. Клітини розширені, злепка потовщені	1
c. Клітини розширені, збільшені по чисельності, помірно потовщені. Немає ворсинок.	2
d. Клітини розширені, потовщені. Ворсинки присутні.	3
2. Фіброплазія	
a. Немає змін	0
b. Фіброплазія присутня під вистильними клітинами	1
c. Невелика площа альвеолярної тканини заміщена фіброзною тканиною	2
d. Заміщення альвеолярної тканини фіброзною тканиною	3
3. Запальні клітини	
a. Іноді помітні, розрізнені по всьому відбору	0
b. Клітини присутні у малих кількостях у шарі вистильних клітин або якраз під ним і/або навколо кровоносних судин	1
c. Невелике осередкове скупчення клітин може бути присутнім	2
d. Велике число клітин присутнє у капсулі і в або під шарами вистильних клітин. Часто спостерігається великий осередок	3
4. Панус	
a. Не піддається виявленню	0
b. Піддається виявленню	1

На додаток, хрящ і кістку суглоба оцінюють, використовуючи систему гістологічної оцінки Mankin [Mankin et al., Journal of Bone & Joint Surgery -American Volume 53: 523-37 (1971)], як показано нижче.

Категорія	Ступінь
1. Структура	
a. Нормальна	0
b. Нерівномірність поверхні	1
c. Панус і нерівномірність поверхні	2
d. Тріщини до перехідної зони	3
e. Тріщини до радіальної зони	4
f. Тріщини до кальцифікованої зони	5
g. Повна дезорганізація	6
2. Клітини	
a. Нормальні	0
b. Дифузна гіперцелюлярність	1
c. Клонування	2
d. Гіпоцелюлярність	3
3. Забарвлення сафраніном О	
a. Нормальне	0
b. Легке зменшення	1
c. Помірне зменшення	2
d. Сильне зменшення	3
e. Барвник не помічений	4
4. Цілісність граничної ділянки	
a. Інтактна	0
b. Пересічена кровоносними судинами	1

Таблиця 15

Оцінка запалення суглоба на щурах Lewis: протокол інгібування

День	Носій	Приклад 24
1	0,00	0,00
2	0,00	1,00
3	4,50	4,50
4	5,50	4,83
5	9,33	5,83
6	10,50	6,16
7	10,60	6,16

8	11,00	5,33
9	11,50	5,66
10	11,33	4,33
11	10,83	3,16
12	10,83	3,16
13	11,00	2,16
14	11,00	3,33
15	11,00	3,00
16	11,00	1,66
17	10,50	1,50

Таблиця 16

Оцінка запалення суглоба на щурах Lewis: протокол обробки

День	Носій	Приклад 24	Приклад 27	Приклад 32
1	10,83	11,33	11,33	11,33
2	11,00	11,15	11,15	10,83
3	10,83	11,33	11,33	9,33
4	11,33	9,50	9,83	8,00
5	11,50	8,00	8,83	5,83
6	11,50	7,00	7,83	3,33
7	11,50	5,83	6,16	3,00
8	11,50	4,83	5,00	2,50
9	11,00	3,50	4,33	2,50
10	11,00	3,83	2,66	2,50
11	10,66	3,83	1,83	2,50
12	10,66	3,83	1,83	2,50
13	10,50	3,16	2,66	2,50
14	9,83	3,16	2,66	2,50
15	8,10	2,83	2,00	2,00
16	7,35	2,83	2,00	1,33
17	6,50	2,00	1,50	1,00

Таблиця 17

Гістологічна оцінка синовіту у запалених суглобах на щурах Lewis (середнє±SD): протокол обробки

Група	Синовіальна структура (0-3)	Фіброплазія (0-3)	Запальні клітини (0-3)	Панус (0-1)	Загальна оцінка синовіту (0-10)
Носій	2,58±0,38	1,75±0,42	2,92±0,20	1,00±0,89	8,25±1,57
Приклад 24 (50мг/кг)	1,42±0,49*	0,42±0,80*	1,33±0,41*	0,08±0,20*	3,25±1,54*

\* sig < носій

Таблиця 18

Гістологічна оцінка зміни хряща (оцінки за Mankin) у запалених суглобах на щурах Lewis (середнє±SD): протокол обробки

Група	Структура хряща (0-6)	Клітини хряща (0-3)	Забарвлення сафранін-О/швидкий зелений (0-4)	Цілісність граничної ділянки (0-1)	Загальна оцінка за Mankin (0-14)
Носій	2,83±0,26	2,58±0,38	2,50±0,32	0	7,92±0,74
Приклад 24 (50мг/кг)	1,58±0,49*	0,83±0,75*	1,25±0,69*	0	3,67±1,86*

\* sig < носій

Оцінка артриту на щурячій моделі HLA-B27. Типові сполуки за винаходом оцінюють у стандартній фармакологічній тест-процедурі на щурах HLA-B27, яка імітує артрит у людей. Наступне стисло описує використовувану процедуру і одержані результати. Самців щурів HLA-B27 одержують від Taconic і забезпечують їм необмежений доступ до їжі (PMI Lab diet 5001) і води. Оцінки суглоба та гістологічні оцінки здійснюють так само, як описано вище для щурячої моделі Lewis викликаного ад'ювантом артриту.

Дослідження 1: Щурам (вік 8-10 тижнів) один раз на день протягом сорока шести днів вводять через рот дози одного зі складів, перерахованих нижче. У кожній групі було по 4 щури, і останню дозу вводили за 2 години до умертвіння.

- Носій (2% Tween-80/0,5% метилцелюлоза)

- Приклад 21 (10мг/кг у дні з 1 по 18, потім з 19 дня збільшують до 20мг/кг)

- Приклад 24 (10мг/кг у дні з 1 по 24, потім з 25 дня збільшують до 20мг/кг)

Одержані наступні результати для типових сполук за винаходом (таблиці (19) і (20)).

Таблиця 19

Оцінка запалення суглоба з дослідження 1

День	Носій	Приклад 24	Приклад 21
29	2,5	1,5	0,75
30	6	0,5	1,75
31	5	0,5	1,25
32	6,75	1,25	0,75
33	8	2	1
34	8	2,25	1,25
35	8	2	2,25
36	6	2,25	1
37	7,5	2	4
38	6,5	2,75	1,5
39	7,5	2,25	1,5
40	7,5	1,75	2,25
41	6,5	2	2,25
42	6,5	2,5	1,5
43	6	4,75	1,25
44	6,75	3	1
45	5,5	2,75	2,5
46	6	3,25	2

Таблиця 20

Оцінка гістології суглоба з дослідження 1

Сполука	Оцінка синовіту (середнє±SD)	Оцінка за Mankin (середнє±SD)
Носій	7,75±2,6	6,75±1,0
Приклад 24	3,17±0,3*	3,5±1,8**
Приклад 21	6,1±0,75	4,6±0,9

\* sig < носій, p<0,07

\*\* sig < носій, p<0,05

Дослідження 2: Щурам (вік 8-10 тижнів) протягом двадцяти шести днів вводять через рот дози

одного зі складів, перерахованих нижче. У кожній групі 4 щури, і останню дозу вводять за дві години до умертвіння.

- Носій (2% Tween-80/0,5% метилцелюлоза)

- Приклад 25 (10мг/кг у дні 1-14, потім з 15 дня збільшують до 20мг/кг)

- Приклад 34 (10мг/кг)

Одержані наступні результати для типових сполук за винаходом (таблиця (21)).

Таблиця 21

Оцінка запалення суглоба на щурах HLA з дослідження 2

День	Носій	Приклад 25	Приклад 34
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	2,5	1	0,25
9	3,75	2	0,75
10	2,75	2,25	0,5
11	3,5	2,25	0,5
12	1,25	2	0,25
13	1,25	2	0,5
14	1,25	2	0
15	5,25	3,75	0,5
16	4,5	3	0,5
17	3,5	2,75	0,25
18	3,75	2	0,75
19	5,5	1,5	1
22	3,25	1,25	1
23	6,5	2,5	1,75
24	6,5	2	1,75
25	6,25	2	2
26	7	1,75	3

Оцінка канцерогенезу на моделях in vivo

Здатність сполук за даним винаходом лікувати і пригнічувати різні злоякісні або гіперпроліферативні порушення може бути оцінена у стандартних фармакологічних тест-процедурах, які легко доступні у літературі і включають наступні дві процедури.

Рак молочної залози. Атимічних (голих) мишей pu/pu одержують з видаленими яєчниками з Charles River Laboratories (Wilmington, MA). За день до ін'єкції пухлинних клітин тваринам імплантують таблетки з уповільненим вивільненням, які містять 0,36-1,7мг 17β-естрадіолу (вивільнення 60 або 90 днів, Innovative Research of America, Sarasota, FL), або плацебо. Таблетку вводять підшкірно у підлопаткову ділянку за допомогою прецизійного троакара 10 розміру. Після цього мишам уприскують підшкірно у тканину молочної залози або 1x10<sup>7</sup> клітин MCF-7, або 1x10<sup>7</sup> клітин BG-1. Клітини змішують з рівним об'ємом матригелю, базисного препарату мембранного матриксу, щоб поліпшити утворення пухлини. Випробовувані спо-

луки можуть бути оцінені або шляхом дозування через день після імплантації пухлинних клітин (режим пригнічення), або після досягнення пухлинами конкретного розміру (режим лікування). Сполуки вводять кожного дня або інтраперитонеально, або перорально у носії з 1% tween-80 у фізіологічному розчині. Розмір пухлини оцінюють через кожні три або сім днів.

Рак товстої кишки. Здатність лікувати або пригнічувати рак товстої кишки може бути оцінена у тест-процедурі Smirnoff [Oncology Research 11: 255-64 (1999)].

Оцінка нейрозахисту у двох тест-процедурах in vivo

Тимчасова глобальна ішемія на монгольській піщанці. Вплив випробовуваних сполук на запобігання або лікування ураження головного мозку у відповідь на кисневу депривацію/реперфузію може бути вимірний за допомогою наступної тест-процедури.

Самців монгольської піщанки (60-80г; Charles River Laboratories, Kingston, NY) розміщують в обладнанні для утримання тварин Wyeth-Ayerst (сертифікованому AAALAC) з 12-часовим світловим періодом і 12-часовим темним періодом і забезпечують вільний доступ до водопровідної води і казеїнового корму з низьким вмістом естрогену (Purina, Richmond, IN). Після акліматизації (3-5 днів) піщанок анестезують ізофлураном (2-3% суміш з O<sub>2</sub>), піддають овариоектомії (день 0). Починаючи з наступного ранку (день 1), піщанок обробляють підшкірно кожного дня або носієм (10% ЕТОН/кукурудзяна олія), або 17β-естрадіолом (1мг/кг, sc), або експериментальною сполукою. На 6 день піщанок (n=4-5/група) анестезують ізофлураном, сонні артерії оголюють через розріз по серединній лінії шиї і обидві артерії одночасно закурюють на 5 хвилин мікрозатискачами, що не травмують, для аневризми. Після закурювання затискачі видаляють, щоб дати можливість проходити церебральній реперфузії, і шийний розріз закривають скобками для ран. Всіх тварин прив'язують на ніч перед хірургічною операцією з приводу глобальної ішемії, дана стадія сприяє стійкому ішемічному ураженню. На 12 день піщанок піддають впливу летальної дози CO<sub>2</sub> і їх головний мозок заморожують на сухому льоді і зберігають при -80°C. Протоколи тварин, що використовуються для даних досліджень, розглянуті і затверджені Radnor/Collegeville Animal Care and Use Committee (RACUC/CACUC) at Wyeth-Ayerst Research.

Ступінь нейронного захисту оцінюють аналізом гібридизації in situ mRNA нейрограніну. Коротше кажучи, 20мкм коронарні кріостатні зрізи збирають на покриті желатиною слайди, сушать і зберігають при -80°C. Під час обробки бокси для висушених слайдів нагрівають до кімнатної температури, слайди піддають постфіксації у 4% параформальдегіді, обробляють оцтовим ангідридом і потім знежирюють і дегідратують хлороформом і етанолом. Слайди з поміщенням на них обробленим зрізом гібридизують з 200мкл (6x10<sup>6</sup> DPM/слайд) антисмислового або смислового (контроль) рибозонда для нейрограніну (<sup>35</sup>S-UTP-мічений NG-241; основи 99-340) у 50% формамідній суміші для гібридизації та інкубують протягом

ночі при 55°C у вологій камері для слайдів без накривних стекл. На наступний ранок слайди збирають у штативи, занурюють у 2xSSC (0,3M NaCl, 0,03M цитрат натрію, pH 7,0)/10mM DTT, обробляють RNазою A (20мкг/мл) і промивають (2x30хв.) при 67°C в 0,1xSSC, щоб видалити неспецифічну мітку. Після дегідратації слайди на ніч поміщають проти рентгенівської плівки BioMax (BMR-1; Kodak).

Рівень сигналу гібридизації нейрограніну використовують для кількісного визначення ступеня нейронної втрати у ділянці CA1 після ураження і для оцінки ефективності 17β-естрадіолу та експериментальних сполук. mRNA нейрограніну вибрана для даних досліджень, тому що вона високо експресована у нейронах гіпокампу, включаючи CA1, але відсутня у гліальних та інших типах клітин, що присутні у цій ділянці головного мозку. Отже, вимірювання кількості присутньої mRNA нейрограніну представляє нейрони, що вижили. Вимірювання відносної оптичної щільності сигналу гібридизації нейрограніну одержують від плівкових авторентгенограм з системою аналізу зображень на комп'ютерній основі (C-Imaging Inc., Pittsburgh, PA). Результати від 6 зрізів (товщиною 40мкм) на тварину усереднюють і оцінюють статистично. Числові величини представлені як середнє±SEM. Однонаправлений дисперсійний аналіз використовують для тестування відмінностей у рівні mRNA нейрограніну і всіх тверджень про нерозрізнюваність результатів, маючи на увазі частину, де p>0,05.

Наступні результати одержані з типовими сполуками за винаходом (таблиця (22)).

Таблиця 22

Вплив типових сполук за винаходом на збереження нейронів у гіпокампі піщанок

Сполука	mRNA нейрограніну (довільні одиниці, середнє±ст. відх.)
Носій	0,0
Приклад 24	0,0
Приклад 41	43,0±21,8

Оклюзія серединної церебральної артерії на мишах. Нейрозахист може бути оцінений відповідно до тест-процедур, описаних Dubai [див. Dubai et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98: 1952-1957 (2001), Dubai, et al., Journal of Neuroscience 19: 6385-6393 (1999)].

Стандартна фармакологічна тест-процедура інгібування овуляції

Тест-процедуру використовують, щоб визначити, чи можуть випробовувані сполуки інгібувати або змінювати час овуляції. Вона може бути також використана для визначення числа овульованих ооцитів [Lundeen, et al., J Steroid Biochem Mol Biol 78: 137-143 (2001)].

Наступні результати одержані з типовими сполуками за винаходом (таблиця (23)).

Таблиця 23

Вплив сполук за винаходом на інгібування овуляції

Сполука	Число ооцитів (середнє±SEM)
Носій	13,00±0,72
Приклад 20 (50мг/кг)	14,13±0,79
Приклад 24 (50мг/кг)	13,86±0,77

Оцінка у стандартній фармакологічній тест-процедурі ендометріозу. Дана процедура є злегка модифікованим опублікованим методом [Bruner-Tran. et al., Journal of Clinical Investigation 99: 2851-2857 (1997)]. Коротше кажучи, нормальну внутрішньоматкову тканину людини (~12 день циклу) обробляють *in vitro* протягом ночі 10нМ 17 $\beta$ -естрадіолом і потім імплантують атимічній голій миші з видаленими яєчниками. Для цілей даних досліджень мишам не імплантують естроген/плацебо, як описано у статті. Ушкодженням дозволяють відновитися щонайменше протягом 10 днів, потім починають щоденне дозування через рот і продовжують його щонайменше 15 днів. Потрібно зазначити, що всі миші мали видимі ушкодження при початку дозування. При розтині визначають число мишей з ушкодженнями, а також число ушкоджень на мишу.

Сполуку прикладу 24 оцінюють три рази у даній процедурі при дозі 10мг/кг. У кожній тест-процедурі у мишей, що одержували дози сполуки прикладу 24, при розтині були виявлені менші ушкодження, ніж у мишей, що одержували дози носія. Наприклад, у дослідженні 1 кожна з чотирьох мишей у групі носія мала щонайменше одне ушкодження, і число ушкоджень у даній групі було 10. Навпаки, тільки дві з шести мишей, оброблених сполукою прикладу 24, мали ушкодження, і було знайдено тільки одне ушкодження на тварину. Отже, оскільки всі миші мали ушкодження при початку обробки, сполука прикладу 24 викликала регресію ушкоджень у чотирьох з шести мишей.

На основі результатів, одержаних у стандартних фармакологічних тест-процедурах, сполуки за даним винаходом є модуляторами естрогенного рецептора, застосовними у лікуванні або інгібуванні станів, розладів або хворобливих станів, які щонайменше частково опосередковуються недостатністю або надмірністю естрогену, або які можуть бути вилікувані або інгібовані шляхом застосування естрогенного агента. Сполуки за даним винаходом особливо застосовні у лікуванні пацієнток у період менопаузи, безпосередньо перед нею і після, у яких значно знижуються рівні продукування ендогенних естрогенів. Менопауза звичайно визначається як останній природний менструальний період і характеризується припиненням функції яєчників, що приводить до істотного зниження циркуляції естрогену у кров'яному руслі. Як використовується тут, менопауза включає також стани зниженого продукування естрогену, які можуть бути викликані хірургічно, хімічно або можуть бути викликані хворобливим станом, який веде до передчасного зниження або припинення функції яєчників.

Сполуки за даним винаходом також застосовні в інгібуванні або лікуванні інших ефектів недостатності естрогену, включаючи "припливи", вагінальну або вульварну атрофію, атрофічний вагініт, вагінальну сухість, прурит, диспареунію, дизурію, часте сечовипускання, нетримання сечі, інфекції сечових шляхів. Інші застосування для статевих шляхів включають лікування або інгібування дисфункційної маткової кровотечі. Сполуки також застосовні у лікуванні або інгібуванні ендометріозу.

Сполуки за даним винаходом впливають також на головний мозок і, отже, застосовні для інгібування або лікування хвороби Альцгеймера, зниження пізнавальної здатності, зниженого лібідо, старечого слабоумства, нейродегенеративних розладів, депресії, неспокою, безсоння, шизофренії і безпліддя. Сполуки за даним винаходом застосовні також у лікуванні або інгібуванні доброякісного або злоякісного аномального росту тканини, включаючи гломерулосклероз, гіпертрофію простати, лейоміому матки, рак молочної залози, склеродерму, фіброматоз, внутрішньоматковий рак, синдром полікістозного яєчника, внутрішньоматкові поліпи, доброякісну хворобу молочної залози, аденоміоз, рак яєчників, меланому, рак простати, рак товстої кишки, рак ЦНС, такий як гліома або астіобластома.

Сполуки за даним винаходом є кардіозахисними і є антиоксидантами і застосовні для зниження рівнів холестерину, тригліцеридів, Lp(a) і LDL; для інгібування або лікування гіперхолестеринемії, гіперліпідемії, серцево-судинної хвороби, атеросклерозу, хвороби периферичних судин, рестенозу і вазоспазму та інгібування ушкодження стінок судин від випадків, що ведуть до імуноопосередкованого судинного ураження. Сполуки за даним винаходом також застосовні у лікуванні розладів, пов'язаних із запальними або аутоімунними хворобами, включаючи запальну хворобу кишечнику (хвороба Крона, виразковий коліт, індетермінантний коліт), артрит (ревматоїдний артрит, спондилоартропатії, остеоартрит), плеврит, ішемічне/реперфузійне ураження (напр., удар, відторгнення трансплантата, інфаркт міокарда і т.п.), астму, гігантоклітинний артеріїт, простатит, увеїт, псоріаз, розсіяний склероз, системний червоний вовчак і сепсис.

Сполуки за даним винаходом також застосовні у лікуванні або інгібуванні розладів очей, включаючи катаракти, увеїт і дегенерацію жовтої плями, та у лікуванні станів шкіри, таких як старіння, облісіння і вугри.

Сполуки за даним винаходом також застосовні у лікуванні або інгібуванні метаболічних розладів, таких як діабет типу II, розладів ліпідного метаболізму, апетиту (напр., таких як відсутність апетиту внаслідок знервованості та булімія).

Сполуки за даним винаходом також застосовні у лікуванні або інгібуванні кровотеч, таких як спадкова геморагічна телеангіектазія, дисфункційна маткова кровотеча, і для боротьби з геморагічним шоком.

Сполуки за даним винаходом застосовні при хворобливих станах, де аменорея є вигідною, таких як лейкоз, внутрішньоматкові екстирпації, хро-

нічна хвороба нирок або печінки або хворобливі стани, або порушення коагуляції.

Сполуки за даним винаходом можуть бути використані як протизаплідні засоби, особливо у поєднанні з прогестинами.

Зрозуміло, що при введенні для лікування або інгібування конкретного хворобливого стану або розладу ефективна доза може змінюватися в залежності від конкретної використовуваної сполуки, способу введення, стану і тяжкості його, стану, який потребує лікування, а також різних фізичних факторів, що відносяться до індивідуума, якого лікують. Ефективне введення сполук за даним винаходом може бути в оральній дозі від близько 0,1 мг/доба до близько 1000 мг/доба. Переважно, введення буде від близько 10 мг/доба до близько 600 мг/доба, більш переважно від близько 50 мг/доба до близько 600 мг/доба, у разовій дозі або у двох або більше розділених дозах. Добова система доз, що планується, як передбачається, буде змінюватися в залежності від шляху введення.

Такі дози можуть бути введені будь-яким чином, застосовним для направлення даних активних сполук у кров'яне русло реципієнта, наприклад перорально, за допомогою імплантату, парентерально (включаючи внутрішньовенні, інтраперитонеальні, внутрішньосуглобові і підшкірні ін'єкції), ректально, інтраназально, місцево, через очі (за допомогою крапель для очей), вагінально і трансдермально.

Склади для перорального введення, що містять активні сполуки за даним винаходом, можуть містити будь-які форми, що звичайно використовуються для перорального введення, включаючи таблетки, капсули, защічні форми, коржики, пастилки і рідини для перорального прийому, суспензії або розчини. Капсули можуть містити суміші активної сполуки (сполук) з інертними наповнювачами і/або розріджувачами, такими як фармацевтично прийнятний крохмаль (наприклад, кукурудзяний, картопляний або крохмаль тапіоки), цукри, штучні підсолоджувачі, порошкоподібні целюлози, такі як кристалічна і мікрокристалічна целюлози, борошно, желатин, камеді і т.п. Застосовні склади таблеток можуть бути приготовані методами звичайного пресування, вологого гранулювання або сухого гранулювання і в них можуть бути використані фармацевтично прийнятні розріджувачі, зв'язувальні агенти, мастила, дезінтегранти, агенти, що модифікують поверхню (включаючи поверхнево-активні речовини), суспендує або стабілізує агенти, включаючи, але без обмеження перерахованим, стеарат магнію, стеаринову кислоту, тальк, лаурилсульфат натрію, мікрокристалічну целюлозу, кальцієву сіль карбоксиметилцелюлози, полівінілпіролідон, желатин, альгінову кислоту, камедь акації, ксантанову камедь, цитрат натрію, комплексні силікати, карбонат кальцію, гліцин, декстрин, сахарозу, сорбіт, фосфат дикальцію, сульфат кальцію, лактозу, каолін, маніт, хлорид натрію, тальк, сухі крохмалі та цукрову пудру. Переважні агенти, що модифікують поверхню, включають неіоногенні і аніоногенні агенти, що модифікують поверхню. Типові приклади агентів, що модифікують поверхню, включають, але без обмеження

перерахованим, полоксамер 188, хлорид бензалконію, стеарат кальцію, цетостеариловий спирт, емульгуючий віск цетомакрогол, складні ефіри ангіросорбіту, колоїдальний діоксид кремнію, фосфати, додецилсульфат натрію, змішаний силікат магнію-алюмінію і триетаноламін. Дані склади для перорального введення можуть використовувати стандартні склади з уповільненим або відстроченим вивільненням для зміни абсорбції активної сполуки (сполук). До складів для перорального застосування можна також віднести введення активного інгредієнта у воді або у фруктовому соку, що містять відповідні солюбілізатори або емульгатори, якщо потрібно.

У деяких випадках може бути бажано вводити сполуки безпосередньо у дихальні шляхи у вигляді аерозолі.

Сполуки за даним винаходом можуть бути також введені парентерально або інтраперитонеально. Розчини або суспензії даних активних сполук у формі вільної основи або фармацевтично прийнятної солі можуть бути приготовані у воді, відповідно змішані з поверхнево-активною речовиною, такою як гідроксипропілцелюлоза. Дисперсії також можуть бути приготовані у гліцерині, рідких поліетиленгліколях та їх сумішах в оліях. За звичайних умов зберігання і застосування дані препарати містять консервант для інгібування росту мікроорганізмів.

Фармацевтичні форми, придатні для застосування для ін'єкцій, включають стерильні водні розчини або дисперсії і стерильні порошки для приготування стерильних розчинів або дисперсій для негайного введення. У всіх випадках форма повинна бути стерильною і повинна бути рідкою до такої міри, щоб бути придатною для введення шприцом. Вона повинна бути стабільна в умовах виготовлення і зберігання і повинна бути збережена від забруднюючої дії мікроорганізмів, таких як бактерії і гриби. Носієм може бути розчинник або дисперсійне середовище, що містить, наприклад, воду, етанол, поліол (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь і рідкий поліетиленгліколь), відповідні суміші їх і рослинні олії.

Для цілей даного розкриття, трансдермальне введення, як мається на увазі, включають всі введення через поверхню тіла і внутрішні вистілки проходів у тілі, включаючи епітеліальну і слизову тканини. Такі введення можуть бути проведені з використанням даних сполук або їх фармацевтично прийнятних солей у лосьйонах, кремах, пінах, пластирах, суспензіях, розчинах і супозиторіях (ректальних і вагінальних).

Трансдермальне введення може бути здійснене шляхом використання трансдермального пластиру, що містить активну сполуку і носій, який є інертним по відношенню до активної сполуки, є нетоксичним для шкіри і забезпечує доставку агента для системної абсорбції у кров'яне русло через шкіру. Носій може приймати декілька форм, таких як креми і мазі, пасти, гелі та оклюзійні пристрої. Креми і мазі можуть в'язкими, рідкими або напівтвердими емульсіями типу масло у воді або вода у маслі. Пасти, що складаються з абсорбуючих порошків, диспергованих у петролатумі або у гідрофільному петролатумі, що містять активний

інгредієнт, також можуть бути придатними. Різноманітні оклюзійні пристрої можуть бути використані для вивільнення активного інгредієнта у кров'яне русло, такі як напівпроникна мембрана, що покриває резервуар, який містить активний інгредієнт з носієм або без нього, або матриця, що містить активний інгредієнт. Інші оклюзійні пристрої відомі у літературі.

Склади супозиторіїв можуть бути приготовані з традиційних матеріалів, включаючи какао-масло, з додаванням або без парафінів для зміни температури плавлення супозиторію і гліцерину. Розчинні у воді основи супозиторіїв, такі як поліетиленгліколи різних молекулярних мас, також можуть бути використані.

Приготування типових прикладів за даним винаходом описане нижче.

#### Приклад 1

2-(5-Гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,4-діол

Стадія а) N-(2,5-Диметоксифеніл)-2,5-диметоксибензамід

Суміш 2,5-диметоксибензойної кислоти (5,0г, 27,5моль) і тіонілхлориду (15мл) кип'ятять з поверненням флегми протягом 1год. Леткі речовини видаляють у вакуумі. Залишок розчиняють у ТГФ (20мл) і додають у холодний (0°C) розчин 2,5-диметоксіаніліну (4,6г, 30,2моль), триетиламіну (5мл, 35,9моль) і ТГФ (40мл). Суміш перемішують протягом 30 хвилин, виливають у воду, підкислюють HCl (2н.) та екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 2/1) дають білу тверду речовину (8,1г, вихід 93%, т.пл. 121-123°C); MC m/e 318 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>

Розраховано: C 64,34; H 6,03; N 4,41

Виявлено: C 64,29; H 5,95; N 4,44

Стадія б) 2-(5-Гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,4-діол

Суміш N-(2,5-диметоксифеніл)-2,5-диметоксибензаміду (1,0г, 3,1моль) і гідрохлориду піридину (2,0г, 17,3моль) перемішують при 200°C протягом 1 години. Суміш охолоджують до кімнатної температури і додають HCl (10мл, 2н.). Суміш потім екстрагують EtOAc і органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 2/1) дають білу тверду речовину (0,8г, вихід 76%, т.пл. 309-311°C); MC m/e 242 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: C 64,20; H 3,73; N 5,76

Виявлено: C 63,98; H 3,71; N 5,62

#### Приклад 2

3-(5-Гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,2-діол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,5-диметоксіаніліну і 2,3-диметоксибензойної кислоти. Продукт одержують у вигляді жовтувато-коричневої твердої речовини, т.пл. 239-241°C; MC m/e 244 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: C 64,20; H 3,73; N 5,76

Виявлено: C 63,86; H 3,90; N 5,74

#### Приклад 3

2-(3-Фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,5-диметоксіаніліну і 3-фтор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 262-268°C; MC m/e 244 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>FO<sub>3</sub>

Розраховано: C 63,68; H 3,29; N 5,71

Виявлено: C 64,01; H 3,25; N 5,63

#### Приклад 4

2-(3-Хлор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,5-диметоксіаніліну і 3-хлор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 254-256°C; MC m/e 260 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>3</sub>

Розраховано: C 59,67; H 3,08; N 5,35

Виявлено: C 59,59; H 3,02; N 5,25

#### Приклад 5

2-(2-Хлор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,5-диметоксіаніліну і 2-хлор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 253-255°C; MC m/e 262 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>3</sub>

Розраховано: C 59,67; H 3,08; N 5,35

Виявлено: C 59,79; H 2,87; N 5,36

#### Приклад 6

2-(3-Фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 3-фтор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 269-271°C; MC m/e 244 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: C 63,68; H 3,29; N 5,71

Виявлено: C 63,53; H 3,71; N 5,38

#### Приклад 7

2-(3-Трет-бутил-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 3-трет-бутил-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 220-222°C; MC m/e 284 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: C 72,07; H 6,05; N 4,94

Виявлено: C 72,03; H 6,43; N 4,72

#### Приклад 8

2-(6-Гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,4-діол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 2,5-диметоксибензойної кислоти і одержують у вигляді жовтувато-коричневої твердої речовини, т.пл. 278-280°C; MC m/e 244 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: C 64,20; H 3,73; N 5,76

Виявлено: C 64,09; H 3,14; N 5,65

## Приклад 9

3-(6-Гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,2-діол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 2,3-диметоксибензойної кислоти і одержують у вигляді жовтувато-коричневої твердої речовини, т.пл. 256-258°C; МС m/e 244 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 64,20; Н 3,73; N 5,76

Виявлено: С 63,91; Н 3,98; N 5,72

## Приклад 10

4-(6-Гідрокси-1,3-бетоксазол-2-іл)бензол-1,2-діол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 3,4-диметоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 282-284°C; МС m/e 242 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 64,20; Н 3,73; N 5,76

Виявлено: С 63,57; Н 3,68; N 5,63

## Приклад 11

2-(3-Хлор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 3-хлор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді не зовсім білої твердої речовини, т.пл. 254-256°C; МС m/e 262 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 64,20; Н 3,73; N 5,76

Виявлено: С 63,57; Н 3,68; N 5,63

## Приклад 12

2-(4-Гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,5-диметоксіаніліну і 4-метоксибензоїлхлориду і одержують у вигляді світло-жовтої твердої речовини, т.пл. 264-267°C; МС m/e 228 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 68,72; Н 3,99; N 6,16

Виявлено: С 67,87; Н 4,05; N 6,23

## Приклад 13

4-(5-Гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,3-діол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,5-диметоксіаніліну і 2,4-диметоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. більше ніж 300°C; МС m/e 242 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 64,20; Н 3,73; N 5,76

Виявлено: С 63,92; Н 3,74; N 5,56

## Приклад 14

2-(4-Гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 4-метоксибензоїлхлориду і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. більше ніж 300°C; МС m/e 226 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 68,72; Н 3,99; N 6,16

Виявлено: С 68,09; Н 4,01; N 6,05

## Приклад 15

4-(6-Гідрокси-1,3-бензоксазол-2-іл)бензол-1,3-діол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, з 2,4-диметоксіаніліну і 2,4-диметоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 293-296°C; МС m/e 242 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 64,20; Н 3,73; N 5,76

Виявлено: С 64,43; Н 3,77; N 5,74

## Приклад 16

6-Хлор-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) N-(4-Хлор-2,5-диметоксифеніл)-3-фтор-4-метоксибензамід

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, стадія а, з 4-хлор-2,5-диметоксіаніліну і 3-фтор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 197-199°C; МС m/e 340 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>ClFNO<sub>4</sub>

Розраховано: С 56,56; Н 4,45; N 4,12

Виявлено: С 56,33; Н 4,35; N 4,05

Стадія б) N-(4-Хлор-2,5-дигідроксифеніл)-3-фтор-4-гідроксибензамід

Комплекс трифториду бору і диметилсульфіду (70мл) додають у суміш N-(4-хлор-2,5-диметоксифеніл)-3-фтор-4-метоксибензаміду (1,75г, 5,15моль) і CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (35мл). Після перемішування протягом 20 годин, розчинник і надлишок реагенту випарюють у потоці азоту у витяжній шафі. Залишок забирають у суміш льоду і HCl (1н.) та екстрагують EtOAc. Органічний шар промивають HCl (1н.) і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/гексани/EtOAc 5/3/2 і AcOH 10мл на 1 літр розчинника, що елює) дають білу тверду речовину (1,4г, вихід 91%, т.пл. 254-256°C); МС m/e 296 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>ClFNO<sub>4</sub>

Розраховано: С 52,46; Н 3,05; N 4,71

Виявлено: С 51,98; Н 2,98; N 4,56

Стадія с) 6-Хлор-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 1, стадія б, з N-(4-хлор-2,5-дигідроксифеніл)-3-фтор-4-гідроксибензаміду і гідрохлориду піридину і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 258-260°C; МС m/e 278 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>ClFNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 55,83; Н 2,52; N 5,01

Виявлено: С 55,35; Н 2,59; N 4,91

## Приклад 17

6-Бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 16, з 4-бром-2,5-диметоксіаніліну і 3-фтор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 224-226°C; МС m/e 322 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>BrFNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 48,18; Н 2,18; N 4,32

Виявлено: С 48,69; Н 2,36; N 4,59

## Приклад 18

6-Хлор-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 16, з 4-хлор-2,5-диметоксianіліну і 4-метоксибензоїлхлориду і одержують у вигляді не зовсім білої твердої речовини, т.пл. 260-262°C; МС m/e 260 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 59,67; Н 3,08; N 5,35

Виявлено: С 59,09; Н 3,06; N 5,11

## Приклад 19

5-Хлор-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-6-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 16, з 5-хлор-2,4-диметоксianіліну і 4-метоксибензоїлхлориду і одержують у вигляді не зовсім білої твердої речовини, т.пл. 254-256°C; МС m/e 262 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 59,67; Н 3,08; N 5,35

Виявлено: С 59,40; Н 2,97; N 5,22

## Приклад 20

7-Бром-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 2-Бром-4-метокси-6-нітрофенол

Бром (16,0г, 100моль) в оцтовій кислоті (20мл) додають у суміш 4-метокси-2-нітрофенолу (16,9г, 100моль), ацетату натрію (16,4г, 200моль) і оцтової кислоти (100мл). Суміш перемішують протягом 30хв. при кімнатній температурі і потім при 70°C протягом 2год. і виливають у воду (1,5л), що містить концентровану сірчану кислоту (10мл). Осаджену тверду речовину відфільтровують і кристалізують з (хлороформ/гексани), щоб одержати коричневату тверду речовину, т.пл. 116-118°C; МС m/e 246 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>BrNO<sub>4</sub>

Розраховано: С 33,90; Н 2,44; N 5,65

Виявлено: С 34,64; Н 2,16; N 5,43

Стадія б) 2-Аміно-6-бром-4-метоксифенол

Ні Реней (2,5г) додають у розчин 2-бром-4-метокси-6-нітрофенолу (8,8г, 35,5моль) в EtOAc (100мл). Суміш струшують в апараті Parr в атмосфері водню 25фунтів на кв. дюйм протягом 2,5год. Реакційну суміш фільтрують через целіт і концентрують у вакуумі, щоб одержати сіру тверду речовину (7,4г, вихід 96%, т.пл. 95-97°C); МС m/e 218 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>BrNO<sub>2</sub>

Розраховано: С 38,56; Н 3,70; N 6,42

Виявлено: С 38,32; Н 3,77; N 6,24

Стадія с) 2-Бром-4-метокси-6-[(4-метоксибензоїл)аміно]феніл-4-метокси-бензоат

Безводний піридин (37,0мл, 468,5моль) додають по краплях у холодну (0°C) суміш (механічно перемішувану) 2-аміно-6-бром-4-метоксифенолу (20,0г, 91,7моль), 4-метоксибензоїлхлориду (38,9г, 229,0моль) і CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (250мл). Під час додавання піридину утворюється осад. Суміш перемішують протягом 30хв. і потім додають простий етиловий ефір (250мл). Осаджені тверді речовини відфільтровують і промивають простим етиловим ефіром. Тверді речовини забирають у воду і перемішують

протягом 20хв. Тверді речовини потім відфільтровують і сушать, щоб одержати не зовсім білу тверду речовину (42,5г, вихід 95%, т.пл. 73-75°C); МС m/e 484 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>BrNO<sub>6</sub>

Розраховано: С 56,80; Н 4,15; N 2,88

Виявлено: С 56,50; Н 3,78; N 2,83

Стадія d) 7-Бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол

Шлях а)

Суспензію 2-бром-4-метокси-6-[(4-метоксибензоїл)аміно]феніл-4-метокси-бензоату (42,0г, 86,4моль), моногідрату п-толуолсульфонової кислоти (32,8г, 172,8моль) і безводного п-ксилолу (800мл) кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 1год. з безперервним видаленням води (пастка Dean-Stark). Вихідна суспензія перетворюється у коричневий розчин при температурі кип'ятіння зі зворотним холодильником. Суміш охолоджують до кімнатної температури і промивають NaOH (2н.). Органічний шар сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і кристалізація з ацетону/простого етилового ефіру дають не зовсім білу тверду речовину (23,5г, вихід 82%, т.пл. 139-141°C); МС m/e 334 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 53,91; Н 3,62; N 4,19

Виявлено: С 53,83; Н 3,37; N 4,01

Шлях б)

Суміш 2-аміно-6-бром-метоксифенолу (100мг, 0,46моль), 4-метокси-бензойної кислоти (77мг, 0,5моль) і борної кислоти (31мг, 0,5моль) у п-ксилолі (9мл) кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 24год., використовуючи сепаратор води Dean-Stark. Суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують у вакуумі. Залишковий продукт очищають флеш-хроматографією (30% EtOAc/петролейний ефір), щоб одержати світло-рожеву тверду речовину (99мг, вихід 65%, т.пл. 136-138°C); МС m/e 334 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 53,91; Н 3,62; N 4,19

Виявлено: С 53,78; Н 3,55; N 4,01

Стадія е) 7-Бром-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Шлях а)

Трибромід бору (1М, 89,9мл, 89,8моль) додають по краплях у холодну (-70°C) суспензію 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу (10,0г, 29,94моль) і CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50мл). Суміш дозволяють нагрітися до кімнатної температури. Під час періоду нагрівання суспензія перетворюється у темний розчин. Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 2 днів і потім виливають повільно у холодний (0°C) простий етиловий ефір (1000мл). Метильовий спирт (200мл) додають повільно до нової суміші протягом 20хв. періоду. Суміш потім виливають у воду (1,5л). Органічний шар промивають три рази водою і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і кристалізація з ацетону/простого етилового ефіру/гексанів дають не зовсім білу тверду речовину (8,4г, вихід 92%, т.пл. 298-299°C); МС m/e 306 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 51,01; Н 2,63; N 4,58

Виявлено: С 50,96; Н 2,30; N 4,42

Шлях b)

Трибромід бору (0,25мл, 2,7моль) додають по краплях у холодну (-78°C) суміш 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу (130мг, 0,39моль) і дихлорметану (1,5мл). Реакційній суміші дозволяють поступово дійти до кімнатної температури і перемішують протягом 1 год. Суміш виливають у лід і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти промивають насиченим розчином солі та сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випаровування і флеш-хроматографія (30-40% EtOAc/петролейний ефір) дають (102мг, вихід 86%) продукт у вигляді світло-рожевої твердої речовини, т.пл. 295-298°C; МС m/e 304 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: C 51,01; H 2,63; N 4,58

Виявлено: C 51,06; H 2,77; N 4,36

Приклад 21

7-Бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 2-Бром-6-[(3-фтор-4-метоксибензоїл)аміно]-4-метоксифеніл 3-фтор-4-метоксибензоат

Суміш 3-фтор-4-метоксибензойної кислоти (39,0г, 229моль), тіонілхлориду (100мл) і N,N-диметилформаміду (0,5мл) кип'яють зі зворотним холодильником протягом 1год. Леткі речовини видаляють у вакуумі. Тверді речовини забирають у бензол (двічі) і леткі речовини видаляють у вакуумі. Залишок розчиняють в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100мл) і додають у холодну (0°C) суміш (що механічно перемішується) 2-аміно-6-бром-4-метоксифенолу (20,0г, 91,7моль) і CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150мл). Безводний піридин (37,0мл, 468,5моль) додають по краплях у нову суміш. Під час додавання піридину утворюється осад. Суміш перемішують протягом 30хв. і потім додають простий етиловий ефір (250мл). Осаджені тверді речовини відфільтровують і промивають простим етиловим ефіром. Тверді речовини забирають у воду і перемішують протягом 20хв. Тверді речовини потім відфільтровують і сушать, щоб одержати не зовсім білу тверду речовину (46,5г, вихід 97%, т.пл. 184-186°C); МС m/e 520 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>BrF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Розраховано: C 52,89; H 3,47; N 2,68

Виявлено: C 52,79; H 3,23; N 2,63

Стадія b) 7-Бром-2-(3-фтор-4-метоксифеніл)-5-метокси-1,3-бензоксазол

Суспензію 2-бром-6-[(3-фтор-4-метоксибензоїл)аміно]-4-метоксифеніл 3-фтор-4-метоксибензоату (46,0г, 88,1моль), моногідрату п-толуолсульфонової кислоти (33,5г, 177,2моль) і безводного п-ксилолу (1л) кип'яють зі зворотним холодильником протягом 3год. з безперервним видаленням води (пастка Dean-Stark). Вихідна суспензія перетворюється у коричневий розчин при температурі кип'ятіння зі зворотним холодильником. Тверді речовини відфільтровують і промивають простим етиловим ефіром. Тверді речовини суспендують у простому етиловому ефірі (200мл), перемішують протягом 10хв., відфільтровують і сушать, щоб одержати жовтувато-коричневу тверду речовину (25,1г, т.пл. 175-177°C). Шар простого етилового ефіру концентрують до 20мл і одержують додатково 2,5г продукту (загальний вихід 90%). МС m/e 352 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>BrFNO<sub>3</sub>

Розраховано: C 51,16; H 3,15; N 3,98

Виявлено: C 51,10; H 2,92; N 3,89

Стадія с) 7-Бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 20, стадія е, і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 265-267°C, МС m/e 332 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>7</sub>BrFNO<sub>3</sub>

Розраховано: C 48,18; H 2,18; N 4,32

Виявлено: C 48,19; H 2,29; N 4,19

Приклад 22

7-Бром-2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 2-Фтор-4-метоксибензойна кислота

У теплу (55°C) суміш Ag<sub>2</sub>O (13,5г, 58,4моль), NaOH (19,5г, 487моль) і води (200мл) додають 2-фтор-4-метоксибензальдегід (15г, 97,4моль). Суміш перемішують протягом 1год., фільтрують і осаджені тверді речовини промивають гарячою водою (10мл). Фільтрат додають повільно у холодну (0°C) HCl (5н.) з енергійним перемішуванням. Осаджену тверду речовину відфільтровують, промивають водою і сушать, щоб одержати білу тверду речовину (13,6г, вихід 82%, т.пл. 194-196°C), МС m/e 169 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>FO<sub>3</sub>

Розраховано: C 56,48; H 4,15

Виявлено: C 56,12; H 4,12

Стадія b) 7-Бром-2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 21, з 2-фтор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 248-250°C, МС m/e 324 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>7</sub>BrFNO<sub>3</sub>

Розраховано: C 48,18; H 2,18; N 4,32

Виявлено: C 47,89; H 1,95; N 4,18

Приклад 23

7-Бром-2-(2,3-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) Метил 2,3-дифтор-4-метоксибензоат

Йодметан (10,7мл, 172,5моль) додають у суміш 2,3-дифтор-4-гідроксибензойної кислоти (10,0г, 57,5моль), карбонату літію (12,7г, 172,5моль) і N,N-диметилформаміду (100мл). Суміш перемішують при 40°C протягом 12год. і потім виливають у воду і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 5/1) дають білу тверду речовину (10,2г, вихід 88%, т.пл. 66-68°C); МС m/e 203 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>F<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Розраховано: C 53,47; H 3,99

Виявлено: C 53,15; H 3,83

Стадія b) 2,3-Дифтор-4-метоксибензойна кислота

Гідроксид натрію (2н., 50мл) додають у суміш метил 2,3-дифтор-4-метоксибензоату (10,0г, 49,5моль), ТГФ (100мл) і MeOH (100мл). Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 6год. і підкислюють HCl (2н.). Осаджену тверду речовину відфільтровують, промивають водою і

сушать, щоб одержати білу тверду речовину (8,9г, вихід 96%, т.пл. 194-196°C); МС m/e 187 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>F<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Розраховано: С 51,08; Н 3,21

Виявлено: С 50,83; Н 2,92

Стадія с) 7-Бром-2-(2,3-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 21, з 2,3-дифтор-4-метоксибензойної кислоти і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 258-260°C, МС m/e 342 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>6</sub>BrF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Розраховано: С 45,64; Н 1,77; Н 4,09

Виявлено: С 45,33; Н 1,62; Н 4,02

Приклад 24

2-(3-Фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Шлях а)

Стадія а) 7-Бром-5-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-2-(4-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-3-фторфеніл)-1,3-бензоксазол

Трет-бутил(хлор)диметилсилан (23,2г, 154моль) додають порціями у суміш 7-бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу (16,6г, 51,4моль), імідазолу (17,5г, 257моль), N,N-диметилпіридин-4-аміну (1,0г, 8,1моль) і ДМФ (300мл). Суміш перемішують протягом 3год., виливають у воду і екстрагують простим етиловим ефіром. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 50/1) дають білу тверду речовину (27,5г, вихід 97%, т.пл. 98-99°C); МС m/e 552 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>25</sub>H<sub>35</sub>BrFNO<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>

Розраховано: С 54,34; Н 6,38; Н 2,53

Виявлено: С 54,06; Н 6,52; Н 2,24

Стадія б) 5-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-2-(4-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-3-фторфеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол

Дихлорбіс(три-о-толілфосфін)паладій(II) (0,63г, 0,79моль) додають у суміш 7-бром-5-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-2-(4-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-3-фторфеніл)-1,3-бензоксазолу (14,7г, 26,6моль), трибутил(вініл)олова (10,5г, 33,25моль) і п-ксилолу (85мл). Реакційну суміш перемішують при 90°C протягом 24год., охолоджують до кімнатної температури, розводять простим етиловим ефіром (100мл) і обробляють активованим вугіллям. Суміш фільтрують через MgSO<sub>4</sub> і концентрують. Очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 50/1) дає білу тверду речовину (11,8г, вихід 89%, т.пл. 93-95°C); МС m/e 500 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>FNO<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>

Розраховано: С 64,89; Н 7,66; Н 2,80

Виявлено: С 64,59; Н 7,70; Н 2,73

Стадія с) 2-(3-Фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Фтороводневу кислоту (48мас.% у воді, 1мл) додають у розчин 5-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-2-(4-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-3-фторфеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазолу (1,5г, 3,0моль), ТГФ (6мл) і ацетонітрилу (3мл). Реакційну суміш перемішують при

65°C протягом 8год. і потім виливають у воду. Осаджену тверду речовину відфільтровують і сушать. Кристалізація продукту з ацетону/простого етилового ефіру дає білу тверду речовину (0,72г, вихід 81%, т.пл. 249-251°C); МС m/e 272 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>FNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 66,42; Н 3,72; Н 5,16

Виявлено: С 66,31; Н 3,85; Н 4,96

Шлях б)

2-(3-Фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Дихлорбіс(три-о-толілфосфін)паладій(II) (0,87г, 1,1моль) додають у суміш 7-бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу (7,16г, 22,1моль), трибутил(вініл)олова (10,5г, 33,25моль) і простого діетилового ефіру етиленгліколю (65мл). Реакційну суміш перемішують при 115°C протягом 48год., охолоджують до кімнатної температури і обробляють активованим вугіллям. Суміш фільтрують через MgSO<sub>4</sub> і концентрують. Очищення флеш-хроматографією на кислотному силікагелі (гексани/EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1/1/1) дає білу тверду речовину (4,35г, вихід 72%, т.пл. 250-252°C); МС m/e 272 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>FNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 66,42; Н 3,72; Н 5,16

Виявлено: С 66,03; Н 3,68; Н 5,09

Шлях с)

Стадія а) 4-[5-(Ацетилокси)-7-бром-1,3-бензоксазол-2-іл]-2-фторфеніл ацетат

Оцтовий ангідрид (1,0мл, 9,95моль) додають у холодний (0°C) розчин 7-бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу (1,24г, 3,8моль), N,N-диметилпіридин-4-аміну (1,1г, 9,18моль) і 1,4-діоксану (13мл). Реакційній суміші дозволяють нагрітися до кімнатної температури і перемішують протягом 20год. До реакційної суміші додають воду (50мл), екстрагують EtOAc і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і кристалізація з EtOAc/гексанів дають не зовсім білу тверду речовину (0,87г, вихід 56%); МС m/e 408 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>BrFNO<sub>5</sub>

Розраховано: С 50,02; Н 2,72; Н 3,43

Виявлено: С 49,58; Н 2,59; Н 3,37

Стадія б) 2-[4-(Ацетилокси)-3-фторфеніл]-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-іл ацетат

Дихлорбіс(три-о-толілфосфін)паладій(II) (46мг, 0,06моль) додають у суміш 4-[5-(ацетилокси)-7-бром-1,3-бензоксазол-2-іл]-2-фторфеніл ацетату (0,8г, 1,98моль), трибутил(вініл)олова (0,9г, 2,8моль) і п-ксилолу (9мл). Реакційну суміш перемішують при 130°C протягом 5год., охолоджують до кімнатної температури, розводять простим етиловим ефіром (10мл) і обробляють активованим вугіллям. Суміш фільтрують через MgSO<sub>4</sub> і концентрують. Очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 5/1) дає білу тверду речовину (0,4г, вихід 56%, т.пл. 154-156°C); МС m/e 356 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>FNO<sub>5</sub>

Розраховано: С 64,23; Н 3,97; Н 3,94

Виявлено: С 63,94; Н 3,78; Н 3,76

Стадія с) 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Карбонат калію (55мг) додають у розчин 2-[4-(ацетилокси)-3-фторфеніл]-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-іл ацетату (0,14г, 0,39моль) і 1,4-

діоксану (3мл). Суміш перемішують при 90°C протягом 1 год., виливають у воду, підкислюють HCl (2н.) і екстрагують EtOAc. Органічні шари сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і кристалізація з EtOAc/гексанів дають білу тверду речовину (0,06г, вихід 46%, т.пл. 250-252°C); МС m/e 272 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>FNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 66,42; Н 3,72; N 5,16

Виявлено: С 66,32; Н 3,47; N 5,18

Приклад 25

2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 24, шлях а), з 7-бром-2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 274-275°C; МС m/e 272 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>FNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 66,42; Н 3,72; N 5,16

Виявлено: С 66,18; Н 3,47; N 4,97

Приклад 26

2-(2,3-Дифтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 24, шлях б), з 7-бром-2-(2,3-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу і одержують у вигляді не зовсім білої твердої речовини, т.пл. 276-278°C; МС m/e 290 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>F<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 62,29; Н 3,14; N 4,84

Виявлено: С 61,90; Н 3,05; N 4,52

Приклад 27

2-(4-Гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 24, шлях б), з 7-бром-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу і одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 249-250°C; МС m/e 254 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 70,99; Н 4,39; N 5,52

Виявлено: С 70,75; Н 4,34; N 5,46

Приклади 28 і 29

4-Бром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол (Пр. 28) і 4,6-Дибром-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол (Пр. 29)

N-Бромсукцинімід (0,49г, 2,77моль) додають у суміш 2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-олу (0,75г, 2,77моль) і ацетонітрилу (30мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 16 год., виливають у воду і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 2/1/1) дає (а) у вигляді білої твердої речовини (0,45г, т.пл. 226-228°C); МС m/e 349 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 51,45; Н 2,59; N 4,00

Виявлено: С 51,08; Н 2,40; N 3,90

і (б) у вигляді білої твердої речовини (0,18г, т.пл. 272-274°C); МС m/e 428 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>8</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 41,99; Н 1,88; N 3,26

Виявлено: С 42,25; Н 1,90; N 3,14

Приклад 30

7-(1,2-Диброметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 5-Метокси-2-(4-метоксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 24, шлях с), стадія б), з 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу і одержують у вигляді білої твердої речовини, МС m/e 282 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 72,58; Н 5,37; N 4,98

Виявлено: С 72,33; Н 5,26; N 4,72

Стадія б) 7-(1,2-Диброметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Трибромід бору (0,85мл, 8,95моль) додають по краплях у холодну (-78°C) суміш 5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазолу (0,31г, 1,12моль) і CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4мл). Суміші дозволяють нагрітися до кімнатної температури. Після перемішування протягом 18 годин при кімнатній температурі суміш повільно виливають у холодний (0°C) простий етиловий ефір (20мл). Метиловий спирт (10мл) потім повільно додають до нової суміші. Нову суміш промивають водою (три рази) і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 3/1) дають світло-жовту тверду речовину (0,27г, вихід 59%, т.пл. 175-177°C); МС m/e 412 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 43,62; Н 2,68; N 3,39

Виявлено: С 43,85; Н 2,44; N 3,33

Приклад 31

7-(1-Бромвініл)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

1,8-Дізабіцикло[5.4.0]ундец-7-ен (0,25г, 1,65моль) додають у розчин 7-(1,2-диброметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу (0,4г, 0,96моль) і ацетонітрилу (4мл). Реакційну суміш перемішують протягом 24 год., виливають у холодну (0°C) HCl (1н., 10мл) і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/гексани/ізопропіловий спирт 15/5/1) дають білу тверду речовину (185мг, вихід 58%, т.пл. 228-230°C); МС m/e 332 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 54,24; Н 3,03; N 4,22

Виявлено: С 54,27; Н 2,94; N 4,20

Приклад 32

7-(1-Бромвініл)-2-(2-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладах 29-30, з 7-бром-2-(2-фтор-4-метоксифеніл)-5-метокси-1,3-бензоксазолу і одержують як не зовсім білу тверду речовину, т.пл. 235-237°C; МС m/e 350 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>BrFNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 51,45; Н 2,59; N 4,00

Виявлено: С 51,63; Н 2,38; N 3,98

Приклад 33

7-(1-Бромвініл)-2-(2,3-Дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладах 29-30, з 7-

бром-2-(2,3-дифтор-4-метоксифеніл)-5-метокси-1,3-бензоксазолу і одержують як не зовсім білу тверду речовину, т.пл. 240-242°C; МС m/e 366 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>8</sub>BrF<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 48,94; Н 2,19; N 3,80

Виявлено: С 49,63; Н 2,33; N 3,61

Приклад 34

7-Аліл-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 24, шлях с, стадія b, з 7-бром-2-(3-фтор-4-метоксифеніл)-5-метокси-1,3-бензоксазолу, алілтрибутилолова і дихлорбіс(три-о-толілфосфін)паладію з подальшим деметилуванням відповідно до прикладу 20, стадія е. Бажаний продукт одержують у вигляді світло-рожевої твердої речовини, т.пл. 169-171°C; МС m/e 284 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>FNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 67,37; Н 4,24; N 4,91

Виявлено: С 67,37; Н 4,16; N 4,66

Приклад 35

7-Етиніл-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0) (52мг, 0,045моль) додають у суміш 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу (0,3г, 0,9моль), йодиду міді(І) (17,1мг, 0,09моль), етиніл(триметил)силану (0,2г, 2моль) і триетиламіну (12мл). Суміш перемішують при 110°C протягом 4 годин, виливають у водний хлорид амонію та екстрагують EtOAc/ТГФ (1/1). Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 6/1) дають не зовсім білу тверду речовину (0,27г, вихід 85%). Продукт розчиняють у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2мл), охолоджують до -78°C і додають по краплях трибромід бору (0,6мл). Суміші дозволяють нагрітися до кімнатної температури. Після перемішування протягом 18год. при кімнатній температурі суміш повільно виливають у холодний (0°C) простий етиловий ефір (10мл). Потім повільно додають у суміш метиловий спирт (3мл). Нову суміш промивають водою (три рази) і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 6/1) дають не зовсім білу тверду речовину (0,27г, вихід 85%). Продукт розчиняють у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2мл), охолоджують до -78°C і додають по краплях трибромід бору (0,6мл). Суміші дозволяють нагрітися до кімнатної температури. Після перемішування протягом 18год. при кімнатній температурі суміш повільно виливають у холодний (0°C) простий етиловий ефір (10мл). Потім повільно додають у суміш метиловий спирт (3мл). Нову суміш промивають водою (три рази) і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 3/1) дають жовту тверду речовину (86мг, вихід 38%, т.пл. 229-231°C); МС m/e 252 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 71,71; Н 3,61; N 5,58

Виявлено: С 71,39; Н 3,49; N 5,32

Приклад 36

2-(4-Гідроксифеніл)-7-пропіл-1,3-бензоксазол-5-ол

Тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0) (70мг, 0,06моль) додають у суміш 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу (0,4г, 1,2моль), бром(пропіл)цинку (0,5м у ТГФ, 3,6мл, 1,8моль) і ТГФ (4мл). Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 48год., виливають в HCl (1н.) і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 6/1) дають не зовсім білу тверду речовину (0,14г). Продукт розчиняють у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2мл), охолоджують до -78°C і додають по краплях трибромід бору (0,35мл). Суміші

дозволяють нагрітися до кімнатної температури. Після перемішування протягом 18год. при кімнатній температурі суміш повільно виливають у холодний (0°C) простий етиловий ефір (10мл). Потім повільно додають у суміш метиловий спирт (3мл). Нову суміш промивають водою (три рази) і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/EtOAc 4/1) дають білу тверду речовину (90мг, вихід 27%, т.пл. 110-112°C); МС m/e 270 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 71,36; Н 5,61; N 5,20

Виявлено: С 71,02; Н 5,58; N 4,94

Приклад 37

7-Бутил-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 35, з 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу і бром(бутил)цинку. Бажаний продукт одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 125-127°C; МС m/e 282 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 72,07; Н 6,05; N 4,94

Виявлено: С 72,78; Н 5,87; N 4,69

Приклад 38

7-Циклопентил-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 35, з 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу і бром(циклопентил)цинку. Бажаний продукт одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 220-222°C; МС m/e 296 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 73,20; Н 5,80; N 4,74

Виявлено: С 73,05; Н 5,74; N 4,59

Приклад 39

Етил-5-гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбоксилат

Стадія а) 7-бром-5-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-2-(4-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]феніл)-1,3-бензоксазол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 24, шлях а, стадія а, з 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу і трет-бутил(хлор)диметилсилану. Бажаний продукт одержують у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 90-91°C; МС m/e 534 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>BrNO<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>

Розраховано: С 56,16; Н 6,79; N 2,62

Виявлено: С 55,66; Н 6,86; N 2,68

Стадія b) Етил-5-гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбоксилат

н-Бутиллітій (2,5М, 0,3мл, 0,75моль) додають по краплях у холодний (0°C) розчин 7-бром-5-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]-2-(4-[[трет-бутил(диметил)силіл]окси]феніл)-1,3-бензоксазолу (0,4г, 0,75моль) і ТГФ (4мл). Суміші дозволяють нагрітися аж до 40°C і потім перемішують протягом 2год. [(Ціанокarbonіл)окси]етан (84мг) у ТГФ (1мл) додають у реакційну суміш і дозволяють їй нагрітися аж до 0°C і перемішують протягом 1год. Реакцію гасять водним хлоридом амонію, суміш екстрагують EtOAc і сушать над

MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ізопропіловий спирт 18/2/1) дають безбарвну олію (340мг). Продукт розчиняють у ТГФ (3,5мл) і обробляють фторидом тетрабутиламонію (1М у ТГФ, 1,4мл). Суміш перемішують протягом 30хв., виливають у HCl (1н.) і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (гексани/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ізопропіловий спирт 5/2/1) дають білу тверду речовину (119мг, вихід 53%, т.пл. 305-307°C), МС m/e 300 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>

Розраховано: C 64,21; H 4,38; N 4,68

Виявлено: C 64,04; H 4,43; N 4,40

Приклад 40

2-(4-Гідроксифеніл)-7-феніл-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 5-Метокси-2-(4-метоксифеніл)-7-феніл-1,3-бензоксазол

7-Бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол (200мг, 0,60моль) і тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0) (63мг, 0,03моль) розчиняють у толуолі (5мл) і перемішують протягом 10хв. при кімнатній температурі в атмосфері азоту. Додають бензолборонову кислоту (110мг, 0,90моль) з подальшим додаванням водного карбонату натрію (2М, 1,5мл) і етанолу (2мл). Суміш кип'яють зі зворотним холодильником протягом 12год., розводять водою і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (20%-40% EtOAc/простий петролейний ефір) дають вказану у заголовку сполуку як світло-рожеву тверду речовину, т.пл. 92°C, МС m/e 332 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: C 76,12; H 5,17; N 4,23

Виявлено: C 75,86; H 5,08; N 4,07

Стадія б) 2-(4-Гідроксифеніл)-7-феніл-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б) і одержують у вигляді пурпурної твердої речовини, т.пл. 255-258°C, МС m/e 302 (M-H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>×0,25H<sub>2</sub>O

Розраховано: C 74,14; H 4,42; N 4,55

Виявлено: C 73,81; H 4,40; N 4,35

Приклад 41

5-Гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбонітрил

Стадія а) 5-Метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбонітрил

Розчин 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу (200мг, 0,60моль) у безводному N,N-диметилформаміді (1,5мл) перемішують і нагрівають до кипіння з поверненням флегми в атмосфері сухого азоту з ціанідом міді(I) (80мг, 0,90моль) протягом 4год. Суміш охолоджують і виливають у надлишок водної етилендіамінтетраоцтової кислоти. Ізоляція сирого продукту з (30% EtOAc/петролейний ефір) дає нітрил (164мг, вихід 98%) у вигляді жовтувато-коричневих голчастих кристалів, т.пл. 180-183°C, МС m/e 281 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>×0,2H<sub>2</sub>O

Розраховано: C 66,84; H 4,48; N 9,74

Виявлено: C 66,63; H 4,33; N 9,60

Стадія б) 5-Гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбонітрил

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б), і одержують у вигляді світло-рожевої твердої речовини, т.пл. 297-303°C, МС m/e 253 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>×0,5H<sub>2</sub>O

Розраховано: C 64,37; H 3,47; N 10,72

Виявлено: C 64,44; H 3,49; N 9,92

Приклад 42

5-Гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбоксамід

Вказану у заголовку сполуку ізолюють як малий продукт з реакційної суміші прикладу 40, стадія б у вигляді світлої жовтувато-коричневої твердої речовини, т.пл. 325°C, МС m/e 271 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>×0,5H<sub>2</sub>O

Розраховано: C 60,22; H 3,97; N 10,03

Виявлено: C 59,71; H 3,91; N 9,84

Приклад 43

2-(4-Гідроксифеніл)-7-метокси-1,3-бензоксазол-5-ол

Суміш 7-бром-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу (100мг, 0,33моль) і броміду міді(І) (56мг, 0,39моль) у безводному N,N-диметилформаміді (1,5мл) перемішують зі свіжо приготованим метоксидом натрію (15мас.% у метанолі, 1 мл) і нагрівають до 120°C протягом 4год. Суміш охолоджують і розводять HCl (1н., 5мл). Ізоляція сирого продукту з етилацетатом з подальшою флеш-хроматографією (40%-50% EtOAc/петролейний ефір) дає вказану у заголовку сполуку у вигляді не зовсім білої твердої речовини (50мг, вихід 60%, т.пл. 225-228°C), МС m/e 258 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>×0,75H<sub>2</sub>O

Розраховано: C 62,11; H 4,65; N 5,17

Виявлено: C 62,53; H 4,73; N 5,02

Приклад 44

7-Етил-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 7-Етил-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол

n-Бутиллітій (2,5н., 0,43мл, 1,08моль) додають по краплях у холодну (-78°C) суміш 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу (300мг, 0,90моль) і ТГФ (2мл). Суміш перемішують протягом 0,5год. У суміш додають по краплях йодетан (0,14мл, 1,8моль). Реакційній суміші дозволяють нагрітися до кімнатної температури і перемішують протягом 2год. Реакцію гасять водним хлоридом амонію, суміш виливають у воду і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти промивають насиченим розчином солі і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і флеш-хроматографія (20% EtOAc/петролейний ефір) дають (231мг, вихід 91%) продукт у вигляді світло-коричневої твердої речовини, т.пл. 85°C, МС m/e 284 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>×0,2H<sub>2</sub>O

Розраховано: C 70,28; H 6,17; N 4,94

Виявлено: C 70,12; H 5,74; N 4,82

Стадія б) 7-Етил-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 20, стадія е, (шлях б), і одержують у вигляді світло-коричневої твердої

речовини (вихід 98%), т.пл. 110-115°C, МС m/e 256 (M+H)<sup>+</sup>.

Приклад 45

7-Етил-2-(2-етил-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 7-Етил-5-метокси-2-(2-етил-4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 43, стадія а, використовуючи два еквіваленти н-бутиллітію, і сирий продукт використовують безпосередньо на наступній стадії.

Стадія б) 7-Етил-2-(2-етил-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують з 7-етил-5-метокси-2-(2-етил-4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу, відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б) і одержують у вигляді сірої твердої речовини (вихід 87%), МС m/e 284 (M+H)<sup>+</sup>.

Приклад 46

5-Гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбальдегід

Стадія а) 5-Метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбальдегід

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 43, стадія а, використовуючи N-метилформанілід як електрофіл, щоб одержати світло-оранжеву тверду речовину (94%, т.пл. 153-155°C), МС m/e 284 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 67,84; Н 4,63; N 4,94

Виявлено: С 67,58; Н 4,53; N 4,75

Стадія б) 5-Гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбальдегід

Вказану у заголовку сполуку одержують з 5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбальдегіду відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б) і одержують як темно-жовту тверду речовину (вихід 99%, т.пл. 273-275°C), МС m/e 256 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>×0,25H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 64,74; Н 3,69; N 5,39

Виявлено: С 64,32; Н 3,59; N 5,18

Приклад 47

7-(Гідроксиметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 5-Метокси-7-(гідроксиметил)-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол

Боргідрид натрію (66,8мг, 1,76моль) додають у розчин 5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-карбальдегіду (250мг, 0,88моль) у безводному MeOH (8мл) при 0°C. Реакційну суміш перемішують протягом 30хв. і потім випарюють у вакуумі. Залишок розчиняють у простому діетиловому ефірі і промивають водою і насиченим розчином солі, сушать MgSO<sub>4</sub> і фільтрують. Випарювання і флеш-хроматографія (50% EtOAc/петролейний ефір) дають (210мг, 83%) продукт, який використовують безпосередньо у наступній реакції.

Стадія б) 7-(Гідроксиметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують з 5-метокси-7-(гідроксиметил)-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б) і одержують у вигляді світло-

коричневої твердої речовини, т.пл. 282°C, МС m/e 258 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>×0,5H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 63,16; Н 4,54; N 5,26

Виявлено: С 63,33; Н 4,36; N 5,04

Приклад 48

7-(Бромметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б) з 5-метокси-7-(гідроксиметил)-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу з тривалим перемішуванням у присутності триброміду бору і одержують у вигляді світло-коричневої твердої речовини, т.пл. 250-260°C, МС m/e 321 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 52,52; Н 3,15; N 4,38

Виявлено: С 52,26; Н 3,17; N 4,07

Приклад 49

[5-Гідрокси-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-іл]ацетонітрил

До розчину 7-(бромметил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу (122мг, 0,40моль) в N,N-диметилформаміді (1,5мл) додають простий 18-краун-6-ефір (202мг, 0,80моль) і ціанід калію (131мг, 2моль). Реакційну суміш перемішують протягом 2год. і потім виливають у воду і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти промивають насиченим розчином солі і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і флеш-хроматографія (50%-60% EtOAc/петролейний ефір) дають (80мг, вихід 75%) продукт у вигляді сірої твердої речовини, т.пл. 170-180°C, МС m/e 265 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>×1,5H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 61,43; Н 4,47; N 9,55

Виявлено: С 61,41; Н 4,21; N 9,19

Приклад 50

7-(1-Гідрокси-1-метилетил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол]

Стадія а) 2-[5-Метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-іл]пропан-2-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 43, стадія а, з 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу, використовуючи ацетон як електрофіл, щоб одержати білу тверду речовину (вихід 78%, т.пл. 149°C), МС m/e 314 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 68,99; Н 6,11; N 4,47

Виявлено: С 68,78; Н 6,13; N 4,35

Стадія б) 7-(1-Гідрокси-1-метилетил)-2-(4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол]

Вказану у заголовку сполуку одержують з 2-[5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазол-7-іл]пропан-2-олу відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б) і одержують у вигляді темно-коричневої твердої речовини (вихід 90%, т.пл. 180-185°C), МС m/e 286 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>×0,5H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 65,30; Н 5,48; N 4,76

Виявлено: С 65,03; Н 5,20; N 4,72

Приклад 51

2-(4-Гідроксифеніл)-7-ізопропеніл-1,3-бензоксазол-5-ол

Гідрохлорид піридину (400мг) нагрівають до 190°C. До розплаву додають 2-[5-метокси-2-(4-

метоксибеніл)-1,3-бензоксазол-7-іл]пропан-2-ол (114мг, 0,36моль) і реакційну суміш перемішують протягом 2год. Суміш охолоджують до кімнатної температури, розчиняють у воді та екстрагують EtOAc. Органічні шари об'єднують і промивають HCl (1н.), водою, потім насиченим розчином солі і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (50%-60% EtOAc/петролейний ефір) дають (40мг, вихід 41%) продукт у вигляді світлої червоно-коричневої твердої речовини, т.пл. 225-228°C, МС m/e 268 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>×0,5H<sub>2</sub>O  
Розраховано: С 69,56; Н 5,11; N 5,06

Виявлено: С 69,46; Н 5,22; N 4,56

Приклад 52

2-(4-Гідроксибеніл)-7-ізопропіл-1,3-бензоксазол-5-ол

2-(4-Гідроксибеніл)-7-ізопропіл-1,3-бензоксазол-5-ол (64мг, 0,24моль) розчиняють у суміші EtOAc (5мл) і абсолютного етанолу (5мл) і поміщають в інертну атмосферу з аргонном. До цієї суміші додають 10% Pd-C (25мг). Розчин гідрують в апараті Parr при 25фунтах на кв. дюйм протягом 3год. Розчин фільтрують через целіт і промивають етанолом. Фільтрат концентрують і залишок очищають флеш-хроматографією (50% EtOAc/петролейний ефір), щоб одержати (58мг, вихід 90%) продукт у вигляді жовтувато-коричневої твердої речовини, т.пл. 200°C, МС m/e 270 (M+H)<sup>+</sup>.

Приклад 53

7-Бром-2-(4-гідрокси-3-(трифторметил)беніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 2-Бром-4-метокси-6-[[4-метокси-3-(трифторметил)бензоїл]аміно]беніл 4-метокси-3-(трифторметил)бензоат

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 20, стадія с, з 2-аміно-6-бром-4-метоксифенолу і 4-метокси-3-трифторметилбензоїл-хлориду. Продукт одержують як не зовсім білу тверду речовину, т.пл. 205-208°C; МС m/e 622 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>25</sub>H<sub>18</sub>BrF<sub>6</sub>NO<sub>6</sub>

Розраховано: С 48,25; Н 2,92; N 2,25

Виявлено: С 48,47; Н 2,76; N 2,16

Стадія б) 7-Бром-5-метокси-2-(4-метокси-3-(трифторметил)беніл)-1,3-бензоксазол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 20, стадія d (шлях а), з 2-бром-4-метокси-6-[[4-метокси-3-(трифторметил)бензоїл]аміно]беніл 4-метокси-3-(трифторметил)бензоату і моногідрату п-толуолсульфонової кислоти. Продукт одержують як не зовсім білу тверду речовину, т.пл. 183-185°C; МС m/e 402 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>BrF<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 47,79; Н 2,76; N 3,48

Виявлено: С 47,60; Н 2,50; N 3,37

Стадія с) 7-Бром-2-(4-гідрокси-3-(трифторметил)беніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 20, стадія е (шлях б), з 7-бром-5-метокси-2-(4-метокси-3-(трифторметил)беніл)-1,3-бензоксазолу і одержують як світло-жовту тверду речовину (вихід 50%, т.пл. 200-210°C); МС m/e 372 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>7</sub>BrF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>×0,5 H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 43,89; Н 2,10; N 3,65

Виявлено: С 43,59; Н 2,04; N 3,6

Приклад 54

7-(2-Фурил)-2-(4-гідроксибеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 7-(2-Фурил)-5-метокси-2-(4-метоксибеніл)-1,3-бензоксазол

7-Бром-5-метокси-2-(4-метоксибеніл)-1,3-бензоксазол (300мг, 0,90моль) і дихлорбіс(три-о-толілфосфін)паладій(II) (71мг, 0,09моль) розчиняють у п-ксиліолі (3мл) і перемішують протягом 10хв. при кімнатній температурі в атмосфері азоту. 2-(трибутилстаніл)фуран (449мг, 1,26моль) додають і суміш кип'ять зворотним холодильником протягом 4 годин. Суміш охолоджують до кімнатної температури, розводять насиченим розчином хлориду амонію та екстрагують EtOAc. Органічні екстракти промивають водою, потім насиченим розчином солі та сушать над MgSO<sub>4</sub> і концентрують. Очищення флеш-хроматографією (20%-30% EtOAc/петролейний ефір) дає вказану у заголовку сполуку у вигляді білої твердої речовини (вихід 99%, т.пл. 120-121°C), МС m/e 322 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 71,02; Н 4,71; N 4,36

Виявлено: С 70,23; Н 4,7; N 4,19

Стадія б) 7-(2-Фурил)-2-(4-гідроксибеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 50 і одержують у вигляді світло-рожевої твердої речовини (вихід 64%, т.пл. 283-287°C), МС m/e 294 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 69,62; Н 3,78; N 4,78

Виявлено: С 69,11; Н 3,6; N 4,64

Приклад 55

2-(3-Фтор-4-гідроксибеніл)-7-(2-фурил)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 2-(3-Фтор-4-метоксибеніл)-7-(2-фурил)-5-метокси-1,3-бензоксазол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 53, стадія а, з 7-бром-5-метокси-2-(4-метокси-3-(трифторметил)беніл)-1,3-бензоксазолу і одержують у вигляді бурштиново-жовтих кристалів (вихід 73%, т.пл. 155°C), МС m/e 340 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>FO<sub>4</sub>

Розраховано: С 67,25; Н 4,16; N 4,13

Виявлено: С 66,88; Н 3,97; N 4,04

Стадія б) 2-(3-Фтор-4-гідроксибеніл)-7-(2-фурил)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 50 з 2-(3-фтор-4-метоксибеніл)-7-(2-фурил)-5-метокси-1,3-бензоксазолу і одержують у вигляді сірої твердої речовини (вихід 81%, т.пл. 245-250°C), МС m/e 312(M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>FO<sub>4</sub>×0,7 C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O

Розраховано: С 65,04; Н 4,37; N 3,79

Виявлено: С 64,84; Н 4,29; N 3,70

Приклад 56

2-(4-Гідроксибеніл)-7-тієн-2-іл-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 5-Метокси-2-(4-метоксибеніл)-7-тієн-2-іл-1,3-бензоксазол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 53, стадія а, з 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу і 2-(трибутилстаніл)тіофену. Продукт одержують як білу тверду речовину (вихід 95%, т.пл. 95-100°C); МС m/e 338 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадія б) 2-(4-Гідроксифеніл)-7-тієн-2-іл-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 50 з 5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-7-тієн-2-іл)-1,3-бензоксазолу і одержують як сіру тверду речовину (вихід 80%, т.пл. 278-280°C); МС m/e 310 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>S×0,25 H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 65,06; Н 3,69; N 4,46

Виявлено: С 64,93; Н 3,84; N 4,21

Приклад 57

2-(4-Гідроксифеніл)-7-(1,3-тіазол-2-іл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Стадія а) 5-Метокси-2-(4-метоксифеніл)-7-(1,3-тіазол-2-іл)-1,3-бензоксазол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 53, стадія а, з 7-бром-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-1,3-бензоксазолу і 2-(трибутилстаніл)тіазолу. Продукт одержують як не зовсім білу тверду речовину (вихід 93%, т.пл. 132-136°C); МС m/e 339 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S

Розраховано: С 63,89; Н 4,17; N 8,28

Виявлено: С 63,53; Н 3,94; N 8,15

Стадія б) 2-(4-Гідроксифеніл)-7-(1,3-тіазол-2-іл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 50 з 5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-7-(1,3-тіазол-2-іл)-1,3-бензоксазолу і одержують як жовту тверду речовину (вихід 55%, т.пл. 245-255°C); МС m/e 311 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S×1,5 H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 56,97; Н 3,88; N 8,30

Виявлено: С 57,24; Н 3,95; N 7,50

Приклад 58

2-(3-Фтор-4-гідроксифеніл)-5-гідрокси-1,3-бензоксазол-7-карбонітрил

Вказану у заголовку сполуку одержують відповідно до процедури прикладу 35 з 7-бром-2-(3-фтор-4-метоксифеніл)-5-метокси-1,3-бензоксазолу та ціаніду цинку. Продукт одержують як білу тверду речовину, т.пл. 308-310°C; МС m/e 269 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>7</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>×1,5 H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 61,01; Н 2,77; N 10,16

Виявлено: С 60,68; Н 2,46; N 9,77

Приклади 59 і 60

4-Бром-2-(4-гідроксифеніл)-7-метокси-1,3-бензоксазол-5-ол (Пр.59)

4,6-Дибром-2-(4-гідроксифеніл)-7-метокси-1,3-бензоксазол-5-ол (Пр.60)

Вказані у заголовку сполуки одержують відповідно до процедури прикладу 28 з 2-(4-гідроксифеніл)-7-метокси-1,3-бензоксазол-5-олу і N-бромсукциніміду. Продукт (а) одержують як білу тверду речовину, т.пл. 246-248°C; МС m/e 336 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>BrNO<sub>4</sub>×0,1H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 49,49; Н 3,08; N 4,12

Виявлено: С 49,28; Н 2,89; N 3,87

Продукт (b) одержують як білу тверду речовину, т.пл. 260-262°C; МС m/e 414 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>4</sub>

Розраховано: С 40,52; Н 2,19; N 3,37

Виявлено: С 40,21; Н 2,00; N 3,3

Приклад 61

7-Бром-2-(3,5-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 21, з 3,5-дифтор-4-метоксибензойної кислоти і 2-аміно-6-бром-4-метоксифенолу і одержують як білу тверду речовину, т.пл. 270-272°C; МС m/e 340 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>13</sub>H<sub>6</sub>BrF<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>

Розраховано: С 45,64; Н 1,77; N 4,09

Виявлено: С 45,81; Н 1,73; N 3,89

Приклад 62

2-(3,5-Дифтор-4-гідроксифеніл)-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 24, шлях b, з 7-бром-2-(3,5-дифтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-олу і одержують як білу тверду речовину, т.пл. 160-262°C; МС m/e 288 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>F<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>×0,1H<sub>2</sub>O

Розраховано: С 61,52; Н 3,23; N 4,78

Виявлено: С 61,53; Н 3,10; N 4,72

Приклад 63

7-Бром-2-(4-гідрокси-2-метилфеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Вказану у заголовку сполуку одержують по суті таким же чином, як описано у прикладі 21, з 4-метокси-2-метилбензойної кислоти і 2-аміно-6-бром-4-метоксифенолу і одержують як світло-пурпурну тверду речовину, т.пл. 120-135°C; МС m/e 320 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>BrNO<sub>3</sub>

Розраховано: С 52,52; Н 3,15; N 4,38

Виявлено: С 52,24; Н 2,97; N 4,15

Приклад 64

2-(3-Фтор-4-гідроксифеніл)-7-(1-фторвініл)-1,3-бензоксазол-5-ол

Гідрофторид піридину (1,14мл) додають по краплях у холодний (0°C) розчин 2-[4-(ацетилокси)-3-фторфеніл]-7-вініл-1,3-бензоксазол-5-іл-ацетату (0,25г, 0,7моль) у сульфолані (3мл). Реакційну суміш перемішують протягом 5хв. і потім 1,3-дибром-5,5-диметилімідазолідин-2,4-діон (120мг) додають однією порцією. Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 24год., розводять HCl (1н.) і екстрагують EtOAc. Органічний шар сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ізопропіловий спирт 0,3%) дають 7-(2-бром-1-фторетил)-2-(3-фтор-4-гідроксифеніл)-1,3-бензоксазол-5-ол у вигляді білої твердої речовини (0,25г, т.пл. 185-186°C). Продукт забирають в ацетонітрил (2мл) і додають 1,8-діазабшикло[5.4.0]ундец-7-ен (150мг). Реакційну суміш перемішують протягом 24год., виливають у холодну (0°C) HCl (1н., 10мл) і екстрагують EtOAc. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>. Випарювання і очищення флеш-хроматографією (20% EtOAc/гексани) дають білу тверду речовину (160 г, т.пл. 213-214°C); МС m/e 290 (M+H)<sup>+</sup>.

Аналіз для: C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>BrF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>×0,3 H<sub>2</sub>O

**73**

Розраховано: С 61,15; Н 3,28; N4,75

**83620**

**74**

Виявлено: С 60,84; Н 3,41; N 4,57