



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **76432** (13) **C2**
(51) **МПК (2006)**
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/40
A61P 11/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

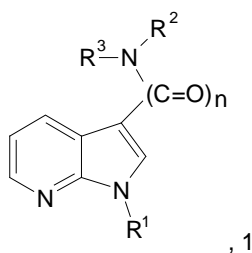
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) 7-АЗАІНДОЛИ, ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ЯК ІНГІБІТОРІВ ФОСФОДІЕСТЕРАЗИ 4 ТА СПОСІБ ЇХ ОДЕРЖАННЯ

1

- (21) 2003043906
(22) 25.10.2001
(24) 15.08.2006
(86) PCT/EP01/12376, 25.10.2001
(31) 100 53 275.6
(32) 27.10.2000
(33) DE
(31) 60/244,342
(32) 30.10.2000
(33) US
(46) 15.08.2006, Бюл. № 8, 2006 р.
(72) Гьофген Норберт, DE, Егерланд Уте, DE, Кронбах Томас, DE, Маркс Дегенхард, DE, Зелений Штефан, DE, Кусс Хильдегард, DE, Полімеропулос Еммануель, DE
(73) ЕЛЬБІОН АГ, DE
(56) GB, 1 141 949, 1969
JP, 10-120681, 1998
WO, 96/11929, A1, 1999
(57) 1. 7-азаіндоли формули 1



де

n може дорівнювати 1 або 2, і

R¹ може означати

-(C₁-C₁₀)-алкіл лінійної або розгалуженої будови, незаміщений або заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₆)-алкіл, -N(C₁-C₆-алкіл)₂, -NH(C₆-C₁₄)-арил, -N(C₆-C₁₄-арил)₂, -N(C₁-C₆-алкіл)(C₆-C₁₄-арил), -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-(C₁-C₆)-алкіл, -O-(C₆-C₁₄)-арил, -S-(C₁-C₆)-алкіл, -S-(C₆-C₁₄)-арил, -SO₃H, -SO₂(C₁-C₆)-алкіл, -SO₂(C₆-C₁₄)-арил, -OSO₂(C₁-C₆)-алкіл, -OSO₂(C₆-C₁₄)-арил, -COOH, -(CO)(C₁-C₅)-алкіл, моно-, ди- або трициклічні карбоцикли з кількістю членів у циклах від 3 до 14, насичені або з одним або кількома ненаси-

2

ченими зв'язками, моно-, ди- або трициклічні гетероцикли з числом членів у циклах від 5 до 15, насичені або з одним або кількома ненасиченими зв'язками, що містять від 1 до 6 гетероатомів, у варіанті, якому віддається перевага, N, O та S, причому (C₆-C₁₄)-арильні групи та карбоциклічні й гетероциклічні замісники можуть бути у свою чергу незаміщеними або заміщеними одним або кількома замісниками R⁴,

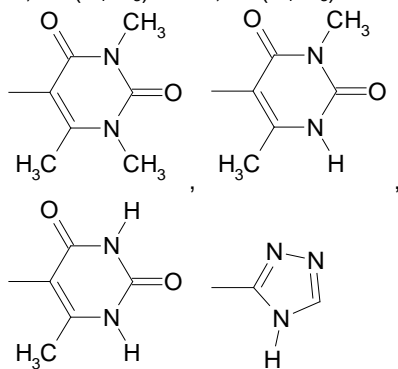
-(C₂-C₁₀)-алкеніл з одним або кількома ненасиченими зв'язками лінійної або розгалуженої будови, незаміщений або заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₆)-алкіл, -N(C₁-C₆-алкіл)₂, -NH(C₆-C₁₄)-арил, -N(C₆-C₁₄-арил)₂, -N(C₁-C₆-алкіл)(C₆-C₁₄-арил), -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-(C₁-C₆)-алкіл, -O-(C₆-C₁₄)-арил, -S-(C₁-C₆)-алкіл, -S-(C₆-C₁₄)-арил, -SO₃H, -SO₂(C₁-C₆)-алкіл, -SO₂(C₆-C₁₄)-арил, -OSO₂(C₁-C₆)-алкіл, -OSO₂(C₆-C₁₄)-арил, -COOH, -(CO)(C₁-C₅)-алкіл, моно-, ди- або трициклічні карбоцикли з кількістю членів у циклах від 3 до 14, насичені або з одним або кількома ненасиченими зв'язками, моно-, ди- або трициклічні гетероцикли з кількістю членів у циклах від 5 до 15, насичені або з одним або кількома ненасиченими зв'язками, що містять від 1 до 6 гетероатомів, у варіанті, якому віддається перевага, N, O та S, причому (C₆-C₁₄)-арильні групи та карбоциклічні й гетероциклічні замісники можуть бути у свою чергу незаміщеними або заміщеними одним або кількома замісниками R⁴,

R² та R³ можуть бути однаковими або різними, при цьому лише один із них може бути атомом водню; крім того, R² та R³ можуть означати

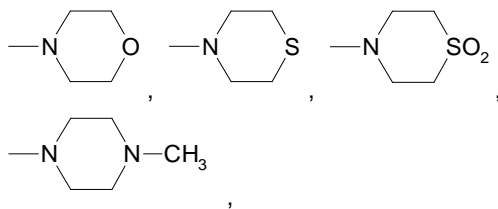
-(C₁-C₅)-алкіл, незаміщений або заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₆)-алкіл, -N(C₁-C₆-алкіл)₂, -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-(C₁-C₆)-алкіл, -S-(C₁-C₆)-алкіл, -феніл, -піридил, -феніл, незаміщений або заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₃)-алкіл, -N(C₁-C₃-алкіл)₂, -NO₂, -CN, -COOH, -COO(C₁-C₃)-алкіл, -F, -Cl, -Br, -O-(C₁-C₃)-алкіл, -S-(C₁-C₃)-алкіл,

(13) **C2**(11) **76432**(19) **UA**

-піридил, незаміщений або заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{COOH}$, $-\text{COO}(\text{C}_1\text{-C}_3)\text{-алкіл}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{O}(\text{C}_1\text{-C}_3)\text{-алкіл}$, $-\text{S}(\text{C}_1\text{-C}_3)\text{-алкіл}$, а також

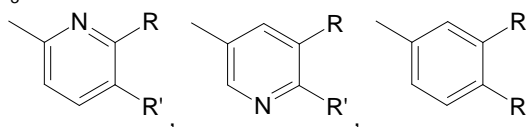


і, крім того, група $-\text{NR}^2\text{R}^3$ у цілому може являти собою



і R^4 може означати

$-\text{H}$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл})_2$, $-\text{NH}(\text{C}_6\text{-C}_{14})\text{-арил}$, $-\text{N}(\text{C}_6\text{-C}_{14})\text{-арил}_2$, $-\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл})(\text{C}_6\text{-C}_{14})\text{-арил}$, $-\text{NHCO}(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{COOH}$, $-\text{COO}(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-(\text{CO})(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-(\text{CS})(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, $-\text{O}(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-\text{O}(\text{C}_6\text{-C}_{14})\text{-арил}$, $-\text{S}(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-\text{S}(\text{C}_6\text{-C}_{14})\text{-арил}$, $-\text{SO}(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, за умови, що якщо $n=1$, R_1 , R_2 , R_3 не є в той же час $\text{R}_1=(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $\text{R}_2=-\text{H}$ або $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, і $\text{R}_3=$



причому R , R' незалежно один від одного є $-(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, факультативно заміщений одним або кількома атомами галоїду, $-(\text{C}_2\text{-C}_6)\text{-алкеніл}$, $-(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{-циклоалкоксигрупа}$, $-(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{-циклоалкіл}-(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкоксигрупа}$, $-(\text{C}_2\text{-C}_6)\text{-алкініл}$, $-(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{-циклоалкіл}$, $-(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{-циклоалкіл}-(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$, $-(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкілтіогрупа}$, $-(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{-циклоалкілтіогрупа}$, $-(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{-циклоалкіл}-(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкілтіогрупа}$, $-(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкоксигрупа}$, гідроксил, галоїд, нітрогрупа, $-\text{CF}_3$, $-\text{C}_2\text{F}_5$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{SCF}_3$, $-\text{SO}_2\text{CF}_3$, $-\text{SO}_2\text{F}$, форміл, $-(\text{C}_2\text{-C}_6)\text{-алканоліл}$, ціан, факультативно заміщений фенол або тієніл, $-\text{NR}''_2$, $-\text{CONR}''_2$, $-\text{COOR}''$, або

$\text{R}+\text{R}'$ спільно утворюють 5-членний карбоцикл або гетероцикл, і

R'' є $-\text{H}$ або $-(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-алкіл}$.

2. Фізіологічно толерантні солі сполук формули 1 за п. 1, де основні групи нейтралізовані неорганічними або органічними кислотами або кислотні групи нейтралізовані неорганічними або органічними основами, або третинні аміногрупи перетворені у четвертинні амонієві солі.

3. Сполуки формули 1 за пп. 1 або 2 з асиметричними вуглецевими атомами в D-формі, L-формі або у формі D,L-сумішей, або, в разі кількох асиметричних вуглецевих атомів, у діастереомерних формах.

4. Сполука формули 1 за пп. 1-3, де $n=1$, вибрана з перелічених нижче сполук:

- (1) амід N-(4-піридилметил)-1-циклопропілметил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (2) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-1-ізобутил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (3) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-1-гексил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (4) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-1-циклопропілметил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (5) амід N-(4-піридилметил)-1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (6) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (7) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-1-(4-метоксибензил)-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (8) амід N-(4-піридилметил)-1-(4-хлорбензил)-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (9) морфолід 1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-карбонової кислоти;
- (10) амід N-(2,6-дихлорфеніл)-1-(2-метилпропен-3-іл)-7-азаіндол-3-карбонової кислоти і
- (11) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-1-(4-піридилметил)-7-азаіндол-3-карбонової кислоти.

5. Сполука формули 1 за пп. 1-3, де $n=2$, вибрана з перелічених нижче сполук:

- (12) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(3-метоксибензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (13) гідрохлорид аміду N-(4-піридил)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (14) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (15) гідрохлорид аміду N-(4-піридил)-[1-(4-хлорбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (16) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(4-хлорбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (17) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(4-метоксибензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (18) амід N-(2,6-дихлорфеніл)-[1-(4-хлорбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (19) амід N-(4-карбоксибензил)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (20) амід N-(4-етоксибензил)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (21) амід N-(3,4-диметоксибензил)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (22) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(4-метилбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (23) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(4-гідроксибензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (24) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(3-гідроксибензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
- (25) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(1-циклопропілметил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;

(26) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-(1-гексил-7-азаіндол-3-іл)-гліоксилової кислоти;
 (27) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-(1-ізобутил-7-азаіндол-3-іл)-гліоксилової кислоти;
 (28) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(2-метилпропен-3-іл)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (29) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(2-метоксietил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (30) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(1-нафтилметил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (31) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(4-піридилметил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (32) амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(3,5-диметилізоксазол-4-ілметил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (33) амід N,N-bis(2-метоксietил)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (34) морфолід [1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (35) S,S-діоксотіоморфолід [1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (36) 4-метилпіперазид [1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (37) амід N-(6-метилурацил-5-іл)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (38) амід N-(3,6-диметилурацил-5-іл)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (39) амід N-(1,3,6-триметилурацил-5-іл)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти;
 (40) амід N-(1,2,4-Н-триазол-3-іл)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти.

6. Спосіб одержання сполук формули 1 за одним із пп. 1-4, де n=1, який відрізняється тим, що 7-азаіндол-3-карбонові кислоти дією хлорангідридів кислот перетворюють в аналогічні хлорангідриди 7-азаіндол-3-карбонових кислот, після чого шляхом реакції з первинними або вторинними амінами одержують сполуки формули 1 згідно з винаходом, де n=1.

7. Одержання сполук формули 1 за способом п. 6, яке відрізняється тим, що для синтезу хлорангідридів 7-азаіндол-3-карбонових кислот як згадані хлорангідриди кислот використовують тіонілхлорид або оксалілхлорид.

8. Одержання сполук формули 1 за способом пп. 6 або 7, яке відрізняється тим, що реакцію хлорангідридів 7-азаіндол-3-карбонових кислот із первинними або вторинними амінами виконують у присутності допоміжної основи, у варіанті, якому віддається перевага, у присутності надлишку аміну, використовуюваного як реагент, третинного аміну, наприклад, піридину або триетиламіну, а також неорганічних основ, у варіанті, якому віддається перевага, гідроксидів лужних металів або гідридів лужних металів.

9. Спосіб одержання сполук формули 1 за одним із пп. 1-3 та 5, де n=2, який відрізняється тим, що 7-азаіндоли дією оксалілхлориду перетворюють в аналогічні хлорангідриди 7-азаіндол-3-ілгліоксилових кислот, після чого шляхом реакції з первинними або вторинними амінами одержують сполуки формули 1, де n=2.

10. Одержання сполук формули 1 за способом п. 9, яке відрізняється тим, що реакцію хлорангідридів 7-азаіндол-3-ілгліоксилових кислот із первинними або вторинними амінами виконують у присутності допоміжної основи, у варіанті, якому віддається перевага, у присутності надлишку аміну, використовуюваного як реагент, третинного аміну, наприклад, піридину або триетиламіну, а також неорганічних основ, у варіанті, якому віддається перевага, гідроксидів лужних металів або гідридів лужних металів.

11. Сполуки формули 1 за одним із пп. 1-5 для застосування як терапевтичних активних речовин для виготовлення лікарських засобів для лікування захворювань, при яких терапевтично корисним є інгібування TNF α .

12. Сполуки формули 1 за одним із пп. 1-5 для застосування як терапевтичних активних речовин для виготовлення лікарських засобів для лікування захворювань, при яких терапевтично корисним є інгібування фосфодіестерази 4.

13. Сполуки формули 1 за одним із пп. 1-5 для застосування як терапевтичних активних речовин для виготовлення лікарських засобів для лікування захворювань, пов'язаних із впливом еозинофілів.

14. Сполуки формули 1 за одним із пп. 1-5 для застосування як терапевтичних активних речовин для виготовлення лікарських засобів для лікування захворювань, пов'язаних із впливом нейтрофілів.

15. Сполуки формули 1 за одним із пп. 1-5 для застосування як активних речовин для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або профілактики захворювань, при яких корисним є інгібування TNF α , зокрема, запалення суглобів, артриту, ревматоїдного артриту, захворювань типу артритів, ревматоїдного спондиліту, остеартриту, остеопорозу, сепсису, септичного шоку, грам-негативного сепсису, синдрому токсичного шоку, синдрому дихальної недостатності, астми, хронічних легеневих захворювань, резорбції кісток, реакції відторгнення трансплантатів; автоімунних захворювань, системного червоного вовчка, розсіяного склерозу, гломерулонефриту, увеїту, інсулінозалежного цукрового діабету, хронічної демієлінізації; вірусних захворювань, вірусних інфекцій, паразитарних інфекцій, малярії, лейшманіозу, лихоманки інфекційного походження, болю в м'язах інфекційного походження, СНІДу, хакексії; захворювань, які можна лікувати шляхом інгібування фосфодіестерази 4, астми; захворювань, при яких певну роль відіграють еозинофіли, бронхіальної астми, алергічного риніту, алергічного кон'юнктивіту, атопічного дерматиту, екземи, алергічного ангіїту, опосередкованих еозинофілами запалень, еозинофільного фасциту, еозинофільної пневмонії, синдрому PIE (легенева інфільтрація з еозинофілією), уртикарії, виразкового коліту, хвороби Крона, проліферативних захворювань шкіри, псоріазу, кератозу; хронічних обструктивних захворювань легень; захворювань, які можна лікувати шляхом нейропротекції, сенільної деменції, хвороби Альцгеймера, втрати пам'яті, хвороби Паркінсона, депресій, нападів (ударів), переміжної кульгавості, захворювань простати, доброякісного розростання простати, частого сечовипускання, нічної поліурії, нетримання сечі, колік, колік, спри-

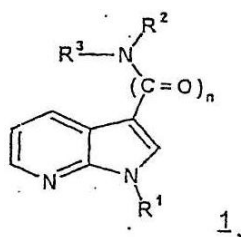
чинених каменями в сечовому міхурі, статевих дисфункцій у чоловіків та жінок; а також як бронходилататорів, для інгібування виникнення залежності від лікарських засобів, а також для обмеження розвитку звикання до лікарських засобів.

16. Лікарський засіб, який містить одну або кілька сполук за пп. 1-5, а також звичайні фізіологічно толерантні носії та/або розріджувачі або допоміжні речовини.

17. Спосіб виготовлення лікарського засобу за п. 16, який відрізняється тим, що одну або кілька сполук за одним із пп. 1-5 перероблюють у фармацевтичний препарат спільно зі звичайними фармацевтичними носіями та/або розріджувачами або іншими допоміжними речовинами та/або в терапевтично застосовувані лікарські форми.

18. Сполука формули 1 за одним із пп. 1-3, яка являє собою амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(4-фторбензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксилової кислоти.

Цей винахід стосується заміщених 7-азаіндолів загальної формули 1



способу їх одержання, фармацевтичних препаратів, які містять ці сполуки, а також фармацевтичного застосування цих сполук, які є інгібіторами фосфодієстерази 4, як активних речовин для лікування захворювань, при яких виникає потреба пригнічення активності фосфодієстерази 4 в імункомпетентних клітинах (наприклад, макрофагах та лімфоцитах) дією сполук, що відповідають цьому винаходу.

Активація рецепторів клітинних мембран трансмітерами спричиняє активацію системи "вторинних месенджерів". Аденілатциклаза синтезує з аденозинмонофосфату (AMP) та іуанозин-3',5'-монофосфату (GMP) активні сполуки - відповідно циклічний AMP (сAMP) та циклічний GMP (сGMP). Ці речовини викликають, наприклад, релаксацію у клітинах гладеньких м'язів або пригнічення виділення або синтезу медіатора в запалених клітинах. Розклад "вторинних месенджерів" сAMP та сGMP відбувається під впливом фосфодієстераз (PDE). На цей час відомі 11 сімейств ензимів PDE (PDE1-PDE11), які відрізняються одне від одного специфічністю до субстратів (сAMP, сGMP або до обох) та залежністю від інших субстратів (наприклад, калмодуліну). Ці ізоензими виконують в організмі різні функції і виражені в окремих видах клітин у різному ступені [дивись Бево, Конті та Хейсліп, "Множинні фосфодієстерази циклічних нуклеотидів" - Beavo J.A., Conti M., Heasley R.J., Multiple cyclic nucleotide phosphodiesterases. Mol. Pharmacol. 1994, 46:399-405; Холл, "Ізоензими - селективні інгібітори фосфодієстераз: потенціальне клінічне застосування" - Hall I.P., Isoenzyme selective phosphodiesterase inhibitors: potential clinical uses, Br. J. Clin. Pharmacol. 1993, 35:1-7]. Шляхом інгібування різних ізоензимних типів PDE досягається нагромадження сAMP або сGMP у клітинах, яке можна використати для лікувальних

цілей [дивись Торфі, Ліві, Крістенсен, "Нові інгібітори фосфодієстераз для терапії астми" - Torphy T.J., Livi G.P., Christensen S.B., Novel Phosphodiesterase Inhibitors for the Therapy of Asthma, Drug News and Perspectives 1993, 6:203-214].

У клітинах, які відіграють важливу роль при алергічних запаленнях (лімфоцитах, мастоцитах, еозинофілних гранулоцитах, макрофагах) переважним ізоензимом PDE є ізоензим типу 4 [дивись Торфі та Ундем, "Інгібітори фосфодієстераз: нові можливості лікування астми" - Torphy T.J., Undem B. J., Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma. Thorax 1991, 46:512-523]. Тому пригнічення PDE 4 відповідними інгібіторами розглядається як важливий підхід до лікування численних захворювань, викликаних алергією [дивись Шудт, Дент, Рабе, "Інгібітори фосфодієстераз" - Schudt Ch., Dent G., Rabe K., Phosphodiesterase Inhibitors, Acad. Press, London 1996].

Важливою властивістю інгібіторів фосфодієстерази 4 є інгібування виділення α -фактора некрозу пухлин (TNF α) із запалених клітин. TNF α є сильнодіючим запальним цитокином, який впливає на численні біологічні процеси. TNF α вивільнюється, наприклад, з активованих макрофагів, активованих Т-лімфоцитів, мастоцитів, базофілів, фібробластів, клітин ендотелію та астроцитів у мозку. У свою чергу, він спричиняє активацію нейтрофілів, еозинофілів, фібробластів та клітин ендотелію, причому виділяються різноманітні медіатори, які сприяють руйнуванню тканин. У моноцитах, макрофагах та Т-лімфоцитах TNF α викликає посилене продукування інших запальних цитокинів, таких як фактор стимуляції колонієутворення гранулоцитарних макрофагів (GM-CSF) або інтерлейкін-8. Унаслідок свого стимулювального впливу на запалення та катаболічного ефекту TNF α відіграє головну роль при численних захворюваннях, наприклад, при запаленнях дихальних шляхів, запаленнях суглобів, ендотоксичному шоку, відторгненні тканин, СНІДі та багатьох імунологічних захворюваннях. Отже, інгібітори фосфодієстерази 4 придатні також для лікування таких захворювань, пов'язаних із впливом TNF α .

Хронічні обструктивні захворювання легень (COPD) широко розповсюджені серед населення і мають також велике економічне значення. Так, наприклад, захворювання типу COPD є причиною

приблизно 10-15% загальних витрат на лікування у розвинутих країнах, і в США на рахунок цих захворювань можна віднести приблизно 25% всіх смертних випадків [дивись Норман, "COPD: нові розробки та терапевтичні можливості" - Norman P., CORD: New developments and therapeutic opportunities, *Drug News Perspect.* 11(7), 431-437, 1998]; проте вік більшості пацієнтів на момент смерті перевищує 55 років [Нольте, "Хронічний бронхіт - загальнонаціональне захворювання багатofакторного походження" - Nolte D., *Chronic Bronchitis - a National Disease of Multifactorial Origin. Atemw.-Lungenkrkh.* 20(5), 260-267, 1994]. За оцінками ВООЗ, у найближчі 20 років COPD стануть третьою за частотою причиною смерті.

Загальна картина захворювання на хронічні обструктивні хвороби легенів (COPD) охоплює різноманітні синдроми хронічних захворювань типу бронхітів із симптомами кашлю та виділення мокротиння, а також прогресуючого та необоротного погіршення функції легенів (особливо утруднюється видих). Перебіг захворювання нерівномірний і часто ускладнюється бактеріальними інфекціями [Реннард, "COPD: огляд визначень, епідеміологія та чинники, що впливають на розвиток захворювання" - Rennard S. I., CORD: Overview of definitions, Epidemiology, and factors influencing its development. *Chest* 113(4) Suppl., 235S-241S, 1998]. У процесі захворювання функція легенів постійно погіршується, розвивається емфізема легенів, і дихальна недостатність у пацієнтів стає очевидною. Це захворювання явно погіршує якість життя пацієнтів (задишка, низька витривалість при фізичних навантаженнях) і значно скорочує очікувану тривалість життя. Головним фактором ризику, окрім чинників навколишнього середовища, є паління [Куммер, "Астма та COPD" - Kummer F. *Astma and CORD, Atemw.-Lungenkrkh.* 20(5), 299-302, 1994; Rennard S. I., CORD: Overview of definitions, Epidemiology, and factors influencing its development. *Chest* 113(4) Suppl., 235S-241S, 1998], отже, у чоловіків захворювання зустрічається явно частіше, ніж серед жінок. Однак у майбутньому слід очікувати зміну цієї закономірності під впливом зміни життєвих звичок і збільшення кількості жінок, які палять.

Сучасна терапія спрямована тільки на полегшення симптомів і не втручається в причини розвитку захворювання. Застосування бета-2-агоністів тривалої дії (наприклад, сальметеролу), можливо в комбінації з мускаринергічними агоністами (наприклад, іпратопіумом) поліпшує функцію легенів шляхом розширення бронхів і широко застосовується в практиці [дивись Norman P., CORD: New developments and therapeutic opportunities, *Drug News Perspect.* 11(7), 431-437, 1998]. Значну роль при загостреннях COPD відіграють бактеріальні інфекції, які слід лікувати антибіотиками [Уїлсон, "Роль інфекції при COPD" - Wilson R., *The role of infections in CORD, Chest* 113(4) Suppl., 242S-248S, 1998; Гросман, "Значення антибіотиків та наслідки терапії антибіотиками при загостреннях COPD" - Grossman R.F. *The value of antibiotics and the outcomes of antibiotic therapy in exacerbations of CORD, Chest* 113(4) Suppl., 249S-255S, 1998]. Терапія цього захворювання до цього часу залиша-

ється незадовільною, особливо з точки зору постійного погіршення функції легенів. Нові терапевтичні підходи, базовані на застосуванні медіаторів запалення, протеаз або адгезивних молекул, можуть бути дуже перспективними [Барнс, "Хронічні обструктивні захворювання: нові можливості розробки лікарських засобів" - Barnes P.J. *Chronic obstructive disease: new opportunities for drug development, TIPS* 10(19), 415-423, 1998].

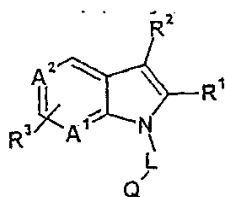
Незалежно від бактеріальних інфекцій, які ускладнюють захворювання, у бронхах виявляється хронічне запалення, при якому домінують нейтрофільні гранулоцити. Вважається, що за структурні зміни в дихальних шляхах (емфізему), які спостерігаються, несуть відповідальність, поряд з іншими чинниками, медіатори та ензими, які вивільнюються з нейтрофільних гранулоцитів. Таким чином, інгібування активності нейтрофільних гранулоцитів є раціональним прийомом для запобігання подальшому розвитку COPD (погіршенню функціональних параметрів легенів) або для сповільнення такого розвитку. Важливим чинником активації гранулоцитів є запальний цитокін TNF α (фактор некрозу пухлин). Відомо, наприклад, що TNF α стимулює утворення вільних кисневих радикалів у гранулоцитах [Йерсман, Ратьєн, Ферранте, "Посилення індукованого ліпополісахаридами продукування кисневих радикалів нейтрофілами під впливом TNF α " - Jersmann H.P.A., D.A. Rathien and A. Ferrante: *Enhancement of LPS-induced neutrophil oxygen radical production by TNF α , Infection and Immunity*, 4, 1744-1747, 1998]. Інгібітори PDE4 здатні дуже ефективно інгібувати вивільнення TNF α із різноманітних клітин і пригнічувати таким чином активність нейтрофільних гранулоцитів. Неспецифічний інгібітор PDE - пентоксифілін - може інгібувати як утворення кисневих радикалів, так і фагоцитозну здатність нейтрофільних гранулоцитів [Веніш та інші, "Вплив пентоксифіліну in vitro на продукування реакційноздатного кисню та фагоцитарну здатність нейтрофілів за даними цитометрії в потоці" - C. Wenish, K. Zedtwitz-Liebenstein, B. Parschalk, W. Graninger: *Effect of pentoxifylline in vitro on neutrophil reactive oxygen production and phagocytic ability, assessed by flow cytometry, Clin. Drug Invest.*, 13(2):99-104, 1997].

Уже відомі різноманітні інгібітори PDE4. Мова йде переважно про похідні ксантину, аналоги роліпруму або похідні нітраквасону [огляд дивись Карлсон, Альдос, "Інгібітори фосфодіестерази 4 для лікування астми" - J.-A. Karlsson, D. Aldos, *Phosphodiesterase 4 inhibitors for the treatment of asthma, Exp. Opin. Ther. Patents* 1997, 7:989-1003]. Жодна з цих сполук досі не була доведена до клінічного застосування. Доводилося констатувати, що відомі інгібітори PDE4 спричиняють різноманітні побічні ефекти, наприклад, нудоту та блювання, які до цього часу не вдавалося достатньо мірою усувати. Тому існує потреба в віднайденні нових інгібіторів PDE4 із покращеним терапевтичним діапазоном.

Застосування 7-азайндоли при розробленні нових активних речовин для різних цілей до цього часу згадувалося лише зрідка.

В патенті Японії №10120681 [Fujisawa Pharm. Co. Ltd.] заявлені 5- та 7-азайндоли загальної фор-

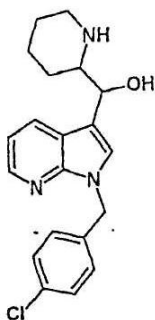
мули



де R^1 - водень або нижчий алкіл, R^2 може означати водень, галоїд, нижчі алкіли, циклоалкіли, алкілкарбоніли або алканойли, R^3 означає алканойли, захищені карбоксили, ціан або заміщені карбамоїли. L означає короткий алкіленовий місточок. Q означає заміщені ароматичні та гетероциклічні групи. Одна із груп A^1 та A^2 означає N, а друга CH. Ці сполуки відрізняються від сполук згідно з цим винаходом, зокрема, замісниками R^2 та R^3 , частково групами R^1 та A^2 . Описані сполуки заявлені як інгібітори фосфодіестерази, специфічної для cGMP (PDE5). Як показання до застосування вказані різноманітні захворювання серця та системи кровообігу, бронхіт, астма, риніт, імпотенція, ускладнення діабету та глаукома.

[Л.Н. Яхонтов, С.С. Ліберман, Д.М. Краснокутська та інші (Хим.-Фарм. Журнал 8(11), 1974, 5-9)] описали синтези різноманітних 3-аміноалкіл-4-азаїндоїв та 3-аміноалкіл-7-азаїндоїв. Описано депресивну або антидепресивну дію 3-(2-аміноетил)-7-азаїндою. Виявлено ефект зниження кров'яного тиску під впливом 3-амінометил-7-азаїндою.

[Вербіскар (A. J. Verbiscar, J. Med. Chem. 15(2), 1972, 149-152)] описав сполуку формули

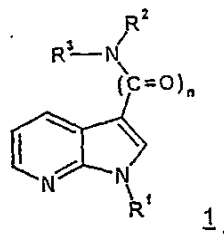


у якій виявлено протималарійну дію.

У патенті США 650223 [Sterling Drug Inc.] описано синтез різноманітних 2-(імідазолін-2-іл)-алкіл-7-азаїндоїв та 3-(імідазолін-2-іл)-алкіл-7-азаїндоїв із відповідних 2- або 3-ціаноалкіл-7-азаїндоїв і заявлено застосування цих сполук як судинозвужувачів.

Як інгібітори PDE4 7-азаїндої до цього часу зовсім невідомі.

Цей винахід стосується заміщених 7-азаїндоїв загальної формули 1



де

n може дорівнювати 1 або 2, і

 R^1 означає

-(C_1 - C_{10})-алкіл лінійної або розгалуженої будови,

факультативно заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C_1 - C_6)-алкіл, -N(C_1 - C_6 -алкіл)₂, -NH(C_6 - C_{14})-арил, -N(C_6 - C_{14} -арил)₂, -N(C_1 - C_6 -алкіл)(C_6 - C_{14} -арил), -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-(C_1 - C_6)-алкіл, -O-(C_6 - C_{14})-арил, -S-(C_1 - C_6)-алкіл, -S-(C_6 - C_{14})-арил, -SO₃H, -SO₂(C_1 - C_6)-алкіл, -SO₂(C_6 - C_{14})-арил, -OSO₂(C_1 - C_6)-алкіл, -OSO₂(C_6 - C_{14})-арил, -COOH, -(CO)(C_1 - C_5)-алкіл, моно-, ди- або трициклічні карбоцикли з кількістю членів у циклах від 3 до 14, насичені або з одним або кількома ненасиченими зв'язками, моно-, ди- або трициклічні гетероцикли з кількістю членів у циклах від 5 до 15, насичені або з одним або кількома ненасиченими зв'язками, що містять від 1 до 6 гетероатомів, переважно N, O та S,

причому (C_6 - C_{14})-арильні групи та карбоциклічні й гетероциклічні замісники можуть бути у свою чергу заміщені одним або кількома замісниками R^4 ,

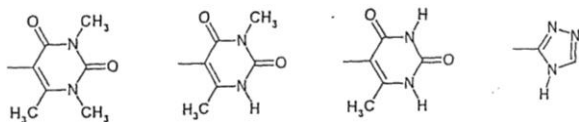
-(C_2 - C_{10})-алкеніл з одним або кількома ненасиченими зв'язками лінійної або розгалуженої будови, факультативно заміщений одним або кількома замісниками, вибраними з групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C_1 - C_6)-алкіл, -N(C_1 - C_6 -алкіл)₂, -NH(C_6 - C_{14})-арил, -N(C_6 - C_{14} -арил)₂, -N(C_1 - C_6 -алкіл)(C_6 - C_{14} -арил), -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-(C_1 - C_6)-алкіл, -O-(C_6 - C_{14})-арил, -S-(C_1 - C_6)-алкіл, -S-(C_6 - C_{14})-арил, -SO₃H, -SO₂(C_1 - C_6)-алкіл, -SO₂(C_6 - C_{14})-арил, -OSO₂(C_1 - C_6)-алкіл, -OSO₂(C_6 - C_{14})-арил, -COOH, -(CO)(C_1 - C_5)-алкіл, моно-, ди- або трициклічні карбоцикли з кількістю членів у циклах від 3 до 14, насичені або з одним або кількома ненасиченими зв'язками, моно-, ди- або трициклічні гетероцикли з кількістю членів у циклах від 5 до 15, насичені або з одним або кількома ненасиченими зв'язками, що містять від 1 до 6 гетероатомів, переважно N, O та S,

причому (C_6 - C_{14})-арильні групи та карбоциклічні й гетероциклічні замісники можуть бути у свою чергу заміщені одним або кількома замісниками R^4 ,

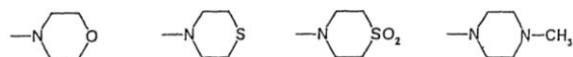
R^2 та R^3 можуть бути однаковими або різними, при цьому лише один із них може бути атомом водню; крім того, R^2 та R^3 можуть означати

-(C_1 - C_5)-алкіл, факультативно заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C_1 - C_6)-алкіл, -N(C_1 - C_6 -алкіл)₂, -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-(C_1 - C_6)-алкіл, -S-(C_1 - C_6)-алкіл, -феніл, -піридил, -феніл, факультативно заміщений одним або кіль-

кома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₃)-алкіл, -N(C₁-C₃-алкіл)₂, -NO₂, -CN, -COOH, -COO(C₁-C₃)-алкіл, -F, -Cl, -Br, -O-(C₁-C₃)-алкіл, -S-(C₁-C₃)-алкіл, піридил, факультативно заміщений одним або кількома замісниками, вибраними із групи, до якої входять -NO₂, -CN, -COOH, -COO(C₁-C₃)-алкіл, -Cl, -Br, -O-(C₁-C₃)-алкіл, -S-(C₁-C₃)-алкіл, а також



Група -NR²R³ у цілому може являти собою



R⁴ може означати

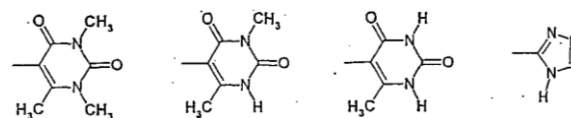
-H, -OH, -SH, -NH₂, -NH(C₁-C₆)-алкіл, -N(C₁-C₆-алкіл)₂, -NH(C₆-C₁₄)-арил, -N(C₆-C₁₄-арил)₂, -N(C₁-C₆-алкіл)(C₆-C₁₄-арил), -NHCO(C₁-C₆)-алкіл, -NO₂, -CN, -COOH, -COO(C₁-C₆)-алкіл, -(CO)(C₁-C₆)-алкіл, -(CS)(C₁-C₆)-алкіл, -F, -Cl, -Br, -I, -O-(C₁-C₆)-алкіл, -O-(C₆-C₁₄)-арил, -S-(C₁-C₆)-алкіл, -S-(C₆-C₁₄)-арил, -SO(C₁-C₆)-алкіл, -SO₂(C₁-C₆)-алкіл.

В 7-азаїодолах формули 1 згідно з цим винаходом замісник R¹ є переважно (C₁-C₁₀)-алкіл. Такий алкільний радикал може мати лінійну, розгалужену або циклічну будову, причому перевага віддається лінійній будові. Особлива перевага віддається алкільним радикалам із кількістю вуглецевих атомів від 1 до 6, ще більша перевага - радикалам із кількістю вуглецевих атомів від 1 до 4. В іншому варіанті здійснення винаходу, якому віддається перевага, R¹ є (C₂-C₁₀)-алкеніл, у варіанті, якому віддається більша перевага, (C₂-C₆)-алкеніл, у варіанті, якому віддається найбільша перевага, (C₂-C₄)-алкеніл. Цей алкенільний радикал може містити один або кілька ненасичених зв'язків, наприклад, два або три таких зв'язки. Алкенільний радикал може мати лінійну, розгалужену або циклічну будову. Особлива перевага віддається замісникам R¹, де алкільний або алкенільний радикал має один або кілька замісників, наприклад, два, три, чотири або п'ять. У варіантах, яким віддається особлива перевага, замісник R¹ є заміщений C₁-алкіл (тобто, метил). Серед вищезгаданих замісників при алкільній або алкенільній групі R¹ перевага віддається, зокрема, -OH, -F, -Cl, -Br, -I, (C₁-C₄)-алкоксигрупами. Далі, перевага віддається замісникам, де алкіл (у разі його присутності) містить від 1 атому до 4 атомів вуглецю, а арил (у разі його присутності) містить від 6 атомів до 10 атомів вуглецю. Серед карбоциклів перевага віддається фенілу, зокрема, заміщеному фенілу, який заміщений у варіанті, якому віддається перевага, -F, -Cl, -Br, -I, (C₁-C₆)-алкоксигрупою або гідроксильною. Серед гетероциклів перевага віддається таким, які містять щонайменше один гетероатом, вибраний із групи, до якої входять N, O та S. Особлива перевага серед гетероциклів віддається піридилу, а також ізоксазолу, зокрема, 3,5-диметилізоксазолу. Прикладом конденсованого карбоциклічного замісника є нафтил.

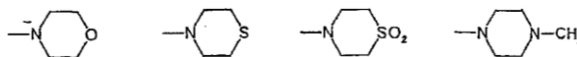
У варіантах, яким віддається особлива перевага, R¹ є група, яка містить циклічний вуглеводень, наприклад, циклопропілметил, лінійний вуглеводень, наприклад, н-гексил, лінійний вуглеводень, заміщений алкоксигрупою, наприклад, 2-метоксіетил, розгалужений вуглеводень, наприклад, ізобутіл, ненасичений вуглеводень, наприклад, 2-метилпропен-3-іл, або вуглеводневий радикал, який містить ароматичну групу, факультативно заміщену, наприклад, 4-фторбензил, 3-метоксибензил, 4-метоксибензил, 4-хлорбензил, 4-метилбензил, 3-гідроксибензил або 4-гідроксибензил, група, яка містить гетероароматичний вуглеводень, наприклад, 4-піридилметил або 3,5-диметилізоксазол-4-метил, або група, яка містить конденсований ароматичний вуглеводень, наприклад, 1-нафтилметил.

Замісники при атомі азоту, R² та R³, у варіанті, якому віддається перевага, можуть бути факультативно заміщеними (C₁-C₅)-алкілами, зокрема, (C₁-C₃)-алкілами, а особлива перевага віддається C₁-алкілу (тобто, метилу).

У варіантах здійснення винаходу, яким віддається перевага, один із замісників R² та/або R³ є радикал, який включає гетероароматичний вуглеводень, наприклад, 4-піридилметил, причому згаданий гетероароматичний вуглеводень може бути, в свою чергу, заміщеним, у варіанті, якому віддається перевага, галоїдом, таким як 3,5-дихлор-4-піридил. В іншому варіанті, якому віддається перевага, R² та/або R³ є радикал морфоліно. Далі, перевага віддається замісникам R² та R³, які включають ароматичний вуглеводень, який у варіанті, якому віддається перевага, є заміщеним, зокрема, галоїдом або карбоксильною, наприклад, 2,6-дихлорфеніл, 4-карбоксифеніл, 4-етоксикарбонілфеніл, 3,4-диметоксифеніл. Ще краще, якщо як R², так і R³ означають метоксіетил. В інших варіантах здійснення винаходу, яким віддається перевага, R² або R³ означає радикал



або група -NR²R³ у цілому являє собою



Далі, цей винахід стосується фізіологічно толерантних солей сполук формули 1.

Фізіологічно толерантні солі одержують звичайним способом шляхом нейтралізації основ неорганічними або органічними кислотами або шляхом нейтралізації кислот неорганічними або органічними основами. Як неорганічні кислоти можуть бути використані, наприклад, хлористоводнева кислота, сірчана кислота, фосфорна кислота або бромистоводнева кислота; як органічні кислоти, наприклад, карбонові, сульфокислоти або сульфонові кислоти, наприклад, оцтова кислота, винна кислота, молочна кислота, пропіонова кислота, гліколева кислота, малінова кислота, малеїнова кислота, фумарова кислота, дубильна кисло-

та, бурштинова кислота, альгінова кислота, бензойна кислота, 2-феноксibenзойна кислота, 2-ацетоксibenзойна кислота, корична кислота, мигдалева кислота, лимонна кислота, яблучна кислота, саліцилова кислота, 3-аміносаліцилова кислота, аскорбінова кислота, ембонова кислота, нікотинова кислота, ізонікотинова кислота, щавлева кислота, амінокислоти, метансульфокислота, етансульфокислота, 2-гідроксietансульфокислота, етан-1,2-дисульфокислота, бензолсульфокислота, 4-метилбензолсульфокислота або нафталін-2-сульфокислота. Як неорганічні основи можуть бути використані, наприклад, гідроксид натрію, гідроксид калію, аміак, як органічні основи - аміни, причому перевага віддається третинним амінам, наприклад, триметиламін, триетиламін, піридин, N,N-диметиланілін, хінолін, ізохінолін, α -піколін, β -піколін, γ -піколін, хінальдин або піримідин.

Крім того, фізіологічно толерантні солі сполук формули 1 можна одержати шляхом перетворення відомим способом похідних, які містять третинні аміногрупи, у четвертинні амонієві солі дією відповідних агентів. Такими агентами можуть бути галоїдні алкіли, наприклад, метилйодид, етилбромід та н-пропілхлорид, а також галоїдні арилалкіли, наприклад, бензилхлорид або 2-фенілетилбромід.

Крім того, цей винахід стосується D-форм, L-форм та D,L-сумішей сполук формули 1, які містять асиметричний атом вуглецю, а також, в разі наявності кількох асиметричних вуглецевих атомів, діастереомерних форм. Ті сполуки формули 1, які містять асиметричні атоми вуглецю й одержуються, як правило, у формі рацемічних сумішей, можна розділити на оптично активні ізомери відомими способами, наприклад, із застосуванням оптично активної кислоти. Можливо також із самого початку синтезу використовувати оптично активну вихідну речовину, при цьому кінцевий продукт утворюється у формі відповідної оптично активної або діастереомерної сполуки.

У сполук згідно з винаходом виявлено фармакологічно важливі властивості, які можна використати з терапевтичною метою.

Сполуки згідно з винаходом є інгібіторами вивільнення $TNF\alpha$.

Отже, ці сполуки можна застосувати для інгібування вивільнення $TNF\alpha$.

Таким чином, предметом цього винаходу є те, що сполуки формули 1 та їхні солі, а також фармацевтичні препарати, які містять ці сполуки або їхні солі, можна застосувати для лікування захворювань, при яких корисним є інгібування $TNF\alpha$.

До таких захворювань належать, наприклад, запалення суглобів, в тому числі артрит та ревматоїдний артрит, а також інші захворювання типу артритів, наприклад, ревматоїдний спондиліт та остеоартрит. Подальшими можливостями застосування є лікування пацієнтів, які страждають на остеопороз, сепсис, септичний шок, грам-негативний сепсис, синдром токсичного шоку, синдром дихальної недостатності, астму або інші хронічні легеневі захворювання, резорбцію кісток або реакцію відторгнення трансплантата або на інші автоімунні захворювання, наприклад, системний червоний вовчак, розсіяний склероз, гломеруло-нефрит та увеїт, інсулінозалежний цукровий діа-

бет, а також хронічну демієлінізацію.

Крім того, сполуки згідно з винаходом можна застосовувати для терапії інфекційних захворювань, наприклад, вірусних та паразитарних інфекцій, наприклад, для лікування малярії, лейшманіозу, лихоманки інфекційного походження, болю в м'язах інфекційного походження, СНІДу та кахексії.

Сполуки згідно з винаходом є інгібіторами фосфодіестерази 4.

Отже, ці сполуки можна застосувати для інгібування фосфодіестерази 4.

Таким чином, предметом цього винаходу є те, що сполуки формули 1 та їхні солі, а також фармацевтичні препарати, які містять ці сполуки або їхні солі, можна застосувати для лікування захворювань, при яких корисним є інгібування фосфодіестерази 4.

Отже, сполуки згідно з цим винаходом можна застосовувати як бронхорозширювачі та для профілактики астми. Крім того, сполуки формули 1 є інгібіторами нагромадження еозинофілів, а також їхньої активності. Таким чином, сполуки згідно з винаходом можна застосовувати також при захворюваннях, в яких певну роль відіграють еозинофіли. До таких захворювань належать, наприклад, запальні захворювання дихальних шляхів, наприклад, бронхіальна астма, алергічний риніт, алергічний кон'юнктивіт, атопічний дерматит, екзема, алергічний ангіїт, опосередковані еозинофілами запалення, наприклад, еозинофільний фасцит, еозинофільна пневмонія та синдром PIE (легенева інфільтрація з еозинофілією), уртикарія, виразковий коліт, хвороба Крона та проліферативні захворювання шкіри, наприклад, псоріаз або кератоз.

Предметом цього винаходу є те, що сполуки формули 1 та їхні солі можуть інгібувати як вивільнення $TNF\alpha$ *in vitro*, так і індуковану ліпополісахаридами легеневої інфільтрацію нейтрофілів у пацієнтів *in vivo*. Сукупність цих виявлених фармакологічно важливих властивостей підтверджує, що сполуки формули 1 та їхні солі, а також фармацевтичні препарати, які містять ці сполуки або їхні солі, можна терапевтично застосувати для лікування хронічних обструктивних захворювань легень.

Крім того, сполуки згідно з цим винаходом мають нейропротекторні властивості і можуть бути застосовані для лікування захворювань, при яких корисною є нейропротекція. До таких захворювань належать, наприклад, сенільна деменція (хвороба Альцгеймера), втрата пам'яті, хвороба Паркінсона, депресії, напади (удари) та переміжна кульгавість.

Іншими можливостями застосування сполук згідно з винаходом є профілактика та лікування захворювань простати, наприклад, доброякісного розростання простати, частого сечовипускання, нічної поліурії, а також лікування нетримання сечі, колік, спричинених каменями в сечовому міхурі, та статевих дисфункцій у чоловіків та жінок.

Нарешті, сполуки згідно з винаходом можна застосовувати також для інгібування виникнення залежності від лікарських засобів при систематичному вживанні анагетиків, наприклад, морфіну, а також для обмеження розвитку звикання до цих анагетиків при їх систематичному вживанні.

Для виготовлення лікарських засобів, крім

звичайних допоміжних речовин, носіїв та домішок, використовують ефективну дозу сполуки згідно з цим винаходом.

Доза активної речовини може варіювати залежно від шляху введення в організм, віку та маси тіла пацієнта, виду та тяжкості захворювання, що підлягає лікуванню, та аналогічних чинників.

Добову дозу можна вводити в організм у формі однієї дози, що вводиться одноразово, або ділити на дві або більше доз; добова доза становить, як правило, від 0,001 мг до 100 мг.

Серед способів введення в організм перевага віддається пероральним, парентеральним, внутрішньовенним, черезшкірним, місцевим, інгаляційним та назальним способам і відповідним лікарським формам.

Для застосування придатні звичайні форми фармацевтичних препаратів, наприклад, таблетки, таблетки, вкриті оболонкою, капсули, порошки для диспергування, грануляти, водні розчини, водні або масляні суспензії, сиропи, еліксири або краплі.

Тверді лікарські форми можуть містити інертні наповнювачі та носії, наприклад, карбонат кальцію, фосфат кальцію, фосфат натрію, лактозу, крохмаль, маніт, альгінати, желатин, гуарову камедь, стеарат магнію або алюмінію, метилцелюлозу, тальк, вискодисперсну кремнієву кислоту, силіконове масло, високомолекулярні жирні кислоти (наприклад, стеаринову кислоту), агар-агар, рослинні або тваринні жири й олії, тверді високомолекулярні полімери (наприклад, поліетиленгліколь); препарати для перорального застосування можуть в разі потреби містити додаткові смакові домішки та/або підсолоджувачі.

Рідкі лікарські форми можуть бути стерилізованими та/або містити факультативні допоміжні речовини, наприклад, консерванти, стабілізатори, змочувальні агенти, пенетранти, емульгатори, агенти, що сприяють розтіканню, солюбілізатори, солі, цукри або цукроспирти для регулювання осмотичного тиску або для буферного ефекту, та/або регулятори в'язкості.

До таких домішок належать, наприклад, тартратні та цитратні буфери, етанол, комплексотвірні речовини (наприклад, етилендіамінтетраоцтова кислота та її нетоксичні солі). Для регулювання в'язкості можуть використовуватися високомолекулярні полімери, такі як рідкий поліетиленоксид, мікрокристалічні целюлози, такі як карбоксиметилцелюлози, полівінілпіролідони, декстрини або желатини. До твердих носіїв належать, наприклад, різновиди крохмалю, лактоза, маніт, метилцелюлоза, тальк, вискодисперсні кремнієві кислоти, високомолекулярні жирні кислоти (наприклад, стеаринова кислота), желатин, агар-агар, фосфат кальцію, стеарат магнію, рослинні та тваринні жири, тверді високомолекулярні полімери, такі як поліетиленгліколь.

Масляні суспензії для парентерального або місцевого застосування можуть містити рослинні, синтетичні або напівсинтетичні масла, такі як рідкі складні ефіри жирних кислот із кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу жирної кислоти від 8 до 22, такі як складні ефіри пальмітинової, лауринової, тридецилової, маргаринової, стеаринової, арахінової, міристинової, бегенової, пентадецилової,

лінолевої, елаїдинової, брасидинової, ерукової або олеїнової кислот з одно-, дво- або триатомними спиртами з кількістю вуглецевих атомів від 1 до 6, наприклад, метанолом, етанолом, пропанолом, бутанолом, пентанолом або їхніми ізомерами, гліколем або гліцерином. Такими складними ефірами жирних кислот є, наприклад, комерційно доступні мігліюлі (Miglyols), ізопропілмірилат, ізопропілпальмітат, ізопропілстеарат, ПЕГ-6-капринова кислота, складний ефір каприлової та капринової кислот із насиченими жирними спиртами, поліоксіетиленгліцеринтриолеат, етилолеат, воскоподібні складні ефіри жирних кислот, наприклад, штучний жир куприкової залози качок, ізопропіловий ефір жирних кислот кокосової олії, олеїловий ефір олеїнової кислоти, децилолеат, етиловий ефір молочної кислоти, дибутифталат, діізопропіладипінат, складний ефір поліолів із жирними кислотами тощо. Придатні також силіконові масла різної в'язкості або жирні спирти, наприклад, ізотридециловий спирт, 2-октилдодеканол, цетилстеариловий спирт або олеїловий спирт; жирні кислоти, наприклад, олеїнова кислота. Крім того, можуть застосовуватися рослинні олії, наприклад, рицинова олія, мигдалева олія, оливкова олія, кунжутна олія, бавовняна олія, арахісова олія або соєва олія.

Як розчинники, гелеутворювачі та солюбілізатори можуть бути застосовані вода або розчинники, що змішуються з водою. Придатними є, наприклад, спирти, наприклад, етанол або ізопропіловий спирт, бензиловий спирт, 2-октилдодеканол, поліетиленгліколи, фталати, адипінати, пропіленгліколь, гліцерин, ди- або трипропіленгліколь, воски, метилцелозоль, целозоль, складні ефіри, морфоліни, діоксан, диметил сульфоксид, диметилформамід, тетрагідрофуран, циклогексанон тощо.

Як плівкотвірні агенти можуть бути застосовані прості ефіри целюлози, які розчиняються або набухають як у воді, так і в органічних розчинниках, наприклад, гідроксипропілметилцелюлоза, метилцелюлоза, етилцелюлоза або розчинні крохмалі.

Можливі також змішані форми геле- та плівкотвірних агентів. В цьому разі можуть бути застосовані, насамперед, іонні макромолекули, наприклад, натрієва сіль карбоксиметилцелюлози, поліакрилова кислота, поліметакрилова кислота та їхні солі, натрієвий амілопектиннапівгліколят, альгінова кислота або пропіленглікольальгінат у формі натрієвої солі, гуміарабік, ксантанова камедь, гуарова камедь або караген.

Як додаткові допоміжні речовини в композиціях можуть бути застосовані: гліцерин, парафіни різної в'язкості, триетаноламін, колаген, алантоїн, новантизолова кислота. При виготовленні композицій може виявитися необхідним також застосування поверхнево-активних речовин, емульгаторів або змочувальних агентів, прикладами яких є лаурилсульфат натрію, сульфати простих ефірів жирних спиртів, динатрій-N-лаурил-β-імінодипропіонат, поліоксіетилована рицинова олія або сорбітан-моноолеат, сорбітан-моностеарат, полісорбати (наприклад, твін), цетиловий спирт, лецитин, гліцеринмоностеарат, поліоксіетиленстеарат, простий ефір полігліколю з алкіл фенолами, хлорид цетилтриметиламонію або солі моноетаноламіну з моно/діалкілполігліколевыми простими

ефірами ортофосфорної кислоти. Для одержання композицій з бажаними властивостями можуть виявитися необхідними також стабілізатори, наприклад, монтморилоніт або колоїдні різновиди кремнієвої кислоти, для стабілізації емульсій, або антиоксиданти, наприклад, токоферол або бутилгідроксіанізол, для запобігання розкладу активних речовин, або консерванти, наприклад, складні ефіри п-гідроксибензойної кислоти.

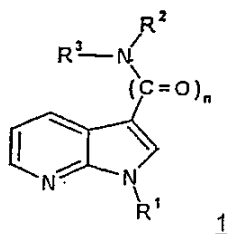
Препарати для парентерального застосування можуть виготовлятися у окремих дозованих одиничних формах, наприклад, в ампулах або пляшечках. Переважно використовуються розчини активних речовин, краще водні розчини, найкраще ізотонічні розчини, а також суспензії. Ці ін'єкційні лікарські форми можуть виготовлятися як готові препарати або постачатися у формі активної речовини, наприклад, ліофілізату, в разі потреби з додатковими твердими носіями, який безпосередньо перед введенням змішують із бажаним розчинником або суспендувальною речовиною.

Назальні композиції можуть мати форму водних або масляних розчинів або водних або масляних суспензій. Вони можуть постачатися також у формі ліофілізатів, які перед застосуванням змішують із відповідним розчинником або суспендувальною речовиною.

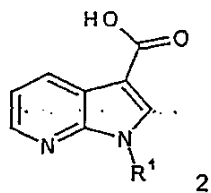
Виготовлення, фасування та герметизацію препаратів виконують у звичайних стерильних та асептичних умовах.

Крім того, цей винахід стосується способу одержання сполук згідно з винаходом.

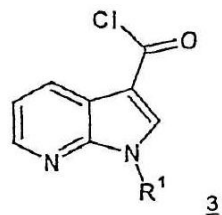
Згідно з цим винаходом, сполуки загальної формули 1 із вищезгаданими значеннями R^1 , R^2 , R^3 та $n=1$



одержують шляхом перетворення 7-азаіндол-3-карбонових кислот формули 2 із тими ж значеннями R^1

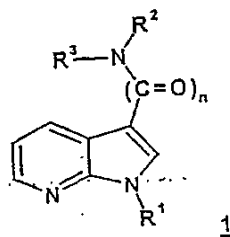


відомим способом із використанням хлорангідридів кислот, у варіанті, якому віддається перевага, тіонілхлориду або оксалілхлориду, спочатку в аналогічні хлорангідриди 7-азаіндол-3-карбонових кислот формули 3

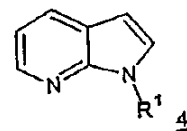


3 виділених хлорангідридів 7-азаіндол-3-карбонових кислот формули 3 потім одержують сполуки загальної формули 1 згідно з винаходом із вищезгаданими значеннями R^1 , R^2 , R^3 та $n=1$ шляхом реакції з первинним або вторинним аміном. Реакцію доцільно виконувати у присутності допоміжної основи. Як допоміжну основу можна застосовувати надлишок аміну, використововуваного як реагент, третинний амін, у варіанті, якому віддається перевага, піридин або триетиламін, а також неорганічні основи, у варіанті, якому віддається перевага, гідроксиди лужних металів або гідриди лужних металів.

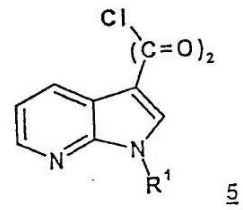
Згідно з цим винаходом, сполуки загальної формули 1 із вищезгаданими значеннями R^1 , R^2 , R^3 та $n=2$



одержують шляхом перетворення 7-азаіндолів формули 4 із тими ж значеннями R^1



відомим способом шляхом ацилювання оксалілхлоридом спочатку в аналогічні хлорангідриди 7-азаіндол-3-ілгліоксилових кислот формули 5



3 виділених хлорангідридів 7-азаіндол-3-ілгліоксилових кислот формули 5 потім одержують сполуки загальної формули 1 згідно з винаходом із вищезгаданими значеннями R^1 , R^2 , R^3 та $n=2$ шляхом реакції з первинним або вторинним аміном. Реакцію доцільно виконувати у присутності допоміжної основи. Як допоміжну основу можна застосовувати надлишок аміну, використововуваного як реагент, третинний амін, у варіанті, якому відда-

ється перевага, піридин або триетиламін, а також неорганічні основи, у варіанті, якому віддається перевага, гідроксиди лужних металів або гідриди лужних металів.

Приклади здійснення винаходу

Приклади способу одержання сполук формули 1 згідно з винаходом, де n=1:

Приклад 1: Амід N-(4-піридилметил)-1-циклопропілметил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти

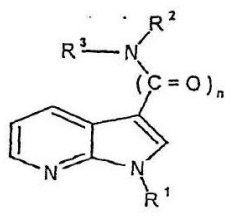
1,87г 1-циклопропілметил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти (8,6ммоль) суспендують в 15мл дихлорметану. При охолодженні водою додають 1,8мл оксалілхлориду (17,4ммоль). Перемішують реакційну суміш протягом 8год. При цьому кристалізується й випадає в осад хлорангідрид 1-циклопропілметил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти. Продукт відділяють і розчиняють в 18мл тетрагідрофурану (ТГФ).

1,14г гідриду натрію (60%-ного) суспендують в 21мл ТГФ. При перемішуванні додають крапля за краплею при температурі приблизно 10°C розчин 0,93г 4-амінометилпіридину (8,6ммоль) у 21мл ТГФ. Приблизно через 15хв до реакційної суміші додають крапля за краплею вищезазначений розчин хлорангідриду 1-циклопропілметил-7-азаіндол-3-карбонової кислоти. Нагрівають одержану суміш із зворотним холодильником протягом 3год. Після охолодження додають до суміші 36мл етилацетату та 36мл води. Розділяють фази і промивають органічну фазу водою. Видаляють розчинник дистиляцією і перекристалізують залишок з етанолу.

Вихід: 1,3г (50% теоретичного).

Температура плавлення: 187-189°C.

Із застосуванням вищеописаного способу синтезу можна одержати численні інші сполуки формули 1 із n=1; деякі з них наведено нижче як приклади:



Приклад	R ¹	-NR ² R ³	n	Т.пл., °C*)
1	циклопропілметил-	4-піридилметил-аміно-	1	187-189 етанол
2	ізобутил-	3,5-дихлор-4-піридиламіно-	1	168-170 етанол
3	н-гексил-	3,5-дихлор-4-піридиламіно-	1	136-137 метанол
4	циклопропілметил-	3,5-дихлор-4-піридиламіно-	1	186-187 етанол
5	4-фторбензил-	4-піридилметил-аміно-	1	189-191 етанол
6	4-фторбензил-	3,5-дихлор-4-піридиламіно-	1	232-233 етанол
7	4-метоксибензил-	3,5-дихлор-4-піридиламіно-	1	193-195 етанол
8	4-хлорбензил-	4-піридиламіно-	1	192-194 метанол
9	4-фторбензил-	Морфоліно-	1	182-184 етанол
10	2-метилпропен-3-іл-	2,6-дихлорфеніл-аміно-	1	171-174 етанол
11	4-піридилметил-	3,5-дихлор-4-піридиламіно-	1	190-192 метанол

*) Указано розчинник, застосований для перекристалізації

Приклади способу одержання сполук формули 1 згідно з винаходом, де n=2:

Приклад 12

Амід N-(3,5-дихлорпіридин-4-іл)-[1-(3-метоксибензил)-7-азаіндол-3-іл]-гліоксимої кислоти

3,57г 1-(3-метоксибензил)-7-азаіндолу (15ммоль) розчиняють в 50мл трет-бутилметилового простого ефіру. При температурі 0°C додають крапля за краплею при перемішуванні розчин 1,54г оксалілхлориду (18ммоль) в 10мл трет-бутилметилового простого ефіру. Після цього суміш нагрівають із зворотним холодильником протягом 2год, а потім видаляють розчинник дистиляцією у вакуумі. Одержують хлорангідрид 1-(3-метоксибензил)-7-азаіндол-3-ілгліоксимої кислоти у формі твердого залишку, який суспендують у 50мл тетрагідрофурану (ТГФ).

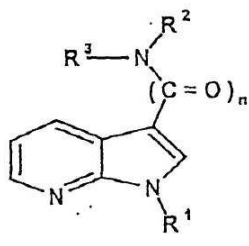
До суспензії 2г гідриду натрію в 20мл ТГФ додають крапля за краплею при температурі -5°C

розчин 2,4г 4-аміно-3,5-дихлорпіридину (15ммоль) у 30мл ТГФ. Після цього суміш витримують протягом 1год при 20°C при перемішуванні. Потім крапля за краплею додають вищезазначену суспензію хлорангідриду 1-(3-метоксибензил)-7-азаіндол-3-ілгліоксимої кислоти при температурі приблизно 0°C. Нагрівають одержану суміш із зворотним холодильником протягом 4год. Видаляють розчинник у вакуумі. Залишок розмішують із 50мл етилацетату та 50мл води. Розділяють фази і промивають органічну фазу водою. Видаляють розчинник дистиляцією у вакуумі і перекристалізують залишок з ізопропанолу.

Вихід: 3,5г (51,5% теоретичного).

Температура плавлення: 165-167°C.

Із застосуванням вищеописаного способу синтезу можна одержати численні інші сполуки формули 1 із n=2; деякі з них наведено нижче як приклади:



1

Приклад	R ¹	-NR ² R ³	n	Т.пл., °С*)
12	3-метоксibenзил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	165-167 iзoпропанoл
13	4-фторбензил-	4-пiридиламино- x HCl	2	275-278 ДМФ (диметилформамiд), з розкладом
14	4-фторбензил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	201-202 етанoл
15	4-хлорбензил-	4-пiридиламино- x HCl	2	280-283 ДМФ, з розкладом
16	4-хлорбензил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	205-207 етанoл
17	4-метоксibenзил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	165-167 етанoл
18	4-хлорбензил-	2,6-дихлорфенiл- амiно-	2	166-168 етанoл
19	4-фторбензил-	4-карбокcифенiл- амiно-	2	279-282 iзoпропанoл
20	4-фторбензил-	4-етокcикарбонiл- фенiл-амiно-	2	209-211 етанoл
21	4-фторбензил-	3,4-диметокcи- фенiл-амiно-	2	173-176 етанoл
22	4-метилбензил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	176-178 етанoл
23	4-гiдроксibenзил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	140-142 етанoл
24	3-гiдроксibenзил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	241-244 етанoл
25	Циклопропiлметил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	215-218 етанoл
26	n-гексил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	165-167 етанoл
27	iзобутил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	152-154 метанoл
28	2-метилпропен-3-iл-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	114-116 метанoл
29	2-метоксiетил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	166-168 метанoл
30	1-нафтилметил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	181-183 етанoл
31	4-пiридилметил-	3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	199-201 етанoл
32		3,5-дихлор-4-пiридиламино-	2	196-198 етанoл
33	4-фторбензил-	-N(C ₂ H ₄ -OCH ₃) ₂	2	63-66 метанoл
34	4-фторбензил-		2	184-185 етанoл
35	4-фторбензил-		2	188-191 етанoл
36	4-фторбензил-		2	179-181 метанoл
37	4-фторбензил-		2	297-300 ДМФ, з розкладом
38	4-фторбензил-		2	310-313 ДМФ
39	4-фторбензил-		2	160-162 ацетон
40	4-фторбензил-		2	312-315 ДМФ, з розкладом

*) Указано розчинник, застосований для перекристалізації

Сполуки згідно з цим винаходом є сильними інгібіторами фосфодієстерази 4 та вивільнення TNFα. Їхній терапевтичний потенціал підтверджу-

ється in vivo, наприклад, інгібуванням астматичної реакції пізньої фази (еозинофіли), а також впливом на індуковану алергеном проникність судин в активно сенсibilізованих пацієнтів лінії Brown-Norway.

Інгібування фосфодієстераз

Активність PDE4 визначають у препаратах ензиму з поліморфно-ядерних лімфоцитів (PMNL) людини, активність PDE2, 3 і 5 - із застосуванням PDE із тромбоцитів людини. Запобігали згортанню людської крові за допомогою цитрату. Шляхом центрифугування при 700xg протягом 20хв при кімнатній температурі відділяли збагачену тромбоцитами плазму (надосадову рідину) від еритроцитів та лейкоцитів. Тромбоцити руйнували обробкою ультразвуком і застосовували для визначення PDE3 та PDE5. Для визначення активності PDE2 цитозольну фракцію тромбоцитів очищали пропусканням через аніонообмінну колонку з елююванням градієнтом NaCl і відбирали для випробування фракцію (пік) PDE 2. PMNL для визначення PDE4 виділяли шляхом наступного осадження декстраном, після якого виконували градієнтним центрифугуванням із застосуванням Ficoll-Paque. Після дворазового промивання клітин залишкові еритроцити руйнували шляхом додавання 10мл гіпотонічного буфера (155mM NH₄Cl, 10mM NaHCO₃, 0,1mM EDTA, pH=7,4) протягом 6хв при 4°C. PMNL, які ще залишалися непошкодженими, промивали ще двічі сольовим розчином із фосфатним буфером (PBS) і руйнували ультразвуком. Надосадова рідина після центрифугування протягом 1год при 48000xg при температурі 4°C містила цитозольну фракцію PDE4 і застосовувалася для вимірювання кількості PDE4.

Активність фосфодієстераз визначали за модифікованою методикою, описаною Томпсоном та іншими [WJ. Thompson, M. M. Appleman, Assay of cyclic nucleotide phosphodiesterase and resolution of multiple molecular forms of the enzyme, Adv. Cycl. Nucl. Res. 1979, 10, 69-92].

Реакційні суміші містили 50mM Трис-HCl (pH 7,4), 5mM MgCl₂, інгібітори у різних концентраціях, відповідні препарати ензимів, а також додаткові компоненти, необхідні для визначення індивідуальних ізоензимів (дивись нижче). Реакцію ініціювали додаванням субстрату 0,5мкМ [³H]-сAMP або [³H]-сGMP (приблизно 6000 відліків за хвилину на пробу). Кінцевий об'єм проб становив 100мл. Випробовувані речовини додавали у формі вихідних розчинів у ДМСО (диметилсульфоксиді). Концентрація ДМСО в реакційній суміші становила 1% (об'єми). ДМСО в такій концентрації не впливає на активність PDE. Після ініціювання реакції додаванням субстрату проби інкубували протягом 30хв при 37°C. Реакцію припиняли нагріванням пробірки із пробєю при 110°C протягом 2хв. Проби витримували на льоду протягом додаткових 10хв. Після додавання 30мкл 5'-нуклеотидази (мг/мл, одержано із суспензії отрути змії Crotalus adamanteus) інкубували проби протягом 10хв при 37°C. Реакцію припиняли вміщенням проб у лід, додавали в кожну пробу 400мкл суміші смоли "Дауекс" із водою та етанолом (1+1+1), ретельно перемішували і знову витримували на льоду протягом 15хв. Пробірки із пробами центрифугували протягом 20хв при

3000×g. Аліквотні частки надосадової рідини об'ємом по 200мкл переносили безпосередньо в посудину для підрахування сцинтиляцій. Після додавання 3мл сцинтилятора проводили вимірювання в бета-лічильнику.

Для визначення активності PDE4, 3 та 2 як субстрат застосовували [³H]-сAMP, для визначення активності PDE5 - [³H]-сGMP. Показники неспецифічної активності ензимів вимірювали в присутності 100мкМ роліпраму (Rolipram) при визначенні PDE4 і в присутності 100мкМ IBMX при визначенні PDE3 та 5 і віднімали від одержаних в експериментах значень. Інкубаційні суміші у випробуваннях на PDE3 містили 10мкМ роліпраму для інгібування можливої домішки PDE4. Випробування на PDE2 виконували із застосуванням проби SPA фірми "Амершам" (Amersham). Випробування проводили у присутності активатора PDE2 (5мкМ сGMP).

Для сполук згідно з винаходом визначені значення IC₅₀ стосовно до інгібування фосфодіестерази 4 лежать у межах від 10⁻⁹М до 10⁻⁵М. Селективність відносно типів PDE2, 3 та 5 має значення коефіцієнта від 100 до 10000.

У поданій нижче таблиці наведено як приклади результати випробувань інгібування PDE4 деякими сполуками:

Приклад	Інгібування PDE4, IC ₅₀ (мкмоль/л)
1	0,710
2	1,400
12	0,005
13	0,058
14	0,004
15	0,031
16	0,002
17	0,008
18	0,031
22	0,002
23	0,001
24	0,003
25	0,004
26	0,021
27	0,002
28	0,003
32	0,113
37	0,987

Інгібування вивільнення TNFα із клітин назальних поліпів

Процедура випробування в цілому відповідає методиці, описаній Кемпбелом та Буске [A.M. Campbell, J. Bousquet, Anti-allergic activity of H₂ blockers, Int. Arch. Allergy Immunol., 1993, 101, 308-310]. Вихідним матеріалом були назальні поліпи (матеріал ОР) пацієнтів, яких піддавали хірургічному лікуванню.

Тканину промивали середовищем RPMI 1640, а потім обробляли протеазою (2,0мг/мл), колагеназою (1,5мг/мл), гіалуронидазою (0,75мг/мл) і ДНКазою (0,05мг/мл) протягом 2год при 37°C (1г тканини на 4мл RPMI 1640 з ензимами). Одержані клітини, що являли собою суміш епітеліальних клітин, моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, фіброblastів та гранулоцитів, відділяли фільтруванням і

промивали шляхом кількаразового центрифугування з живильним розчином, пасивно сенсibilізували додаванням людського імуноглобуліну Е (IgE) і розводили суспензію клітин до концентрації 2млн. клітин на 1мл середовищем RPMI 1640 (із домішками антибіотиків, 10% сироватки плоду корови, 2мМ глутаміну та 25мМ HEPES). Цю суспензію розподіляли по 6-лунковому планшету для культивування клітин (по 1мл у лунку). Клітини попередньо інкубували протягом 30хв із випробовуваними речовинами в різних кінцевих концентраціях, після чого подразнювали для вивільнення TNFα додаванням анти-IgE (7,2мкг/мл). Максимальне вивільнення у вказаному живильному середовищі має місце приблизно через 18год. Протягом цього часу клітини інкубували при 37°C в атмосфері 5%-ного CO₂. Відділяли живильне середовище (надосадову рідину) шляхом центрифугування (5хв, 4000об/хв) і зберігали при -70°C до визначення цитокіну. Визначення TNFα у надосадовій рідині виконували так званим методом сендвіч-ELISA (варіант імуноферментного твердофазного аналізу) (основний матеріал фірми Pharmingen), який дозволяє визначати цитокін у концентраціях від 30пг/мл до 1000пг/мл.

Клітини, не стимульовані анти-IgE, практично не продукують TNFα; навпаки, стимульовані клітини вивільнюють значні кількості TNFα, які можна зменшити, наприклад, дією інгібіторів PDE4, при цьому ступень зменшення залежить від дози. Зі значень процента інгібування (вивільнення TNFα клітинами, стимульованими анти-IgE, приймали за 100%) під дією випробовуваних речовин у різних концентраціях обчислювали значення IC₅₀ (концентрації, що відповідає 50%-ному інгібуванню).

Для сполук згідно з винаходом визначені показники IC₅₀ лежать у межах від 10⁻⁷М до 10⁻⁵М.

У поданій нижче таблиці наведено як приклади результати випробувань інгібування вивільнення TNFα деякими сполуками:

Приклад	Інгібування вивільнення TNFα	
	Концентрація, мкмоль/л	Інгібування, %
14	0,3	92
16	1,0	90
17	1,0	91
27	1,0	91

Інгібування еозинофілів у пізній фазі через 48год після овальбумінової провокації в активно сенсibilізованих пацюків лінії Brown-Norway

Інгібування інфільтрації еозинофілів у легенях під впливом сполук згідно з цим винаходом випробовували на активно сенсibilізованих до яєчного альбуміну (OVA) самцях пацюків лінії Brown-Norway (маса тіла 200-250г). Сенсibilізацію здійснювали шляхом підшкірного введення кожній тварині суспензії 10мкг OVA разом із 20мг гідроксиду алюмінію як допоміжної речовини в 0,5мл фізіологічного сольового розчину в 1-й, 14-й та 21-й дні досліду. Крім того, тварини одержували в ті ж моменти часу розведену вакцину Bordetella pertussis у кількості 0,25мл для кожної тварини шляхом внутрішньоочеревинної ін'єкції. На 28-й день досліду тварин уміщували поодиноці у відкриті плексигла-

сові бокси місткістю 1л, приєднані до приладу для експозиції голови та носа. Тварин піддавали дії аерозолію 1%-ної суспензії яєчного альбуміну (провокація алергеном). Аерозоль одержували за допомогою розпилювача, що працював на стисненому повітрі під тиском 0,2МПа (фірми Bird Micronebulizer, Palm Springs, CA, USA). Тривалість експозиції була 1год, при цьому нормальних контрольних тварин піддавали експозиції аерозолем 0,9%-ного сольового розчину.

Через 48год після провокації алергеном розвивалася масована міграція еозинофільних гранулоцитів у легені тварин. В цей момент тварин анестезували надлишковою дозою етилуретану (1,5г/кг маси тіла внутрішньоочеревинно) і тричі виконували бронхоальвеолярне промивання (BAL) дозами по 4мл збалансованого розчину Хенка. Після цього визначали загальну кількість клітин та кількість еозинофільних гранулоцитів у зібраній рідині після BAL за допомогою автоматизованого приладу для диференціації клітин (Technicon HIE фірми Bayer Diagnostics). Для кожної тварини розраховували кількість еозинофілів (EOS) у рідині після BAL у мільйонах на тварину за формулою $\text{EOS/мкл} \times \text{вихід BAL (мл)} = \text{EOS/тварину}$.

При кожному випробуванні використовували дві контрольні групи (обприскування аерозолем фізіологічного сольового розчину та обприскування аерозолем розчину OVA).

Процент інгібування еозинофілів для дослідної групи тварин, які одержували випробовувані речовини, розраховували за формулою:

$$\{[(\text{OVAC-SC})-(\text{OVAD-SC})]/(\text{OVAC-SC})\} \times 100\% = \% \text{ інгібування}$$

(SC - показник для контрольної групи, обробленої носієм і провокованої 0,9%-ним сольовим розчином; OVAC - показник для контрольної групи, обробленої носієм і провокованої 1%-ною суспензією яєчного альбуміну; OVAD - показник для дослідної групи, обробленої випробовуваною речовиною і провокованої 1%-ною суспензією яєчного альбуміну).

Випробовувані речовини вводили в організм тварин внутрішньоочеревинно або перорально у формі суспензії в 10% поліетиленгліколю-300 та 5% 5-гідроксіетилцелюлози за 2год до провокації алергеном. Контрольні групи одержували носій за тим же способом введення.

Сполуки згідно з винаходом інгібують еозинофілію пізньої фази після внутрішньоочеревинного введення в дозі 10мг/кг на 30-100% і після перорального введення в дозі 30мг/кг на 30-75%.

Таким чином, сполуки згідно з винаходом особливо придатні для виготовлення лікарських засобів для лікування захворювань, які пов'язані із впливом еозинофілів.

У поданій нижче таблиці наведено як приклади результати випробувань інгібування еозинофілії деякими сполуками:

Приклад	Інгібування еозинофілії	
	Доза/спосіб введення*)	Інгібування, %
14	10мг/кг, і.р.	62
	10мг/кг, р.о.	59
16	10мг/кг, і.р.	100

	10мг/кг, р.о.	70
17	10мг/кг, і.р.	75
	10мг/кг, р.о.	32
27	10мг/кг, і.р.	50
	10мг/кг, р.о.	70

*) і.р. - внутрішньоочеревинно; р.о. - перорально

Інгібування індукованої ліпополісахаридами (LPS) легеневої нейтрофілії у пацюків Льюїса

Інгібування інфільтрації нейтрофілів у легені під впливом сполук згідно з цим винаходом випробовували на самцях пацюків Льюїса (маса тіла 250-350г). У день проведення дослідів тварин уміщували поодиночі у відкриті плексигласові бокси місткістю 1л, приєднані до приладу для експозиції голови та носа. Тварин піддавали дії аерозолію суспензії ліпополісахаридів (100мкг LPS/мл 0,1%-ного розчину гідроксиламіну) у сольовому розчині з фосфатним буфером (PBS) (LPS-провокація). Аерозоль LPS та гідроксиламіну одержували за допомогою розпилювача, що працював на стисненому повітрі під тиском 0,2МПа (фірми Bird Micronebulizer, Palm Springs, CA, USA). Тривалість експозиції була 40хв, при цьому нормальні контрольні групи піддавали експозиції аерозолем 0,1%-ного розчину гідроксиламіну в PBS також протягом 40хв.

Через 6год після LPS-провокації розвивалася максимальна масована міграція нейтрофілів у легені тварин. В цей момент тварин анестезували надлишковою дозою етилуретану (1,5г/кг маси тіла внутрішньоочеревинно) і тричі виконували бронхоальвеолярне промивання (BAL) дозами по 4мл збалансованого розчину Хенка. Після цього визначали загальну кількість клітин та кількість нейтрофілів у зібраній рідині після BAL за допомогою автоматизованого приладу для диференціації клітин (Technicon HIE фірми Bayer Diagnostics). Для кожної тварини обчислювали кількість нейтрофілів (NEUTRO) у рідині після BAL у мільйонах на тварину за формулою $\text{NEUTRO/мкл} \times \text{вихід BAL (мл)} = \text{NEUTRO/тварину}$.

При кожному випробуванні використовували дві контрольні групи (обприскування аерозолем 0,1%-ного розчину гідроксиламіну в PBS та обприскування аерозолем розчину 100мкг LPS/мл 0,1%-ного розчину гідроксиламіну в PBS).

Процент інгібування нейтрофілів для дослідної групи тварин, які одержували випробовувані речовини, розраховували за формулою:

$$\{[(\text{LPSC-SC})-(\text{LPSC-SC})]/(\text{LPSC-SC})\} \times 100\% = \% \text{ інгібування}$$

(SC - показник для контрольної групи, обробленої носієм і провокованої 0,1%-ним розчином гідроксиламіну; LPSC - показник для контрольної групи, обробленої носієм і провокованої LPS (100мкг/мл 0,1%-ного розчину гідроксиламіну); LPSCD - показник для дослідної групи, обробленої випробовуваною речовиною і провокованої LPS (100мкг/мл 0,1%-ного розчину гідроксиламіну)).

Випробовувані речовини вводили в організм тварин перорально у формі суспензії в 10% поліетиленгліколю-300 та 5% 5-гідроксіетилцелюлози за

2 год до LPS-провокації. Контрольні групи одержували носій за тим же способом введення.

Сполуки згідно з винаходом інгібують нейтрофілію після перорального введення в дозі 1 мг/кг на 40-90% і, таким чином, є особливо придатними для виготовлення лікарських засобів для лікування захворювань, які пов'язані із впливом нейтрофілів.

У поданій нижче таблиці наведено як приклади результати випробувань інгібування нейтрофілії деякими сполуками:

Приклад	Інгібування нейтрофілії	
	Доза/спосіб введення*)	Інгібування, %
14	1 мг/кг, р.о.	80
22	1 мг/кг, р.о.	64
27	1 мг/кг, р.о.	52

*) р.о. - перорально