



УКРАЇНА

(19) UA (11) 93226 (13) C2

(51) МПК

C07D 487/10 (2006.01)

A61K 31/4188 (2006.01)

A61P 25/02 (2006.01)

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

(54) (4R)-1'-[(2E)-3-(3,4-ДИХЛОРФЕНІЛ)ПРОП-2-ЕН-1-ІЛ]-2Н,5Н-СПІРО[ІМІДАЗОЛІДИН-4,3'-ІНДОЛ]-2,2',5(1'Н)-ТРІОН ТА ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ

1

(21) а200809311
(22) 06.02.2007
(24) 25.01.2011
(86) PCT/SE2007/000107, 06.02.2007
(31) 60/771,119
(32) 07.02.2006
(33) US
(46) 25.01.2011, Бюл.№ 2, 2011 р.
(72) ЛУНГ КАРМЕН, СА, ТОМАСЕВСКИ МИРОСЛАВ, СА, ВУ САЙМОН, СА
(73) АСТРАЗЕНЕКА АБ, SE
(56) EP 0066378 (A1) 08.12.1982
EP 0028906 (A1) 20.05.1981
WO 2004100865 (A2) 25.11.2004
WO 2005049601 (A1) 02.06.2005
WO 0105790 (A1) 25.01.2001
(57) 1. Сполука (4R)-1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2Н,5Н-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'Н)-тріон чи її сіль.
2. Сполука за п. 1 для застосування у терапії.
3. Застосування сполуки (4R)-1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2Н,5Н-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'Н)-тріону чи її

2

солі у виробництві медикаменту для лікування гострих та/чи хронічних больових розладів.

4. Застосування за п. 3, де хронічним больовим розладом є гострий біль.

5. Застосування за п. 3, де хронічним больовим розладом є невропатичний біль.

6. Застосування за будь-яким з пп. 3-5, де больовим розладом є будь-який гострий та хронічний запальний біль, гострий та хронічний ноцицептивний біль, поперековий біль, постоперативний біль, вісцеральний біль типу хронічного тазового болю, цистит, включаючи інтерстиціальний цистит та біль, пов'язаний з цим, ішемічний, сидничний біль, розсіяний склероз, артрит, фіброміалгія, індукований опіками біль та/або запальний біль в результаті опіків, біль та інші ознаки та симптоми, пов'язані з псоріазом, біль та інші ознаки та симптоми, пов'язані з раком, блюванням, нетриманням сечі, гіперактивним сечовим міхуром, ВІЛ-невропатією, шлунково-стравохідною рефлюксною хворобою (ШСРХ), синдромом подразненого кишечника (СПК), запальною хворобою кишечника (ЗХК) та/або панкреатитом, включаючи ознаки та/або симптоми, пов'язані з вказаними хворобами.

Заявлений винахід стосується нових сполук, фармацевтичних композицій з вмістом вказаних сполук та застосування вказаних сполук у терапії. Заявлений винахід крім того стосується способів отримання вказаних сполук та застосування інтегралів у їх отриманні.

Больова чутливість у ссавців є наслідком активування периферійних закінчень сукупності спеціалізованих сенсорних нейронів, відомих як ноцирецептори. Капсаїцин активний інгредієнт гострих перців, дає подовжене активування ноцирецепторів, а також залежну від дози больову чутливість у людей. Клонування ванілоїдного рецептору 1 (VR1 або TRPV1) демонструє, що VR1 є молекулярною ціллю для капсаїцину та його аналогів (Caterina, M.J., Schumacher, M.A., et. al. Nature (1997) v. 389 p. 816-824). Функціональні дослідження, застосо-

вуючи VR1 свідчать, що він є також активованим шкідливим жаром, підкисленням тканин та іншими запальними медіаторами (Tominaga, M., Caterina, M.J, et, al, Neuron (1998) v, 21, p. 531-543), Експресія VR1 також регулюється після пошкодження типу периферійних нервів, що призводить до невропатичного болю, Ці властивості VR1 роблять його високо важливою ціллю для болю та хвороб, охоплюючи запалення, Тоді як агоністи рецептору VR1 можуть діяти як анагетика руйнуванням ноцирецептору, застосування агоністів, як-то капсаїцин та його аналоги є обмеженим внаслідок їх гостроти, нейротоксичності та індукції гіпотермії. На відміну, агенти, що блокують активність VR1, могли б бути більш корисними. Антагоністи могли б підтримувати анагетичні властивості, але запобігати побічній дії гостроти та нейротоксичності.

(13) C2

(11) 93226

(19) UA

Сполуки з VR1-інгібіторною активністю, можна думати, мають потенційне застосування для лікування та/або профілактики розладів, як-то біль, особливо біль запального або травматичного походження, як-то артрит, ішемія, рак, фіброміалгія поперекового біль та постоперативний біль (Walker et al J Pharmacol Exp Ther (2003) Jan, 304(1) 56-62). На додаток до цього вісцерального болю, як-то хронічний тазовий біль, цистит синдром подразненого кишечника (СПК), панкреатит тощо, а також невропатичний біль, як-то сідничний біль, ВІЛ-невропатія, розсіяний склероз, тощо (Walker et al ibid, Rashid et al J Pharmacol Exp Ther (2003) Mar 304(3) 940-8), є потенційні больові стани, що можна було б лікувати інгібіторами VR1. Ці сполуки, можна також думати, є потенційно корисними для запальних розладів типу астми, кашлю, запальної хвороби кишечника (ЗХШ) (Hwang та Oh Curg Opin Pharmacol (2002) Jun, 2(3) 235-42) Сполуки з блокувальною активністю стосовно VR1 є також корисними для сверблячки та хвороб шкіри типу псоріазу та для хвороби шлунково-стравохідний рефлекс (ХШСР), блювота, рак, нетримання сечі та гіперактивний сечовий міхур (Yiangou et al BJU Int (2001) Jun; 87(9):774-9, Szallasi Am J Clin Pathol (2002) 118: 110-21). Інгібітори VR1 мають також потенційне застосування для лікування та/або профілактики від піддавання дії активаторів VR1 типу капсаїцину або сльозогінного газу, кислоти або жару (Szallasi ibid).

Наступне потенційне застосування стосується лікування толерантності до активаторів VR1.

Інгібітори VR1 можуть також бути корисними у лікуванні інтерстиціального циститу та болю, пов'язаного з інтерстиціальним циститом.

Інгібітори VR1 можуть також бути корисними у лікуванні ожиріння та мігрені; WO2006/007851 розкриває застосування антагоністів VR1 для лікування ожиріння.

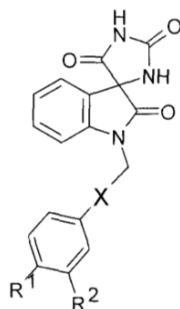
EP 66378 та EP 28906 розкривають спіро-похідні гідантоїну для застосування як інгібітори редуктази альдози.

WO 92/07830 описує спіро-похідні гідантоїну та їх застосування як антагоністів пептиду вивільнення гастрину.

Об'єктом заявленого винаходу є забезпечення сполук вказаного типу, котрі виявляють інгібіторну активність стосовно ванілоїдного рецептору 1 (VR1), разом з гарним метаболізмом ліків та фармакокінетичними (DMPK) властивостями.

Наступним об'єктом є забезпечення таких сполук, що виявляють поліпшену потужність *in vitro*, поліпшену селективність та поліпшену розчинність.

Відповідно, заявлений винахід стосується сполук формули I,



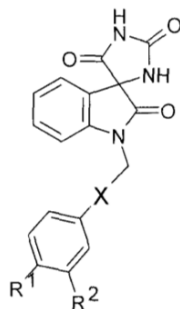
де R^1 та R^2 , незалежно, - галоген або C_{1-3} галогеналкіл,

X - етеніл або етиніл,

або їх солей,

за умови, що ними не є 1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион у рацемічній формі.

Одне втілення винаходу стосується сполук формули I,



де R^1 - галоген, а R^2 - C_{1-3} галогеналкіл.

Ще одне втілення винаходу стосується сполук формули I,

де R^1 - хлор або флуор та R^2 - C_{1-3} хлоралкіл або C_{1-3} флуоралкіл.

Наступне втілення винаходу стосується сполук формули I,

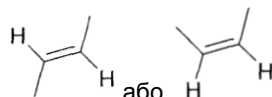
де R^1 - хлор.

Одне втілення винаходу стосується сполук формули I,

де R^1 та R^2 - хлор.

Ще одне втілення винаходу стосується сполук формули I,

де X -



Наступне втілення винаходу стосується сполук формули I,

де X - етиніл.

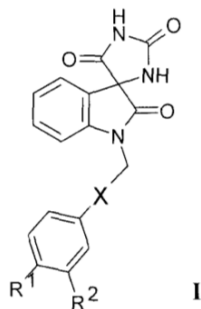
Одне втілення винаходу стосується сполук формули I, вибраних з групи:

1'-[(2E)-3-(3-хлор-4-трифлуорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион та

1'-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион.

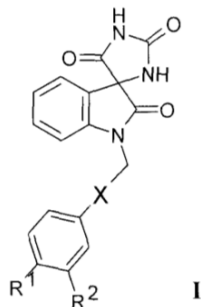
Ще одне втілення винаходу стосується сполук формули I для застосування як медикаменту, за умови, що сполукою не є 1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трионом у рацемічній формі.

Наступне втілення винаходу стосується сполук формули I



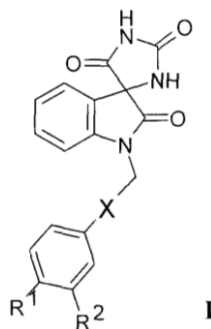
де R^1 та R^2 , незалежно, - галоген або C_{1-3} галогеналкіл,
X - етеніл або етиніл,
або їх солей,
для застосування як медикаменту для лікування опосередкованих VR1 розладів.

Одне втілення винаходу стосується застосування сполуки, що має формулу I



де R^1 та R^2 , незалежно, - галоген або C_{1-3} галогеналкіл,
X - етеніл або етиніл,
або її солі,
у виробництві медикаменту,
за умови, що сполукою не є 1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион у рацемічній формі; в одному втіленні це застосування є для лікування опосередкованих VR1 розладів.

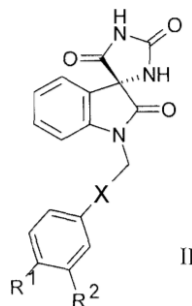
Ще одне втілення винаходу стосується застосування сполуки, що має формулу I



де R^1 та R^2 , незалежно, - галоген або C_{1-3} галогеналкіл,

X - етеніл або етиніл,
або її солі,

у виробництві медикаменту для лікування опосередкованих VR1 розладів. Заявлений винахід також стосується по суті чистого одиничного енантіомеру, що має формулу II:



де R^1 та R^2 , незалежно, - галоген або C_{1-3} галогеналкіл,

X - етеніл або етиніл,
або його солі.

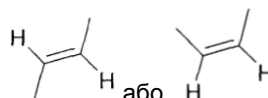
Одне втілення винаходу стосується енантіомеру формули II, де R^1 - галоген та R^2 - C_{1-3} галогеналкіл.

Ще одне втілення винаходу стосується енантіомеру формули II, де R^1 - хлор або флуор та R^2 - C_{1-3} хлоралкіл або C_{1-3} флуоралкіл.

Наступне втілення винаходу стосується енантіомеру формули II, де R^1 - хлор.

Одне втілення винаходу стосується енантіомеру формули II, де R^1 та R^2 - хлор.

Ще одне втілення винаходу стосується енантіомеру формули II, де X -



Наступне втілення винаходу стосується енантіомеру формули II, де X - етиніл.

Одне втілення винаходу стосується енантіомеру формули II, вибраного з групи:

(4R)-1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион,

(4R)-1'-[(2E)-3-(3-хлор-4-трифлуорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион, та

(4R)-1'-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион.

Нижченаведене є визначеннями різних термінів, застосовуваних в описі та формулі винаходу для опису заявленого винаходу.

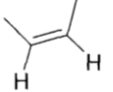
Для запобігання невизначеності слід розуміти, що там, де у цьому описі група кваліфікована як 'визначено вище', вказана група охоплює перше та найширше визначення, а також кожне та усі з інших визначень цієї групи.

Якщо не вказане інше у цьому описі, номенклатура застосовувана у цьому описі, загалом відповідає прикладам та правилам, встановленим у Nomenclature of Organic Chemistry, Sections A, B, C, D, E, F, and H, Pergamon Press, Oxford, 1979, що уведено тут як довідку стосовно хімічної структури та правил називання хімічних структур.

Для запобігання невизначеності слід розуміти, що у цьому описі "C₁₋₃" означає групу, що має 1, 2, або 3 атоми карбону.

У цьому описі, якщо не вказане інше, термін "алкіл" охоплює алкіли з лінійним та нелінійним ланцюгом, як-то, але без обмеження метил, етил, н-пропіл, і-пропіл, н-бутил, і-бутил, втор-бутил, т-бутил, н-пентил, і-пентил, т-пентил, нео-пентил н-гексилабо і-гексил, т-гексил.

Як визначено у цьому описі,  представляє

ляє транс-етеніл груп та  представляє

цис-етеніл груп.

У цьому описі, якщо не вказане інше, термін "галоген" може означати флуор, йод, хлор або бром.

Термін "галогеналкіл" позначає алкіл, де алкіл є заміщеним галогеном від одного до повністю заміщеного, де повністю заміщений галогеналкіл може бути представляєм формулою C_hL_{2h+1}, де L - галоген, а "h" представляє число атомів карбону, коли є більше, ніж один галоген, тоді галогени можуть бути тими ж або різними та вибраними з групи F, Cl, Br та I, слід розуміти, що терміни "алкіл" та "галоген" мають ті ж визначення, як виявлені тут. У деяких втіленнях, галогеналкілом є "C₁₋₃галогеналкіл", а група містить 1-3 карбони, деякі втілення містять 1-2 карбони, а деякі втілення містять 1 карбон. Коли галогеналкіл є повністю заміщеним атомами галогену, цю групу позначено тут як пергалогеналкіл, одним прикладом є алкіл, повністю заміщений атомами флуору та позначений тут як "перфлуоралкіл". У деяких втіленнях, приклади галогеналкілу охоплюють, але без обмеження, дифлуорметил, флуорметил, 2,2,2-трифлуоретил, 2,2-дифлуоретил, 2-флуоретил, 1,2,2-трифлуоретил, 1,2-дифлуоретил, 1,1-дифлуоретил, 1,1,2-трифлуоретил, 3,3,3-трифлуорпропіл, 2,2-дифлуорпропіл, 3,3-дифлуорпропіл, 3-флуорпропіл, 2,3,3-трифлуорпропіл, 2,3-дифлуорпропіл, 2,2,3,3,3-пентафлуорпропіл, 2,2,3,3-тетрафлуорпропіл,

2,2,3-трифлуорпропіл, 1,2,3,3-тетрафлуорпропіл, 1,2,3-трифлуорпропіл, 3,3-дифлуорпропіл, 1,2,2,3-тетрафлуорпропіл, 4,4-дифлуорбутил, 3,3-дифлуорбутил, 4,4,4-трифлуорбутил, 3,3-дифлуорбутил, тощо. У деяких втіленнях, приклади перфлуоралкілу охоплюють, без обмеження, трифлуорметил, пентафлуоретил, гептафлуорпропіл, 1,2,2,2-тетрафлуор-1-трифлуорметил-етил, тощо. В одному втіленні термін "C₁₋₃галогеналкіл" може охоплювати, але без обмеження флуорметил, дифлуорметил, трифлуорметил, флуор-етил, дифлуоретил або бром пропіл.

Заявлений винахід стосується сполук формули I та енантіомерів формули II, які визначено вище, а також їх солей. Солі для застосування у фармацевтичних композиціях повинні бути фармацевтично прийнятними солями, але інші солі можуть бути корисними при отриманні сполук формули I та/або енантіомерів формули II.

Придатною фармацевтично прийнятною сіллю сполук та енантіомерів винаходу є, наприклад, кислотна або основно-адитивна сіль, наприклад, сіль з неорганічною або органічною основою або кислотою. На додаток, придатною фармацевтично прийнятною сіллю сполук та енантіомерів винаходу є сіль лужного металу, сіль лужноземельного металу або сіль з органічною основою.

Інші фармацевтично прийнятні солі та способи отримання цих солей можуть бути виявлені, наприклад, у Remington's Pharmaceutical Sciences (18th Edition, Mack Publishing Co.).

Винахід також стосується будь-яких та усіх таутомерних форм сполук формули I та енантіомери формули II.

Способи отримання

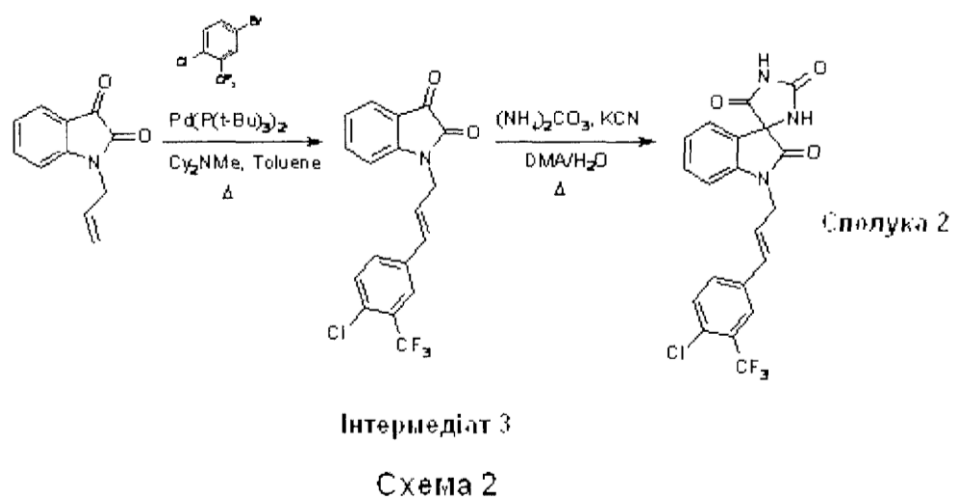
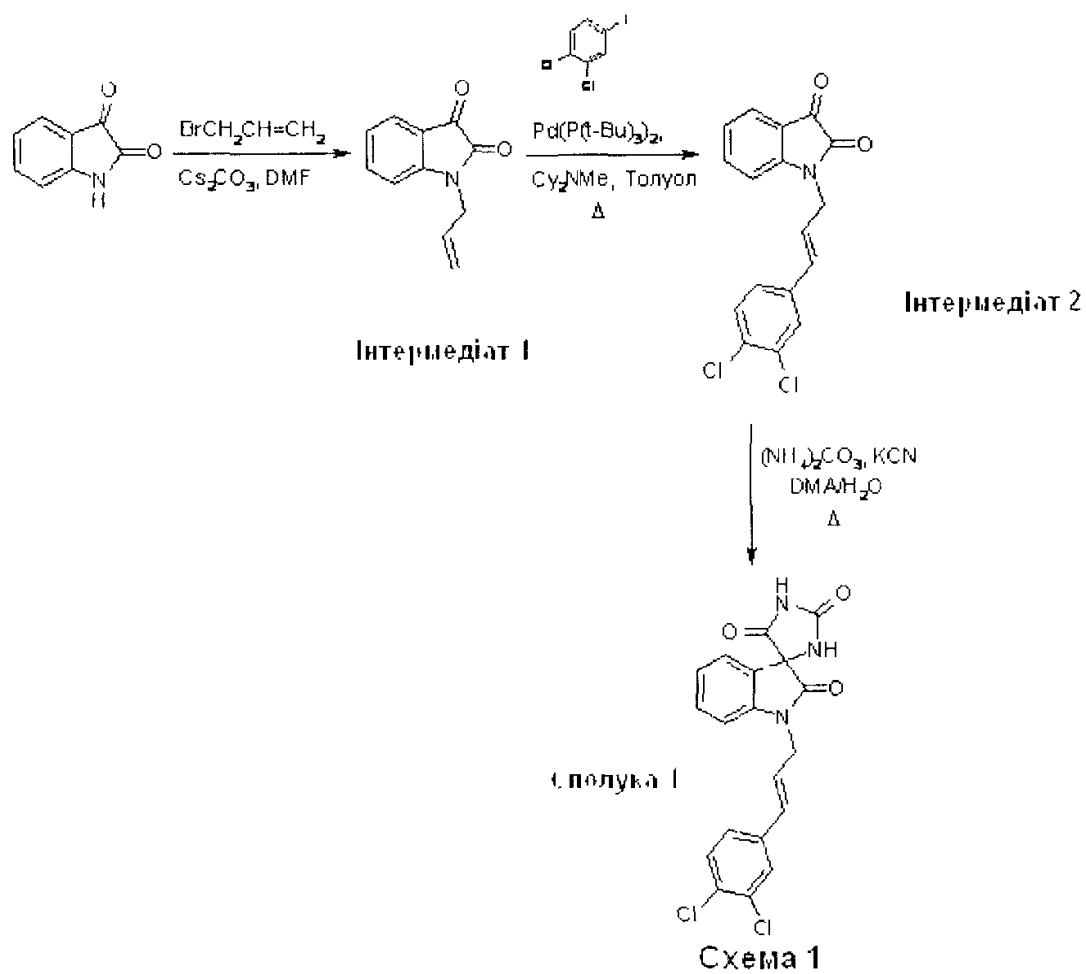
Заявлений винахід стосується способів отримання сполук та енантіомерів формули I та II, або їх солей.

При описі таких способів слід розуміти що там, де прийнятно, придатні захисні групи треба додавати, а далі видаляти з різних реагентів та інтермедіатів таким чином, що зрозумілий фахівцю з органічного синтезу. Звичайні процедури застосування таких захисних груп, а також приклади придатних захисних груп є описаними, наприклад, у "Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Green, P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience, New York, (1999). Довідки та описи інших придатних реакцій є у довідниках з органічної хімії, наприклад, "Advanced Organic Chemistry", March, 4th ed. McGraw Hill (1992) або, "Organic Synthesis", Smith, McGraw Hill, (1994). Для репрезентативних прикладів дивись, наприклад, "Heterocyclic Chemistry", J. A. Joule, K. Mills, G. F. Smith, 3rd ed. Chapman та Hall (1995), p. 189-224 та "Heterocyclic Chemistry", T. L. Gilchrist, 2nd ed. Longman Scientific та Technical (1992), p. 248-282.

Термін "кімнатна температура" та "температура довкілля" означають, якщо не вказане інше, температуру між 16 та 25°C.

Термін "підвищена температура" означає, якщо не вказане інше, температуру між 50 та 150°C.

Схеми



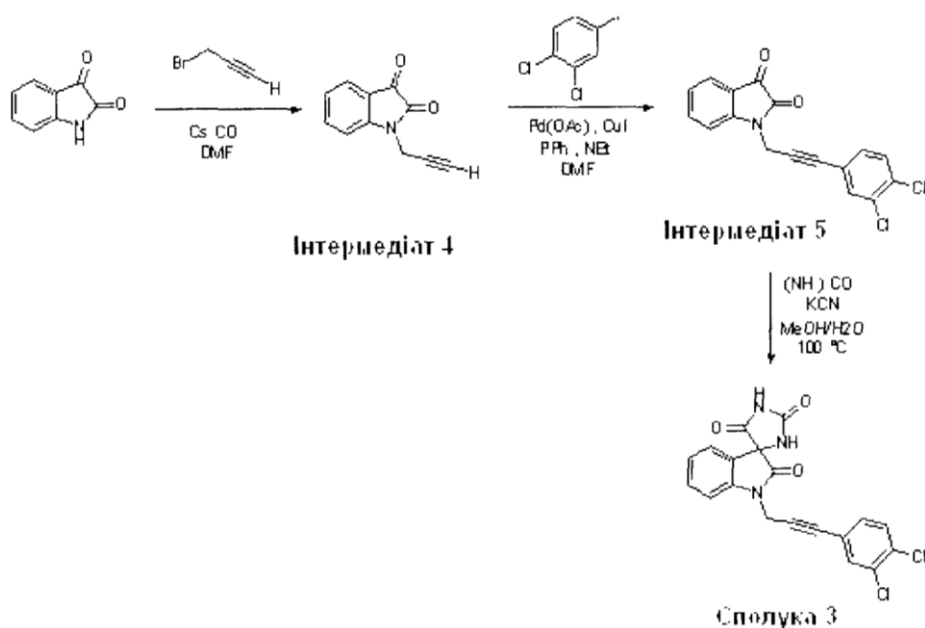
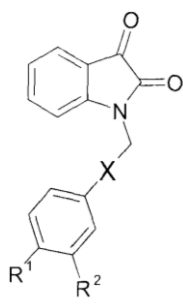


Схема 3

Одне втілення винаходу стосується способу отримання сполук формули I, де R^1 , R^2 та X визначені вище, який полягає у:

Реакції необов'язково захищеної сполуки формули III



i) з KCN та $(NH_4)_2CO_3$ при підвищеній температурі у придатному розчиннику, та після цього необов'язково:

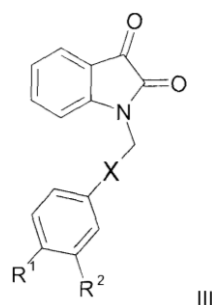
ii) перетворення сполуки формули I у ще одну сполуку формули I, та/або

iii) видалення будь-якої захисної групи, та/або

iv) утворення фармацевтично прийнятної солі.

Одне втілення винаходу стосується способу отримання енантіомеру формули II, де R^1 , R^2 та X визначені вище, який полягає у:

Реакції необов'язково захищеної сполуки формули III



i) із KCN та $(NH_4)_2CO_3$ при підвищеній температурі у придатному розчиннику,

та після цього відділення вказаного енантіомеру від рацемічної суміші надкритичною рідиною хроматографією.

Інтермедіати

Наступне втілення винаходу стосується сполук, вибраних з групи:

1-Аліл-1H-індол-2,3-діон

1-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-1H-індол-2,3-діон

1-[(2E)-3-[4-хлор-3-

(трифлуорметил)феніл]проп-2-ен-1-іл]-1H-індол-2,3-діон

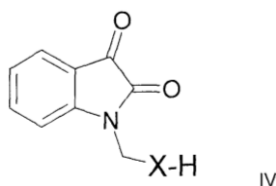
1-проп-2-ін-1-іл-1H-індол-2,3-діон

1-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-1H-індол-2,3-діон

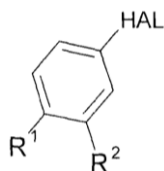
котрі можна застосовувати як інтермедіати в отриманні сполук, придатних для лікування опосередкованих VR1 розладів, особливо для застосування як інтермедіатів для отримання сполук формули I та/або енантіомерів формули II.

Одне втілення винаходу стосується способу отримання інтермедіатів формули III, де R^1 , R^2 та X визначені вище, який полягає у:

Реакції необов'язково захищеної сполуки формули IV



із



де HAL - атом галогену, у присутності придатного палладієвого каталізатору, як-то $\text{Pd}(\text{P}(\text{T-Bu})_3)_2$ або $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, у придатному розчиннику,

та після цього необов'язково:

ii) перетворення інтермедіату формули III у ще один інтермедіат формули III;

та/або

iii) видалення будь-якої захисної групи.

Фармацевтична композиція

Згідно з одним втіленням заявленого винаходу запропоновано фармацевтичну композицію, що містить як активний інгредієнт терапевтично ефективну кількість сполуки формули I та/або енантіомеру формули II або його солі в асоціації із одним або більше фармацевтично прийнятними розріджувачами, наповнювачами та/або інертними носіями.

Композиція може бути у формі для перорального застосування, наприклад, як таблетка, пілюля, сироп, порошок, гранула або капсула, для парентеральних ін'єкцій (охоплюючи внутрішньовенну, підшкірну, внутрішньом'язову, внутрішньосудинну або вливанням) як стерильний розчин, суспензія або емульсія, для місцевого застосування, наприклад, як мазь, пластр або крем, для ректального застосування, наприклад, як супозиторій або для інгаляцій.

Загалом вищезгадані композиції можна отримувати звичайним чином, застосовуючи один або більше звичайних наповнювачів, фармацевтично прийнятних розріджувачів та/або інертних носіїв.

Придатні добові дози сполуки формули I та/або енантіомеру формули II у лікуванні ссавця, охоплюючи людину, є приблизно 0,01-250 мг/кг маси тіла при пероральному застосуванні та приблизно 0,001-250 мг/кг маси тіла при парентеральному застосуванні.

Типова добова доза активного інгредієнту варіює у широких межах та залежить від різних факторів, як-то важливих показань, суворості захворювання, що лікують, шляху застосування, віку, маси та статі пацієнта та конкретної сполуки, що є застосовуваною, та може бути визначеною лікарем.

Медичне застосування

Сполуки згідно з заявленим винаходом є корисними у терапії. Сполуки та енантіомери винаходу, або їх солі, а також їх відповідні активні метаболі-

ти, виявляють високий ступінь потужності та селективності стосовно індивідуального ванілоїдного рецептору 1 (VR1). Відповідно, сполуки заявленого винаходу, як очікують, будуть корисними у лікуванні станів, пов'язаних із збуджувальним активуванням ванілоїдного рецептору 1 (VR1).

Сполуки можна застосовувати для продукування інгібіторної дії VR1 у ссавців, охоплюючи людину.

VR1 дуже експресується у периферійній нервовій системі та в інших тканинах. Таким чином, очікують, що сполуки та енантіомери винаходу є добре придатними для лікування опосередкованих VR1 розладів.

Сполуки та енантіомери винаходу, як очікують, будуть придатними для лікування гострого та хронічного болю, гострого та хронічного невропатичного болю та гострого та хронічного запального болю.

Приклади такого розладу можуть бути вибраними з групи поперековий біль, постоперативний біль, вісцеральний біль типу хронічного тазового болю тощо.

Сполуки винаходу, як також очікують, будуть придатними для лікування гострого та хронічного ноцицептивного болю.

Наступні важливі розлади можуть бути вибраними з групи цистит, охоплюючи інтерстиціальний цистит та біль, пов'язаний з цим, ішемічний, сидничний біль, розсіяний склероз, артрит, остеоартрит, ревматоїдний артрит, фіброміалгія, біль та інші ознаки та симптоми, пов'язані з псоріазом, біль та інші ознаки та симптоми, пов'язані з раком, блювота, нетримання сечі, гіперактивний сечовий міхур та ВІЛ-невропатія.

Додаткові важливі розлади можуть бути вибраними з групи хвороба шлунково-стравохідний рефлюкс (ХШСР), синдром подразненого кишечника (СПК), запальна хвороба кишечника (ЗХШ) та панкреатит.

Інші важливі розлади є пов'язаними з респіраторними хворобами та можуть бути вибраними з групи астма, кашель, хронічна обструктивна хвороба легень, особливо хронічна обструктивна хвороба легень (ХОХЛ) та емфізема, фіброз легень та інтерстиціальна хвороба легень.

Іншими важливими розладами є ожиріння та хвороби або розлади, пов'язані з ожирінням, та мігрень.

В одному втіленні ожиріння чи хвороби або розлади, пов'язані з ожирінням, вибрані з групи серцево-судинна хвороба, гіпертензія, рак та репродуктивні розлади.

Інгібітори VR1 можна застосовувати перорально або інгаляцією. Респіраторною хворобою може бути гостре та хронічне захворювання та це може бути пов'язаним з інфекціями та/або піддаванням дії зовнішніх забруднень та/або подразників.

Сполуки та енантіомери винаходу можна також застосовувати як антитоксин для лікування дії активаторів VR1 типу капсаїцину, сльозогінного газу, кислоти або жару. Стосовно жару, можливе потенційне застосування антагоністів VR1 при ін-

дукованому опіками болю, або запальному болю в результаті опіку.

Сполуки можна крім того застосовувати для лікування толерантності до активаторів VR1.

Одне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів.

Ще одне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування опосередкованих VR1 розладів.

Наступне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище для застосування як медикаментів для лікування гострих та хронічних больових розладів.

Ще одне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування гострого та хронічного ноцицептивного болю.

Ще одне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування гострого та хронічного невропатичного болю.

Наступне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування гострого та хронічного запального болю.

Одне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування поперекового болю, постоперативного болю та вісцерального болю типу хронічний тазовий біль.

Ще одне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування циститу, охоплюючи інтерстиціальний цистит та біль пов'язаний з цим, ішемічний сідничний біль, розсіяний склероз, артрит, остеоартрит, ревматоїдний артрит, фіброміалгія, біль та інші ознаки та симптоми, пов'язані з псоріазом, біль та інші ознаки та симптоми, пов'язані з раком, блювота, нетримання сечі, гіперактивний сечовий міхур та ВІЛ-невропатія.

Наступне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування хвороби шлунково-стравохідний рефлюкс (ХШСР), синдрому подразненого кишечника (СПК), запальної хвороби кишечника (ЗХШ) та панкреатиту.

Наступне втілення винаходу стосується сполук та енантіомерів винаходу, які визначені вище, для застосування як медикаментів для лікування респіраторних хвороб, вибраних з групи астма кашель, хронічна обструктивна хвороба легень (ХОХЛ), хронічна обструктивна хвороба легень та емфізема, фіброз легень та інтерстиціальна хвороба легень.

Одне втілення винаходу стосується застосування сполук та енантіомерів винаходу які визначені вище, у виробництві медикаментів для лікування опосередкованих VR1 розладів та лікування гострих та хронічних больових розладів, гострого та хронічного невропатичного болю та гострого та хронічного запального болю та респіраторних хвороб та будь-якого іншого вищезгаданого розладу.

Ще одне втілення винаходу стосується способу лікування опосередкованих VR1 розладів та гострих та хронічних больових розладів, гострого та хронічного невропатичного болю та гострого та хронічного запального болю та респіраторних хвороб та будь-якого іншого вищезгаданого розладу, який полягає у застосуванні до ссавця охоплюючи людину, при необхідності такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки та/або енантіомеру винаходу, які визначені вище.

Наступне втілення винаходу стосується фармацевтичної композиції, що містить сполуку та/або енантіомер винаходу, які визначені вище, для застосування у лікуванні опосередкованих VR1 розладів та для лікування гострих та хронічних больових розладів, гострого та хронічного невропатичного болю та гострого та хронічного запального болю та респіраторних хвороб та будь-якого іншого вищезгаданого розладу.

У контексті опису, термін "терапія" та "лікування" охоплює попередження та профілактику, якщо не визначене інше. Терміни "лікувальний", "терапевтичний" та "терапевтично" слід розуміти відповідно.

У цьому описі, якщо не вказане інше, термін "інгібітор" та "антагоніст" означають сполуку, що будь-якими засобами, частково або повністю, блокує перетворення провідного шляху призводячи до отримання реакції на ліганд.

Термін "розлад", якщо не вказане інше означає будь-які стан та хворобу, пов'язані з активністю ванілоїдного рецептору.

Немедичне застосування

На додаток до їх застосування у терапії, сполуки та енантіомери винаходу, або їх солі, є також корисними як фармакологічні інструментальні засоби у розробці та стандартизації of in vitro та in vivo тест-системи для оцінки дії інгібіторів пов'язаної з VR1 активності у лабораторних тварин, як-то кішки, собаки, кролі, мавпи, щури та миші, як частині дослідження нових терапевтичних агентів.

Приклади

Винахід далі ілюстровано наступними необмежувальними прикладами.

Загальні способи

Винахід далі ілюстровано наступними прикладами, у котрих загалом:

(i) операції проводили при зовнішній або при кімнатній температурі, тобто у межах 17-25°C та в атмосфері інертного газу, як-то аргон, якщо не вказане інше;

(ii) випарювання проводили роторним випарюванням у вакуумі та обробку проводили після видалення залишкових твердих продуктів фільтруванням;

(iii) Спектри ^1H ЯМР реєстрували на Bruker при 400 МГц. Мас-спектри реєстрували застосовуючи електророзпилення (PX-МС; PX:Waters 2790, колонка XTerra MC C_8 2,5 мкм 2,1X30 мм, градієнт буферу $\text{H}_2\text{O}+0,1\%\text{TFOK}:\text{CH}_3\text{CN}+0,04\%\text{TFOK}$, МС: micromass ZMD// амоній-ацетатний буфер) способом іонізації;

(iv) вихід, де присутній, не є обов'язково максимальним;

(v) застосовані наступні скорочення:

allos алілоксикарбоніл
 ДХЕ дихлоретан
 ДХМ дихлорметан
 DMAP диметиламінопіридин
 EDC 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід гідрохлорид
 HATU O-(7-азабензотриазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуроній гексафлуорфосфат
 ВЕРХ високоефективна рідинна хроматографія
 РХ рідинна хроматографія
 MsCl метансульфонілхлорид
 МС мас-спектрометрія
 ТФОК трифлуороцтова кислота
 ТГФ тетрагідрофуран
 ДМФ диметилформамід
 TMEDA тетраметилетилендіамін
 EtOAc етилацетат
 BuLi Бутиллітій
 TMEDA тетраметилетилендіамін
 Інтермедіат 1: 1-Аліл-1Н-індол-2,3-діон

Ізатин (10,102 г, 68,7 ммоль) розчиняли у 100 мл сухого ДМФ, та додавали Cs₂CO₃ (24,609 г, 75,5 ммоль). До утвореної пурпурово-коричневої суспензії додавали алілбромід (7,2 мл, 83 ммоль) та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Утворену мутну оранжево-коричневу суміш концентрували у вакуумі, та залишок розподіляли між EtOAc (160 мл) та водою (80 мл). Шари розділяли та водний шар екстрагували додатково EtOAc (2x80 мл). Комбіновані органічні фази сушили Na₂SO₄, фільтрували, та концентрували у вакуумі. До залишку додавали 300 мл гексанів. Суміш нагрівали до 70°C водяною банею, та додавали EtOAc до розчинення сполуки (приблизно 80 мл EtOAc). Невелику кількість нерозчинного червоного матеріалу видаляли, а тоді розчину давали охолонути. Утворені червоні кристали фільтрували, промивали 3x30 мл гексанів, та тоді сушили під вакуумом, отримуючи заголовну сполуку (11,740 г, 91%). ¹H ЯМР (600 МГц, хлороформ-D) δ мн⁻¹ 4,36 (d, J=5,6 Гц, 2H), 5,26-5,34 (m, 2H), 5,78-5,88 (m, 1H), 6,88 (d, J=7,9 Гц, 1H), 7,11 (t, J=7,6 Гц, 1H), 7,56 (td, J=7,8, 1,3 Гц, 1H), 7,61 (d, J=7,4 Гц, 1H) МС (ESI) (M+H)⁺ = 188

Інтермедіат 2: 1-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-1Н-індол-2,3-діон

Суміш 1-аліл-1Н-індол-2,3-діону (1 00 г, 5,34 ммоль), Pd(P(T-Bu)₃)₂ (0,0819 г, 0,16 ммоль), 1,2-дихлор-4-йодбензолу (1,458 г, 5,34 ммоль), сухого толуолу (10 мл), та N-циклогексил-N-метилциклогексанаміну (1,23 мл, 5,86 ммоль) у висушеній у шафі герметичній тубі в атмосфері N₂ нагрівали протягом 16 годин при 80°C. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли CH₂Cl₂, та завантажували безпосередньо на колонку з силікагелем, упаковану з CH₂Cl₂. Колонку елювали з градієнтом 100% CH₂Cl₂ - 95:5 CH₂Cl₂:EtOAc. Прийнятні фракції комбінували, отримуючи заголовну сполуку як оранжевий твердий матеріал (1,489 г, 84%). ¹H ЯМР (600 МГц, хлороформ-D) δ мн⁻¹ 4,52 (d, J=5,9 Гц, 2H), 6,19 (dt, J=15,9, 5,9 Гц, 1H), 6,56 (d, J=15,6 Гц, 1H), 6,91 (d, J=7,9 Гц, 1H) 7,09-7,20 (m, 2H), 7,37 (d, J=8,2 Гц 1H), 7,42 (s, 1H), 7,57 (t, J=7,8 Гц, 1H), 7,64 (d, J=7,4 Гц, 1H).

Інтермедіат 3: 1-[(2E)-3-[4-хлор-3-(трифлуорметил)феніл]проп-2-ен-1-іл]-1Н-індол-2,3-діон

Шість окремих висушених у шафі герметичних туб завантажували 1-аліл-1Н-індол-2,3-діоном (0,100 г, 0,534 ммоль), Pd(P(T-Bu)₃)₂ (0,0082 г, 0,016 ммоль), 4-бром-1-хлор-2-(трифлуорметил)бензолом (0,139 г, 0,536 ммоль), сухим толуолом (1 мл), та N-циклогексил-N-метилциклогексанаміном (0,12 мл, 0,57 ммоль) в атмосфері N₂. Туби нагрівали протягом 16 годин при 80°C у масляній бані, а тоді реакційні суміші охолоджували та концентрували у вакуумі. Сирий матеріал застосовували на наступному етапі.

Інтермедіат 4: 1-проп-2-ін-1-іл-1Н-індол-2,3-діон

До розчину ізатину (200 мг, 1,36 ммоль) у ДМФ (5 мл) додавали цезій карбонат (487 мг, 1,5 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 90 хвилин. Пропаргілбромід (243 мкл, 1,63 ммоль) тоді додавали. Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, концентрували у вакуумі, розчиняли у EtOAc та промивали насиченим NaHCO₃(водн) (1x). Шари розділяли та водний шар екстрагували додатково EtOAc (2x). Комбіновані органічні фази сушили Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Наступна очистка залишку не була необхідною. Заголовну сполуку отримували як оранжевий твердий матеріал (255 мг, кількісний вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 2,31 (t, J=2,54 Гц, 1H), 4,55 (d, J=2,54 Гц, 2H), 7,12-7,15 (m, 1H), 7,19 (dt, J=7,52, 0,78 Гц, 1H), 7,63-7,68 (m, 2H).

Інтермедіат 5: 1-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-1Н-індол-2,3-діон

До суміші 1-проп-2-ін-1-іл-1Н-індол-2,3-діону (190 мг, 1,03 ммоль), 1,2-дихлор-4-йодбензолу (420 мг, 1,54 ммоль), купрум(I) йодиду (11,0 мг, 0,06 ммоль) та трифенілфосфіну (40,0 мг, 0,15 ммоль) у дегазованому ДМФ (24 мл) додавали триетил-амін (307 мкл, 2,15 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 5 хвилин та тоді додавали Pd(OAc)₂ (13,0 мг, 0,06 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 діб, концентрували у вакуумі, розчиняли у EtOAc та промивали насиченим NaHCO₃(водн) (1x). Шари розділяли та водний шар екстрагували додатково EtOAc (2x). Комбіновані органічні фази сушили Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Сирий продукт очищали хроматографією на колонці з силікагелем, елюючи з градієнтом розчиннику 35% EtOAc/Гексани - 75% EtOAc/Гексани, отримуючи заголовну сполуку як оранжевий твердий матеріал з 90% чистоти (375 мг, кількісний вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 4,82 (s, 2H), 7,18 (dt, J=7,52, 0,78 Гц, 1H), 7,32 (d, J=8,01 Гц, 1H), 7,41 (dd, J=8,40, 1,95 Гц, 1H), 7,60 (dd, J=7,42, 0,78 Гц, 1H), 7,63 (d, J=8,40 Гц, 1H), 7,70-7,75 (m, 2H).

Сполука 1: 1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-

спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион
 Чотири ідентичні реакції були проведеними.
 Для кожної реакції 1-[(2E)-3-(3,4-

дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-1H-індол-2,3-діон (200 мг, 0,602 ммоль) розчиняли у 5 мл N,N-диметилацетаміду (5 мл) у герметичній тубі. Амоній карбонат (0,555 г, 5,78 ммоль) додавали, а потім розчин KCN (0,0470 г, 0,722 ммоль) у воді (5 мл). Туби герметизували та тоді нагрівали до 100°C у масляній бані протягом 2 годин. Реакційні суміші ставали від червоно-пурпурових до жовтих протягом перебігу реакцій. Реакційні суміші охолоджували та тоді концентрували у вакуумі. Кожну реакційну суміш переносили у EtOAc (5 мл) та воду (5 мл). Усі 4 реакційні суміші пропускали через одну колонку Varian ChemElut CE1020, та колонку промивали додатково EtOAc (2x20 мл). Органічні екстракти концентрували у вакуумі, та залишок очищали хроматографією на колонці з силікагелем (1:2 Гексани:EtOAc), отримуючи заголовну сполуку (0,7075 г, 73%) як білий твердий матеріал. ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-D₄) δ мн⁻¹ 4,45-4,53 (m, 1H), 4,57-4,66 (m, 1H), 6,35 (dt, J=16,1, 5,1 Гц, 1H), 6,59 (dt, J=16,2, 1,5 Гц, 1H), 7,08 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,17 (td, J=7,6, 0,9 Гц, 1H), 7,30 (dd, J=8,4, 2,0 Гц, 1H), 7,37 (dd, J=7,4, 1,0 Гц, 1H), 7,39-7,45 (m, 2H), 7,53 (d, J=2,1 Гц, 1H) MC (APPI) (M+H)⁺=402. Розраховано для C₁₉H₁₃Cl₂N₃O₃: C, 56,74; H, 3,26; N, 10,45. Виявлено: C, 56,64; H, 3,26; N, 10,27.

Індивідуальні енантиомери 1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-триону отримували розділенням рацемічної суміші (214 мг) надкритичною рідинною хроматографією (HPX) на хіральній твердій підкладці застосовуючи систему Berger HPX Multigram II (Mettler Toledo) (умови HPX 50% Етанол/CO₂ елюент, колонка CHIRALCEL® OD HPX (Chiral Technologies), 21x250 мм, 10 мікрон, потік 50 мл/хвилини. УФ-детектор 254 або 280 нм, перебіг 6 хвилини). Енантиомерну чистоту визначали за допомогою HPX на хіральній твердій підкладці, застосовуючи систему Berger HPX Analytix/MC (Mettler Toledo) (умови HPX 50% Етанол/CO₂ елюент колонка CHIRALCEL® OD HPX (Chiral Technologies), 4,6x250 мм, 5 мікрон, потік 2,2 мл/хвилини UV, MC-детектор, перебіг 6 хвилини). Вихід: 80,7 мг (38%) ельованого першим енантиомеру, 80,0 мг (37%) ельованого другим енантиомеру. Назви енантиомерів за IUPAC створювали, застосовуючи програму ACD/Name (ACD/Labs 7,00 Release Product version: 7,07, build: 16 Jul 2003).

Енантиомер 1A: (4S)-1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Ельований першим енантиомер: Час утримання = 2,46 хвилини, е.н. >99%, $[\alpha]_D^{22} = +16.8$ (с 0,959 г/100 мл, CD₃OD), ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-D₄) δ мн⁻¹ 4,44-4,53 (m, 1H) 4,57-4,65 (m, 1H), 6,35 (dt, J=16,1, 4,9 Гц, 1H), 6,58 (dt, J=16,0, 1,6 Гц, 1H), 7,08 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,17 (td, J=7,6, 0,9 Гц, 1H), 7,30 (dd, J=8,4, 2,0 Гц, 1H), 7,35-7,39 (m, 1H), 7,38-7,45 (m, 2H), 7,52 (d, J=2,0 Гц, 1H) MC (APPI) (M+H)⁺=402.

Абсолютна конфігурація цього енантиомеру є визначеною рентгенокристалографією.

Енантиомер 1B: (4R)-1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Ельований другим енантиомер: Час утримання = 4,21 хвилини, е.н. >99%, $[\alpha]_D^{22} = -15.0$ (с 0,908 г/100 мл, CD₃OD), ¹H ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-D₄) δ мн⁻¹ 4,44-4,53 (m, 1H), 4,56-4,65 (m, 1H), 6,35 (dt, J=16,0 5,1 Гц, 1H), 6,58 (dt, J=16,1, 1,5 Гц, 1H), 7,08 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,17 (td, J=7,6, 0,9 Гц, 1H), 7,30 (dd, J=8,5, 2,1 Гц, 1H), 7,35-7,39 (m, 1H), 7,39-7,45 (m, 2H) 7,52 (d, J=2,0 Гц, 1H) MC (APPI) (M+H)⁺=402.

Абсолютна конфігурація цього енантиомеру є визначеною рентгенокристалографією.

Сполука 2: 1'-[(2E)-3-[4-хлор-3-(трифлуорметил)феніл]проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Шість туб сирого 1'-[(2E)-3-[4-хлор-3-(трифлуорметил)феніл]проп-2-ен-1-іл]-1H-індол-2,3-діону обробляли ідентично. Матеріал у кожній тубі розчиняли у N,N-диметилацетамід (4,4 мл). Амоній карбонат (0,493 г, 5,13 ммоль) додавали до кожної туби, а потім розчин KCN (0,0417 г, 0,640 ммоль) у воді (4,4 мл). Туби герметизували та тоді нагрівали до 100°C у масляній бані протягом 3 годин. Реакційні суміші охолоджували та тоді концентрували у вакуумі. Кожну реакційну суміш переносили у EtOAc (8 мл) та воду (5 мл), та тоді пропускали через колонку Vanan ChemElut CE1005. Колонки промивали додатково EtOAc (2x8 мл) та органічні екстракти концентрували у вакуумі. Залишок очищали зворотно-фазовою препаративною РХ/МС, отримуючи заголовну сполуку (0,2834 г, 20% протягом 2 етапів) як слабо оранжевий твердий матеріал після ліофілізації. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-D₆) δ мн⁻¹ 4,48-4,59 (m, 2H), 6,52 (dt, J=16,2, 4,8 Гц, 1H) 6,58-6,65 (m, 1H), 7,10-7,18 (m, 2H), 7,38-7,45 (m, 2H), 7,64-7,68 (m, 1H), 7,71-7,81 (m, 2H), 8,68 (d, J=1,0 Гц, 1H), 11,43 (s, 1H) MC (APPI) (M+H)⁺=436.

Індивідуальні енантиомери 1'-[(2E)-3-[4-хлор-3-(трифлуорметил)феніл]проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-триону отримували розділенням рацемічної суміші (19,96 г) надкритичною рідинною хроматографією (HPX) на хіральній твердій підкладці, застосовуючи систему Novasep HPX SuperSep 50 (Novasep, Inc) (умови HPX 30% Метанол/CO₂ елюент, колонка CHIRALCEL® OD-H HPX (Chiral Technologies, Inc), 3x25 см, 5 мікрон, швидкість потоку 150 мл/хвилини УФ-детектор 230 нм, 5 хвилини перебігу). Енантиомерну чистоту визначали за допомогою HPX на хіральній твердій підкладці, застосовуючи систему Berger HPX (Mettler Toledo) (умови HPX: 30% Метанол/CO₂ елюент, колонка CHIRALCEL® OD-H HPX (Chiral Technologies, Inc), 4,6x250 мм, 5 мікрон, швидкість потоку 2 мл/хвилини УФ-детектор 220 нм, 9 хвилини перебігу). Вихід: 45% ельованого першим енантиомеру та 42% ельованого другим енантиомеру. Назви енантиомерів за IUPAC створювали застосовуючи програму ACD/Name (ACD/Labs 7,00 Release Product version: 7,07, build: 16 Jul 2003).

Енантіомер 2A: (4S)-1'-((2E)-3-[4-хлор-3-(трифлуорометил)феніл]проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Ельований першим енантіомер: Час утримання = 4,29 хвилин, е.н. >99%, $[\alpha]_D^{22} = +16.8$ (с 1,03 г/100 мл, CD₃OD), ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ млн⁻¹ 4,53 (d, J=4,5 Гц, 2H), 6,52 (dt, J=16,2, 4,8 Гц, 1H), 6,58-6,67 (m, 1H), 7,09-7,19 (m, 2H), 7,37-7,46 (m, 2H), 7,63-7,69 (m, 1H), 7,71-7,76 (m, 1H), 7,79 (d, J=2,0 Гц, 1H), 8,68 (d, J=1,4 Гц, 1H), 11,43 (s, 1H). МС (APPI) (M+H)⁺=436.

Абсолютна конфігурація цього енантіомеру є визначеною рентгенокристалографією.

Енантіомер 2B: (4R)-1'-((2E)-3-[4-хлор-3-(трифлуорометил)феніл]проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Ельований другим енантіомер: Час утримання = 5,92 хвилин, е.н. >98%, $[\alpha]_D^{22} = -15,6$ (с 1,33 г/100 мл, CD₃OD), ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ млн⁻¹ 4,53 (d, J=4,5 Гц, 2H), 6,52 (dt, J=16,2, 4,8 Гц, 1H), 6,58-6,66 (m, 1H), 7,09-7,19 (m, 2H), 7,37-7,46 (m, 2H), 7,63-7,68 (m, 1H), 7,70-7,76 (m, 1H), 7,79 (d, J=2,0 Гц, 1H), 8,68 (d, J=1,4 Гц, 1H), 11,43 (s, 1H). МС (APPI) (M+H)⁺=436.

Абсолютна конфігурація цього енантіомеру є визначеною рентгенокристалографією.

Сполука 3: 1'-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Суміш інтермедиату 5 (50 мг, 0,15 ммоль), калій цианіду (12 мг, 0,18 ммоль), та амоній карбонату (140 мг, 1,45 ммоль) у 1:1 MeOH:H₂O (2,5 мл) нагрівали при 100°C протягом 6 годин. Реакційну суміш тоді охолоджували, концентрували у вакуумі для видалення MeOH, розбавляли EtOAc та промивали H₂O (1x). Шари розділяли та водний шар екстрагували додатково EtOAc (3x). Комбіновані органічні фази сушили Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Залишок очищали зворотньо-фазовою ВЕРХ (градієнт 50-80% CH₃CN у H₂O з вмістом 0,1% трифлуороцтової кислоти), отримуючи заголовну сполуку (2 мг, 3% вихід) як її ТФОК-сіль. Цей матеріал було ліофілізовано з CH₃CN/H₂O отримуючи біло-жовтий твердий матеріал. Чистота (ВЕРХ): 95% (215 нм), 94% (254 нм); ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ млн⁻¹ 4,82-4,93 (m, 2H), 7,17 (dt, J=7,57, 0,88 Гц, 1H), 7,32 (d, J=7,81 Гц, 1H), 7,40 (dd, J=8,30, 2,05 Гц, 1H), 7,44 (dd, J=7,42, 0,78 Гц, 1H), 7,49 (dt, J=7,76, 1,27 Гц, 1H), 7,64 (d, J=8,20 Гц, 1H), 7,70 (d, J=1,95 Гц, 1H), 8,69 (d, J=1,56 Гц, 1H), 11,42 (s, 1H). Виявлено: C, 57,05; H, 2,75; N, 10,55. C₁₉H₁₁N₃O₃Cl₂ має C, 57,02; H, 2,77; N, 10,50%.

Індивідуальні енантіомери 1'-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион отримували розділенням рацемічної суміші (200 мг) надкритичною рідинною хроматографією (HPX) на хіральній твердій підкладці, застосовуючи систему Berger HPX Multigram II (Mettler Toledo) (умови HPX 50% Етанол/CO₂ елюент, колонка ChiralCel OD HPX (Chiral Technologies), 21x250 мм, 10 мікрон, потік 50 мл/хвилин УФ-детектор 254 або 280 нм, перебіг 6 хвилин). Енантіомеру чистоту ви-

значали за допомогою HPX на хіральній твердій підкладці, застосовуючи систему Berger HPX Analytix/MC (Mettler Toledo) (умови HPX 50% Етанол/CO₂ елюент, колонка ChiralCel OD HPX (Chiral Technologies), 4,6x250 мм, 5 мікрон, потік 2,2 мл/хвилин. UV, МС-детектор, перебіг 6 хвилин). Вихід: 83 мг (42%) ельованого першим енантіомеру, 82 мг (41%) ельованого другим енантіомеру назви енантіомерів за IUPAC створювали, застосовуючи програму ACD/Name (ACD/Labs 7,00 Release Product version: 7,07, build: 16 Jul 2003).

Енантіомер 3A: (4S)-1'-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Ельований першим енантіомер: Час утримання = 3,19 хвилин, е.н. >99%, $[\alpha]_D^{22} = +72.8$ (с 1,00 г/100 мл, CD₃OD), ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ млн⁻¹ 4,74-4,88 (m, 2H), 7,20 (dt, J=7,57, 0,88 Гц, 1H), 7,26-7,31 (m, 2H), 7,36 (dd, J=7,52, 0,68 Гц, 1H), 7,45-7,51 (m, 2H), 7,55 (d, J=1,76 Гц, 1H). МС (APPI) (M+H)⁺=400.

Абсолютна конфігурація цього енантіомеру є визначеною рентгенокристалографією.

Енантіомер 3B: (4R)-1'-[3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ін-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион

Ельований другим енантіомер: Час утримання = 4,47 хвилин, е.н. >99%, $[\alpha]_D^{22} = -75.1$ (с 1,03 г/100 мл, CD₃OD), ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ млн⁻¹ 4,74-4,87 (m, 2H), 7,17-7,22 (m, 1H), 7,26-7,31 (m, 2H), 7,35-7,38 (m, 1H), 7,44-7,51 (m, 2H), 7,54 (d, J=1,76 Гц, 1H). МС (APPI) (M+H)⁺=400.

Абсолютна конфігурація цього енантіомеру є визначеною рентгенокристалографією.

Фармакологія

Скринінговий аналіз hVR1 ПЗФВ (Планшетний зчитувач флуориметричного відображення)

Трансфектовані CHO клітини, стабільно експресуючі hVR1 (15000 клітини/лунку) засівають у 50 мкл середовища у чорному 384-лунковому планшеті з прозорим дном (Greiner) та вирощують у зволоженому інкубаторі (37°C, 2% CO₂), за 24-30 годин перед дослідженням.

Далі, середовища видаляють з планшету перевертанням та додають 2 мкл Fluo-4. Через 40 хвилин інкубування барвнику у темряві при 37°C та 2% CO₂, зовнішньоклітинний барвник вимивають, застосовуючи EMBLA (Scatlon), залишаючи клітини у 40 мкл буферу для аналізу (1 X HBSS, 10 mM D-Глюкоза, 1 mM CaCl₂ 10 mM ГЕПЕС, 10 X 7,5% NaHCO₃ та 2,5 mM Пробенацид).

ПЗФВ аналіз - протокол визначення IK₅₀

Для визначення IK₅₀ флуоресценцію зчитують, застосовуючи фільтр ПЗФВ 1 (520-545 нм). Реєстрування клітин проводять протягом 30 с, а потім додають 10 по 20 мкл титрованих напівлогарифмічних концентрації тест-сполуки, отримуючи клітинну концентрацію від 3 мкМ до 0,1 нМ. Дані збирають кожні 2 с протягом ще 5 хвилин перед добавкою розчину агоністу VR1: 50 нМ розчину капсаїцину або буферу М ES (2-[N-морфоліно]етансульфонова кислота) (pH 5,2). ПЗФВ продовжує збирати дані протягом ще 4 хвилин. Сполуки, що мають антагоністичні властивос-

ті проти hVR1, інгібуватимуть збільшення внутрішньоклітинного кальцію у реакціях на добавку капсаїцину. Це тому призводить до зменшення сигналу флуоресценції та зменшеного зчитування флуоресценції у порівнянні з буферними контролями без сполуки. Дані обробляють програмою ПЗФВ як величину флуоресценції, що розраховано під кривою при добавці капсаїцину. Максимум інгібування, нахил Хілла та IK_{50} створюють для кожної сполуки.

Порівняльне визначення активності редуктази альдози проводила компанія MDS Pharma Services - Taiwan Ltd; результати цього дослідження представлені у таблиці 1 нижче.

Перелік скорочень

VR1 ванілоїдний рецептор 1
СПК синдром подразненого кишечника
ЗХШ запальна хвороба кишечника
ХШСР хвороба шлунково-стравохідний рефлюкс
ГЕПЕС 4-(2-Гідроксіетил)піперазин-1-етансульфонова кислота

Результати

Типові значення IK_{50} , які виміряно у вищенаведених аналізах, є 10 мМ або меншу. В одному аспекті винаходу IK_{50} є нижче 3000 нМ. У ще одному аспекті винаходу IK_{50} є нижче 1000 нМ.

Таблиця 1

Результати порівняльного визначення активності стосовно hVR1 ПЗФВ та редуктази альдози

Приклад No.	IK_{50} (людини VR1, капсаїцин) нМ	IK_{50} (редуктаза альдози) нМ
Енантіомер 1A	10000 нМ	25 нМ
Енантіомер 1B	43 нМ	758 нМ
Енантіомер 2A	3850 нМ	33 нМ
Енантіомер 2B	241 нМ	3300 нМ
Енантіомер 3A	15454 нМ	72,3 нМ
Енантіомер 3B	881 нМ	983 нМ

Біологічні тести

In vivo фармакологічні властивості заявленого винаходу визначені, застосовуючи дві класичні NSAID-чутливі запальні моделі, модель з карагеніном та модель з повним адьювантом Фрейнда (ПАФ).

У першій карагенін-лямбда(похідний від водоростей полісахарид, типу IV, 100 мкл, від Sigma-Aldrich), розчинений у стерильному фізіологічному розчині 0,9% при концентрації 1%, а в останньому ПАФ (25 мкл, від Sigma-Aldrich, (1 мл ПАФ містить 1 мг туберкульозних мікобактерій, вбитих нагріванням та висушенням, 0,85 мл мінеральної оливи та 0,15 мл манід моноолеат, cf. Nagakura et al. у Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 2003; 306(2):490-497)) ін'єктують під шкіру у підшову (внутрішньопідшовно) лівої задньої лапи щура. Це створює запальну реакцію з набряком почервонінням та гіпералгезією. Теплова (та механічна) гіпералгезія повністю розвивається за 3 години для карагеніну, та залишається стабільною протягом 6 годин, тоді як з ПАФ повністю розвивається за 24 години та залишається стабільною протягом тижнів. Для оцінки ступеню гіпералгезії вибрали тепловий підшовний тест, оскільки він є надійним, відповідним та відтворюваним (на основі способу оцінки ноцицепції Харгрєвеса, cf. Pain, 1988; 32(1):77-88). Щурів поміщають у індивідуальні плексигласові бокси на скляній поверхні, котрі підтримують при 30°C, та джерело теплоти (швидкість підвищення теплоти ~1,1°C/с) фокусують на підшову враженої лапи. Час від ініціації теплоти до відсмикування лапи твариною реєструють. Зниження затримки відсмикування лапи (ЗВЛ) відносно необроблених тварин свідчить про стан гіпералгезії.

Ступінь зворотності гіпералгезії вимірюють за здатністю сполуки до повернення ЗВЛ до норма-

льних рівнів (4R)-1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион (Енантіомер 1B) перорально застосовували протягом створеної фази запалення та тестували при її Т макс. ЗВЛ кожної тварини вимірюють двічі, та середнє з двох беруть як реакцію. Реакції усіх тварин у межах даної групи тоді усереднюють, та стандартне відхилення та стандартну похибку (СП) розраховують для кожної групи. Дані виражені як середнє±СП. Статистичну значність оцінюють за Т-тестом для порівняння між необробленою та обробленою групами, та одно-шляховим ANOVA, а потім багаторазовими порівняннями Холма-Сідака проти тесту контрольної (носії) групи стосовно ефективності ліків. Рівні статистичної значності виражені як $p < 0,05$. GraphPad Prism® version 4 застосовують для аналізу нелінійною регресією (застосовуючи сигмоїдальну модель вирівнювання зі змінним нахилом) сирих даних для розрахунку ED50, EC50, EC80, та Емакс.

Перед будь-якими маніпуляціями щурів (150-175 г, Charles River, St. Constant, Canada) поміщали по 7-9 у групи у кімнату з контрольованою температурою (22±1,5°C, 30-80% вологість, 12 годинний цикл світло/темрява) та акліматизували тварин протягом принаймні одної доби перед застосуванням. Усі експериментальні протоколи затверджені AstraZeneca Animal Care Committee. Експерименти проводять протягом світлої фази циклу, кімнати освітлюють при 300 люкс. Тварини мають їжу та воду в достатку.

In vivo ефективність та потужність тестованої сполуки у ноцицептивному болю зведені у таблиці 2 нижче. Тестована сполука є потужною та ефективною в оберненні індукованої карагеніном та ПАФ теплової гіпералгезії.

Таблиця 2

Ефективність та потужність у моделі з карагеніном та моделі з повним адьювантом Фрейнда in vivo

Тестована сполука: (4R)-1'-[(2E)-3-(3,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-іл]-2H,5H-спіро[імідазолідин-4,3'-індол]-2,2',5(1'H)-трион		
	Модель з карагеніном	Модель з повним адьювантом Фрейнда
ED50 (мкмоль/кг)	10,6	52,8
EC50(мкМ)	4,8	24
E _{max} спостережене (%)	76	100
Екстрапольоване E _{max} (%)	88	>100
EC80 (мкМ)	10,7	100