



УКРАЇНА

(19) UA (11) 92765 (13) C2

(51) МПК (2009)

C07D 209/08 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61P 13/04 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61P 21/00

A61P 25/04 (2006.01)

A61P 43/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЗАСІБ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ УРЕТЕРОЛІТІАЗУ

1

2

(21) а200808421

(22) 22.11.2006

(24) 10.12.2010

(86) РСТ/JP2006/323280, 22.11.2006

(31) 2005-339188

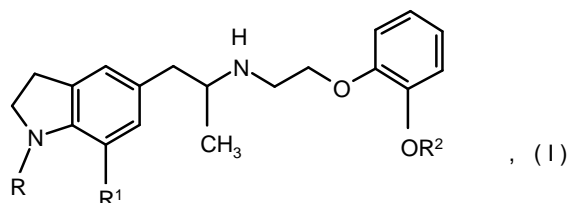
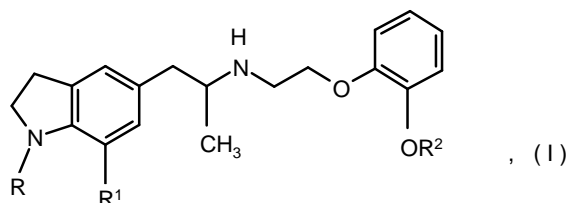
(32) 24.11.2005

(33) JP

(46) 10.12.2010, Бюл.№ 23, 2010 р.

(72) КОБАЯСІ МАМОРУ, JP, ТОМІЯМА ЙОСИТАКА,
JP, КОБАЯСІ КУМІ, JP

(73) KISSEI ФАРМАСЬОТИКАЛ КО., ЛТД., JP

(56) SIGALA, S., Evidence for the presence of ?1
adrenoceptorsubtypes in the human ureter,
Neurourology and Urodynamics, 2005, Vol.24, No.2,
p.142-148JP 2004-519454 A (HOFFMANN LA ROCHE & CO
AG F), 02.07.2004JP 2000-247998 A (KISSEI PHARM CO., LTD.),
12.09.2000EP 600675 A1 (KISSEI PHARM CO., LTD.),
08.06.1994JP 2000-247998 A (KISSEI PHARM CO., LTD.),
12.09.2000JP 06-220015 A (KISSEI PHARM CO., LTD.),
09.08.1994(57) 1. Фармацевтична композиція для лікування
уретеролітазу, яка містить як активний інгредієнт
похідне індоліну, представлене загальною форму-
лою:в якій R являє собою насичену або ненасичену
аліфатичну ацильну групу, яка може мати як заміс-
ник один або декілька атомів галогену, гідроксиг-рпу, нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу
алкоксикарбонілгрупу, циклоалкілгрупу або арилг-
рупу; гідроксіалкілгрупу; аліфатичну ацилоксіалкіл-
групу; нижчу алкілгрупу, яка містить як замісник
нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкокс-
икарбонілгрупу, арилзаміщену нижчу алкоксикар-
бонілгрупу, карбамоїлгрупу, моно- або ди(нижчий
алкіл)-заміщену карбамоїлгрупу або ціаногрупу;
ароматичну ацилгрупу, яка може містити як заміс-
ник один або декілька атомів галогену, фуроїлгру-
пу або піридилкарбонілгрупу; R¹ являє собою ціа-
ногрупу або карбамоїлгрупу; і R² являє собою
нижчу алкілгрупу, яка може мати як замісник один
або декілька атомів галогену, ціаногрупу або арил-
групу, або його фармацевтично прийнятна сіль.2. Фармацевтична композиція за п. 1, в якій вказа-
не похідне індоліну являє собою силодозин.3. Фармацевтична композиція за п. 1 або 2, в якій
вказана фармацевтична композиція являє собою
засіб для послаблення болю, що викликається
каменями в сечоводах, що сприяє виділенню ка-
менів сечоводів, що зменшує гідронефроз або опір
при введенні уретероскопа.4. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 1-
3, яка являє собою засіб для інгібування скорочу-
вальної функції сечоводу.5. Спосіб лікування уретеролітазу, при якому вво-
дять ефективну кількість похідного індоліну, пред-
ставленого загальною формулою:в якій R являє собою насичену або ненасичену
аліфатичну ацильну групу, яка може мати як заміс-
ник один або декілька атомів галогену, гідроксиг-

(13) C2

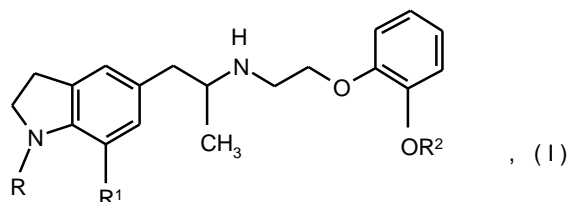
(11) 92765

(19) UA

рупу, нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонілгрупу, циклоалкілгрупу або арилгрупу; гідроксіалкілгрупу; аліфатичну ацилоксіалкілгрупу; нижчу алкілгрупу, яка містить як замісник нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонілгрупу, арилзаміщену нижчу алкоксикарбонілгрупу, карбамоїлгрупу, моно- або ди(нижчий алкіл)-заміщену карбамоїлгрупу або ціаногрупу; ароматичну ацилгрупу, яка може містити як замісник один або декілька атомів галогену, фууроїлгрупу або піридилкарбонілгрупу; R^1 являє собою ціаногрупу або карбамоїлгрупу; $i R^2$ являє собою нижчу алкілгрупу, яка може мати як замісник один або декілька атомів галогену, ціаногрупу або арилгрупу, або його фармацевтично прийнятної солі.

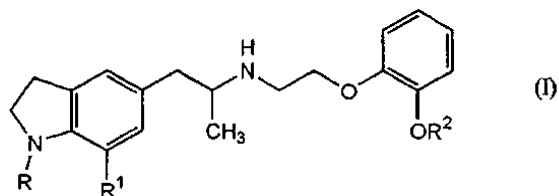
6. Спосіб за п. 5, в якому вказане похідне індоліну являє собою силодозин.

7. Застосування похідного індоліну, представлено-го загальною формулою:



Галузь техніки, до якої відноситься винахід

Даний винахід відноситься до фармацевтичних композицій для лікування уретеролітазу, які містять, як активний інгредієнт, похідні індоліну, представлені загальною формулою:



в якій R являє собою насичену або ненасичену аліфатичну ацильну групу, яка може мати як замісник один або декілька атомів галогену, гідроксигрупу, нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонілгрупу, циклоалкілгрупу або арилгрупу; гідроксіалкілгрупу; аліфатичну ацилоксіалкілгрупу; нижчу алкілгрупу, яка містить як замісник нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонілгрупу, арилзаміщену нижчу алкоксикарбонілгрупу, карбамоїлгрупу, моно- або ди(нижчий алкіл)-заміщену карбамоїлгрупу або ціаногрупу; ароматичну ацилгрупу, яка може містити як замісник один або декілька атомів галогену, фууроїлгрупу або піридилкарбонілгрупу; R^1 являє собою ціаногрупу або карбамоїлгрупу; $i R^2$ являє собою нижчу алкілгрупу, яка може мати як замісник один або декілька атомів галогену, ціаногрупу або арилгрупу, або їх фармацевтично прийнятні солі і подібні.

Більш конкретно, даний винахід включає фармацевтичні композиції, що використовуються для

в якій R являє собою насичену або ненасичену аліфатичну ацильну групу, яка може мати як замісник один або декілька атомів галогену, гідроксигрупу, нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонілгрупу, циклоалкілгрупу або арилгрупу; гідроксіалкілгрупу; аліфатичну ацилоксіалкілгрупу; нижчу алкілгрупу, яка містить як замісник нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонілгрупу, арилзаміщену нижчу алкоксикарбонілгрупу, карбамоїлгрупу, моно- або ди(нижчий алкіл)-заміщену карбамоїлгрупу або ціаногрупу; ароматичну ацилгрупу, яка може містити як замісник один або декілька атомів галогену, фууроїлгрупу або піридилкарбонілгрупу; R^1 являє собою ціаногрупу або карбамоїлгрупу; $i R^2$ являє собою нижчу алкілгрупу, яка може мати як замісник один або декілька атомів галогену, ціаногрупу або арилгрупу, або його фармацевтично прийнятної солі при виробництві фармацевтичної композиції для лікування уретеролітазу.

8. Застосування за п. 7, в якому вказане похідне індоліну являє собою силодозин.

полегшення болю, який викликається каменями в сечоводах, що полегшують виділення каменів сечоводів, що зменшують гідронефроз або які зменшують опір при введенні уретероскопа і так далі, які містять як активний інгредієнт (-)-1-(3-гідроксипропіл)-5-((2R)-2-{{2-[(2,2,2-трифторетил)окси]феніл}окси}етил)аміно)пропіл)-2,3-дигідро-1H-індол-7-карбоксамід (непатентована назва: силодозин) або його фармацевтично прийнятну сіль або інші і подібні.

Передумови створення винаходу

Уретеролітаз означає стан, при якому камені, що утворюються в нирках, знаходяться в сечоводі. Основними симптомами цього стану є коліки, гематурія, анурія, гідронефроз і пієлонефрит (див., наприклад, непатентне посилання 1).

Лікування уретеролітазу включає терапію лікарськими засобами, такими як літотриптики і анальгетики при коліці і т.п, а також хірургічне лікування, таке як дистанційна ударно-хвильова літотрипсія (ESWL), літотрипсія за допомогою ендоскопа і т.п. Анальгетики і спазмолітики призначають при основному симптомі уретеролітазу - болі. Однак, анальгетики - це тимчасова симптоматична терапія болю, і радикальне лікування не може бути проведене за допомогою тільки лікарських засобів. Крім того, ефект при використанні спазмолітиків як антихолінергічних засобів недостатній. Отже, необхідно мати засіб, який сприяє відходженню каменів сечоводу і зменшує біль завдяки сильній інгібіторній дії на скорочення сечоводу.

Що стосується α_1 -адренорецептора (AR), то відомі підтипи α_{1A} , α_{1B} і α_{1D} . Оскільки експресія мРНК і білка α_{1D} -AR виражена в більшій мірі в гладкій мускулатурі сечоводу людини, ніж α_{1A} - і α_{1B} -

AR, α_{1D} -AR вважається основним засобом, що сприяє скорочувальній функції сечоводу (див. непатентне посилання 2). У доповнення було показано, що антагоністи α_1 -AR, гідрохлорид тамсулозину, теразозин і доксазозин, ефективні для виведення каменів і зменшення болю у пацієнтів з уретеролітазом. Вважається, що вказані ефекти досягаються завдяки антагонізму у відношенні α_{1D} -AR (див. непатентні посилання 3 і 4).

α_{1A} -AR присутній в простаті, тоді як α_{1D} -AR в надмірній кількості присутній в кровоносних судинах, рівно як і в простаті (див. непатентне посилання 5). Два підтипи рецепторів беруть участь в скорочувальній функції сечоводу (див. непатентне посилання 6). Фактично відомо, що тамсулозину гідрохлорид зменшує тиск крові більш сильно, ніж сполука, представлена вищенаведеною загальною формулою (I) (див. непатентне посилання 7). Отже, застосування тамсулозину гідрохлориду при лікуванні уретеролітазу, мабуть, призведе до розладів в серцево-судинній системі.

Повідомлялося, що сполука, представлена вищенаведеною формулою (I), або її фармацевтично прийнятна сіль сприяє селективному α_{1A} -AR блокуючому ефекту (див. непатентне посилання 8), має інгібіторний ефект проти скорочення гладкої мускулатури і корисна як засіб для лікування дизурії, що супроводжується доброякісною гіперплазією передміхурової залози, і т.п. (див. патентні посилання 1-4). Однак, в цей час невідомо про наявність будь-якого зв'язку між α_{1A} -AR-блокуючим ефектом і уретеролітазом. Крім того, невідомо і відсутні будь-які повідомлення про те, що ці сполуки інгібують скорочувальну функцію сечоводу або можуть використовуватися як засіб для лікування уретеролітазу.

Патентне посилання 1: Публікація за патентом Японії H6-220015;

Патентне посилання 2: Міжнародна публікація № 99-15202, брошура;

Патентне посилання 3: Міжнародна публікація № 00-247998, брошура;

Патентне посилання 4: Міжнародна публікація № 05-85195, брошура;

Непатентне посилання 1: Hyojun Hinyokikagaku (Standard urology), the 6th edition, Igakusyosin, May 15, 2002, pp. 229-237;

Непатентне посилання 2: Neurourol Urodyn., 2005, Vol. 24, pp. 142-148;

Непатентне посилання 3: J. Urol., 2003, Vol. 170, pp. 2202-2205;

Непатентне посилання 4: J. Urol., 2005, Vol. 173, pp. 2010-2012;

Непатентне посилання 5: J. Pharmacol. Exp. Ther., 1995, Vol. 275, pp. 1035-1042;

Непатентне посилання 6: Eur. J. Pharmacol., 1996, Vol. 318, pp. 117-122;

Непатентне посилання 7: Int. J. Urol., 2001, Vol. 8, pp. 177-183;

Непатентне посилання 8: J. Pharmacol. Exp. Ther., 1999, Vol. 291, pp. 88-91.

Опис винаходу

Проблема, що вирішується за допомогою даного винаходу

Задачею даного винаходу є отримання фармацевтичних композицій для лікування уретеролітазу.

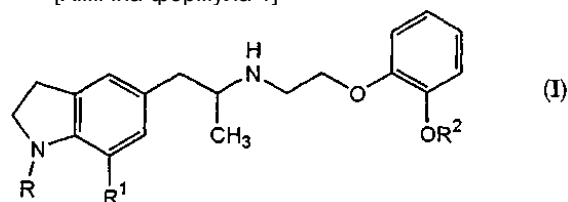
Способи розв'язання проблем, що розглядаються

Автори даного винаходу неупереджено досліджували вказані вище проблеми і несподівано виявили, що силодозин, який має лише невеликий α_{1D} -AR-блокуючий ефект, демонструє сильний інгібіторний ефект на скорочувальну функцію сечоводу і може використовуватися як засіб для зниження болю, що викликається каменями в сечоводах, полегшуюче виділення каменів сечоводів або введення уретероскопа, що і склало основу даного винаходу.

Таким чином, даний винахід відноситься до таких об'єктів, як:

[1] фармацевтична композиція для лікування уретеролітазу, яка містить як активний інгредієнт похідне індоліну, представлене вищенаведеною формулою (I):

[Хімічна формула 1]



в якій R являє собою насичену або ненасичену аліфатичну ацильну групу, яка може мати як замісник один або декілька атомів галогену, гідроксигрупу, нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонільгрупу, циклоалкілгрупу або арилгрупу; гідроксиалкілгрупу; аліфатичну ацилоксиалкілгрупу; нижчу алкілгрупу, яка містить як замісник нижчу алкоксигрупу, карбоксигрупу, нижчу алкоксикарбонільгрупу, арилзаміщену нижчу алкоксикарбонільгрупу, карбамоїлгрупу, моно- або ди(нижчий алкіл)-заміщену карбамоїлгрупу або ціаногрупу; ароматичну ацилгрупу, яка може містити як замісник один або декілька атомів галогену, фузоїлгрупу або піридилкарбонільгрупу; R¹ являє собою ціаногрупу або карбамоїлгрупу; і R² являє собою нижчу алкілгрупу, яка може мати як замісник один або декілька атомів галогену, ціаногрупу або арилгрупу, або його фармацевтично прийнятну сіль;

[2] фармацевтична композиція згідно з наведеним вище абзацом [1], де вказане похідне індоліну являє собою силодозин;

[3] фармацевтична композиція згідно з наведеними вище абзацами [1] або [2], де вказана фармацевтична композиція являє собою засіб для послаблення болю, що викликається каменями в сечоводах, сприяюче виділенню каменів сечоводів, що зменшує гідронефроз або опір при введенні уретероскопа;

[4] фармацевтична композиція згідно з наведеними вище абзацами [1]-[3], яка являє собою засіб для інгібування скорочувальної функції сечоводу;

[5] спосіб лікування уретеролітазу, який включає введення ефективної кількості похідного індо-

ліну, представленого вищенаведеною формулою (I), або його фармацевтично прийнятної солі;

[6] спосіб згідно з наведеним вище абзацом [5], де вказане похідне індоліну являє собою силодозин;

[7] застосування похідного індоліну, представленого вищенаведеною формулою (I), або його фармацевтично прийнятної солі при виробництві фармацевтичної композиції для лікування уретеролітазу;

[8] застосування згідно з наведеним вище абзацом [7], де вказане похідне індоліну являє собою силодозин; і т.п.

Ефект, що досягається при здійсненні даного винаходу

Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом демонструють сильний інгібіторний ефект відносно скорочувальної функції сечоводу і корисні при лікуванні уретеролітазу або т.п. Крім того, сполуки, представлені вищенаведеною формулою (I), будучи активним інгредієнтом фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом, є високо селективними інгібіторами α_{1A} -AR, в порівнянні з α_{1D} -AR (див. непатентне посилання 8), і, в зв'язку з цим, вважається, що вони можуть застосовуватися як засіб для лікування уретеролітазу, який демонструє менш виражений несприятливий ефект на серцево-судинну систему.

Короткий опис креслень

[Фіг.]

На Фіг. проілюстрований інгібіторний ефект на скорочувальну функцію сечоводу. На горизонтальній і вертикальній осях показані концентрації фенілефрину ($\log M$) і скорочувальна здатність сечоводу (%), відповідно. На наведеному кресленні кожна з кривих ілюструє відповідь, що отримується, в залежності від концентрації фенілефрину (контроль: контрольна група) (незачорнені кружки), в присутності 3×10^{-10} моль/л (зачорнені кружки), 1×10^{-9} моль/л (зачорнені трикутники) або 3×10^{-9} моль/л (зачорнені кружки) сполуки 1.

Найкращий спосіб здійснення винаходу

Застосовно до вищенаведеної формули (I), термін «нижчий алкіл» означає лінійноланцюговий або розгалужений алкіл, що містить від 1 до 6 атомів вуглеводу; термін «гідроксіалкіл» означає лінійноланцюговий або розгалужений алкіл, що містить від 2 до 6 атомів вуглеводу і гідроксильну групу, при умові, що вказана гідроксильна група знаходиться в положенні, відмінному від соположення; термін «нижчий алкокси» означає лінійноланцюговий або розгалужений алкокси, що містить від 1 до 6 атомів вуглеводу; і термін «циклоалкіл» означає 5-7-членний циклічний алкіл, відповідно. Додатково, термін «арил» означає ароматичну вуглеводневу групу, таку як феніл, нафтил або т.п.; термін «ароматичний ацил» означає ацил карбонової кислоти, що містить арил, який має вказане вище значення; термін «насичений або ненасичений аліфатичний ацил» означає ацил лінійноланцюгової або розгалуженої алкілкарбонової кислоти, що містить від 2 до 1 атомів вуглеводу, або ацил лінійноланцюгової або розгалуженої алкенілкарбонової кислоти, що містить від 3 до 7 атомів вуглеводу; і термін «аліфатичний ацилокси» означає алкілкарбонілоксиалкіл, що містить

гідроксильну групу, заміщену вказаною вище аліфатичною ацильною групою, і 4-13 атомів вуглеводу, за умови, що вказана аліфатична ацильна група знаходиться в положенні, відмінному від α -положення, відповідно. Крім того, термін «фуруіл» означає 2-фуруіл або 3-фуруіл; термін «піридилкарбоніл» означає 2-піридилкарбоніл, 3-піридилкарбоніл або 4-піридилкарбоніл; і термін «атом галогену» означає атом фтору, атом хлору або атом бром, відповідно. Додатково, похідні індоліну загальної формули (I) можуть бути отримані згідно з способом, описаним в патентному посиланні 1. Як похідні індоліну, що розглядаються, переважний вказаний вище силодозин, що являє собою (-)-1-(3-гідроксипропіл)-5-((2R)-2-((2-((2,2,2-трифторетил)окси)феніл)окси)етил)аміно)пропіл)-2,3-дигідро-1H-індол-7-карбоксамід (іноді званий в тексті даного опису як «сполука 1»).

Як фармацевтично прийнятна сіль вищенаведеного похідного індоліну можна вказати, наприклад, як сполуку, що містить карбоксигрупу, сіль, отриману на основі неорганічної основи, такої як основа натрію, калію, кальцію і т.п., сіль, отриману на основі органічної основи, такої як морфолін, піперидин або т.п. Крім того, в числі похідних індоліну, коли вони являють собою сполуку, в якій R означає заміщену або незаміщену ацильну групу або фуруільну групу, як репрезентативні приклади адитивної солі одноосновної кислоти можна вказати сіль, отриману з використанням такої кислоти, як хлористоводнева кислота, бромводнева кислота, сірчана кислота, метансульфонова кислота, бензолсульфонова кислота, п-толуолсульфонова кислота, оцтова кислота, лимонна кислота, бурштинова кислота, винна кислота, 2,4-диметилбензолсульфонова кислота, 2,4,6-триметилбензолсульфонова кислота, (+)-камфорсульфонова кислота, (-)-камфорсульфонова кислота, 4-хлорбензолсульфонова кислота, 2-нафталінсульфонова кислота, 1-бутансульфонова кислота, фумарова кислота, глютамінова кислота, аспарагінова кислота і т.п. Додатково, в числі похідних індоліну, коли вони являють собою сполуку, в якій R означає заміщену алкільну групу або піридилкарбонільну групу, як репрезентативні приклади адитивної солі одноосновної кислоти можна вказати сіль, отриману з використанням такої кислоти, як хлористоводнева кислота, бромводнева кислота, сірчана кислота, метансульфонова кислота, п-толуолсульфонова кислота, 2,4-диметилбензолсульфонова кислота, 2,5-диметилбензолсульфонова кислота, 2,4,6-триметилбензолсульфонова кислота, (+)-камфорсульфонова кислота, (-)-камфорсульфонова кислота, 4-хлорбензолсульфонова кислота, 2-нафталінсульфонова кислота, 1-бутансульфонова кислота, фумарова кислота, глютамінова кислота, аспарагінова кислота і т.п.

Фармацевтична композиція згідно з даним винаходом може бути отримана при відповідному змішуванні компонентів або при розведенні і розчиненні з використанням відповідних ексципієнтів, таких як наповнювачі, засоби, що сприяють розк-

ладанню, зв'язуючі речовини, замаслювані, розріджувачі, буфери, засоби, які сприяють підтримці ізотонічності, антисептики, зволожувачі, емульгатори, диспергувальні засоби, стабілізатори, домішки, що поліпшують розчинення, і т.п., з виготовленням композиції на основі отриманої суміші, відповідно до відомих в даній галузі процедур.

Як репрезентативні приклади дозованої форми фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом можна відмітити, наприклад, композицію для перорального введення, наприклад, порошки, гранули, дрібне пілюлі-драже, сиропи в сухій формі, таблетки, капсули і т.п.; композицію для парентерального введення, наприклад, ін'єктовані форми, пластири, супозиторії і т.п., де композиція для перорального введення переважна.

Дозування похідного індоліну, представленого вищенаведеною формулою (I), може бути відповідним чином визначене з урахуванням ваги тіла конкретного пацієнта, його віку, статі і тяжкості захворювання. Так, наприклад, дозування, що застосовується у випадку дорослого пацієнта, складає від 1 до 100 мг на день, переважно від 1 до 50 мг на день, в режимі перорального введення. Дозування силодозину, що застосовується у випадку дорослого пацієнта, складає від 2 до 32 мг на день, переважно від 4 до 16 мг на день, в режимі перорального введення. Вказане денне дозування може бути розділене на дві або більше доз на день для прийому.

Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом надають інгібіторний ефект на скорочення сечоводів і, в зв'язку з цим, можуть використовуватися для лікування уретеролітіазу. У контексті даного опису уретеролітіаз означає як уретеролітіаз, діагностований за наявності болю, присутності крові в сечі і анурії, так і уретеролітіаз, діагностований за результатами ультрасонографії, оглядової рентгенографії черевної порожнини, внутрішньовенної урографії, комп'ютерної томографії і т.п. Крім того, лікування уретеролітіазу включає використання інгібітору скорочувальної функції сечоводів, як засіб для полегшення болю, що викликається каменями сечоводів, включаючи коліки і тупий біль, який сприяє виділенню каменів сечоводів, що зменшує гідронефроз або опір при введенні уретероскопа і т.п.

Приклади

Далі даний винахід пояснюється більш детально за допомогою ілюструючих його стандартних прикладів і прикладу. Однак даний винахід не обмежується наведеним ілюстративним матеріалом.

[Стандартний приклад 1] Кількісна оцінка експресії мРНК в сечоводі хом'яка

У 8-тижневих самців сірійського хом'яка витягують двосторонні сечоводи і проводять екстракцію РНК з використанням набору ISOGEN (Nippon Gene, Тоуама). У 8-тижневих самців сірійського хом'яка також витягують серце і аорту і проводять екстракцію мРНК для клонування кДНК трьох підтипів α_1 (α_{1a} , α_{1b} , і α_{1d})-AR.

Створюють праймери на основі відомої послідовності для α_{1b} -AR хом'яка (J04084), α_{1a} -AR щура (NM_017191) і α_{1d} -AR щура (NM_024483) з використанням системи експресії Primer Express Primer 2.0 (Applied Biosystems, Chiba). Отримані прайме-

ри показані у вигляді послідовності № 1 і № 2 (α_{1a}), № 3 і № 4 (α_{1b}) і № 5 і № 6 (α_{1d}). кДНК синтезують на основі сумарної РНК (1 мкг) з серця і аорти з використанням суміші реагентів для проведення ЗТ-ПЛР (суміш реагентів для проведення двостадійної ЗТ-ПЛР, Applied Biosystems). Після цього проводять ампліфікацію кДНК з використанням суміші реагентів для ПЛР (AccuPrime (zareєстрований товарний знак) Taq ДНК-полімераза високої точності, Invitrogen). Отримують часткові α_1 -AR плазмиди з використанням pCRII-TOPO (zareєстрований товарний знак) і використовують їх як стандарт при проведенні ЗТ-ПЛР в масштабі реального часу. Отримують Taq Man праймери і зонди для послідовностей α_1 -AR з використанням системи експресії Primer Express Primer (Applied Biosystems). Отримані праймери показані у вигляді послідовності № 7 і № 8 (α_{1a}), № 10 і № 11 (α_{1b}) і № 13 і № 14 (α_{1d}) і зонди показані у вигляді послідовності № 9 (α_{1a}), № 12 (α_{1b}) і № 15 (α_{1d}). кДНК синтезують на основі сумарної РНК з використанням суміші реагентів для проведення ЗТ-ПЛР (Applied Biosystems, суміш реагентів для проведення двостадійної ЗТ-ПЛР). Далі кДНК використовують як матрицю і оцінюють реакцію з використанням Taq Man основної універсальної суміші для ПЛР (Taq Man Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems)). Вимірювання всіх зразків проводять в подвійному повторі. Результати оцінки зразків показані в таблиці 1. В сечоводі хом'яка відмічається виражена експресія мРНК α_1 -AR всіх трьох типів (88,1%).

Таблиця 1

Підтип	Рівень експресії мРНК (кількість піків/нг сумарної РНК)	Рівень експресії (%)
α_{1a}	30,8±7,5	10,7
α_{1b}	3,5±1,3	1,2
α_{1d}	254,5±113,0	88,1

[Стандартний приклад 2]

Інгібіторні ефекти різних антагоністів α_1 -AR оцінюють з використанням методики, описаної в прикладі 1. Використовують тамсулозину гідрохлорид (антагоніст $\alpha_{1A/1D}$ -AR), нафтопідил (антагоніст α_{1D} -AR), BMY-7378 (антагоніст α_{1D} -AR) і хлоретилклонідин (антагоніст α_{1B} -AR). У результаті, несподівано було виявлено, що, хоча сполука 1 і являє собою селективний антагоніст α_{1A} -AR, вона демонструє високий показник pA2, що видно з даних таблиці 2.

Таблиця 2

Блокатор α_1 -AR	Підтип за селективністю	Показник pA2
Сполука I	α_{1A}	9,44
тамсулозину гідрохлорид	$\alpha_{1A/1D}$	9,85
нафтопідил	α_{1D}	6,54
BMY-7378	α_{1D}	5,75
хлоретилклонідин	α_{1D}	<5

[Приклад 1]

Хом'яків омертвляють шляхом швидкого знекровлення під ефірним наркозом і витягують правий і лівий сечоводи. Правий і лівий сечоводи відділяють від з'єднувальної тканини в розчині Кребса і отримують препарати каналців. Препарат на основі сечоводу суспендують у ванночці для органів, що містить розчин Кребса, підтримуючи в ній температуру 37°C і безперервно пропускаючи газову суміш, що складається з 95% кисню і 5% діоксиду вуглеводу. У препараті в стані спокою створюють початкове розтягувальну напругу, що дорівнює приблизно 0,1 г. За допомогою динамометра ізометрично вимірюють напругу і реєструють покази, використовуючи множинний самописець. Після створення в препараті розтягувальної напруги проводять його обробку сполукою 1, в кожній з концентрацій, що досліджуються. Через 30 хвилин додають фенілефрин в загальній кількості 1×10^{-7} моль/л, в зростаючій концентрації (на 0,5-log) і будують криві, що описують залежність ефекту, який спостерігається, від концентрації. Показники скорочення перед додаванням 1×10^{-3} моль/л фенілефрину і після додавання 1×10^{-7} моль/л фенілефрину виражають у вигляді 0% і 100%, відповідно. Як показано на Фіг., в препараті виділеного сечоводу хом'яка сполука 1 в низьких концентраціях викликає залежний від концентрації паралельний зсув праворуч кривої концентраційної залежності для фенілефрину. Це означає, що сполука 1 інгібує індуковане фенілефрином скорочення сечоводу в залежному від концентрації режимі, і, отже, вказана сполука 1 може використовуватися для послаблення болю і полегшення виділення каменів сечоводів і т.п.

Як відмічалось вище, показано, що похідне індоліну, представлене вищенаведеною загальною формулою (I), типовим прикладом якого є сполука 1 або її фармацевтично прийнятні солі, інгібує індуковане фенілефрином скорочення сечоводів в залежному від концентрації режимі і може використовуватися для послаблення болю, викликаного каменями сечоводів, для полегшення виділення каменів з сечоводів і т.п.

Промислова застосовність

Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом надзвичайно корисні як засіб для лікування уретеролітіазу і аналогічних патологій.

Опис наведеного в тексті списку послідовностей

<Послідовність № 1> Послідовність № 1 означає 5'-праймер, використаний при клонуванні часткової послідовності, що відповідає α_{1a} -адренорецептора хом'яка.

<Послідовність № 2> Послідовність № 2 означає 3'-праймерну послідовність, використану при клонування часткової послідовності, що відповідає α_{1a} -адреналіновому рецептору хом'яка.

<Послідовність № 3> Послідовність № 3 означає 5'-праймерну послідовність, використану при клонуванні часткової послідовності, що відповідає α_{1b} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 4> Послідовність № 4 означає 3'-праймерну послідовність, використану при клонуванні часткової послідовності, що відповідає α_{1b} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 5> Послідовність № 5 означає 5'-праймерну послідовність, використану при клонуванні часткової послідовності, що відповідає α_{1d} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 6> Послідовність № 6 означає 3'-праймерну послідовність, використану при клонуванні часткової послідовності, що відповідає α_{1d} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 7> Послідовність № 7 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) 5'-праймерну послідовність, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1a} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 8> Послідовність № 8 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) 3'-праймерну послідовність, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1a} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 9> Послідовність № 9 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) послідовність зонда, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1a} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 10> Послідовність № 10 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) 5'-праймерну послідовність, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1b} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 11> Послідовність № 11 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) 3'-праймерну послідовність, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1b} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 12> Послідовність № 12 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) послідовність зонда, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1b} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 13> Послідовність № 13 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) 5'-праймерну послідовність, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1d} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 14> Послідовність № 14 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) 3'-праймерну послідовність, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1d} -адренорецептору хом'яка.

<Послідовність № 15> Послідовність № 15 означає TaqMap (зареєстрований товарний знак) послідовність зонда, використану в процедурі кількісної ЗТ-ПЛР, що проводиться в масштабі реального часу, для кількісної оцінки мРНК α_{1d} -адренорецептору хом'яка.

СПИСОК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.

<120> Фармацевтичний засіб для лікування уретеролітіазу

<130> PCT-A0633-00

<150> JP2005/339188

<151> 2005-11-24

<160> 15

<170> PatentIn версія 3.1

<210> 1

<211> 18

<212> ДНК

<213> Mesocricetus auratus

<400> 1

gggctactgg gcctttgg

18

<210> 2

<211> 24

<212> ДНК

<213> Mesocricetus auratus

<400> 2

ggagcatggg tatatgatag gggt

24

<210> 3

<211> 19

<212> ДНК

<213> Mesocricetus auratus

<400> 3

cgagcaactc cacactgcc

19

<210> 4

15	92765	16
<211> 21		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 4		
ctcttggcca cgatgtagac c		21
<210> 5		
<211> 23		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 5		
gccactatgg aggttctagg ctt		23
<210> 6		
<211> 22		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 6		
cgggttcaca cagctattga ag		22
<210> 7		
<211> 23		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 7		
cctcaagacg gacaagtcag act		23
<210> 8		
<211> 17		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 8		
cctgccggga cgtttttt		17

17	92765	18
<210> 9		
<211> 27		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 9		
cgagcaagtg actcttcgta tccaccg		27
<210> 10		
<211> 30		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 10		
gttccatagc tgtcaaactt tttaagttct		30
<210> 11		
<211> 23		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 11		
aagatgaaca ttccgaccac aat		23
<210> 12		
<211> 28		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 12		
cagggaagaaag aaagcagcca aaaccttg		28
<210> 13		
<211> 22		
<212> ДНК		
<213> Mesocricetus auratus		
<400> 13		

ccttagcctc tgcaccatct ct

22

<210> 14

<211> 23

<212> ДНК

<213> *Mesocricetus auratus*

<400> 14

ggtcataatg gctgggtact tga

23

<210> 15

<211> 19

<212> ДНК

<213> *Mesocricetus auratus*

<400> 15

accggtacgt gggcgtgcg

19

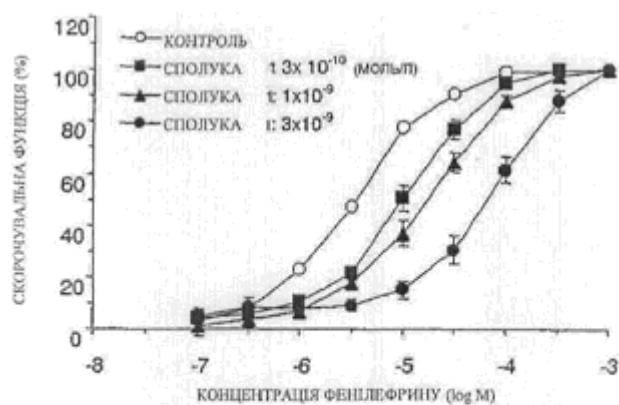


Fig.