

Назаров Андрей Константинович

«Синтез 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрогестерона (мецигестона), его метаболитов и разработка лекарственной формы мецигестона с повышенной биологической доступностью»

Шифр специальности: 02.00.10 – биоорганическая химия и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Химические науки

Шифр диссертационного совета Д 002 222 01

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

119991, Москва, Ленинский проспект, 47

Тел.:(499) 137-13-79

E-mail: sci-secr@ioc.ac.ru

Дата размещения полного текста диссертации на сайте Института
<http://zioc.ru/>

24 ноября 2017 года

Дата приема к защите

05 декабря 2017 года

Дата размещения автореферата на сайте ВАК vak2.ed.gov.ru

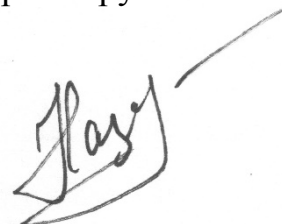
12 декабря 2017 года

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ им. Н. Д. ЗЕЛИНСКОГО
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИОХ РАН)

Экз. № ____

На правах рукописи

НАЗАРОВ
Андрей Константинович



СИНТЕЗ 6 α -МЕТИЛ-16 α ,17 α -ЦИКЛОГЕКСАНОПРОГЕСТЕРОНА
(МЕЦИГЕСТОНА), ЕГО МЕТАБОЛИТОВ И РАЗРАБОТКА
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ МЕЦИГЕСТОНА С ПОВЫШЕННОЙ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДОСТУПНОСТЬЮ

02.00.10 – биоорганическая химия
14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2017

Работа выполнена в лаборатории химии стероидных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ: **Левина Инна Соломоновна** – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории химии стероидных соединений № 22 Института органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ: **Андрей Федорович Миронов** – доктор химических наук, профессор, профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова Московского технологического университета.

Сарманаев Салават Хамитович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой токсикологии и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства».

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт нефтехимии и катализа Российской академии наук.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук и на официальном сайте Института <http://zioc.ru>

Защита диссертации состоится «14» февраля 2018 года в 12:30 на заседании диссертационного совета Д 002.222.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук по адресу: 119991, г. Москва, ул. Ленинский проспект, д. 47.

Автореферат разослан «___» декабря 2017 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 002.222.01

доктор химических наук, профессор РАН

Дильман А.Д.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Стероидные гормоны являются одним из основных регуляторов жизнедеятельности животных и человека. Синтетические стероидные соединения, получаемые, в основном, модификациями природного стероидного скелета, проявляют в организме разнообразные физиологические свойства. Такой подход используется для получения большого ряда высокоэффективных соединений, широко используемых в медицине в гормональной контрацепции, заместительной гормональной и противоопухолевой терапии. Среди этих соединений синтетические прогестины занимают немаловажное место. Для лечения ряда гинекологических заболеваний целесообразным является применение лекарственных средств, способных восстанавливать нормальный гормональный статус женщины и ингибировать неконтролируемый рост раковых клеток. В последние годы при лечении указанных патологий достаточно надежными и эффективными зарекомендовали себя селективные модуляторы рецептора прогестерона. Одними из таких модуляторов являются производные прогестерона с дополнительным карбоциклом D' в положениях 16 и 17 стероидного скелета (прегна-D'-пентараны), созданные ранее в лаборатории химии стероидных соединений Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук. Оказалось, что наиболее перспективным из этих стероидов является 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен-3,20-дион (мецигестон). Он обладает прогестагенной активностью, превышающей активность прогестерона и его аналогов, и на 100% сохраняет беременность у овариэктомированных животных. При этом данный стероид не проявляет ни андрогенной, ни анаболической, ни эстрогенной активности. Препарат не токсичен даже в дозах, превышающих в 50 раз эффективную терапевтическую дозу; не обладает эмбриотоксическим, мутагенным и тератогенным действием; не влияет на морфологическую картину и биохимические показатели крови. Другими, не менее важными преимуществами мецигестона являются эффективный терапевтический эффект при гораздо более низких дозах, чем, например, у применяемого в настоящее время в клинической практике препарата дюфастон (дидрогестерон), и особенности его структуры, не позволяющей ему метаболизироваться в 17-кетостероиды. Мецигестон является кандидатом для клинического использования в гормональной терапии в целях контрацепции.

Однако для применения мецигестона в клинической практике, прежде всего необходима разработка метода синтеза, способного стать основой производства данного препарата на фармацевтических предприятиях. Не менее важным является исследование его метаболизма и фармакокинетических характеристик. В этой связи синтез возможных метаболитов-стандартов мецигестона для изучения биотрансформации выступает приоритетной частью доклинических исследований. И, наконец, завершающим этапом является создание лекарственной формы с высокой биологической доступностью. Дело в том, что

большинство стероидных препаратов являются гидрофобными соединениями, что весьма затрудняет их абсорбцию в желудочно-кишечном тракте, и в конечном итоге, отрицательно сказывается на их эффективности и безопасности. Низкие показатели биодоступности подразумевают назначение высоких доз, а это, как правило, связано с возникновением побочных эффектов, обусловленных, в частности, накоплением потенциально опасных метаболитов.

Таким образом, комплексное исследование, включающее разработку нового метода синтеза мецигестона и его метаболитов, создание на его основе инновационных лекарственных форм с повышенной биодоступностью, является актуальным и имеет важное практическое значение для различных отраслей фармакологии и медицины.

Целью настоящего исследования является разработка нового метода синтеза мецигестона, синтез его стандартов-метаболитов и создание пероральной лекарственной формы мецигестона с повышенной биологической доступностью.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Разработать альтернативный метод синтеза мецигестона для упрощения технологии процесса, возможности масштабирования и увеличения выхода конечного продукта.

2. Разработать методы синтеза и синтезировать возможные метаболиты мецигестона как стандарты для подтверждения основных путей его биотрансформации.

3. Разработать методики качественного и количественного определения мецигестона и его метаболитов в биологических материалах методами ВЭЖХ-МС/МС.

4. Разработать методы получения пероральных форм мецигестона и подтвердить их эффективность на основе сравнительных фармакокинетических исследований.

Научная новизна проведенных исследований заключается в том, что впервые:

- разработан альтернативный метод синтеза мецигестона, упрощающий технологический процесс и позволяющий повысить выход конечного продукта;

- разработаны методы синтеза и получены в количествах, достаточных для доклинических исследований, 11 новых химических соединений – метаболитов мецигестона и его 6-дезметильного аналога;

- разработаны методики качественного и количественного определения мецигестона и его метаболитов в биологических пробах методами ВЭЖХ-МС/МС;

- показано, что пентациклические стероиды могут биотрансформироваться аналогично природному прогестерону;

- разработаны технологии изготовления новых лекарственных форм мецигестона с повышенной биодоступностью для перорального применения, а

именно: стабильных полимерных микрокапсул, микронизированной формы препарата и самоэмульгирующейся системы.

Теоретическая и практическая значимость работы. На основании проведенных исследований разработаны:

- альтернативный метод синтеза мецигестона;
- методы синтеза метаболитов мецигестона и его 6-дезметильного аналога;
- методика определения целевых соединений и их метаболитов методом ВЭЖХ-МС/МС;
- состав и технология получения микрокапсулированной формы мецигестона;
- состав и технология получения самоэмульгирующейся системы, в состав которой входит мецигестон;
- технология получения микронизированной формы мецигестона.

Разработанные на основании результатов исследований лабораторные регламенты для производства трех перечисленных выше видов конечной продукции использованы при создании аналогичных лекарственных форм в масштабах лабораторного производства ЗАО «Изваринофарма» для наработки опытной партии продукции с дальнейшей целью их внедрения в промышленное производство.

В 2017-2020 годах ЗАО «Изваринофарма» планирует проведение доклинических исследований эффективности и безопасности лекарственных средств на основе мецигестона с использованием разработанных методов количественного и качественного анализа мецигестона в биологических жидкостях.

Результаты фармакокинетического исследования могут быть использованы при выборе терапевтических доз и режимов лечения в дальнейших клинических исследованиях новых лекарственных форм мецигестона.

Положения, выносимые на защиту:

1. Альтернативный метод синтеза мецигестона, упрощающий технологический процесс и позволяющий получать целевой продукт с высоким выходом.
2. Метод синтеза метаболитов мецигестона и его 6-дезметильного аналога.
3. Методики пробоподготовки биопроб; методики качественного и количественного определения мецигестона и его метаболитов в биологических пробах методами ВЭЖХ-МС/МС.
4. Методы получения трех новых лекарственных форм мецигестона, представляющих собой самоэмульгирующуюся систему, инкапсулированную и микронизированную формы.

Апробация результатов. Основные результаты были доложены на следующих международных и российских научных конференциях: 1-я Международная научно-практическая конференция «Современная химикотоксикологическая экспертиза» (Москва, 2013); Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы химической науки и фар-

мации» (Чебоксары, 2014); Междисциплинарный симпозиум по медицинской, органической и биологической химии «МедОргБиоХим-2014» (Крым, Новый Свет, 2014); XX Международная научно-практическая конференция «Фундаментальные и прикладные исследования: проблемы и результаты» (Новосибирск, 2015); XXV Международная научно-практическая конференция «Приоритетные научные направления: от теории к практике» (Новосибирск, 2016).

Основные научные результаты диссертации опубликованы в 2-х статьях – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, а также в 1 патенте РФ.

Личный вклад автора. Основные научные направления, цель и содержание диссертационной работы сформулированы автором на основе выполненных лично экспериментальных исследований. Основной объем теоретических и экспериментальных исследований, изложенных в диссертации, экспериментальная апробация, оформление результатов в виде публикаций и научных докладов проведены в период с 2013 г. по 2017 г. Автор принимал участие в проведении всех исследований по теме диссертации, а также самостоятельно анализировал и обобщал полученные результаты.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, словаря терминов, списка использованных источников литературы и приложения. Материалы изложены на 151 странице (без учета приложения) и иллюстрированы 14 таблицами, 14 схемами и 27 рисунками. Библиография содержит 174 источника. Приложение включает 88 рисунков на 52 страницах. Первая глава представляет собой литературный обзор, посвященный синтетическим прогестинам, селективным модуляторам рецептора прогестерона, методам их синтеза и путям повышения биологической доступности лекарственных препаратов. Во второй главе обсуждаются результаты диссертационного исследования. В последней главе приводится описание экспериментов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

По результатам проведенного анализа литературных данных было установлено, что в последние годы для лечения ряда гинекологических заболеваний активно применяются лекарственные средства, способные как восстанавливать нормальный гормональный статус женщины, так и ингибировать неконтролируемый рост раковых клеток. Достаточно надежными и эффективными зарекомендовали себя модуляторы рецепторов прогестерона. Одними из таких модуляторов являются производные прогестерона с дополнительным карбоциклом D' в 16 α ,17 α -положениях стероидного скелета, обладающие высокой биологической активностью.

Однако в отношении данных соединений остается открытым вопрос постановки адекватного метода синтеза, способного стать основой производства данного препарата на фармацевтических предприятиях. К тому

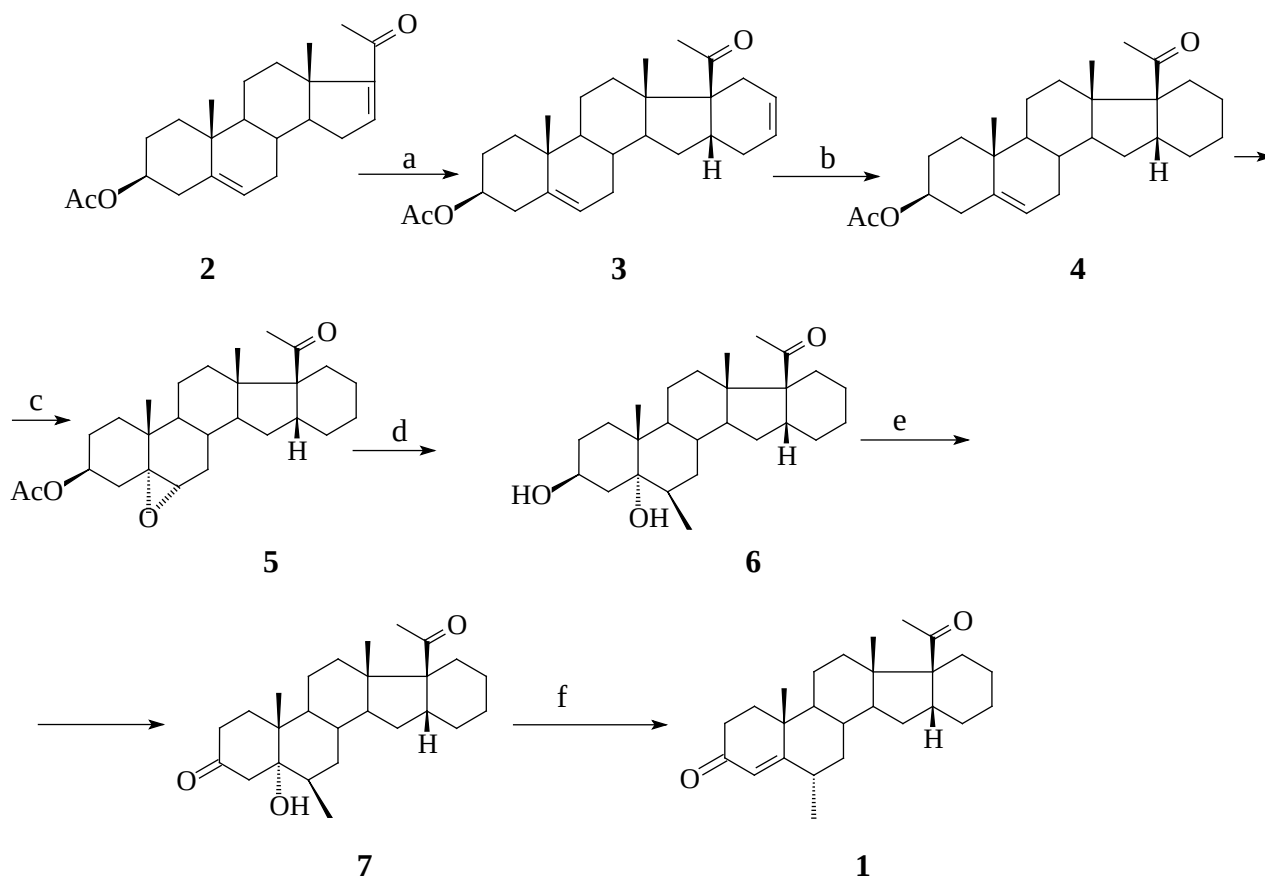
же на сегодняшний день не были проведены исследования метаболических превращений данного класса соединений и не разработаны пероральные лекарственные формы с повышенной биодоступностью. Все перечисленные выше проблемы остаются до сих пор не изученными в этом отношении и для прегна-D'-пентарана – мецигестона, разработанного в лаборатории стероидных соединений ИОХ РАН. Поэтому исследования, ведущиеся по данным направлениям, являются актуальными не только с научной точки зрения, но и с точки зрения социально значимых вопросов здравоохранения, требующих решения от сообщества ученых.

Таким образом, комплексное исследование, включающее разработку нового метода синтеза мецигестона и его метаболитов, как стандартов в изучении биотрансформации, создание на его основе инновационных лекарственных форм с повышенной биодоступностью, является актуальным и имеет важное практическое значение для различных отраслей фармакологии и медицины.

Задачами синтетической части работы явились 1) поиск и разработка оптимального альтернативного метода синтеза субстанции мецигестона через ключевой продукт - 6-метилено-16 α ,17 α -циклогексано-прегн-4-ен-3,20-дион - и упрощение технологии получения и высокого выхода целевого соединения, 2) синтез возможных метаболитов мецигестона для анализа его фармакокинетики.

Ключевой стадией в создании прегнановых стероидов с дополнительным шестичленным кольцом D' в 16 α ,17 α -положениях стероидного скелета (D'-пентаранов) служит открытая в ИОХ РАН способность 16-дегидро-20-кетона **2** вступать в реакцию Дильса-Альдера с диенами в качестве диенофилов. На Схеме 1 представлен метод синтеза субстанции мецигестона **1** через ключевой 5 α ,6 α -эпоксид **5**. Катализируемая кислотами Льюиса конденсация ацетата 16-дегидропрегненолона **2** с 1,3-бутадиеном приводила к аддукту **3**. Его избирательное гидрирование давало аддукт **4**. Для введения необходимой 6-метильной группы в молекулу этого пентарана ранее была использована схема через 5 α ,6 α -эпоксид **5**, раскрытие которого иодистым метилмагнием происходило без затрагивания стерически затрудненной 20-карбонильной группы боковой цепи стероида и приводило к соответствующему 5 α -гидрокси-6 β -метилстероиду **6**. Последующее окисление 3-гидроксильной группы давало 3-кетопродукт **7**, дегидратация в последнем 5 α -гидроксигруппы с одновременной изомеризацией 6 β -метильной группы в термодинамически более устойчивый экваториальный 6 α -эпимер давала желаемый мецигестон **1** (схема 1). Общий выход из расчета на исходный ацетат 16-дегидропрегненолона **2** составил 25%.

Схема 1.



Реагенты и условия: а) $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$, к-та Льюиса, н.у.; б) H_2 -Pd/CaCO₃; с) ArCO_3H ; д) MeMgJ ; е) CrO_3 - H_2SO_4 ; ф) HCl -EtOH

Однако указанный метод имеет ряд недостатков. Прежде всего, инертность 20-карбонильной группы в реакции Гриньяра ключевого эпоксида **5** хотя и позволяла селективно проводить эту реакцию без предварительной защиты 20-карбонила, тем не менее при укрупнении синтеза мецигестона на стадии выделения 5α -гидрокси- 6β -метилстероида **6** из реакции Гриньяра наблюдаются побочные продукты, затрудняющие очистку. Помимо этого, само эпексидирование 5,6-двойной связи в аддукте **4** перкислотами протекает не стереоселективно, приводя к смеси $5\alpha,6\alpha$ - и $5\beta,6\beta$ -эпексидов, из которой целевой $5\alpha,6\alpha$ -эпексипродукт **5** выделяют многократной дробной кристаллизацией. И, наконец, использование на этой стадии в качестве эпексидирующего агента перкислот не отвечает требованиям безопасности при масштабировании данного метода получения мецигестона.

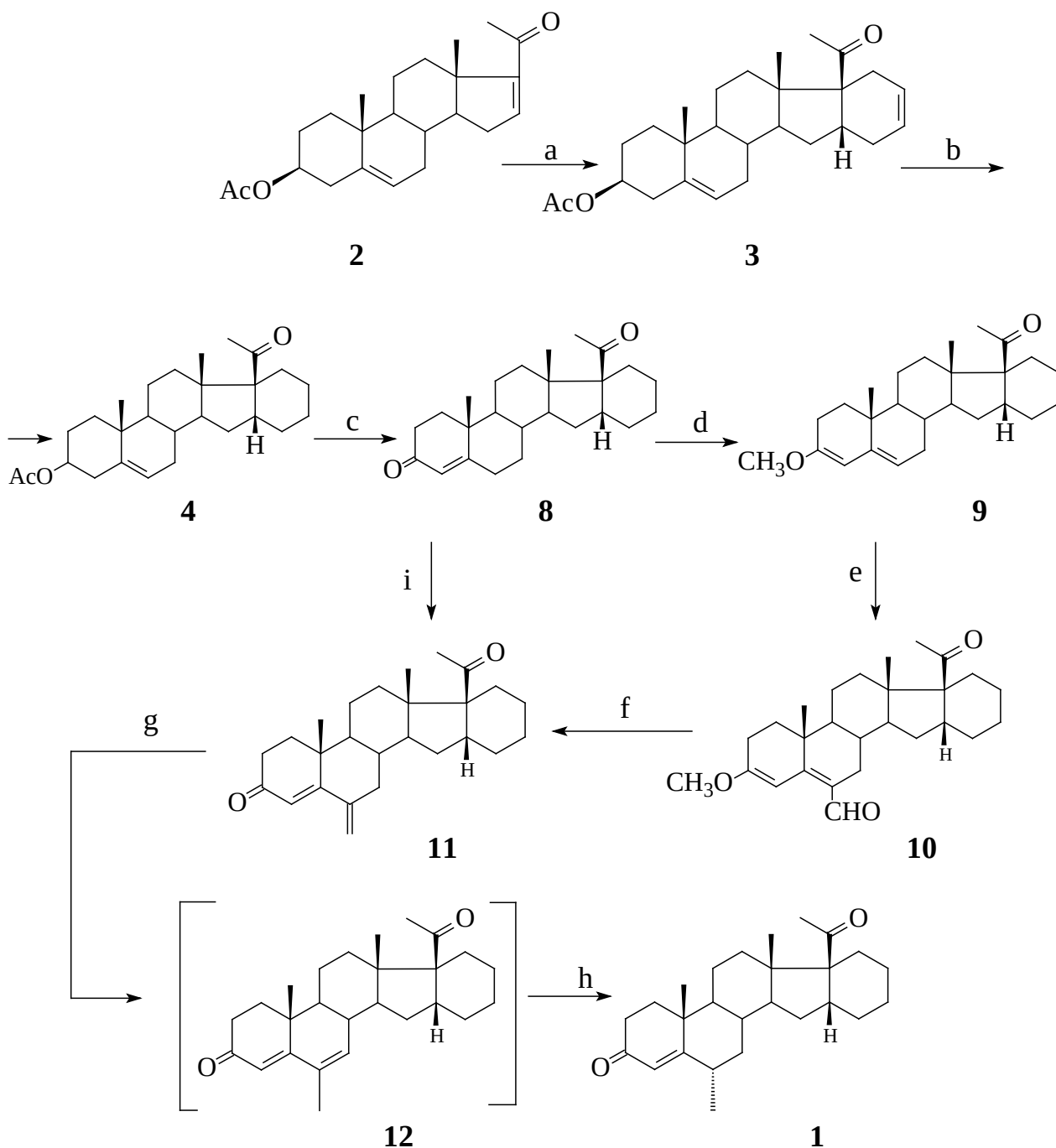
Другой метод введения необходимой метильной группы в положение 6 молекулы пентарана был ранее осуществлен путем прямого γ -метилирования 4-дегидро-3-оксопентарана **8** с производным формальдегида (диэтилацеталем формальдегида) в инертном растворителе в присутствии сильного кислого конденсирующего агента (схема 2). Однако этот метод также имеет ряд недостат-

ков: длительное кипячение реакционной смеси и необходимость хроматографической очистки продукта реакции не позволяют достичь выхода 6-метилено-5-эно-3,20-диона **11** более 50%.

С целью устранения указанных недостатков и повышения выхода целевого стероида в настоящей работе разработан новый альтернативный метод синтеза мецигестона через ключевой продукт - 6-метилено-16 α ,17 α -циклогексано-прегн-4-ен-3,20-дион **11**, получаемый на основе реакции Вильсмейера (см. схему 2).

Прежде всего мы разработали препаративные условия катализируемой кислотами Льюиса (AlCl_3 или TiCl_4) конденсации ацетата 16-дегидропрегненолона **2** с 1,3-бутадиеном при комнатной температуре в среде хлористого метилена или толуола и кислоты Льюиса при мольном соотношении ацетата 16-дегидропрегненолона, 1,3-бутадиена и кислоты Льюиса равным 1 : 2 – 3: 0,2 - 0,4, при температуре -10°C с последующим доведением температуры реакционной смеси до комнатной и обработкой реакционной смеси раствором соды и водой с последующим выделением аддукта **3**. Другим вариантом обработки является пропускание реакционной смеси через слой сорбента и выделение целевого продукта после удаления элюата, что значительно упрощает выделение продукта реакции. Выход продукта **3** составляет 85-87%. Использование 2-3 моль/экв. 1,3-бутадиена и 0,2-0,4 моль/экв. кислоты Льюиса (безводный AlCl_3 или TiCl_4) позволяет избежать дополнительного образования примесей, связанных с продуктами уплотнения бутадиена и осмоления исходного стероида. Далее для следующей стадии - гидрирование аддукта **3** - был использован высокопористый ячеистый катализатор на основе гамма-формы оксида алюминия и 0.5 – 5% палладия. Ацетат 16 α ,17 α -циклогексано-прегн-5-ен-3 β -ол-20-она **4** получен при этом с количественным выходом. Омыление ацетатной группы и окисление по Оппенауэру полученного 16 α ,17 α -циклогексано-прегн-5-ен-3 β -ол-20-она (не показан на схеме 2) дало 4-дегидро-3-оксопентаран **8** с выходом 70%. Реакция последнего с триметилортоформиатом ($\text{CH}(\text{OMe})_3$) в метаноле в присутствии $p\text{-TsOH}$, взаимодействие полученного при этом 3,5-диенольного эфира **9** с оксихлоридом фосфора (POCl_3) в DMF и обработка реакционной смеси водным раствором углекислого калия, содержащим хлористый натрий, привели с количественным выходом к 3-метокси-6-формил-3,5-диену **10**. После восстановления альдегида **10** борогидридом натрия в метаноле и последующей дегидратации образовавшегося 6-гидроксиметиленового эфира конц. соляной кислотой получили 6-метилено-5-эно-3,20-дион **11**. На всех стадиях образуются легко выделяемые кристаллические продукты практически с количественным выходом (Схема 2).

Схема 2



Реагенты и условия: а) $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$, к-та Льюиса, н.у.; б) H_2 -Pd/Al₂O₃; в) KOH-MeOH; (iPrO)₃Al, циклогексанон; PhMe; д) CH(OMe)₃, MeOH, p-TsOH, е) POCl₃, DMF, K₂CO₃-NaCl; ф) NaBH₄, MeOH; HCl; г) циклогексенн, 5%-ный Pd/C-EtOH; и) CH₂(OEt)₂, POCl₃, NaOAc.

Последующее восстановление 6-экзометиленовой связи в соединении **11** в этаноле, содержащем циклогексен как донор водорода, в присутствии 5%-ного Pd/C давало целевой 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрогестерон **1** с высоким выходом. Реакция при этом протекает через промежуточную изомеризацию экзометиленовой связи в положении 6,7 цикла В молекулы стероида (со-

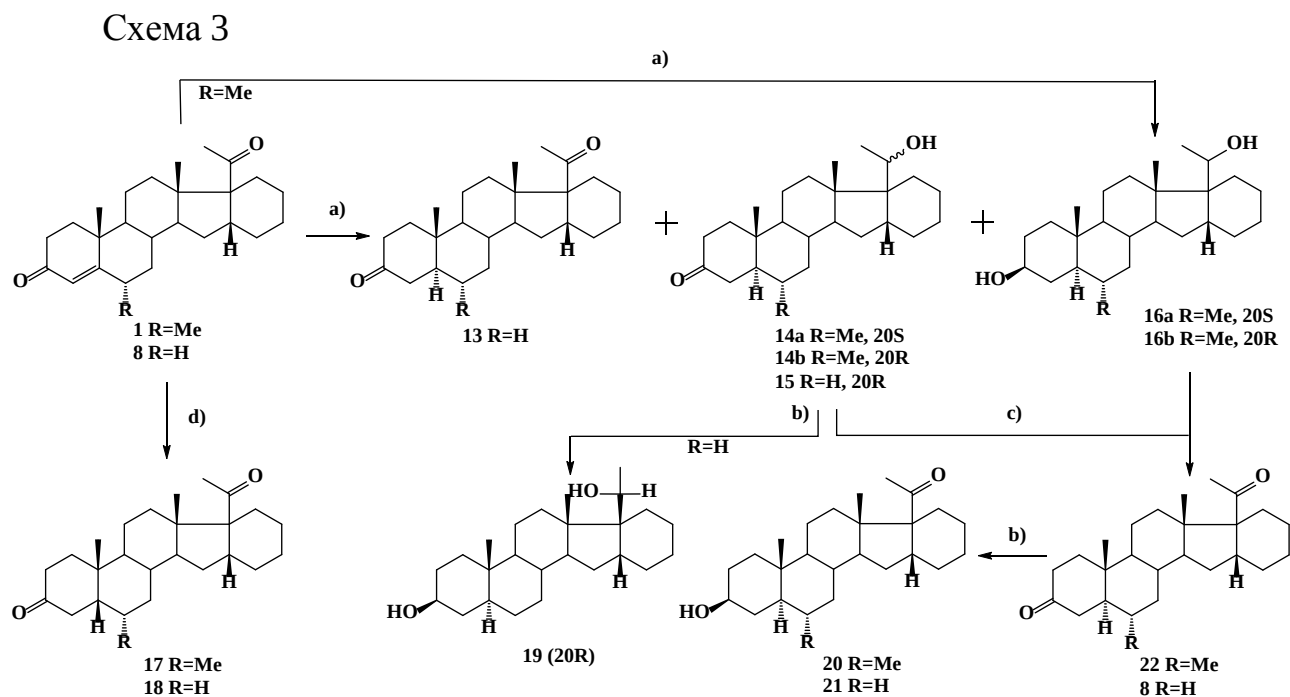
единение **12** на схеме 2). Общий выход из расчета на исходный ацетат 16-дегидропрегненолон **2** составил 42%.

Таким образом, разработанный метод может быть использован при масштабируемом производстве субстанции мецигестона.

Доведение субстанции до лекарственного препарата требует исследования его фармакокинетики и, в частности, его возможных метаболитов. Поэтому важной (приоритетной) частью исследований лекарственного препарата, предназначенного для использования в медицинской практике, является изучение его метаболизма. Литературные данные свидетельствуют о том, что природный прогестерон биотрансформируется в большое количество метаболитов (более 30). Основными метаболитами являются восстановленные по 4,5-двойной связи 5 α - и 5 β -производные, 3- и 20-гидроксипроизводные. Поскольку мецигестон **1** является структурным аналогом прогестерона, мы предположили, что его метаболизм протекает сходным образом. Под действием 5-редуктазы может происходить гидрирование 4,5-двойной связи мецигестона с образованием 5Н-метаболитов, а затем, с участием гидроксистероид дегидрогеназ, восстановление 3- и 20-оксогрупп в молекуле исследуемого стероида.

Для изучения биотрансформации мецигестона **1** был осуществлен синтез вероятных (возможных) продуктов его метаболизма, которые были использованы в качестве стандартов для идентификации найденных нами метаболитов в биопробах. Для оценки влияния 6-метильной группы в молекуле мецигестона **1** также были специально синтезированы и изучены метаболиты его 6-дезметильного аналога **8**.

Синтез полученных соединений 13-22 представлен на Схеме 3.



Реагенты и условия: а) Li/NH₃, THF; б) NaBH₄/MeOH; в) PDC/Py; д) 5% Pd-C, THF-EtOH (1:1), HBr

Соединения **14** и **16** получены восстановлением 4,5-двойной связи 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен-3,20-диона **1** литием в жидком аммиаке. При этом кратковременное выдерживание (5-10 мин) исходного сопряженного кетона приводило к смеси 3-оксо-20(*R,S*)-гидроксиэпимеров **14a,b** и 3 β ,20(*R,S*)-дигидроксиэпимеров **16a,b**, а при более длительной экспозиции реакционной смеси получены только дигидроксиэпимеры **16a,b**. При восстановлении 4,5-двойной связи в 16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен-3,20-дионе **8** литием в жидком аммиаке получены 5 α -прегнан-3,20-дион **13** и 3-кето-20(*R*)-гидроксиэпимер **15** в соотношении 3:2. Хроматографическое разделение всех полученных смесей дало индивидуальные стереоизомеры, структуры которых и конфигурация 20-центра доказаны методом ЯМР.

Конфигурацию асимметрического центра C-20 в 3-оксо-20(*R,S*)-гидроксиэпимерах **14a,b** и 3 β ,20(*R,S*)-дигидроксиэпимерах **16a,b**, определяли в экспериментах 2D NOESY и сравнением значений химических сдвигов ¹³C обоих эпимеров с учетом ранее полученных данных (табл. 3). Ранее для родственных соединений, 3,20(*R*)-дигидрокси- и 3,20(*S*)-дигидрокси-прегна-1,3,5(10)-триенов, конфигурация одного из которых была установлена методом рентгеноструктурного анализа, было показано, что для *S*-эпимера сигналы атомов C16 и C20 сдвигаются в слабое поле примерно на 4 м.д., а сигнал C18 – в сильное поле примерно на 0,5 м.д. по сравнению с соответствующими сигналами в *R*-эпимере. Соответствующая разность химсдвигов наблюдалась и в исследуемых нами соединениях: для пар эпимеров **14a/14b** и **16a/16b** для C16 +4,5 и +4,6 м.д., для C20 +4,5 и +3,4 м.д. и для C18 -0,5 и -0,5 м.д., соответственно, что указывало на *S*-конфигурацию при C20 для **14a** и **16a** и *R*-конфигурацию для **14b** и **16b**. Дополнительное подтверждение было получено из анализа спектров 2D NOESY соединений **14a** и **14b**. В спектре 20(*S*)-эпимера **14a** наблюдался кросс-пик между протоном гидроксила при C20 (4,08) и сигналом H16 (1,18), а для *R*-эпимера **14b** – между протоном гидроксила при C20 (4,06) и сигналом CH₃-18 (0,82), что указывало на пространственную сближенность указанных протонов и соответствовало *R*- и *S*-конфигурации эпимеров.

Реокисление 20-гидроксильной группы в 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексано-5 α H-прегнан-20(*R,S*)-гидрокси- и дигидроксистероидах **14** и **16** с помощью пиридинийдихромата в пиридине дало 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-5 α -прегнан-3,20-дион **22** с выходом 80%.

5 β -Метаболиты **17** и **18** получены стереоселективным восстановлением 4,5-двойной связи 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен-3,20-диона **1** и дезметильного аналога **8** 5%-ным палладием на угле в присутствии каталитических количеств бромистоводородной кислоты.

Для получения 3 β -гидрокси-5 α -прегнановых метаболитов с 20-оксогруппой **19** и с 20-гидроксигруппой **20** 3-оксогруппу в исходных соединениях **15** и **22**, соответственно, восстанавливали NaBH₄ в MeOH. При этом стерически затрудненная 20-оксогруппа в диоксостероиде **15** не затрагивалась, и в обоих случаях получены 3 β -гидроксистероиды **19** и **20**.

Таким образом, получены серии возможных метаболитов мецигестона **1** (соединения **14a**, **14b**, **16a**, **16b**, **17**, **20**, **22**) и его 6-дезметильного аналога **8** (соединения **13**, **15**, **18**, **19**, **21**).

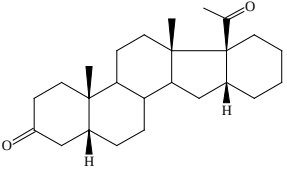
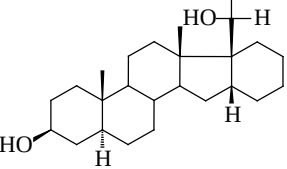
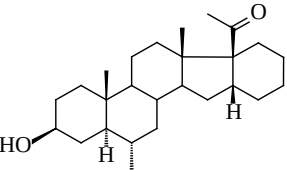
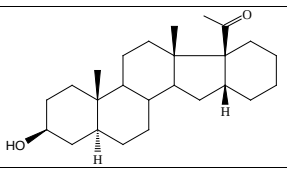
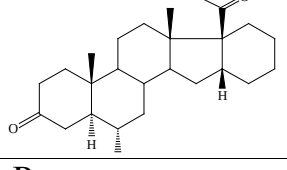
Для синтезированных метаболитов были получены масс-хроматограммы и масс-спектры в режиме регистрации положительно заряженных ионов. Исследуемые соединения образуют либо протонированную молекулу $[M+H]^+$, либо ион $[M-2H_2O+H]^+$. Далее исследовали диссоциацию этих ионов-предшественников для выбора характеристичных ионных переходов, которые в дальнейшем использованы для идентификации предполагаемых метаболитов в биопробах в режиме МС/МС. Полученные фрагментные масс-спектры приведены в приложении к диссертации. В качестве характеристичных ионных переходов выбирали пики с максимальной интенсивностью, соответствующие как отщеплению боковых цепей, так и структурным перегруппировкам.

Изучение метаболизма проводили на белых беспородных крысах при однократном внутрижелудочном введении исследуемых препаратов (**1** и **8**) в дозе, соответствующей предполагаемой терапевтической (с учетом коэффициента переноса на животных) при данном пути введения. Эффективная доза *in vivo* составляла 0,55 мг/кг. Анализ мочи крыс в двух группах – №1 (экспонированной мецигестонами **1**), и №2 (экспонированной 6-дезметильным аналогом **8**) проводили с использованием выбранных выше параметров для синтезированных стандартов-метаболитов. Сбор мочи осуществляли в три этапа: I – моча, собранная в течение 2 часов после введения, II – моча, собранная в период со 2-го по 6-ой час после введения, III – моча, собранная в период с 6-го по 24-ый час после введения.

Детектирование метаболитов проводили в 2 сегментах: в режиме полного ионного сканирования и регистрации выбранных ионных переходов. Соответствующие масс-хроматограммы образцов проб из мочи, полученных от лабораторных животных, с полным ионным сканированием и детектированием по выбранному ионному переходу приведены в приложении к диссертации. Для каждого обнаруженного метаболита проводилось его количественное определение по заранее построенному градуировочному графику в диапазоне от 1 до 1000 нг/мл. Найденное значение концентрации каждого метаболита в образцах мочи, время их элиминации (I - III), а также регистрируемое время удерживания и ионные переходы представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Данные по количественному и качественному ВЭЖХ-МС/МС анализу метаболитов в исследуемых пробах мочи, собранной спустя заданные промежутки времени

№, п/п	Структурная формула детектируемого вещества	Ион предшественник $[M+H]^+$ ($[M-2H_2O+H]^+*$) Да	Время удерживания стандарта, мин	Время удерживания экстрагированного метаболита, мин	Фрагментные ионы, Да (отн. интенсивность, %)	Концентрация метаболита в моче, нг/мл
1		383,29416	14,19	-	365,28357 (10) 339,26797 (15) 123,08057 (100)	I – 0 II – 0 III – 0
8		369,27917	13,45	-	351,26819 (15) 109,06514 (25) 97,06527 (40)	I – 0 II – 0 III – 0
13		371,29410	14,63	14,68	353,28344 (90) 125,0962 (80) 149,12982 (70)	I – 0 II – 0,166 III – 0
14a		387,3257	15,51	15,51	325,28879 (75) 125,0961 (45) 369,31509 (25)	I – 0, II – 0,58 III – 0,17
14b		387,3257	15,21	15,23	325,28879 (75) 125,0961 (45) 369,31509 (25)	I – 0 II – 0,32 III – 0
16a		353,3203*	16,47	16,47	123,1169 (55), 109,10149 (75)	I – 0 II – 0,14 III – 0,13
16b		353,3203*	15,39	-	123,1169 (55), 109,10149 (75)	I – 0 II – 0 III – 0
17		385,3103	14,37	14,35	367,2995 (100) 125,0961 (80)	I – 0,825 II – 0 III – 0

№, п/п	Структурная формула детектируемого вещества	Ион предшественник $[M+H]^+$ ($[M-2H_2O+H]^+*$) Да	Время удерживания стандарта, мин	Время удерживания экстрагированного метаболита, мин	Фрагментные ионы, Да (отн. интенсивность, %)	Концентрация метаболита в моче, нг/мл
18		371,29453	13,91	13,85	353,28385 (100) 125,09633 (90) 149,13257 (90)	I – 0 II – 0,148 III – 0,122
19		339,30463*	14,65	-	135,1170 (100) 109,1016 (75) 203,1796 (55)	I – 0 II – 0 III – 0
20		387,32538	15,45	15,47	125,09633 (90) 369,3149 (25) 351,3045(25)	I – 0,15 II – 0,143 III – 0,178
21		373,30945	15,17	15,26	125,0962 (100) 337,2880 (25) 355,2988 (20)	I – 0,138 II – 0,264 III – 0,11
22		385,30984	15,02	15,02	367,2995 (100) 125,0961 (80)	I – 0,77 II – 0,36 III – 0

Результаты, представленные в таблице 1, показывают, что из проанализированных стандартов в пробах мочи крыс, экспонированных мецигестоном **1**, найдены стандарты-метаболиты **14a**, **14b**, **16a**, **17**, **19**, **22**, за исключением соединения **16b**. 6-Дезметильный аналог **8** метаболизируется сходным образом: в пробах мочи найдены метаболиты **13**, **18** и **21** и не зафиксирован стероид **19**. Интересно, что оба эти стероида, не найденные среди предполагаемых метаболитов мецигестона **1** и его аналога **8**, представляют собой один и тот же 20(R)-20-гидроксидиастереоизомер – **16b** и **19**.

Особенностью метаболизма исследуемых стероидов **1** и **8** является их полная биотрансформация, о чем свидетельствует отсутствие этих соединений в исследуемых биологических пробах мочи.

Найденные метаболиты представляют собой продукты восстановления 4,5-двойной связи (5 α H - и 5 β H -соединения) и 3- и 20-кетогрупп.

Таким образом, проведенная работа по синтезу стандартов метаболитов и разработке аналитического метода контроля в биологических жидкостях продуктов биотрансформации мецигестона **1** и его дезметильного аналога **8** показала сходство путей метаболизма прегна-D'-пентаранов и эндогенного прогестерона. Можно полагать, что, несмотря на наличие дополнительного кольца D'

и метильной группы в положении 6 мецигестона, его основные ферментативные превращения происходят аналогично таковым для природного гормона прогестерона.

Далее нами были разработаны методы получения трех новых лекарственных форм мецигестона, представляющих собой самоэмульгирующуюся систему, инкапсулированную и микронизированную формы.

Одним из широко применяемых в практике фармацевтического производства для получения микронизированной субстанции является метод распылительной сушки. Микрокристаллическую форму мецигестона получали из его раствора в смеси дихлорметан/этанол 70:30 (v/v) методом распылительной сушки на нанораспылительной сушилке NANO Spray dryer BUCHI B-90 (BUCHI Labortechnik AG) с использованием замкнутого контура с инертным газом.

В ходе эксперимента для получения частиц с наименьшим диаметром меняли размер (4,0, 5,5 или 7,0 мкм) отверстий мембраны форсунки. Для увеличения выхода готового продукта варьировали также концентрацию исходного раствора и температуру в распылительной камере. В качестве исходного раствора использовали образцы с 1%-ной концентрацией мецигестона. Этот раствор распыляли при разных температурах внутри камеры. Для каждого эксперимента брали 1 г образца. Высушенные частицы охлаждали до комнатной температуры в электростатическом коллекторе, полученный порошок собирали в пробирку и взвешивали. Параметры экспериментов и относительные выходы (%) приведены в таблице 2. Морфологию и размер частиц высушенного порошка мецигестона изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии (SEM). На рисунке 1 приведены фотографии исходной субстанции мецигестона и ее микронизированной формы.

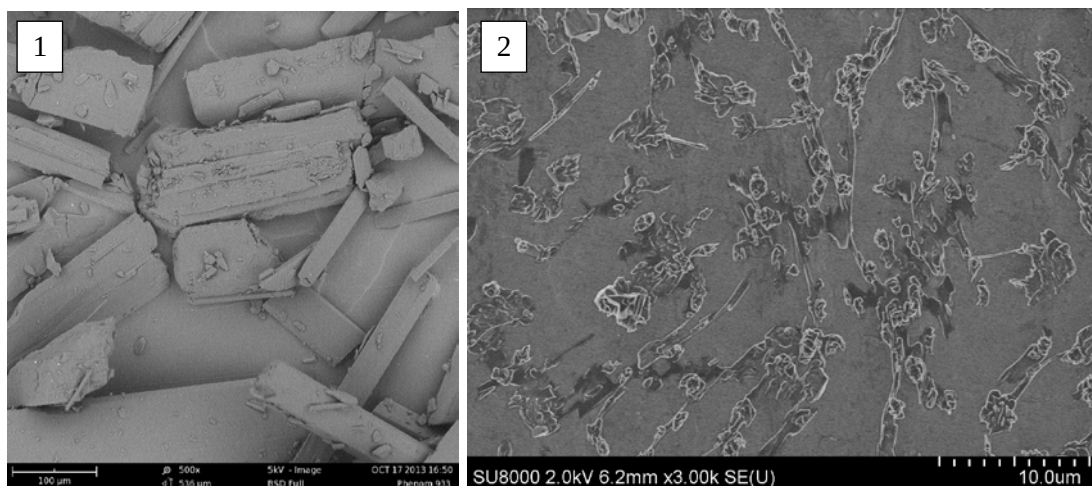


Рисунок 1 – Электронная микроскопия исходной – 1 и микронизированной – 2 субстанции мецигестона

Таблица 2 – Результаты микронизации мецигестона

Условия эксперимента	№ эксперимента							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Размер отверстий распылительной мембраны (мкм)	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	5,5	4,0
Содержание сухого мецигестона в растворе (%)	0,2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Температура на входе (°C)	17	20	25	30	35	40	35	35
Т на выходе (°C)	21	24	26	28	30	32	30	30
Т распылительной мембраны (°C)	28	31	33	42	46	50	42	44
Время сушки (мин)	22	25	30	25	25	25	95	155
Выход продукта (мг)	н. и.	227	285	310	418	410	444	370
Выход продукта (%)	н. и.	45	57	62	83	82	88	74
Размер частиц (мкм)	от 1 до 10	от 0,8 до 9	от 0,8 до 13	от 0,7 до 13	от 0,8 до 12	от 0,8 до 15	от 0,7 до 7	от 0,4 до 4
Остаточное содержание растворителя (%)	0,15	0,14	0,14	0,14	0,10	0,10	0,10	0,10
Примечание: следующие параметры были неизменными: 70:30 дихлорметана к этанолу, 50 г раствора, воздух в качестве сушильного газа, расход сушильного газа - 140 л/мин, амплитуда колебания пьезоэлемента распылительной головки мембраны – 60% от максимально возможной, внутреннее давление - 60 мбар, скорость аспирации – 47 Гц, н. и. - не измерялся)								

Таким образом, в процессе микронизации произошло более чем 50-кратное уменьшение размеров кристаллов (с 200 до 0,4-4 мкм), что, в свою очередь, увеличивает суммарную площадь поверхности и, предположительно, биодоступность мецигестона.

Для получения самоэмульгирующейся системы (SEDDS) с мецигестонам необходимо было, прежде всего, разработать состав (предконцентрат) из поверхностно активного вещества (ПАВ и вспомогательное ПАВ) и липидной фазы.

Первой стадией являлось определение растворимости мецигестона в липидной фазе и вододиспергируемых и водонерастворимых ПАВ методом перенасыщения (рисунок 2).

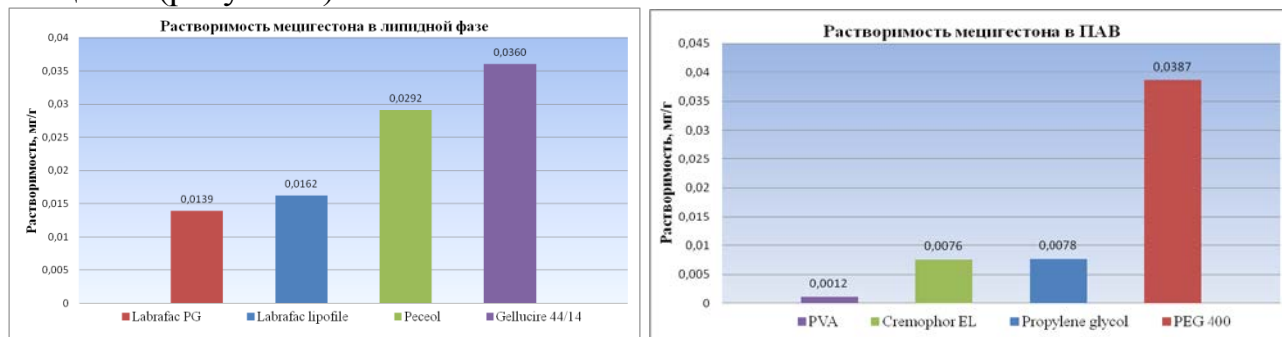


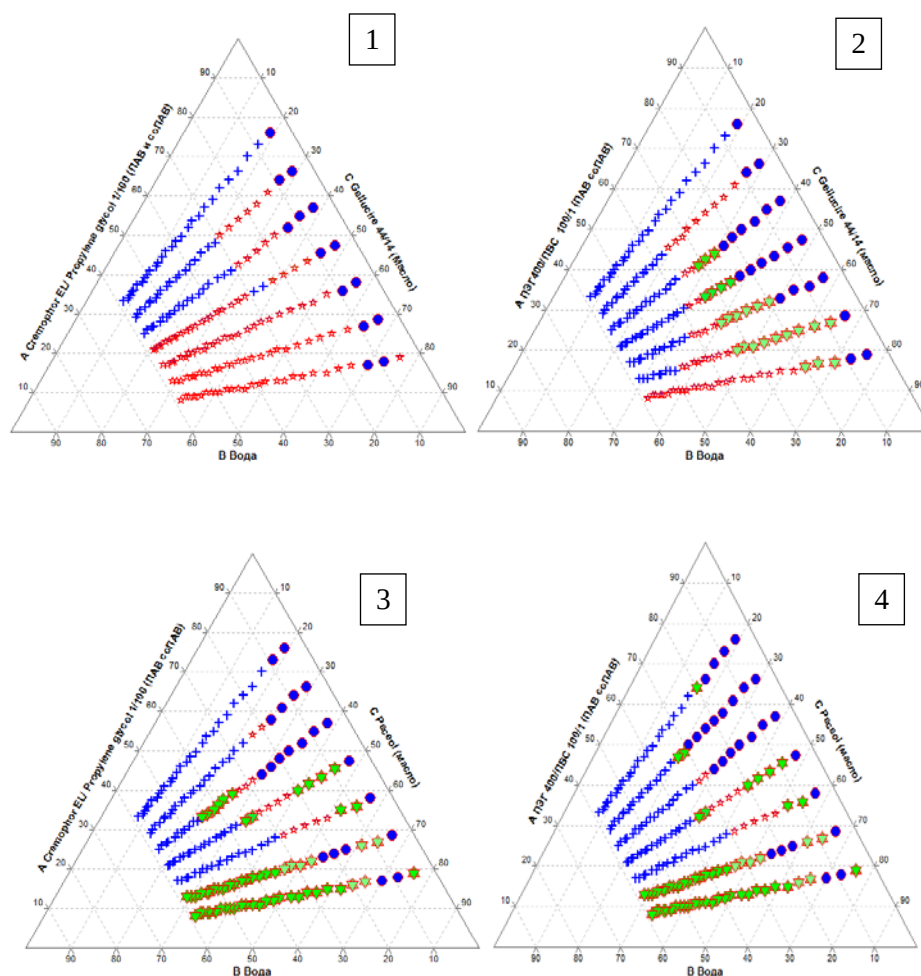
Рисунок 2 – Растворимость мецигестона в вспомогательных веществах

Для каждого состава были выбраны 4 композиции, различающихся содержанием липидной фазы от 20 до 80% от массы смеси ПАВ, шаг 10%. Таким образом, в каждом составе представлено 7 вариантов соотношений ПАВ +

вспомогательное ПАВ/триглицериды. В качестве добавки для стабилизации эмульсии использован поливиниловый спирт (ПВС). Потенциальные комбинации мецигестона и вспомогательных веществ (ВВ) выбирали на основании результатов его растворимости в ВВ. Соотношения ПАВ к вспомогательному ПАВ оставались постоянными. Соотношение масла к смеси ПАВ и вспомогательному ПАВ варьировалось от 2/8 до 8/2 с «шагом» 10%. Для исследования были выбраны следующие соотношения компонентов:

1. Gellucire 44/14/Cremophor EL/ Propylene glycol
2. Gellucire 44/14/PEG400/ПВС
3. Peceol/Cremophor EL/ Propylene glycol
4. Peceol/PEG400/ПВС

Оценка эффективности образования микроэмульсий в зависимости от соотношения входящих в их состав компонентов проводилась с помощью псевдотричных фазовых диаграмм. Фазовые диаграммы были построены с использованием программного обеспечения Tri Plot V 4.1.3 (рисунок 3).



- 1 - Gellucire 44/14/Cremophor EL/ Propylene glycol содержание Gellucire 44/14 40%,
 2 - Gellucire 44/14/PEG400/PVA содержание Gellucire 44/14 70 %, 3 - Peceol/Cremophor EL/ Propylene glycol содержание Peceol 60 %, 4- Peceol/PEG400/PVA содержание Peceol 60%.

● — эмульсия тип вода/масло, ★ — гель, ★ — грубая эмульсия, + — микроэмульсия

Рисунок 3 – Псевдотричные фазовые диаграммы, определяющие область существования микроэмульсий

Согласно данным, представленным на рисунке 3, наиболее перспективными (с наименьшим содержанием вспомогательных ПАВ) являются микроэмульсии, полученные из предконцентратов следующего состава:

- 1) Gellucire 44/14/Cremophor EL/ Propylene glycol (содержание Gellucire 44/14 40%);
- 2) Gellucire 44/14/PEG400/PVA (содержание Gellucire 44/14 70 %);
- 3) Peseol/Cremophor EL/ Propylene glycol (содержание Peseol 60 %);
- 4) Peseol/PEG400/PVA (содержание Peseol 60 %).

Далее необходимо было оценить термодинамическую стабильность выбранных микроэмульсий. Распределение, размер и электрокинетический потенциал частиц полученных предконцентратов микроэмульсий до замораживания и после оттаивания определяли на анализаторе Malvern Zetasizer NanoZS (таблица 3).

Таблица 3 – Размеры, ζ -потенциал и индекс полидисперсности частиц предконцентрата разного состава до и после двух циклов замораживания/оттаивания

Состав предконцентрата	До двух циклов замораживания / оттаивания, $x \pm \sigma$			После двух циклов замораживания / оттаивания, $x \pm \sigma$		
	размер, мкм	индекс полидисперсности	дзета-потенциал (ζ), мВ	размер, мкм	индекс полидисперсности	дзета-потенциал (ζ), мВ
Gellucire 44/14/Cremophor EL/ Propylene glycol (содержание Gellucire 44/14 – 40%)	1,808 $\pm$ 0,12	0,245 $\pm$ 0,027	+24,2 $\pm$ 1,6	14,62 $\pm$ 0,38	0,276 $\pm$ 0,34	+23,8 $\pm$ 1,7
Gellucire 44/14/PEG400/PVA (содержание Gellucire 44/14 – 70%)	1,628$\pm$0,11	0,179$\pm$	+27$\pm$2,3	1,635$\pm$0,12	0,182$\pm$	+27,4$\pm$2,4
Peseol/Cremophor EL/ Propylene glycol (содержание Peseol – 60%)	2,286 $\pm$ 0,17	0,161 $\pm$	+32,1 $\pm$ 1,3	9,507 $\pm$ 0,26	0,188 $\pm$	+32,4 $\pm$ 2,1
Peseol/PEG400/PVA (содержание Peseol – 60 %)	6,92 $\pm$ 0,23	0,130 $\pm$	+36,1 $\pm$ 1,9	20,48 $\pm$ 0,76	0,222 $\pm$	+35,8 $\pm$ 2,6

Примечания:

1 $x \pm \sigma$ – среднее арифметическое значение;

2 σ – среднее квадратическое отклонение.

Таким образом, оптимальным для создания SEDDS является следующий состав вспомогательных веществ: Gellucire 44/14/PEG400/PVA (содержание Gellucire 44/14 – 70 %).

Для микрокапсулирования мецигестона был выбран метод разделения фаз путем введения осадителя, позволяющий получать микрокапсулы с содержанием действующего вещества до 80%. Этот метод достаточно прост по

сравнению с другими технологиями микрокапсулирования и легко может быть масштабирован вплоть до уровня промышленного производства. При разработке технологии мы учитывали скорость введения осадителя, соотношение «действующее вещество/полимер», соотношение «растворитель/осадитель», температуру процесса и выбор полимера для оболочки капсулы. Для изготовления микрокапсул были выбраны этилцеллюлоза (полимер); этилацетат, дихлорметан и ацетон (растворители) и циклогексан (осадитель).

Для определения соотношения «растворитель/осадитель» и оптимальной концентрации этилцеллюлозы в растворе была найдена область формирования коацервата этилцеллюлозы по троичной фазовой диаграмме (рисунок 4). Для этого определяли положение границы раздела фаз при смешивании различных соотношений этилцеллюлозы, ацетона и циклогексана после уравнивания системы. Смесь этилцеллюлозы с ацетоном перемешивали в течение часа до полного растворения, в этот раствор добавляли различные объемы циклогексана, выдерживали в течение 24 часов и определяли количества этилцеллюлозы в двух фазах при различных условиях.

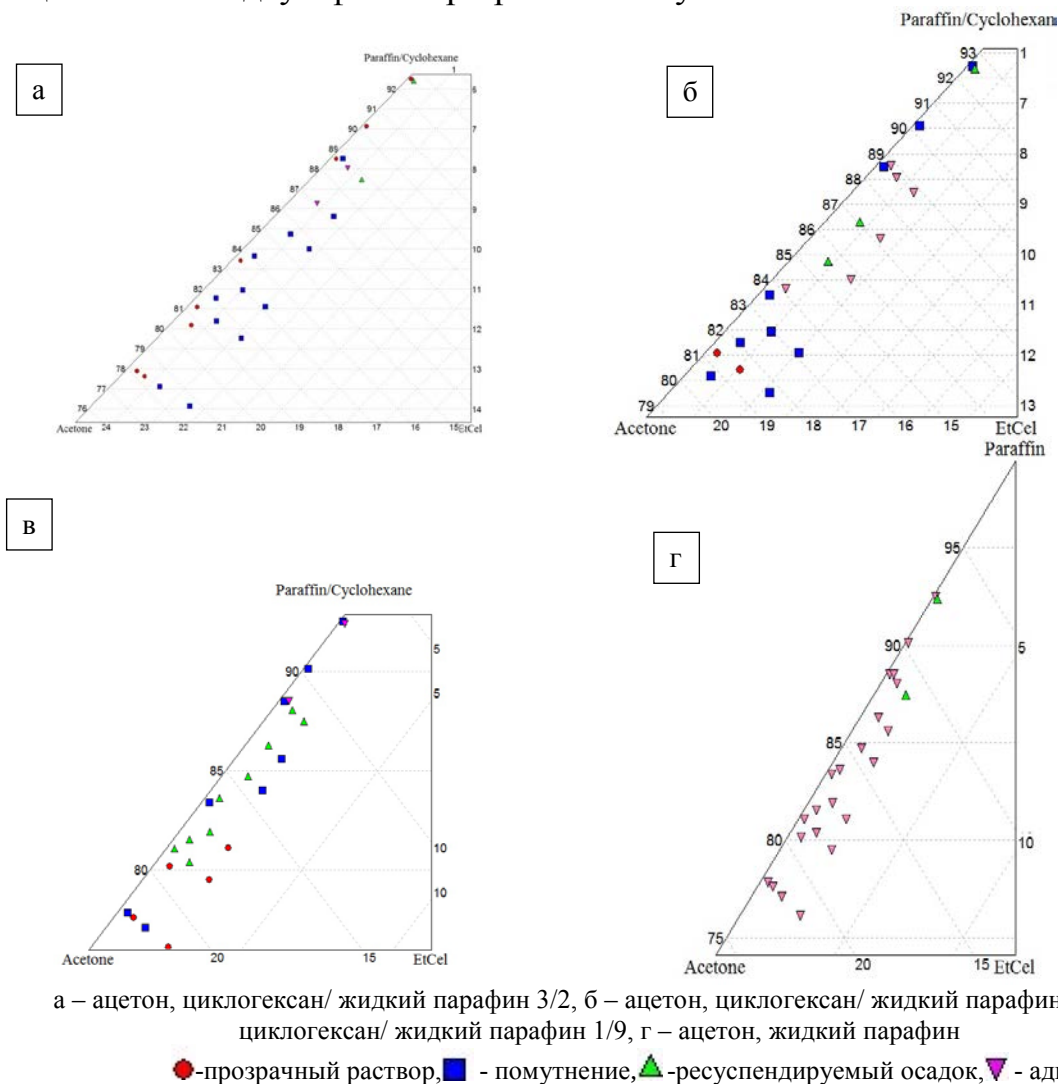


Рисунок 4 – Троичные диаграммы фазового состояния этилцеллюлозы

Мы определили, что для получения микрокапсулированных форм мецигестона наилучшим вариантом является система, состоящая из 6 %-ного раствора этилцеллюлозы в ацетоне и смеси осадителей «циклогексан/парафин» в соотношении 1/9.

Далее нами было изучено влияние концентрации полимера, типа и концентрации эмульгатора, а также соотношения «вещество/полимер» на физические свойства микрокапсул и профиль высвобождения действующего вещества. Полученные результаты представлены в таблицах 4-6.

Таблица 4 – Влияние концентрации полимера на размер микрокапсул и эффективность включения в них мецигестона (n=3)

Концентрация полимера, %	Средний диаметр микрокапсул, мкм, $\bar{x} \pm \sigma$	Содержание мецигестона, %, $\bar{x} \pm \sigma$	Выход, %, $\bar{x} \pm \sigma$
6	94±1,6	9,7±0,038	93±0,1
8	127±2,3	9,5±0,34	91±0,12
10	158±2,8	9,8±0,36	87±0,08

Как следует из представленных данных, при увеличении концентрации полимера наблюдается рост диаметра полученных микрокапсул, что связано с возрастающей вязкостью полимера. Потерь мецигестона практически не происходило, однако выход инкапсулированной субстанции уменьшался пропорционально увеличению концентрации полимера. Для получения микрокапсул наименьшего размера оптимальной является 6%-ная концентрация полимера.

Для лучшего разделения фаз при эмульгировании (уменьшение агрегации эмульгируемого полимера) в систему необходимо добавлять неионогенный ПАВ Span 80 (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние концентрации Span 80 на эффективность включения препарата и размер микрокапсул (n=3)

Концентрация ПАВ, %	Средний диаметр микрокапсул, мкм, $\bar{x} \pm \sigma$	Содержание мецигестона, %, $\bar{x} \pm \sigma$	Выход, %, $\bar{x} \pm \sigma$
1	94±1,3	9,7±0,34	98±0,17
1,5	92±1,0	9,7±0,35	97,4±0,17
2	88±0,9	9,8±0,38	98±0,21

Наименьший размер частиц и наименьшие потери лекарственного вещества были зафиксированы при 2,0%-ной концентрации эмульгатора (в масс-объемном отношении)..

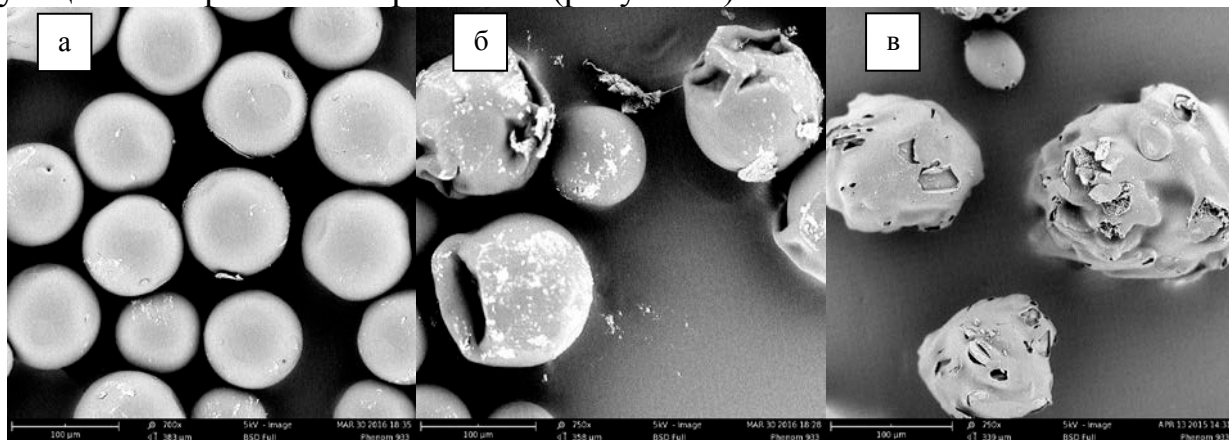
Влияние соотношения «действующее вещество/полимер» на физические свойства микрокапсул представлено в таблице 6.

Таблица 6 – Влияние соотношения «мецигестон/полимер» на физические свойства микрокапсул (n=3)

Соотношение «мецигестон/полимер»	Средний диаметр микрокапсул, мкм, $\bar{x} \pm \sigma$	Содержание мецигестона в микрокапсуле, %, $\bar{x} \pm \sigma$	Выход, %, $\bar{x} \pm \sigma$
1/10	88±2,8	9,8±0,03	98±0,16
1/5	92±2,6	18,7±0,034	97,3±0,16
1/2	104±3,2	25,4±0,32	97,2±0,12
1/1	120±4,2	43,2±0,38	98,1±0,14

Видно, что при фиксированных количествах полимера и растворителя средний размер микрокапсул увеличивается с ростом соотношения «действующее вещество/полимер».

Морфологию полученных микрокапсул оценивали при помощи сканирующей электронной микроскопии (рисунок 5).



соотношение «мецигестон/полимер» а – 1/10, б – 1/5, в – 1/1
Рисунок 5 – Микрокапсулы, содержащие мецигестон

Было установлено, что мецигестон высвобождается из микрокапсул не в полном объеме. Это объясняется плотной структурой полимера. Для того чтобы увеличить высвобождение препарата, в состав микрокапсулы включили набухающий полимер - ацетобутират целлюлозы. Для определения оптимального количества ацетобутирата целлюлозы экспериментально исследовано его влияние на степень высвобождения мецигестона в зависимости от содержания: 1, 2 и 4 % от массы полимера (в соответствии с рисунком 6).

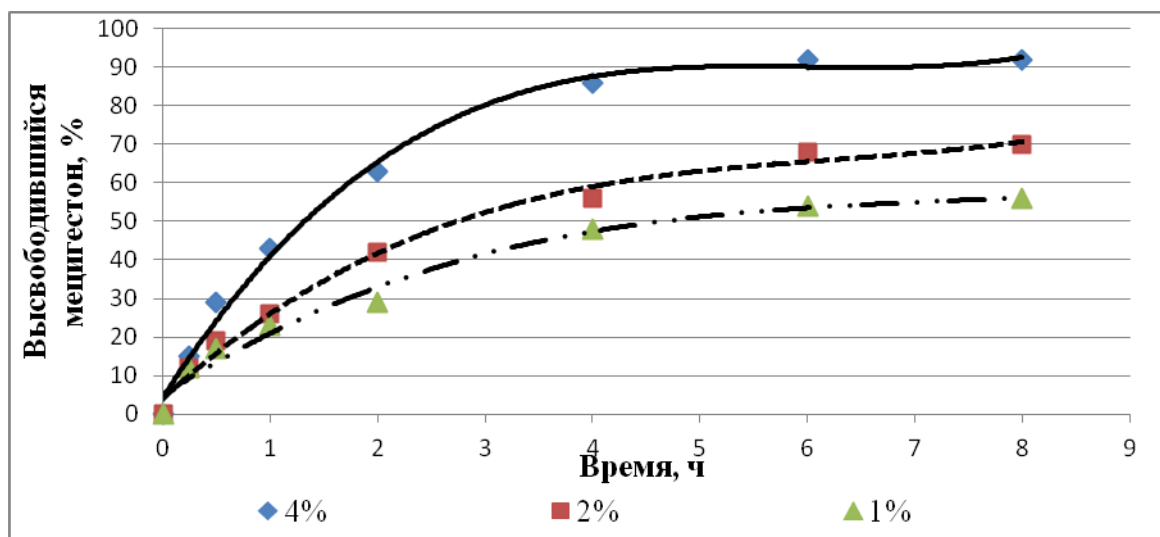


Рисунок 6 – Влияния количества набухающего полимера на степень высвобождения мецигестона микрокапсулами

В результате установлено, что скорость высвобождения препарата из микрокапсул максимальна при 4%-ной концентрации ацетобутирата целлюлозы.

Следующим этапом фармакокинетических исследований стало изучение сравнительной биодоступности разработанных лекарственных форм. Для этого были определены концентрации мецигестона в сыворотке крови крыс, рассчитаны основные фармакокинетические параметры, позволяющие охарактеризовать величины площадей под фармакокинетическими кривыми зависимости «концентрация-время» (AUC_{0-t}), время достижения максимальной концентрации (T_{max}) и значения максимальных концентраций (C_{max}). На рисунке 7 представлены усредненные фармакокинетические кривые содержания мецигестона в сыворотке крови крыс при однократном пероральном применении 0,55 мг/кг исходной субстанции и идентичной дозы разработанной лекарственной формы препарата.

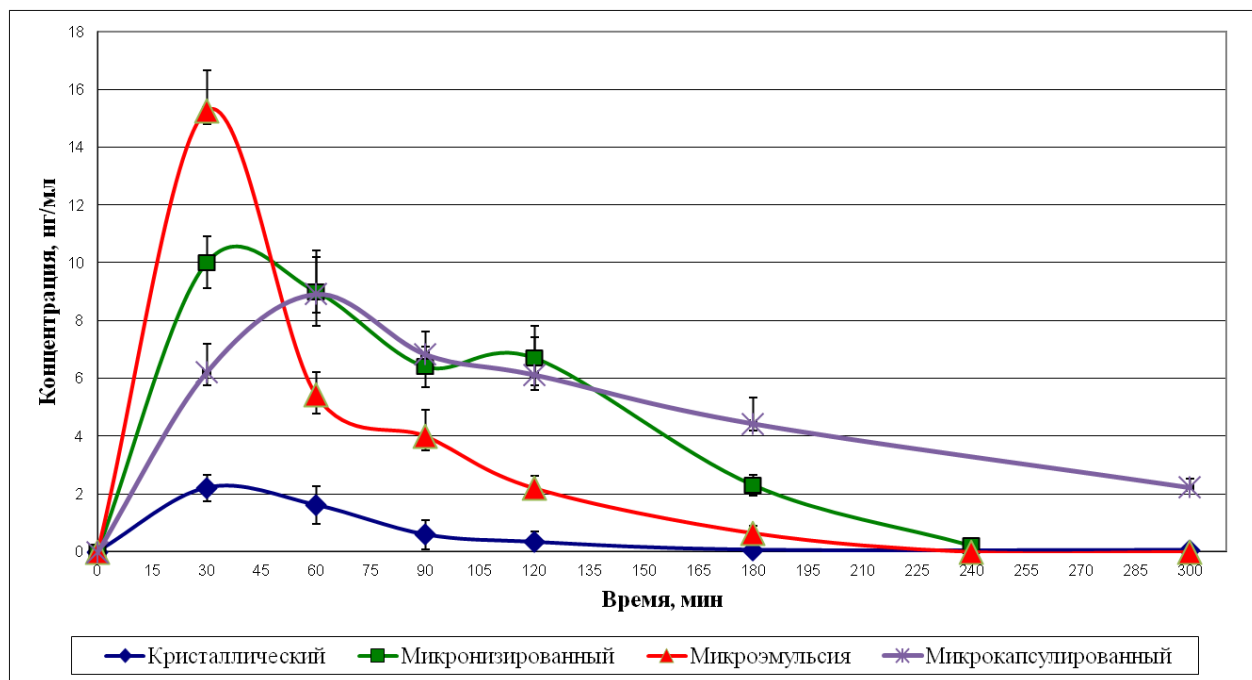


Рисунок 7 – Фармакокинетические профили мецигестона и его лекарственных форм

Из этого рисунка следует, что все три разработанные лекарственные формы мецигестона обладают повышенной (в 7 раз) биологической доступностью по сравнению с исходной субстанцией.

ВЫВОДЫ

1. Разработан альтернативный метод синтеза субстанции мецигестона через ключевой продукт – 6-метилено-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен-3,20-дион, упрощающий технологический процесс и позволяющий увеличить выход целевого продукта в 1,5 раза по сравнению с известным способом.
2. Проведено прогнозирование основных метаболитов мецигестона и его 6-дезметильного аналога и синтезированы 11 возможных метаболитов в качестве стандартов для подтверждения основных путей биотрансформации.
3. Разработана методика качественного и количественного определения мецигестона и его 6-дезметильного аналога, а также их метаболитов в биологических материалах методами ВЭЖХ-МС/МС.
4. Впервые показано, что пентациклические стероиды претерпевают биотрансформацию в организме. Выделены метаболиты мецигестона и его аналога. Показано сходство путей метаболизма прегна-D'-пентаранов и эндогенного прогестерона.
5. Разработаны методы получения микрокапсулированных, микронизированных и самоэмульгирующихся форм мецигестона. Проведенные сравнительные фармакокинетические исследования показали, что данными методами возможно получать как пролонгированные лекарственные формы, так и формы с сопоставимым для прогестинов фармакокинетическим профилем, но во всех случаях биодоступность повышается до семи раз.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Назаров А.К. Синтез 6-метилен-16 α ,17 α -циклогексапрегн-4-ен-3,20-диона / А. К. Назаров, Н. В. Сигай, И. В. Заварзин, И. С. Левина // Известия АН Сер. Хим. – 2014. – С. 2064.
2. Назаров А.К. Получение микронизированной субстанции стероидного препарата мецигестон и оценка его биодоступности / А.К. Назаров, И.В. Заварзин, Г.В. Назаров, А.В. Аксёнов, И.С. Левина // Хим.-фарм. Журнал. –2015. – № 49. – С. 44-48.
3. Патент № 2566368, РФ, МПК C07J53/00. Способ получения 6-метилен-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен-3,20-диона. / А.К. Назаров, И.В. Заварзин, И.С. Левина; ИОХ РАН.– RU20140149035; дата подачи 12.05.2014; опубликовано 10.27.2015. – 9 с.
4. Назаров А.К. Разработка методики измерения массового содержания мецигестона в биологических пробах при проведении доклинических исследований / А.К. Назаров, Е.И. Беризовская, А.В. Аксенов, Г.В. Назаров, Д.А. Митрофанов, О.А. Шевлякова, В.Ф. Таранченко // I Международная научно-практическая конференция «Современная токсико-химическая экспертиза» АСТЕ 2013. – М. Издательская группа «Граница». – 2013. – С. 72.
5. Назаров А.К. Разработка самоэмульгирующейся системы доставки мецигестона с повышенной биологической доступностью / А.К. Назаров, Г.В. Назаров, И.С. Левина, А.В. Аксенов // Современные проблемы химической науки и фармации: тез. докл. Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 85-летию со дня рождения В.А. Кухтина. – Чебоксары: Издательский дом «Пегас». – 2014. – С. 179-180.
6. Назаров А.К. Модуляторы рецептора прогестерона – 6-метил-16 α ,17 α -циклогексанопрегнаны / А.К. Назаров, Н.В. Сигай, И.С. Левина, Е.И. Чернобурова, Г.В. Назаров, И.В. Заварзин // Междисциплинарный Симпозиум по Медицинской, Органической и Биологической Химии (МедОргБио-Хим-2014) – Крым – 2014. – С. 168.
7. Nazarov A.K. Development of technology for the preparation of crystalline nanostructured forms of biologically active compounds /A.K. Nazarov, I.S. Levina, G.V. Nazarov, I.V Zavarzin // Annual International Conference on Composites or Nano Engineering ICCE 22 – Malta – 2014 – P. 217.
8. Назаров А.К. Изучение фармакокинетических параметров разработанной самоэмульгирующейся системы с мецигестоном / А.К. Назаров, В.А. Мальцева, Г.В. Назаров // Приоритетные научные направления: от теории к практике сборник материалов XXV Международной научно-практической конференции. – Новосибирск. Издательство ЦРНС. – 2016. – С. 16-20.