



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **75980** (13) **C2**
(51) **МПК**
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

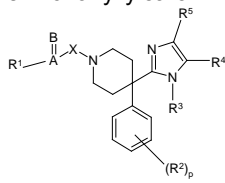
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАМІЩЕНІ 4-ФЕНІЛ-4-(1Н-ІМІДАЗОЛ-2-ІЛ)-ПІПЕРИДИНОВІ ПОХІДНІ ДЛЯ ЗМЕНШЕННЯ ІШЕМІЧНИХ УРАЖЕНЬ

1

(21) 20040503666
(22) 10.10.2002
(24) 15.06.2006
(86) PCT/EP02/11371, 10.10.2002
(31) 01203927.7
(32) 15.10.2001
(33) EP
(46) 15.06.2006, Бюл. № 6, 2006 р.
(72) Янссен Пауль Адрияан, BE, Леенартс Йозеф Елізабет, BE, Фернандес-Гадеа Франсиско Хавьер, ES, Гомес-Санчес Антонио, ES, Фламенг Віллем, BE, Херійгерс Пауль Йоаннес, BE, Меерт Тео Франс, BE, Боргерс Марсель Дж.м., BE
(73) ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА Н.В., BE
(56) EP 1 038 872 A 27.09.2000
WO 99 04795 A 04.02.1999
SU T-P ET AL: "NOVEL ACTIONS OF A DELTA OPIOID PEPTIDE DADLE: FROM HIBERNATION TO ORGAN PRESERVATION" SOCIETY FOR NEUROSCIENCE ABSTRACTS, SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, US, vol. 19, no. 1/3, 1993, page 421
GOVINDASWAMI M ET AL: "Opioid-like hibernation factors provide protection to the ischemic miocsridium" LIFE IN THE COLD., 2000, Eleventh international hibernation symposium; Jungholz, Austria; August 13-18, 2000, Springer-Verlag New York Inc. Heidelberger Platz 3, D-14197, Berlin, Germany; 175 Fifth Avenue, New York, NY, 10010-7858, USA ISBN: 3-540-67410-1
GB 2 332 373 A 23.06.1999
WO 00 37470 A 29.06.2000
WO 00 77008 A 21.12.2000
WO 03 033486 A 24.04.2003
(57) 1. Агент для зменшення ішемічного ураження органа у ссавця, який містить як активний інгредієнт сполуку загальної формули (I)



(I)

її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її

2

таутомерні форми та її N-оксидні форми, у якій:
A=B вибрано з групи, що містить C=O, C=N-R⁶, де R⁶ означає гідроген або ціаногрупу, C=S, S=O, SO₂ та C=CR⁷R⁸, де R⁷ та R⁸ кожний незалежно означає гідроген, нітрогрупу або алкіл X означає ковалентний зв'язок, -CH₂- чи CH₂CH₂-,
R¹ означає гідроген, гідроксильну групу, алкілоксигрупу, алкілкарбонілоксигрупу, Ar-оксигрупу, Het-оксигрупу, Ar-карбонілоксигрупу, Het-карбонілоксигрупу, Ar-алкілоксигрупу, Het-алкілоксигрупу, алкіл, полігалоїдалкіл, алкілоксіалкіл, Ar-алкіл, Het-алкіл, Ar, Het, тіогрупу, алкілтіогрупу, Ar-тіогрупу, Het-тіогрупу чи NR⁹R¹⁰, де R⁹ та R¹⁰ кожний незалежно означає гідроген, алкіл, Ar, Ar-алкіл, Het, Het-алкіл, Ar-карбоніл, Het-карбоніл чи алкілоксикарбоніалкіл; або A=B та R¹ разом утворюють необов'язково заміщений семіароматичний або ароматичний карбоциклічний чи гетероциклічний радикал Het² чи Het³,
R² означає гідроксильну групу, алкілоксигрупу, алкілкарбонілоксигрупу, фенілоксигрупу, фенілкарбонілоксигрупу, галоїд, ціаногрупу, алкіл, полігалоїдалкіл, алкілоксіалкіл, форміл, карбоксигрупу, алкілкарбоніл, алкілоксикарбоніл, амінокарбоніл, моно- чи діалкіламінокарбоніл, феніл, нітрогрупу, аміногрупу, моно- чи діалкіламіногрупу, тіогрупу чи алкілтіогрупу,
R³ означає алкіл, Ar, Ar-алкіл, Ar-алкеніл, Ar-карбоніл, Het, Het-алкіл, Het-карбоніл чи Het-алкеніл,
R⁴, R⁵ кожний незалежно означає гідроген, алкіл, карбоксигрупу, амінокарбоніл, алкілоксикарбоніл, галоїд чи гідроксіалкіл, р означає ціле число, що дорівнює нулю, 1, 2 чи 3, алкіл означає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, який містить від 1 до 6 атомів карбону, або циклічний насичений вуглеводневий (циклоалкільний) радикал, який містить від 3 до 7 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, який містить від 3 до 7 атомів карбону, приєднаний до лінійного чи розгалуженого насиченого вуглеводневого радикала, який містить від 1 до 6 атомів карбону, причому кожний атом карбону може бути необов'язково заміщеним аміногрупою, нітрогрупою, тіогрупою, гідроксильною групою, оксогрупою, ціаногрупою, формілом чи карбоксильною групою,

C2
(13)

75980
(11)

UA
(19)

алкеніл означає алкільний радикал, який має один чи кілька подвійних зв'язків, Ar означає гомоциклічне ядро, вибране з групи фенілу та нафтилу, кожний з яких є необов'язково заміщеним одним чи кількома замісниками, причому кожний замісник незалежно вибраний з групи гідроксильної групи, алкілоксигрупи, фенілоксигрупи, фенілкарбонілоксигрупи, полігалоїдалкілоксигрупи, галоїду, ціаногрупи, алкілу, полігалоїдалкілу, алкілоксіалкілу, формілу, галоїдформілу, карбоксильної групи, алкілкарбонілу, алкілоксикарбонілу, амінокарбонілу, моно- чи діалкіламінокарбонілу, фенілалкілу, фенілу, нітрогрупи, аміногрупи, моно- чи діалкіламіногрупи, тіогрупи, алкілтіогрупи чи $\text{SO}_3\text{-CH}_3$, галоїд означає замісник, вибраний з групи флуору, хлору, бром та йоду, полігалоїдалкіл означає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, який містить від 1 до 6 атомів карбону, чи циклічний насичений вуглеводневий радикал, який містить від 3 до 7 атомів карбону, у якому один чи кілька атомів карбону є заміщеними одним чи кількома атомами галоїду, Het означає гетероциклічний радикал, вибраний з групи Het¹, Het² та Het³, Het¹ означає аліфатичний моноциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи піролідинілу, діоксолілу, імідазолінілу, піразолідинілу, піперидинілу, діоксилу, морфолінілу, дитіанілу, тіоморфолінілу, піперазинілу та тетрагідрофуранілу, Het² означає семіароматичний моноциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи 2H-піролілу, піролінілу, імідазолінілу та піразолінілу, Het³ означає ароматичний моноциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи піролілу, піразолілу, імідазолілу, фуранілу, тієнілу, оксазолілу, ізоксазолілу, тіазолілу, ізотіазолілу, піридинілу, піримідинілу, піразинілу, піридазинілу та триазинілу, або ароматичний біциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи хінолінілу, хіноксалінілу, індолілу, бензімідазолілу, бензоксазолілу, бензізоксазолілу, бензотіазолілу, бензізотіазолілу, бензофуранілу та бензотієнілу, причому кожний моноциклічний та біциклічний гетероциклічний радикал Het¹, Het² та Het³ може необов'язково бути заміщений на атомі карбону та/або гетероатомі галоїдом, гідроксильною групою, алкілоксигрупою, алкілом, Ar, Ar-алкілом чи піридинілом.

2. Агент за п. 1, який **відрізняється** тим, що R¹ вибраний з групи алкілоксигрупи, Ar-алкілоксигрупи, алкілу, полігалоїдалкілу, алкілоксіалкілу, Ar-алкілу, Het-алкілу, Ar, піперазинілу, піролілу, тіазолілу, піролідинілу та NR⁹R¹⁰, де R⁹ та R¹⁰ кожний незалежно означають гідроген, алкіл, Ar, Ar-алкіл, піридиніл чи алкілоксикарбонілалкіл.

3. Агент за п. 1, який **відрізняється** тим, що A=B та R¹ разом утворюють радикал, вибраний з групи Het² та Het³.

4. Агент за п. 3, який **відрізняється** тим, що A=B та R¹ разом утворюють радикал, вибраний з групи бензоксазолілу, тіазолілу, бензотіазолілу, бензімідазолілу та піримідинілу.

5. Агент за п. 4, який **відрізняється** тим, що X означає ковалентний зв'язок.

6. Агент за будь-яким з пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що R² означає алкілоксигрупу чи галоїд.

7. Агент за будь-яким з пп. 1-6, який **відрізняється** тим, що R³ вибраний з групи фенілалкілу та

нафтилу, кожний з яких є незалежно заміщеним щонайменше одним замісником, вибраним з групи галоїду, алкілоксикарбонілу, гідроксильної групи, алкілоксигрупи та діалкіламінокарбонілу.

8. Агент за п. 1, у якому A=B означає C=O або SO₂, R¹ означає алкілоксигрупу, алкілоксіалкіл, Ar чи NR⁹R¹⁰, де R⁹ та R¹⁰ кожний незалежно означає гідроген чи Ar, або A=B та R¹ разом утворюють бензоксазолільний радикал, р дорівнює нулю, R³ означає бензил, необов'язково заміщений гідроксильною групою чи алкілоксикарбонілом, і кожний з R⁴ та R⁵ означає гідроген.

9. Агент за п. 1, який **відрізняється** тим, що він є вибраним з групи:

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-пропілоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-[(4-гідроксифеніл)метил]-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(1-фенілетил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-ізопропілоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-[(4-(метоксикарбоніл)феніл)метил]-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-бензоіл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-(метоксіацетил)-4-феніл-4-[1-(1-фенілетил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

4-[[2-(1-бензоіл-4-феніл-4-піперидиніл)-1H-імідазол-1-іл]метил]метилбензоату,

4-[[2-[1-(2-бензоксазоліл)-4-феніл-4-піперидиніл]-1H-імідазол-1-іл]метил]-метилбензоату,

1-бензоіл-4-феніл-4-[1-(1-фенілетил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину,

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-[1-[4-(етоксикарбоніл)феніл]етил]-1H-імідазол-2-іл]піперидину та

N,4-дифеніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]-1-піперидинсульфонамід.

10. Агент за будь-яким з пп. 1-9, який **відрізняється** тим, що орган є серцем, мозком, печінкою, легенями чи нирками, а ссавець є людиною.

11. Агент для індукування кардіозахисного ефекту у ссавця, що містить як активний інгредієнт сполуку формули (I), її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми та її N-оксидні форми.

12. Фармацевтична композиція для зменшення ішемічного ураження органа у ссавця, яка містить фармацевтично прийнятний носій та, як активний інгредієнт, терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм та її N-оксидних форм.

13. Фармацевтична композиція за п. 12, яка **відрізняється** тим, що орган є серцем, мозком, печінкою, легенями чи нирками, а ссавець є людиною.

14. Фармацевтична композиція для індукування кардіозахисного ефекту у ссавця, яка містить фармацевтично прийнятний носій та, як активний інгредієнт, сполуку формули (I), її фармацевтично

прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми та її N-оксидні форми.

15. Фармацевтична композиція у формі кардіоплегічного розчину, який містить ефективну кількість сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятної солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та придатний носій.

16. Фармацевтична композиція для лікування ссавця, що зазнав ішемічного нападу, яка містить ефективну кількість сполуки за винаходом та щонайменше другий терапевтичний агент, включаючи антитромботичний агент та/або ангіогенний фактор росту, чи їхні відповідні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми, їхні N-оксидні форми та придатний носій.

17. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що антитромботичним агентом є антагоніст глікопротеїну lib/lixia, інгібітор тромбіну, інгібітор фактора Ха, інгібітор шляху тканинного фактора, антагоніст тромбінового рецептора чи низькомолекулярний гепарин.

18. Фармацевтична композиція за п. 16, яка **відрізняється** тим, що ангіогенним фактором росту є фактор росту судинного ендотелію (VEGF).

19. Використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її тау-

томерних форм та її N-оксидних форм, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій, для виробництва лікарського засобу для зменшення ішемічного ураження органа у ссавця.

20. Використання сполуки за п. 19, яке **відрізняється** тим, що орган є серцем, мозком, печінкою, легенями чи нирками, а ссавець є людиною.

21. Використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм та її N-оксидних форм, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій у виробництві лікарського засобу для індукування кардіозахисного ефекту у ссавця.

22. Використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм та її N-оксидних форм, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій, у виробництві лікарського засобу для лікування ссавця, що зазнав ішемічного нападу, що містить ефективну кількість сполуки за винаходом та щонайменше другий терапевтичний агент, включаючи антитромботичний агент та/або ангіогенний фактор росту, чи їх відповідні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми і придатний носій.

23. Агент за будь-яким з пп. 1-22, який **відрізняється** тим, що ссавець є людиною.

Даний винахід стосується 4-феніл-4-[1H-імідазол-2-іл]піперидинових похідних для зменшення ішемічного ураження органа, а також фармацевтичних композицій, що містять вказані піперидинові похідні, та використання вказаних піперидинових похідних для профілактики та лікування ішемічного ураження органа, зокрема, для зменшення серцевого та церебрального ішемічних уражень.

В рамках цієї заявки ішемія визначається як зменшення чи втрата кровотоку до тканини, та асоційоване з цим зменшення чи припинення, наприклад, подачі кисню до тканини.

В рамках цієї заявки, ішемічне ураження визначається як небажані ефекти, асоційовані з ішемічною подією, такою як ішемічний некроз чи інфаркт. Метаболічні події, що, як вважають, лежать в основі такої клітинної дегенерації та клітинної загибелі, включають: недостатність енергії внаслідок витрачання АТФ; клітинний ацидоз; вивільнення глутамату; приплив іонів кальцію; стимулювання деградації мембранного фосфоліпіду та наступне накопичення вільної жирної кислоти; і генерування вільних радикалів.

Існує дедалі більша потреба в сполуках, які можуть забезпечити захист від ішемії та асоційованих з нею небажаних ефектів.

Нещодавно було знайдено, що певні високоспецифічні агоністи дельта-2 опіоїдного рецептора

можуть забезпечувати тривалий фармакологічно індукований захист міокарда від ішемії за механізмом, аналогічним до того, що відбувається при ішемічному preconditionуванні (IPC) [Govindaswami et al., у Proceedings of the 11th International Hibernation Symposium 2000, pp.377-384, Springer-Verlag, Berlin, Germany]. Ішемічне preconditionування описує явище, яке полягає в тому, що короткий період ішемії тренує серце, так що наступний період ішемії спричинює менші ураження. У свою чергу, це приводить до меншого інфаркту міокарда та рідкіших аритмій. Вважається, що цей механізм оснований на зміні функції (відкритті) мітохондріального АТФ-чутливого K-каналу (mitoK_{ATP}). Одним з відомих дельта-2 агоністів є DADLE (D-Ala2-D-Leu5-енкефалін), для якого було показано, що він індукує такий самий ефект, як ішемічне preconditionування органа. Таким чином, слід вважати, що механізм дії як ішемічного preconditionування, так і хімічних сполук полягає в запуску активації більш глибокого чи захисного клітинного механізму. Оскільки дельта-опіоїдні рецептори виявлені у більшості тканин, включаючи тканини серця та мозку, можна очікувати, що сполуки, здатні створювати ішемічний захист, наприклад, для серцевої тканини, матимуть такий самий ефект для тканини мозку, а також, наприклад, для тканин легень, нирок чи печінки.

Зараз існують дві основні терапевтичні облас-

ті, у яких ішемія відіграє важливу роль: серцева ішемія та ішемія головного мозку або інсульт.

Серцева ішемія

Хірургія на серці завжди асоційована з контролем створенням одного чи кількох епізодів ішемії та реперфузії. При звичайній хірургії на серці, серце зупиняють і охолоджують за допомогою кардіоплегічного розчину для зменшення споживання кисню міокардом, щоб можна було створити більш тривалий період ішемії серця без надмірного ураження. Однак, це потребує підтримання кровообігу за допомогою системи штучного кровообігу, яка має кілька суттєвих недоліків: вона індукує значну запальну реакцію організму, вона спричинює мікроемболії і вона цілком порушує коагуляцію та фібринолітичну систему крові. Крім того, мікроемболії та неппульсвний кровотік під час хірургії з використанням штучного кровообігу призводять до субоптимальної перфузії життєвих органів, таких як мозок, нирки та кишечник. Це спричинює, наприклад, посилення анаеробного метаболізму (підвищення лактату у післяопераційний період), порушення функції нирок та сплутаність свідомості.

В останні кілька років, завдяки розробці локальних (механічних) стабілізаторів з метою уникнення вищезгаданих недоліків, коронарна хірургія проводилася без використання штучного кровообігу. Однак, недоліком є те, що серце залишається нормотермічним і має виконувати механічну роботу під час створення регіональної ішемії. Зараз більш ніж 30% коронарних хірургічних операцій в усьому світі проводиться без використання штучного кровообігу. Надзвичайно корисним при цьому був би кардіозахисний агент. Такий агент повинен забезпечувати захисну дію для тканин міокарда за рахунок базового клітинного механізму, тим самим збільшуючи тривалість періоду створюваної ішемії.

Крім того, існує потенційна область застосування при зберіганні сердець донорів, що досі є проблемою, оскільки прийнятний період ішемії все ще обмежений 4-6 годинами. Використання кардіозахисного агента на додаток до використовуваної зараз кардіоплегічної зупинки може також бути корисним при серцевій хірургії, що потребує складної реконструкції з тривалими періодами інтраопераційної серцевої ішемії.

Загалом, існує потенційна область застосування при усіх хірургічних та черезшкірних процедурах втручання, важливу роль у яких відіграє послідовність ішемія-реперфузія, створювана для будь-якого органа, таких як, наприклад, хірургія трансплантацій, хірургія аневризмів, судинна хірургія при обструктивній судинній хворобі та черезшкірні втручання на стенозних коронарній, сонній та периферичних артеріях.

Зокрема, існує потенційна область застосування для пацієнтів перед проведенням анестезії з будь-якої причини, при якій виникають стани зменшеного кровопостачання органів, такі як, наприклад, стабільна чи нестабільна стенокардія, або стани, що можуть бути викликані гемодинамічними ефектами анестезії, такі як втрата кров'яного тиску, а також для пацієнтів протягом перших кількох годин з початку серцевого нападу до остаточного утворення кров'яних зсідків.

Ішемія головного мозку

Мозок сильніше, ніж будь-який інший орган тіла, залежить для свого виживання та належного функціонування від відносно постійної подачі оксигенованої крові. Складаючи лише 2% від ваги тіла, мозок одержує 15% серцевого викиду крові і споживає 20% кисню, використовованого організмом. Крім того, постійне кровопостачання потрібне для забезпечення мозку глюкозою, яка є головним енергетичним субстратом, що використовується мозком для продукування макроергічних фосфатів, таких як АТФ [див., наприклад, WO 96/27380 (Interneuron Pharmaceuticals, Inc.)].

В рамках цієї заявки, ішемія головного мозку визначається як припинення та зменшення кровотоку в артеріях, які живлять мозок, звичайно, в результаті оклюзії артерій кров'яним зсідком (тромбом) чи іншою речовиною (ембол), що призводить до ішемічного нападу. Ішемічний напад визначається тут як синдром, викликуваний різними етіологіями, такими як атеросклеротична цереброваскулярна хвороба, така як, наприклад, гіперперфузія та артеріогенні емболи; проникна хвороба артерій; кардіогенна емболія, така як, без обмеження, фібриляція передсердь, хвороба клапанів та шлуночковий тромб; криптогенний інсульт; та іншими менш поширеними причинами, такими як, наприклад, протромбічні стани, розтин, артеріїт, мігрень чи вазоспазм та зловживання лікарськими засобами [див., наприклад, Cardiovascular Thrombosis: Thrombocardiology and Thromboneurology, edited by M. Verstraete, V. Fuster and E.J. Topol, Second Edition, Lippincot-Raven Publishers, Philadelphia, 1998].

Інсульт є третьою за значенням причиною смерті у США, і кожного року реєструється близько 500000 нових випадків. У світі в цілому інсульт є найпоширенішою причиною смерті внаслідок надзвичайно високої захворюваності інсультом в Азії. Ішемічний інсульт є найбільш поширеною формою інсульту, на яку приходить близько 85% всіх випадків захворювання.

Існує потенційна область застосування з метою профілактики інсульту у певних випадках, наприклад, під час хірургічних операцій, при яких існує ризик ішемічної події, для зменшення ішемічного ураження у випадку інсульту, для зменшення тяжкості інфаркту мозку після ішемії головного мозку та при лікуванні ішемічного нападу, зокрема, невідкладному лікуванні інсульту після ішемічної події.

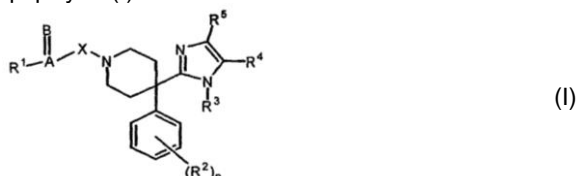
[WO 99/04795 (Toray Industries Inc.)] розкриває певні тетрациклічні піридинові та піразинові похідні, що мають фармакологічний профіль агоністів дельта-опіоїдного рецептора, та їхнє використання для зменшення ішемічного ураження органа. Розкриті тут сполуки не є структурно спорідненими зі сполуками за даним винаходом.

[WO 00/37470 (Janssen Pharmaceutica N.V.)] розкриває ряд 4-феніл-4-[1H-імідазол-2-іл]піперидинових похідних, однак вони не входять до обсягу даного винаходу і використовуються як проміжні сполуки для синтезу антигістамінних сполук.

В цій заявці описана нова група сполук на основі заміщеного 4-феніл-4-[1H-імідазол-2-

іл]піперидинового похідного, які мають важливі клінічні властивості щодо зменшення ішемічного ураження органа у ссавця, зокрема, тканин серця та мозку, зокрема, для профілактики ускладнень та наслідків ішемічної хвороби серця у ссавця за рахунок індукування кардіозахисного ефекту.

Об'єктом даного винаходу є засіб для зменшення ішемічного ураження органа у ссавця, що включає як активний інгредієнт заміщене 4-феніл-4-[1H-імідазол-2-іл]піперидинове похідне загальної формули (I)



його фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, його стереохімічно ізомерні форми, його таутомерні форми та його N-оксидні форми, де:

A=B позначає бівалентний радикал з π -зв'язками;

X позначає ковалентний зв'язок, -CH₂- чи CH₂CH₂-;

R¹ позначає гідроген, алкілоксигрупу, алкілкарбонілоксигрупу, Ar-оксигрупу, Het-оксигрупу, Ar-карбонілоксигрупу, Het-карбонілоксигрупу, Ar-алкілоксигрупу, Het-алкілоксигрупу, алкіл, полігалоїдалкіл, алкілоксіалкіл, Ar-алкіл, Het-алкіл, Ar, Het, тіогрупу, алкілтіогрупу, Ar-тіогрупу, Het-тіогрупу чи NR⁹R¹⁰, де R⁹ та R¹⁰ кожний незалежно позначають гідроген, алкіл, Ar, Ar-алкіл, Het, Het-алкіл, Ar-карбоніл, Het-карбоніл чи алкілоксикарбоніалкіл; або A=B та R¹ разом утворюють необов'язково заміщений семіароматичний або ароматичний карбоциклічний чи гетероциклічний радикал Het² чи Het³;

R² позначає гідроксильну групу, алкілоксигрупу, алкілкарбонілоксигрупу, фенілоксигрупу, фенілкарбонілоксигрупу, галоїд, ціаногрупу, алкіл, полігалоїдалкіл, алкілоксіалкіл, форміл, карбоксигрупу, алкілкарбоніл, алкілоксикарбоніл, амінокарбоніл, моно- чи діалкіламінокарбоніл, феніл, нітрогрупу, аміногрупу, моно- чи діалкіламіногрупу, тіогрупу чи алкілтіогрупу; R³ позначає алкіл, Ar, Ar-алкіл, Ar-алкеніл, Ar-карбоніл, Het, Het-алкіл, Het-алкеніл чи Het-карбоніл;

R⁴, R⁵ кожний незалежно позначають гідроген, алкіл, карбоксигрупу, амінокарбоніл, алкілоксикарбоніл, галоїд чи гідроксіалкіл; p позначає ціле число, яке дорівнює нулю, 1, 2 чи 3.

В рамках цієї заявки, алкіл є лінійним чи розгалуженим насиченим вуглеводневим радикалом, який містить від 1 до 6 атомів карбону; або циклічним насиченим вуглеводневим (циклоалкільним) радикалом, який містить від 3 до 7 атомів карбону; або циклічним насиченим вуглеводневим радикалом, який містить від 3 до 7 атомів карбону, приєднаним до лінійного чи розгалуженого насиченого вуглеводневого радикала, який містить від 1 до 6 атомів карбону; причому кожний атом карбону може бути необов'язково заміщеним аміногрупою, нітрогрупою, тіогрупою, гідроксильною групою, оксогрупою, ціаногрупою, формілом чи карбокси-

льною групою. Краще, алкіл позначає метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, трет-бутіл, циклопропіл, циклопентил, циклогексил, циклогексилметил та циклогексилетил.

В рамках цієї заявки, алкеніл позначає алкільний радикал, як визначено вище, що має один чи кілька подвійних зв'язків. Краще, алкеніл позначає етеніл та пропеніл.

В рамках цієї заявки, Ar позначає гомоциклічне ядро, вибране з групи фенілу та нафтилу, кожний з яких є необов'язково заміщеним одним чи кількома замісниками, причому кожний замісник незалежно вибирають з групи гідроксилу, алкілоксигрупи, алкілкарбонілоксигрупи, фенілоксигрупи, фенілкарбонілоксигрупи, галоїду, ціаногрупи, алкілу, полігалоїдалкілу, алкілоксіалкілу, формілу, галоїдформілу, карбоксигрупи, алкілкарбонілу, алкілоксикарбонілу, амінокарбонілу, моно- чи діалкіламінокарбонілу, феніалкілу, фенілу, нітрогрупи, аміногрупи, моно- чи діалкіламіногрупи, тіогрупи, алкілтіогрупи чи SO₂-CH₃. Краще, Ar позначає нафтил чи феніл, кожний з яких є необов'язково заміщеним гідроксильною групою, метилоксигрупою, етилоксигрупою, фенілоксигрупою, тригалоїдметилоксигрупою, галоїдом, метилом, трифлюорметилом, хлорформілом, карбоксигрупою, метилоксикарбонілом, діетиламінокарбонілом, фенілом, нітрогрупою, метилтіогрупою, трифлюорметилоксигрупою чи SO₂-C₁-₃-алкілом.

В рамках цієї заявки, галоїд позначає замісник, вибраний з групи флюору, хлору, броду та йоду, а полігалоїдалкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, який містить від 1 до 6 атомів карбону, чи циклічний насичений вуглеводневий радикал, який містить від 3 до 7 атомів карбону, де один чи кілька атомів карбону є заміщеними одним чи кількома атомами галоїду. Краще, галоїд позначає бром, флюор чи хлор і, краще, полігалоїдалкіл позначає трифлюорметил.

В рамках цієї заявки, Het позначає гетероциклічний радикал, вибраний з групи Het¹, Het² та Het³. Het¹ позначає аліфатичний моноциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи піролідинілу, діоксолілу, імідазолідинілу, піразолідинілу, піперидинілу, діоксилу, морфолінілу, дитанілу, тіоморфолінілу, піперазинілу та тетрагідрофуранілу. Het² позначає семіароматичний моноциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи 2H-піролілу, піролінілу, імідазолінілу та піразолінілу. Het³ позначає ароматичний моноциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи піролілу, піразолілу, імідазолілу, фуранілу, тієнілу, оксазолілу, ізоксазолілу, тіазолілу, ізотіазолілу, піридинілу, піримідинілу, піразинілу, піридазинілу чи триазинілу; або ароматичний біциклічний гетероциклічний радикал, вибраний з групи хінолінілу, хіноксалінілу, індолілу, бензімідазолілу, бензоксазолілу, бензізоксазолілу, бензотіазолілу, бензізотіазолілу, бензофуранілу та бензотієнілу; причому кожний моноциклічний та біциклічний гетероциклічний радикал може необов'язково бути заміщений на атомі карбону та/або гетероатомі галоїдом, гідроксильною групою, алкілоксигрупою, алкілом, Ar, Ar-алкілом чи піридинілом.

Цікавою групою сполук є такі сполуки формули (I), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми, у яких A=B вибраний з групи C=O, ON-R⁶, де R⁶ позначає гідроген чи ціаногрупу, C=S, S=O, SO₂ та C=CR⁷R⁸, де R⁷ та R⁸ кожний незалежно позначають гідроген, нітрогрупу чи алкіл.

Іншою цікавою групою сполук є такі сполуки формули (I), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми, у яких R¹ вибраний з групи алкілоксигрупи, Ar-алкілоксигрупи, алкілу, полігалоїдалкілу, алкілоксіалкілу, Ar-алкілу, Het-алкілу, Ar, піперазинілу, піролілу, тіазолілу, піролідінілу та NR⁹R¹⁰, де R⁹ та R¹⁰ кожний незалежно позначають гідроген, алкіл, Ar, Ar-алкіл, піридиніл чи алкілоксикарбоніалкіл.

Іншою цікавою групою сполук є такі сполуки формули (I), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми, у яких A=B та R¹ разом утворюють радикал, вибраний з групи Het² та Het³. Ще краще, A=B та R¹ разом утворюють радикал, вибраний з групи бензоксазолілу, тіазолілу, бензотіазолілу, бензімідазолілу та піримідинілу.

Ще іншою цікавою групою сполук є такі сполуки формули (I), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми, у яких X позначає ковалентний зв'язок чи групу -CH₂-. Краще, X позначає ковалентний зв'язок.

Ще іншою цікавою групою сполук є такі сполуки формули (I), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми, у яких R² позначає алкілоксигрупу чи галоїд.

Ще іншою цікавою групою сполук є такі сполуки формули (I), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми, у яких R³ вибраний з групи феніла-лкілу та нафтилу, кожний з яких незалежно заміщений щонайменше одним замісником, вибраним з групи галоїду, алкілоксикарбонілу, гідроксильної групи, алкілоксигрупи та діалкіламінокарбонілу.

Якщо R³ позначає алкіл, то, краще, алкіл є циклогексилметилом.

Ще іншою цікавою групою сполук є такі сполуки формули (I), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми та їхні N-оксидні форми, у яких A=B позначає C=O чи SO₂, R¹ позначає алкілоксигрупу, алкілоксіалкіл, Ar чи NR⁹R¹⁰, де R⁹ та R¹⁰ кожний незалежно позначають гідроген чи Ar; або A=B та R¹ разом утворюють бензоксазолільний радикал; р дорівнює нулю, R³ позначає бензил, необов'язково заміщений гідроксильною групою, алкілом чи алкілоксикарбонілом, і R⁴ та R⁵ обидва позначають гідроген.

Конкретніше, найкращими сполуками є такі:

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-

1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-пропілоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-[(4-гідроксифеніл)метил]-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(1-фенілетил)-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-ізопропілоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-[4-(метоксикарбоніл)феніл]метил]-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-бензоіл-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-(метоксіяцетил)-4-феніл-4-[1-(1-фенілетил)-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

4-[[2-(1-бензоіл-4-феніл-4-піперидиніл)-1H-імідазол-1-іл]метил]метилбензоат;

4-[[2-[1-(2-бензоксазоліл)-4-феніл-4-піперидиніл]-1H-імідазол-1-іл]метил]-метилбензоат;

1-бензоіл-4-феніл-4-[1-(1-фенілетил)-1H-імідазол-2-іл]піперидин;

1-етоксикарбоніл-4-феніл-4-[1-[1-[4-(етоксикарбоніл)феніл]етил]-1H-імідазол-2-іл]піперидин, і

N,4-дифеніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]-1-піперидинсульфонамід.

Фармацевтично прийнятні солі приєднання кислот визначаються як такі, що включають терапевтично активні нетоксичні форми солей приєднання кислоти, які можуть бути утворені сполуками формули (I). Вказані солі приєднання кислот можуть бути одержані шляхом обробки основної форми сполук формули (I) відповідними кислотами, наприклад, неорганічними кислотами, наприклад, галоїдводневою кислотою, зокрема, хлористоводневою кислотою, бромистоводневою кислотою, сірчаною кислотою, азотною кислотою та фосфорною кислотою; органічними кислотами, наприклад, оцтовою кислотою, оксіоцтовою кислотою, пропіоновою кислотою, молочною кислотою, піровиноградною кислотою, щавлевою кислотою, маленовою кислотою, бурштиною кислотою, фумаровою кислотою, яблучною кислотою, винною кислотою, лимонною кислотою, мигдалевою кислотою, метансульфоною кислотою, етансульфоною кислотою, бензолсульфоною кислотою, п-толуолсульфоною кислотою, цикламовою кислотою, саліциловою кислотою, п-аміносаліциловою кислотою та памоєвою кислотою.

Сполуки формули (I), що містять кислотні протони, можуть бути також перетворені на їхні терапевтично активні нетоксичні форми солей приєднання основ шляхом обробки відповідними органічними та неорганічними основами. Відповідні форми солей з основами включають, наприклад, амонієві солі, солі лужних та лужноземельних металів, зокрема, солі літію, натрію, калію, магнію та кальцію, солі з органічними основами, наприклад, солі бензатину, N-метил-D-глюкаміну, гібраміну, та солі з амінокислотами, наприклад, аргініном та лізином.

Навпаки, вказані форми солей приєднання кислот чи основи можуть бути перетворені на вільні

форми шляхом обробки відповідною основою чи кислотою.

Термін сіль приєднання у тому значенні, що використовується в рамках цієї заявki, включає також сольвати, які можуть бути утворені сполуками формули (I), а також їхніми солями. Такими сольватами є, наприклад, гідрати та алкоголяти.

Термін "стереохімічно ізомерні форми" у тому значенні, що використовується тут, визначає усі можливі ізомерні форми, які можуть мати сполуки формули (I). Якщо не згадується чи вказується інше, хімічні назви сполук позначають суміші всіх можливих стереохімічних ізомерних форм, причому вказані суміші містять всі діастереомери та енантіомери основної молекулярної структури. Більш конкретно, стереогенні центри можуть мати R- чи S-конфігурацію; замісники на бівалентних циклічних (частково) насичених радикалах можуть мати цис- чи транс-конфігурацію. Стереохімічно ізомерні форми сполук формули (I) мають вважатися такими, що входять до обсягу даного винаходу.

Згідно номенклатурним правилам CAS, якщо в молекулі присутні два стереогенні центри з відомою абсолютною конфігурацією, то дескриптором R чи S позначають (на основі правила черговості Кана-Інголда-Прелога) хіральний центр з найменшим порядковим номером, який є опорним центром. Конфігурація другого стереогенного центра вказується за допомогою відносних дескрипторів $[R^*, R^*]$ чи $[R^*, S^*]$, де R^* завжди визначається як опорний центр, і $[R^*, R^*]$ позначає центри з однаковою хіральністю, а $[R^*, S^*]$ позначає центри з різною хіральністю. Наприклад, якщо хіральний центр з найменшим порядковим номером має конфігурацію S, а другий центр - R, то стереодескриптор буде позначатися S- $[R^*, S^*]$. Якщо використовуються позначення "α" та "β": положення старшого замісника на асиметричному атомі карбону у кільцевій системі, що має менший номер кільця, завжди довільно визначається як положення "α" середньої площі, утвореної кільцевою системою. Положення старшого замісника на другому асиметричному атомі карбону у кільцевій системі по відношенню до положення старшого замісника на опорному атомі позначається "α", якщо він знаходиться з того ж самого боку середньої площі, утвореної кільцевою системою, або "β", якщо він знаходиться з іншого боку середньої площі, утвореної кільцевою системою.

Ми відзначаємо, що заміщений атом карбону у положенні 4 піперидинільного фрагмента є ахіральним атомом; тому сполуки формули (I) можуть мати у своїй структурі щонайменше один стереогенний центр завдяки хіральному заміснику R^1 , R^2 , R^3 , R^4 чи R^5 .

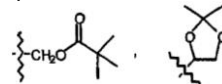
Таутомерні форми сполук формули (I) мають включати такі сполуки формули (I), у яких, наприклад, енольна група перетворюється на кето-групу (кето-енольний таутомеризм).

N-Оксидні форми сполук формули (I) мають включати такі сполуки формули (I), у яких один чи кілька атомів нітрогену окиснені до так званого N-оксиду, зокрема, такі N-оксиди, у яких окисленим є нітроген піперидинільного фрагмента та/або імідазолільного фрагмента.

Сполуки формули (I), одержані описаними нижче методами, можуть бути синтезовані у формі рацемічної суміші енантіомерів, які можуть бути розділені за допомогою відомих фахівцям методик розділення. Рацемічні сполуки формули (I) можуть бути перетворені на відповідні діастереомерні сольові форми шляхом проведення реакції з придатною хіральною кислотою. Вказані діастереомерні сольові форми згодом розділяють, наприклад, шляхом селективної чи фракційної кристалізації, і енантіомери вивільняють з них за допомогою лугів. Альтернативний спосіб розділення енантіомерних форм сполук формули (I) включає рідинну хроматографію із застосуванням хіральної нерухомої фази. Вказані чисті стереохімічно ізомерні форми можуть бути також одержані з відповідних чистих стереохімічно ізомерних форм відповідних вихідних матеріалів, за умови, що реакція проходить стереоспецифічно. Якщо потрібний конкретний стереоізомер, то вказану сполуку краще синтезують з використанням стереоспецифічних методів. Ці методи краще використовують енантіомерно чисті вихідні матеріали.

Винахід також включає похідні сполуки (які звичайно називають "проліками") фармакологічно-активних сполук за винаходом, що розкладаються *in vivo* з утворенням сполук за винаходом. Проліки звичайно (але не завжди) мають нижчу активність по відношенню до цільового рецептора, ніж сполуки, до яких вони деградують. Проліки є особливо корисними у тих випадках, коли потрібна сполука має хімічні чи фізичні властивості, що роблять її введення складним чи неефективним. Наприклад, бажана сполука може бути малорозчинною, вона може погано транспортуватися крізь епітелії слизової, або вона може мати небажано короткий період напіввиведення з плазми. Додаткове обговорення проліків можна знайти [y Stella, V.J. et al., "Prodrugs", Drug Delivery Systems, 1985, pp.112-176, та Drugs, 1985, 29, pp.455-473].

Форми проліків фармакологічно-активних сполук за винаходом є загалом сполуками формули (I), їхніми фармацевтично прийнятними солями приєднання кислоти чи основи, їхніми стереохімічно ізомерними формами, їхніми таутомерними формами та їхніми N-оксидними формами, що мають етерифіковану чи амідовану кислотну групу. Такі етерифіковані кислотні групи включають групи формули -COOR^x, де R^x позначає C₁₋₆-алкіл, феніл, бензил чи одну з таких груп:



Амідовані групи включають групи формули -CONR^yR^z, де R^y позначає H, C₁₋₆-алкіл, феніл чи бензил, і R^z позначає -OH, H, C₁₋₆-алкіл, феніл чи бензил.

Сполуки за винаходом, які мають аміногрупу, можуть бути дериватизовані кетоном чи альдегідом, таким як формальдегід, з утворенням основи Манніха. Така основа у водному розчині гідролізується за реакцією першого порядку.

Краще, орган є серцем, мозком, печінкою, легенями чи нирками, і ссавець є людиною.

Більш конкретно, кращий варіант втілення даного винаходу стосується агента для зменшення

ішемічного ураження серця ссавця, що включає як активний інгредієнт сполуку формули (I), її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми та її N-оксидні форми. Краще, ссавець є людиною.

Станами, пов'язаними з ішемічним ураженням серця є, наприклад, синдром ішемічної хвороби серця, стенокардія, нестабільна стенокардія, стенокардія після інфаркту міокарда, інфаркт міокарда, гострий інфаркт міокарда, кардіозахист при традиційній хірургії із застосуванням штучного кровообігу (CPB), а також при серцевій хірургії без штучного кровообігу, при хірургії не на серці у пацієнтів з відомою ішемічною хворобою серця (CAD) чи з ризиком такого захворювання, та при коронарному рестенозі після черездіагностичної транслюмінальної ангіопластики (PTCA). В рамках цієї заявки, ішемічні ураження мають тлумачитися як будь-які ураження будь-якої частини серця, включаючи коронарні артерії, і включаючи пряме клітинне ураження, спричинене, наприклад, нестачею кисню, а також непряме ураження.

Більш конкретно, кращий варіант втілення даного винаходу стосується агента для зменшення ішемічного ураження мозку ссавця, що містить як активний інгредієнт сполуку формули (I), її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми та її N-оксидні форми. Краще, ссавець є людиною.

Станами, пов'язаними з інсультом, є, наприклад, атеросклеротична цереброваскулярна хвороба, така як, наприклад, гіперфузія та артеріогенні емболії; проникна хвороба артерій; кардіогенна емболія, така як, без обмеження, фібриляція передсердь, хвороба клапанів та вентрикулярні тромби; криптогенний інсульт; та інші менш поширені причини, такі як, наприклад, протромбозні стани, розтини, артеріїт, мігрень чи вазоспазм та зловживання лікарськими засобами. Ішемічне ураження тлумачиться як будь-яке ураження будь-якої частини мозку, включаючи пряме клітинне ураження, спричинене, наприклад, нестачею кисню, та непряме ураження, наприклад, підвищення внутрішньочерепного тиску.

Більш конкретно, кращий варіант втілення даного винаходу стосується агента для індукування кардіозахисного ефекту у ссавця, що містить як активний інгредієнт сполуку формули (1), її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми, її N-оксидні форми та її проліки. Кардіозахисний ефект позначає ефект, при якому тканина серця є більш захищеною від ішемії, ніж незахищена тканина серця.

В інших кращих варіантах втілення орган є легенями, печінкою чи нирками.

Винахід також стосується фармацевтичної композиції для зменшення ішемічного ураження органа у ссавця, що включає фармацевтично прийнятний носій та, як активний інгредієнт, терапевтично ефективну кількість сполуки формули (1), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та

її проліків.

Краще, орган є серцем, мозком, печінкою, легенями чи нирками, а ссавець є людиною.

Більш конкретно, кращий варіант втілення даного винаходу стосується фармацевтичної композиції для зменшення ішемічного ураження серця у ссавця, що містить фармацевтично прийнятний носій та, як активний інгредієнт, терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків. Краще, ссавець є людиною.

Більш конкретно, кращий варіант втілення даного винаходу стосується фармацевтичної композиції для зменшення ішемічного ураження мозку у ссавця, що включає фармацевтично прийнятний носій та, як активний інгредієнт, сполуку формули (I), її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми, її N-оксидні форми та її проліки. Краще, ссавець є людиною.

Інший кращий варіант втілення даного винаходу стосується фармацевтичної композиції для індукування кардіозахисного ефекту у ссавця, що включає фармацевтично прийнятний носій та, як активний інгредієнт, сполуку формули (I), її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми, її N-оксидні форми та її проліки. Краще, ссавець є людиною.

Інший кращий варіант втілення даного винаходу стосується фармацевтичної композиції у формі кардіоплегічного розчину, що містить ефективну кількість сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм, її проліків та придатний носій.

В іншому кращому варіанті втілення, сполуки за винаходом можуть бути введені у комбінації, одночасно чи по черзі з антитромботичним агентом та/або ангіогенним фактором росту. Як антитромботичний агент може бути вибраний будь-який агент, що, як відомо, виявляє такий ефект, наприклад, без обмеження, антагоніст глікопротеїну IIb/IIIa, інгібітор тромбіну, інгібітор фактора Ха, інгібітор шляху тканинного фактора, антагоніст тромбінового рецептора чи низькомолекулярний гепарин. Як ангіогенний фактор росту може бути вибраний фактор росту судинного ендотелію (VEGF), такий як ті, що були розкриті [у GB-2332373 A (Merck & Co, Inc.)], вміст якого включений до даної заявки за посиланням, або, наприклад, розкриті [у WO 98/07832 (Ludwig Institute for Cancer research) чи WO 98/49300 (Collateral Therapeutics)]. Зазначений вище варіант втілення має ту перевагу, що зменшується ризик гострого коронарного ішемічного синдрому у пацієнтів з ризиком вказаного синдрому. Пацієнти з ризиком включають осіб з початковими симптомами коронарного ішемічного синдрому, які внаслідок цього мають більшу, ніж у осіб без таких симптомів, ймовірність подальшого тромбозу та ішемічного ураження тканин. Особливо це стосується пацієнтів з коронарним інфарктом, яким було введено фар-

мацевтичну композицію за зазначеним варіантом втілення протягом 6 годин з моменту виникнення інфаркту та до початку вираженого утворення кров'яних зсідків. У цьому випадку зазначений варіант втілення забезпечує для пацієнта зниження ймовірності подальшого утворення зсідків при зменшенні ураження тканини та посилення відновлення тканини. Також це стосується пацієнтів, які одержують тромболітичне лікування з приводу оклюзії периферичних артерій, чи загалом лікування тромбозу, спричиненого вивільненням тромбу та обструкцією черепної кровоносної судини.

Таким чином, винахід також стосується фармацевтичної композиції для лікування ссавця, який зазнав ішемічного нападу, що включає ефективну кількість сполуки за винаходом та, щонайменше, другий терапевтичний агент, включаючи антитромботичний агент та/або ангіогенний фактор росту, чи їхні відповідні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми, їхні N-оксидні форми та їхні проліки і придатний носій, а також використання сполуки за винаходом для виготовлення лікарського засобу для зменшення ішемічного ураження серця, який включає сполуку за винаходом та, щонайменше, другий терапевтичний агент, включаючи антитромботичний агент та/або ангіогенний фактор росту.

Конкретніше, сполука формули (I), її фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерні форми, її таутомерні форми, її N-оксидні форми, її проліки та її композиції можуть також мати високий потенціал для зберігання донорських органів.

Агент для зменшення ішемічного ураження органа у ссавця за даним винаходом може бути введений *per se*. Однак, він може звичайно вводитися у різних фармацевтичних формах, призначених для введення. Як відповідні композиції можуть бути названі всі композиції, що звичайно використовуються у лікарських засобах для системного введення. Для виготовлення фармацевтичної композиції за даним винаходом, ефективну кількість конкретної сполуки, необов'язково, у формі солі приєднання кислоти, як активний інгредієнт, перемішують до одержання однорідної суміші з фармацевтично прийнятним носієм, який може мати різноманітні форми у залежності від форми препарату, потрібної для введення. Такі фармацевтичні композиції, бажано, є дозованими лікарськими формами, придатними, зокрема, для введення шляхом парентеральної ін'єкції чи інфузії. Наприклад, при виготовленні композиції може бути використане будь-яке звичайне фармацевтичне середовище. Для парентеральної композиції, носій буде звичайно включати стерильну воду, щонайменше, більшою частиною, хоч можуть бути додані інші інгредієнти, наприклад, для поліпшення розчинності. Могуть бути одержані, наприклад, розчини для ін'єкцій, у яких носій включає сольовий розчин, розчин глюкози чи суміш сольового та глюкозного розчинів. Могуть бути також виготовлені суспензії для ін'єкцій, у яких можуть бути використані відповідні рідкі носії, суспендувальні агенти і т.п. Передбачаються також препарати у твердій формі, які незабаром перед використан-

ням мають бути перетворені на препарати у рідкій формі.

У залежності від способу введення, фармацевтична композиція, краще, включає від 0,05 до 99% мас, ще краще, від 0,1 до 70% мас, активного інгредієнта, і від 1 до 99,95% мас, ще краще, від 30 до 99,9% мас, фармацевтично прийнятного носія, де всі процентні частки вказані у розрахунку на композицію в цілому.

Належні дози вибирають у залежності від таких факторів, як симптоми, вік, вага тіла та способи введення, але у випадку парентерального введення, такого як ін'єкції дорослим особам, протягом доби може бути введено від 0,01мг до 1,0г сполуки за винаходом, одразу чи кратними дозами у кілька прийомів. У випадку перорального введення дорослим особам, протягом доби може бути введено від 0,1мг до 3г сполуки за винаходом, одразу чи кратними дозами у кілька прийомів.

Фармацевтична композиція може додатково містити різні інші інгредієнти, відомі фахівцям, наприклад, стабілізатор, буферний агент, емульгуювальний агент, агент регулювання в'язкості, поверхнево-активну речовину чи консервант.

Краще, фармацевтична композиція вводиться внутрішньовенно, наприклад, шляхом інфузії (тривалого внутрішньовенного введення) чи шляхом введення болюсу.

Далі, даний винахід також стосується використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій для виробництва лікарського засобу для зменшення ішемічного ураження органа у ссавця.

Краще, орган є серцем, мозком, печінкою, легенями чи нирками, а ссавець є людиною.

Більш конкретно, кращий варіант втілення даного винаходу стосується використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій для виробництва лікарського засобу для зменшення ішемічного ураження серця у ссавця, краще, у людини.

Більш конкретно, кращий варіант втілення даного винаходу стосується використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій для виробництва лікарського засобу для зменшення ішемічного ураження мозку у ссавця, краще, у людини.

Далі, даний винахід також стосується використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій для виробництва лікарського засобу для індукування кардіозахисного ефекту у ссавця,

краще, у людини.

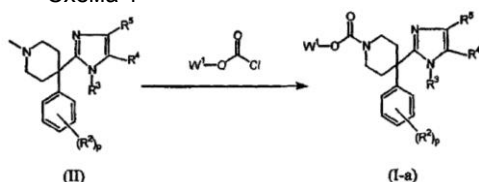
Далі, даний винахід також стосується використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій, для виробництва лікарського засобу для лікування ссавця, який зазнав ішемічного нападу, що включає введення ефективної кількості сполуки за винаходом та, щонайменше, другого терапевтичного агента, включаючи антитромботичний агент та/або ангіогенний фактор росту, чи їхні відповідні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми, їхні N-оксидні форми та їхні проліки, і придатного носія.

Винахід також стосується способу зменшення ішемічного ураження органа, зокрема, серця та/або мозку, у ссавця, зокрема, у людини, чи спосіб індукування кардіозахисного ефекту у ссавця, який включає стадію введення вказаному ссавцю, що потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій.

Далі, даний винахід також стосується використання сполуки формули (I), її фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, її стереохімічно ізомерних форм, її таутомерних форм, її N-оксидних форм та її проліків, а також будь-якої з її вищезгаданих фармацевтичних композицій для виробництва лікарського засобу для профілактики та/або лікування серцевого чи церебрального ішемічного нападу у ссавця.

Сполуки за винаходом можуть бути загалом одержані шляхом послідовних стадій, кожна з яких є відомою фахівцю в даній області. Зокрема, сполуки формули (I-a) можуть бути одержані шляхом проведення реакції проміжної сполуки формули (II) згідно схеми реакції (1), причому реакція проводиться у придатному інертному щодо реакції розчиннику, такому як толуол, у присутності придатної основи, такої як триетиламін. У схемі реакції (1), усі змінні мають значення, визначеними у формулі (I), а W^1 разом з приєднанням до нього фрагментом дорівнює R^1 ; прикладами W^1 є алкіл, Ar чи Het. Прикладом $W^1OC(=O)Cl$ є хлорформіат.

Схема 1



Сполуки формул (I-a), (I-b), (I-e), (I-d), (I-e), (I-f), (I-g) та (I-h) можуть бути одержані також шляхом проведення реакції проміжної сполуки формули (III) за будь-якою з реакцій, показаних на схемі реакції (2). У зазначених реакціях, всі змінні мають значення, визначені у формулі (I), а W^1 разом з приєднанням до нього фрагментом дорівнює R^1 ; прикладами W^1 є алкіл, Ar чи Het.

Реакція (a) проводиться у придатному розчиннику, такому як дихлоретан, та з використанням BOC_2O . Реакція зручно проводиться протягом кількох годин при кипінні зі зворотним холодильником.

Реакція (b) проводиться у придатному розчиннику, такому як ТГФ. Реакція зручно проводиться протягом від однієї до кількох годин при кімнатній температурі.

Реакція (c) проводиться у придатному розчиннику, такому як дихлорметан, у присутності придатної основи, такої як Et_3N , при кімнатній температурі протягом однієї години.

Реакція (d) проводиться у придатному розчиннику, такому як ТГФ чи ДМФ, при кімнатній температурі протягом кількох годин, причому використання основи не потрібне.

Реакція (e) проводиться при кипінні зі зворотним холодильником в ацетоні чи ДМФ у присутності придатної основи, такої як карбонат калію, і може бути зручно проведена при $80^\circ C$.

Реакція (f) проводиться у придатному розчиннику, такому як дихлорметан, у присутності придатної основи, такої як триетиламін, та при кімнатній температурі протягом приблизно від 30 до 120 хвилин.

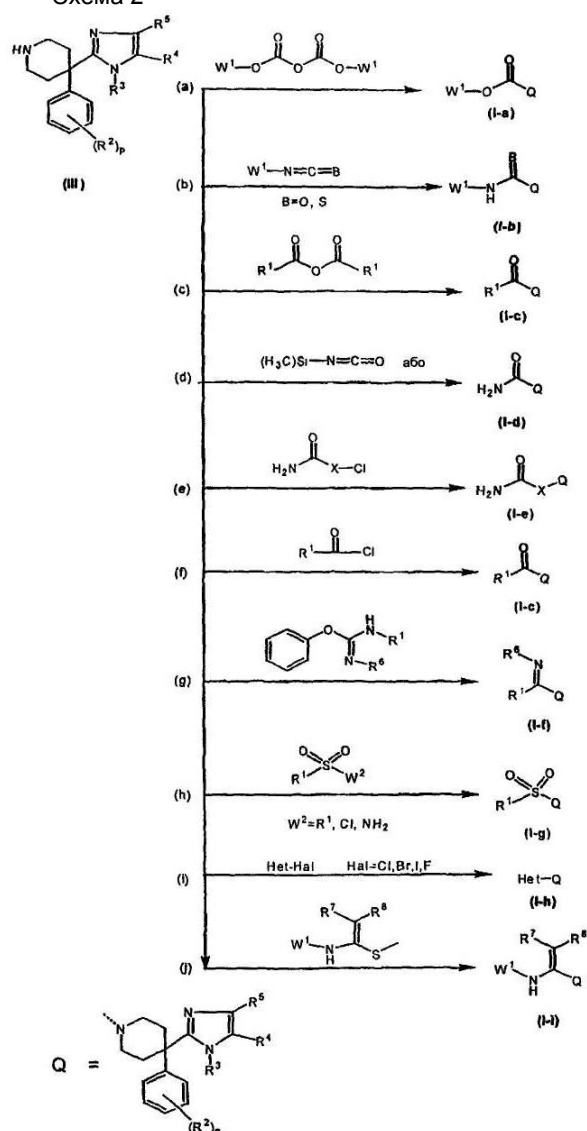
Реакція (g) проводиться у придатному розчиннику, такому як ацетонітрил, при кипінні зі зворотним холодильником протягом 24 годин.

Реакція (h) проводиться в різних умовах, у залежності від R^1 ; наприклад, якщо $R^1=CF_3$, то реакція проводиться у присутності триетиламіну у дихлорметані при $-78^\circ C$ протягом 1 години. For $R^1=NH_2$, реакція проводиться у діоксані протягом 12 годин при температурі кипіння зі зворотним холодильником. Для $R^1=CH_3$, реакція проводиться у дихлорметані при кімнатній температурі протягом 3 годин у присутності триетиламіну.

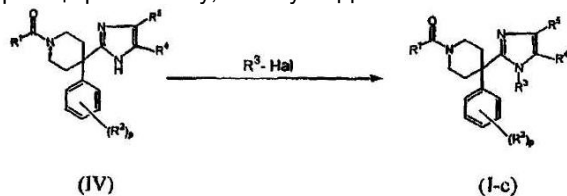
Реакція (i) проводиться у придатному розчиннику, такому як ізопропанол, при температурі кипіння зі зворотним холодильником протягом 12-36 годин.

Реакція (j) проводиться у придатному розчиннику, такому як ацетонітрил, при температурі кипіння зі зворотним холодильником протягом 24 годин.

Схема 2



Сполуки формули (I-c) можуть бути також одержані шляхом проведення реакції проміжної сполуки формули (IV) з галогенідом. У вказаній реакції, всі змінні мають значення, визначені у формулі (I). Реакція проводиться з основою, такою як NaH (60% у мінеральному маслі) та в інертному щодо реакції розчиннику, такому як ДМФ чи ТГФ.



Вихідний матеріал та проміжні сполуки формул (II), (III) та (IV) - це сполуки, які є комерційно доступними або можуть бути одержані у відповідності до методик проведення реакцій, загальноновідомих в даній області техніки.

Проміжні сполуки формули (II) можуть бути одержані у відповідності до наведеної нижче схеми реакції (4), де всі змінні мають значення, визначені у формулі (I):

Схема 4

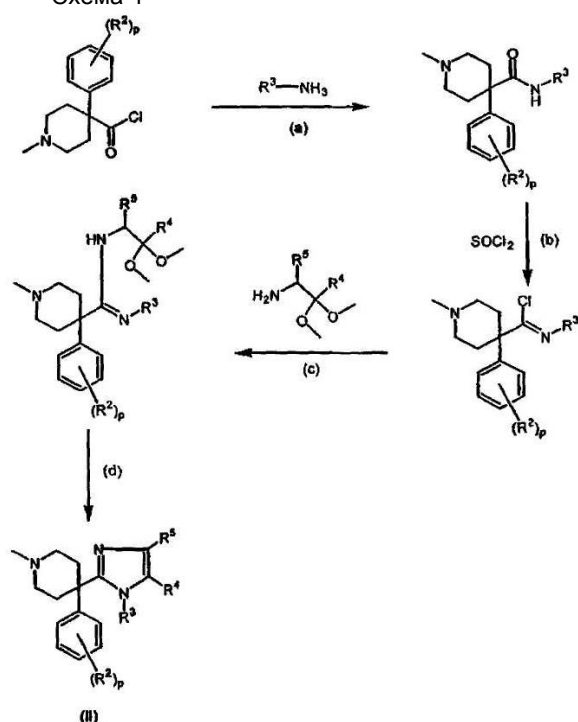
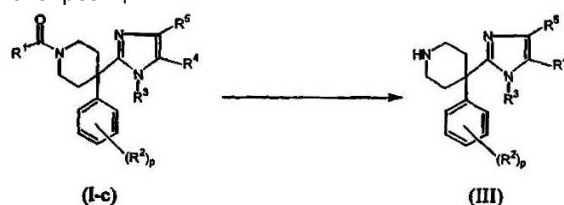


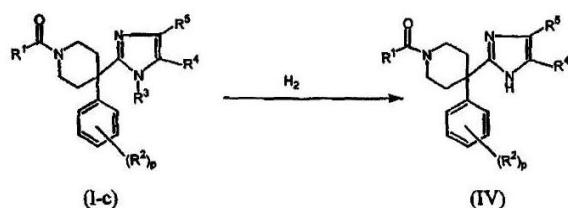
Схема реакції 4 включає стадію (a), на якій проводять реакцію ацилхлориду зображеного на схемі типу із заміщеним первинним аміном, наприклад, бензиламіном, у присутності придатної основи, такої як Et_3N , та у придатному інертному щодо реакції розчиннику, такому як дихлорметан. Реакція може бути зручно проведена при кімнатній температурі. На наступній стадії (b) продукт приєднання, утворений на стадії (a), кип'яють зі зворотним холодильником у $SOCl_2$, після чого проводять реакцію одержаного продукту з відповідно заміщеним 2,2-диметоксietiламіном у інертному щодо реакції розчиннику, такому як ДМФ, наприклад, при кімнатній температурі (стадія c). На стадії (d) циклізують продукт приєднання, одержаний на стадії (c), у вуглеводні (HC) з утворенням заміщеного імідазолільного фрагмента.

Проміжні сполуки формули (III) можуть бути одержані зі сполук формули (I-c) шляхом селективного відновлення алкілоксикарбонільної групи піперидинільного фрагмента у відповідності до такої реакції:



Реакція проводиться у присутності придатної основи, такої як KOH, у придатному інертному щодо реакції розчиннику, такому як 2-пропанол, та при температурі кипіння зі зворотним холодильником.

Проміжні сполуки формули (IV) можуть бути одержані шляхом гідратування сполуку формули (I-c) за такою реакцією:



де всі змінні мають значення, визначені у формулі (I). Реакція проводиться у присутності каталізатора, такого як Pd/C (10%) у метанолі при помірно підвищеній температурі.

Зрозуміло, що у наведених вище та нижче реакцій продукти реакції можуть бути виділені з реакційного середовища і, якщо треба, далі очищені методами, загальновідомими фахівцям в цій області техніки, такими як екстракція, кристалізація та хроматографія. Далі, зрозуміло, що продукти реакції, які існують у більш ніж одній енантімерній формі, можуть бути виділені з їхньої суміші відомими методами, зокрема, препаративною хроматографією, такою як препаративна ВЕРХ.

Наведені далі приклади ілюструють даний винахід, не обмежуючи його.

Експериментальна частина

Для деяких сполук не було експериментально визначено абсолютну стереохімічну конфігурацію стереоцентрального атому (атомів) карбону, що входять до їхнього складу. У цих випадках стереохімічно ізомерну форму, яку було виділено першою, позначають "А", а другу - "В", без подальшого посилення на фактичну стереохімічну конфігурацію. Однак, вказані ізомерні форми "А" та "В" можуть бути однозначно охарактеризовані фахівцем в цій області техніки за допомогою відомих в цій області техніки методів, таких як, наприклад, рентгенівська дифракція. Методика виділення детально описана нижче.

Тут та надалі, "ДМФ" позначає N,N-диметилформамід, "ТГФ" позначає тетрагідрофуран, і "DIPE" позначає простий діізопропіловий ефір.

А. Одержання проміжних сполук

Приклад А1

1-Метил-4-феніл-4-піперидинкарбонілхлорид (0,49моль) додають порціями при кімнатній температурі при перемішуванні до суміші бензолметанаміну (0,49моль) та N,N-діетилетанаміну (1,223моль) у CH₂Cl₂ (2500мл). Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години. Додають K₂CO₃ (150мг) та H₂O. Суміш перемішують та розділяють на шари. Водний шар екстрагують CH₂Cl₂. Об'єднаний органічний шар осушають (MgSO₄), фільтрують і розчинник випаровують. Вихід: 144г (95%) 1-метил-4-феніл-N-(фенілметил)-4-піперидинкарбоксаміду (проміжн. сп. 1).

Приклад А2

Суміш проміжної сполуки 1 (0,47моль) у SOCl₂ (750мл) перемішують та нагрівають до кипіння зі зворотним холодильником протягом 1 години. Розчинник випаровують. Двічі додають толуол та знов випаровують. Вихід: 190г (100%) N-[хлор-(1-метил-4-феніл-4-піперидиніл)метил]бензолметанаміну моногідрохлориду (проміжн. сп. 2).

Приклад А3

Суміш проміжної сполуки 2 (0,47моль) у ДМФ (750мл) охолоджують на льодяній бані. Додають по краплях 2,2-диметоксіетанамін (0,54моль), розчинений у ДМФ. Суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Розчинник випаровують. Вихід: 210г (100%) N-(2,2-диметоксіетил)-1-метил-4-феніл-N'-(фенілметил)-4-піперидинкарбоксимідаміду дигідрохлориду (проміжн. сп. 3).

Приклад А4

Суміш проміжної сполуки 3 (0,47моль) у 6N HCl (1500мл) перемішують до утворення мутного розчину, потім промивають CH₂Cl₂ (900мл), перемішують при 80°C протягом 1 години, охолоджують, підлогувають за допомогою 50% розчину NaOH та екстрагують CH₂Cl₂. Органічний шар відокремлюють, осушають (MgSO₄), фільтрують і розчинник випаровують. Залишок кристалізують з CH₃CN. Осад збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 38,3г (25%) 1-метил-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину (проміжн. сп. 4).

Приклад А5

Суміш сполуки 1 (0,089моль) у метанолі (250мл) гідрують при 50°C, використовуючи Pd/C 10% (3г) як каталізатор. Після поглинання водню (1екв.) каталізатор збирають на фільтрі та фільтрат випаровують. Залишок кристалізують з CH₃CN. Осад збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 23,89г (90%) етил-4-феніл-4-(1H-імідазол-2-іл)-1-піперидинкарбоксилату (проміжн. сп. 5).

Приклад А6

Суміш проміжної сполуки 5 (0,026моль) та КОН (0,26моль) у 2-пропанолі (150мл) перемішують та нагрівають до кипіння зі зворотним холодильником протягом 10 годин. Розчинник випаровують. Залишок розводять у H₂O і суміш екстрагують CH₂Cl₂. Органічний шар відокремлюють, осушають, фільтрують і розчинник випаровують. Вихід: 9,4г 4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]піперидину (проміжн. сп. 6).

Приклад А7

Реакція під атмосферою N₂. Суміш проміжної сполуки 5 (0,0033моль) у ДМФ (5мл) та ТГФ (5мл) додають по краплях до розчину NaNH, 60% у мінеральному маслі (0,004моль), у ТГФ (10мл), перемішуваного при кімнатній температурі. Суміш перемішують протягом однієї години при кімнатній температурі. Потім додають по краплях розчин 4-(ацетилокси)бензолметанолу (0,004моль) у ТГФ і одержану реакційну суміш екстрагують CH₂Cl₂. Відокремлений органічний шар осушають (Na₂SO₄), фільтрують і розчинник випаровують. Залишок очищають методом хроматографії на короткій відкритій колонці із силікагелем (елюент: CH₂Cl₂/(CH₃OH/NH₃) 95/5). Чисті фракції збирають і розчинник випаровують. Вихід: 1,33г етил-4-феніл-4-[1-((4-метилкарбокси)фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]-1-піперидинкарбоксилату (проміжн. сп. 7).

В. Одержання кінцевих сполук

Приклад В1

Суміш проміжної сполуки 4 (0,05моль) та N,N-діетилетанаміну (0,15моль) у толуолі (750мл) перемішують при 100°C. Додають по краплях етилхлорформіат (0,25моль) і реакційну суміш перемі-

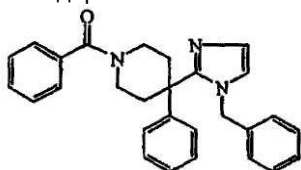
шують та нагрівають до кипіння зі зворотним холодильником протягом 1 години, а потім охолоджують. Суміш виливають у водний розчин K_2CO_3 (35г K_2CO_3). Шари розділяють. Водний шар екстрагують CH_2Cl_2 . Відокремлений органічний шар осушають ($MgSO_4$), фільтрують та розчинник випаровують. Залишок очищають на силікагелі на скляному фільтрі (елюент: CH_2Cl_2/C_2H_5OH 98/2). Потрібні фракції збирають і розчинник випаровують. Залишок кристалізують з CH_3CN , збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 16,7г (86%) етил-4-феніл-4-[1-(фенілметил)-1H-імідазол-2-іл]-1-піперидинкарбоксилату (Сполука 1).

Приклад В2

Одержання

сполуки

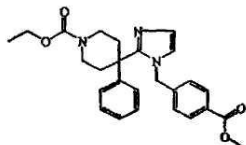
2



Бензоїлхлорид (0,0023моль) додають до суміші проміжної сполуки 6 (0,0019моль) та N,N-діетилетанаміну (0,0024моль) у CH_2Cl_2 (15мл), перемішуваної при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішують протягом 30хв. при кімнатній температурі. Додають воду. Шари розділяють. Водний шар екстрагують CH_2Cl_2 . Об'єднані органічні шари осушають (Na_2SO_4), фільтрують та розчинник випаровують. Залишок очищають хроматографією на короткій відкритій колонці з силікагелем (елюент: $CH_2Cl_2/(CH_3OH/NH_3)$ 98/2). Чисті фракції збирають і розчинник випаровують. Залишок перекристалізують з н-гексану, збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 0,42г (52%) сполуки 2; т.пл. 122,7°C.

Приклад В3

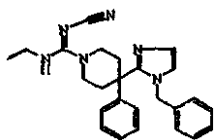
Одержання сполуки 3



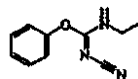
Реакція під атмосферою N_2 . Розчин проміжної сполуки 5 (0,0054моль) у ДМФ (10мл) та ТГФ (10мл) додають по краплях до NaH (0,00624моль) у ТГФ (30мл) і суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години. Потім додають по краплях метил-4-(бромметил)бензоат (0,00624моль) у ТГФ (5мл) і реакційну суміш перемішують при 60°C протягом 3 годин. Додають воду і суміш екстрагують CH_2Cl_2 . Об'єднані органічні шари осушають (Na_2SO_4), фільтрують і розчинник випаровують. Залишок очищають хроматографією на короткій відкритій колонці з силікагелем (елюент: $CH_2Cl_2/(CH_3OH/NH_3)$ 98/2). Потрібні фракції збирають і розчинник випаровують. Залишок кристалізують з DIPE, збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 1,7г (70%) сполуки 3; т.пл. 149,1°C.

Приклад В4

Одержання сполуки 4



Суміш проміжної сполуки 6 (0,0059моль) та

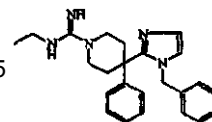


(0,0059моль) у CH_3CN (70мл) пере-

мішують та нагрівають до кипіння зі зворотним холодильником протягом 24 годин. Розчинник випаровують. Додають воду. Цю суміш екстрагують CH_2Cl_2 . Відокремлений органічний шар осушають (Na_2SO_4 , безводний), фільтрують і розчинник випаровують. Залишок кристалізують з DIPE, збирають на фільтрі та перекристалізують з CH_3CN , збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 0,33г сполуки 4; т.пл. 84,2°C.

Приклад В5

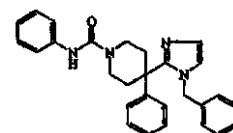
Одержання сполуки 5



Суміш сполуки 4 (0,0001моль) у 6Н HCl (22,8мл) перемішують та нагрівають до кипіння зі зворотним холодильником протягом 4 годин. Реакційну суміш підлюговують, а потім екстрагують CH_2Cl_2 . Відокремлений органічний шар осушають (Na_2SO_4 , безводний), фільтрують і розчинник випаровують. Залишок перекристалізують з DIPE, збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 0,24г (62%) сполуки 5.

Приклад В6

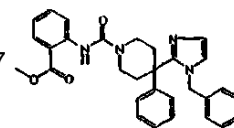
Одержання сполуки 6



Ізоціанатобензол (0,0094моль) додають по краплях до проміжної сполуки 6 (0,0094моль) у ТГФ (50мл) і реакційну суміш перемішують протягом 30хв. при кімнатній температурі. Додають воду і цю суміш екстрагують CH_2Cl_2 . Відокремлений органічний шар осушають (Na_2SO_4), фільтрують та розчинник випаровують. Твердий залишок промивають 2-пропанолом, збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 2,7г (68%) сполуки 6.

Приклад В7

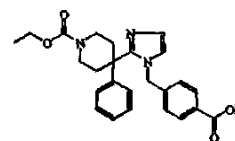
Одержання сполуки 7



Метил-2-ізоціанатобензоат (0,0007моль) додають до проміжної сполуки 6 (0,0007моль) у ТГФ (10мл) і реакційну суміш перемішують протягом 3 годин при кімнатній температурі. Додають воду і цю суміш екстрагують CH_2Cl_2 . Відокремлений органічний шар осушають (Na_2SO_4), фільтрують та розчинник випаровують. Залишок (0,4г) очищають методом ВЕРХ на силікагелі (елюент: CH_2Cl_2/CH_3OH 98/2). Потрібні фракції збирають і розчинник випаровують. Вихід: 0,2г (66%) сполуки 7.

Приклад В8

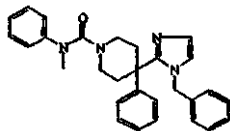
а) Одержання сполуки 8



Суміш сполуки 3 (0,002моль) та LiOH

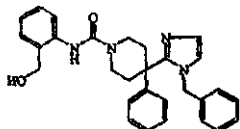
(0,02моль) у ТГФ (11мл) та H₂O (11мл) перемішують при кімнатній температурі протягом 24 годин. Додають H₂O. Суміш доводять до pH6, а потім екстрагують CH₂Cl₂. Органічний шар відокремлюють, осушають, фільтрують і розчинник випаровують. Залишок промивають CH₂Cl₂. Вихід: 0,72г (83%) сполуки 8; т.пл. 251,6°C.

b) Одержання сполуки 9



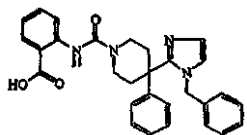
Реакція під атмосферою N₂. Розчин NaN 60% (0,000642моль) у ДМФ (2мл) перемішують при кімнатній температурі. Додають по краплях розчин сполуки 6 (0,000642моль) у ДМФ (8мл) і реакційну суміш перемішують протягом однієї години при кімнатній температурі. Додають CH₃I (0,001284моль) і реакційну суміш перемішують при 60°C в апараті високого тиску Parr протягом 2 годин. Розчинник випаровують. Залишок очищують методом вискоєфективної рідинної хроматографії на силікагелі (елюент: CH₂Cl₂/CH₃OH 98/2). Потрібні фракції збирають і розчинник випаровують. Вихід: 0,14г (49%) сполуки 9.

c) Одержання сполуки 10



Додають по краплях 1М LiAlH₄ у ТГФ (0,000444моль) до розчину сполуки 7 (0,000404моль) у ТГФ (5мл), перемішуваного при 0°C. Реакційну суміш перемішують протягом 30хв. при 0°C. Суміш обробляють 10% водним розчином NH₄Cl і екстрагують EtOAc. Відокремлений органічний шар осушають (Na₂SO₄), фільтрують та розчинник випаровують. Залишок очищують методом протиточної ТШХ (CC-TLC) на пристрої Chromatotron (елюент: CH₂Cl₂/CH₃OH 96/4). Потрібні фракції збирають і розчинник випаровують. Залишок кристалізують з CH₃OH/H₂O, збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 0,020г (10%) сполуки 10.

d) Одержання сполуки 11



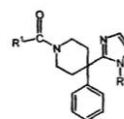
До розчину сполуки 7 (0,0006469моль) у діоксані/H₂O 1/1 (6мл) додають порціями LiOH (0,001423моль). Одержану суспензію перемішують протягом 18 годин при кімнатній температурі. Розчинник випаровують. Залишок розводять у воді та екстрагують сумішшю EtOAc та 1-бутанолу. Органічний шар відокремлюють, осушають (Na₂SO₄), фільтрують і розчинник випаровують. Залишок розводять у 1Н HCl, а потім екстрагують EtOAc. Органічний шар відокремлюють, промивають розсоллом, осушають (Na₂SO₄), фільтрують і розчинник випаровують. Залишок кристалізують з Et₂O/CH₂Cl₂, збирають на фільтрі та висушують. Вихід: 0,16г (51%) сполуки 11.

Приклад В9

До суміші проміжної сполуки 7 (0,0018моль) у ТГФ (10мл) та H₂O (10мл) додають LiOH (0,018моль). Реакційну суміш перемішують протягом 3 годин при кімнатній температурі. Додають воду. Додають CH₂Cl₂. Реакційну суміш екстрагують. Органічний шар відокремлюють, осушають (Na₂SO₄), фільтрують і розчинник випаровують. Білий твердий залишок промивають метанолом та CH₂Cl₂, а потім висушують. Вихід: 0,541 г етил-4-феніл-4-[1-(4-гідроксифенілметил)-1Н-імідазол-2-іл]-1-піперидинкарбоксилату (Сполука 12).

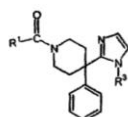
Були синтезовані такі сполуки, вказані у Таблицях 1-5: (Всі точки плавлення (т.пл.) вказані у °C).

Таблиця 1



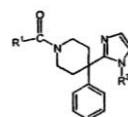
Сп. №	Пр. №	R ¹ -	R ² -	Фіз. власт.
110	B2	-H		
13	B1			
14	B3			т.пл. = 137
1	B1			
12	B9			
15	B3			
16	B3			т.пл. = 117
17	B3			т.пл. = 127
18	B3			т.пл. = 125
8	B6			т.пл. = 252
3	B3			т.пл. = 149
19	B3			
20	B3			
21	B3			
22	B3			
23	B3			т.пл. = 199
112	B3			т.пл. = 128
24	B1			т.пл. = 130

29



75980

30



25	B1			т.пл. = 160
26	B2			т.пл. = 133
27	B1			т.пл. = 80
28	B1			т.пл. = 215
29	B2			т.пл. = 111
30	B3			

31	B3			
32	B1			
33	B2	CH ₃ -		т.пл. = 183
34	B2	CH ₃ CH ₂ -		т.пл. = 133
35	B2	изопропил-		т.пл. = 107
36	B2			т.пл. = 111
37	B2	трет-бутил-		т.пл. = 165
2	B2			т.пл. = 123
38	B3			
39	B3			
40	B3			

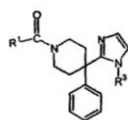
41	B3			
42	B2			т.пл. = 151
43	B2			т.пл. = 79
44	B2			т.пл. = 149
45	B2			
46	B2	NH ₂ -		т.пл. = 208
47	B2			т.пл. = 144
48	B2			
49	B2			

50	B2			
51	B2			
6	B6			
52	B3			
53	B3			
54	B3			
55	B3			
56	B3			
57	B3			
58	B3			
59	B3			
60	B3			

61	B3			
62	B3			
63	B3			
64	B2			
65	B2			
66	B2			
67	B2			
68	B2			
7	B7			
69	B2			

7	B2			
70	B2			

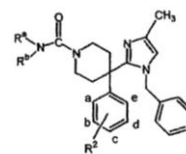
31



75980

32

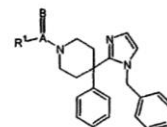
Таблиця 2



71	B2			
72	B2			
73	B2			
74	B2			
10	B6			
75	B2			
76	B2			

Сп. №	Пр. №	R ^a -	R ^b -	R ^c -	Положення R ^d	Фіз. дані
88	B3		H		c	
89	B3		H	-F	c	
90	B3		H	-F	a	
114	B3			-	-	
115	B3		H	-	-	

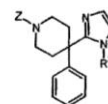
Таблиця 3



77	B2			
11	B6			
78	B2			
79	B2			
9	B6			
80	B2			
81	B2			
113	B2			
82	B2			

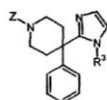
Сп. №	Пр. №	A=B	R ¹ -	Фіз. дані
5	B5	C=NH		
91	B5	C=N-H		
4	B4	C=N-CN		т.пл. = 84
92	B4	C=N-CN		
93	B4	C=C-NO ₂		
95	B2	C=S		т.пл. = 172
96	B2	C=S		
94	B2	SO ₂	-CH ₃	т.пл. = 167
97	B2	SO ₂	-NH ₂	т.пл. = 212
111	B2	SO ₂	-CF ₃	т.пл. = 104
98	B2	SO ₂		

Таблиця 4



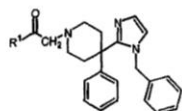
83	B2			т.пл. = 74
84	B2			
85	B2			т.пл. = 165
86	B2			
87	B2			

Сп. №	Пр. №	Z (A=B та R ¹ разом)	R ¹ -	Фіз. дані
99	B3			
100	B3			



Сп. №	Пр. №	Z (A=B та R ¹ разом)	R ¹ -	Фіз. дані
101	B3			
102	B3			
103	B2			т.пл. = 204
104	B2			т.пл. = 181
105	B2			т.пл. = 190
106	B2			т.пл. = 107

Таблиця 5



Сп. №	Пр. №	R ¹ -	Фіз. дані
107	B3	-OH	
108	B2		т.пл. = 105
109	B2	-NH ₂	т.пл. = 136

С. Фармакологічні приклади

Були проведені дослідження фармакологічних властивостей деяких сполук методами зв'язування радіоліганду, а також зв'язування GTPγS, з клонуваними δ-, κ- та μ-опіоїдними рецепторами людини, що експресуються у клітинних лініях ссавців. Вимірювали передачу сигналу вторинного месенджера на препаратах мембран шляхом стимулювання зв'язування [³⁵S]GTPγS. Цей функціональний аналіз досліджує агоністичні та антагоністичні властивості сполук.

DPDPE ((O-Pen^{2,5})-енкефалін) використовували як еталонний агоніст, а налтриндол - як еталонний антагоніст δ-опіоїдного рецептора (Malatynska E., Wang Y., Knapp R.J., Santoro G, Li X., Waite S., Roeske W.R., Yamamura H.I: Human δ opioid receptor: a stable cell line for functional studies of opioids. *NeuroReport* 6, 613-616, 1995) і (Portoghese P.S., Sultana M., Takemori A.E.: Naltrindole, a highly selective and potent non-peptide δ opioid receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* 146, 185-186, 1988), а U69593 та нор-біналторфімін (нор-BNI) використовували як еталонні агоніст та антагоніст, відповідно, для κ-опіоїдного рецептора. Для μ-опіоїдного рецептора як еталонний агоніст використовували морфін, а як еталонний антагоніст - налоксон (Alt A., Mansour A., Akil H., Medzihradsky K, Traynor J.R., Woods J.H.: Stimulation of guanosine-5'-O-(3-[³⁵S]thio)triphosphate binding by endogenous opioids acting at a cloned Mu receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 282-288, 1998) та (Smart D., Hirst R.A.,

Hirota K., Gramly O.K., Lambert D.G.: The effects of recombinant rat μ-opioid receptor activation in CHO cells on phospholipase C, [Ca²⁺]_i and adenylyl cyclase. *Br. J. Pharmacol.* 120, 1165-1171, 1997).

С.1. Матеріали та методи

Клітинна культура

Клітини яєчників китайського хом'ячка (СНО), стабільно трансфектовані κ- чи μ-опіоїдним рецептором, культивують у середовищі Ігла, модифікованому за Дульбекко (DMEM) / живильній суміші Ham's F12 (у співвідношенні 1:1) з добавкою 10% термоінактивованої сироватки плоду корови та розчину антибіотиків, що містить 100МО/мл пеніциліну G, 100мкг/мл стрептоміцинсульфату, 110мкг/мл піровиноградної кислоти та 300мкг/мл L-глутаміну. Клітини гліоми С6, стабільно трансфектовані δ-опіоїдним рецептором, потребували використання середовища DMEM, збагаченого 10% термоінактивованої сироватки плоду корови та розчину антибіотиків, як описано вище.

Препарат мембран

Мембрани одержують як загальні фракції мікрочастинок. Всі клітинні лінії культивують до ступеню злиття 90% на чашках Петрі діаметром 145мм і обробляють 5мМ бутиратом натрію за 24 години до збирання. Культуральне середовище видалюють і клітини промивають охолодженим на льоді фосфатно-сольовим буфером (PBS, який не містить Ca²⁺ та Mg²⁺), зіскрібають з чашок у 50мМ трис-НСІ буфері, рН7,4, та збирають за допомогою центрифугування (10 хвилин, 16000об./хв., при 4°C). Клітинний осад ресуспендують у гіпотонічному 5мМ трис-НСІ буфері, рН7,4, та повторно гомогенізують за допомогою гомогенізатора Ultra Turrax. Гомогенат центрифугують при 18000об./хв протягом 20 хвилин при 4°C. Кінцевий осад ресуспендують у 50мМ трис-НСІ буфері, рН 7,4, та зберігають у вигляді аліквот при -70°C. Визначення протеїну проводять за допомогою набору для аналізу на протеїн Biorad (Bradford) з використанням альбуміну бичачої сироватки (BSA) як стандарту [Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem.* 72: 248-254, 1976].

С.2. Зв'язування радіоліганду

Були проведені попередні експерименти зі зв'язування радіолігандів для визначення оптимальних умов проведення аналізу для зазначених субтипів опіоїдних рецепторів з відповідними мембранами клітин ссавців.

Аналізи конкурентного інгібування [³H]DPDPE сполуками проводили при концентрації радіоліганду 2нМ (K_d=1,7нМ) та різних концентраціях сполук без паралельних дослідів, з охопленням щонайменше 3 порядків величини навколо значення pIC₅₀. Для конкурентного зв'язування κ- та μ-рецепторів використовували, відповідно, [³H]U69593 (K_d=0,4нМ) та [³H]DAMGO (K_d=0,6нМ) у концентрації 1нМ. Мембрани відтаювали на льоді та розводили у 50мМ трис-НСІ буфері, рН7,4. Для δ-опіоїдних рецепторів, до цього буфера для інкубування додавали 2мМ MgCl₂, 1мМ етиленглікольтетраоцтової кислоти (EGTA) та 0,1% бичачого сироваткового альбуміну (BSA). Неспецифічне зв'язування вимірювали у присутності 1мкМ налт-

риндолу, спірадоліну та декстромораміду для δ -, κ - та μ -опіоїдних рецепторів, відповідно. Було знайдено, що оптимальними умовами аналізу конкурентного зв'язування для всіх трьох субтипів рецепторів є інкубування протягом 1 години при 25°C. Аналізи проводять у кінцевому об'ємі 500мкл. Реакцію зупиняють швидкою фільтрацією крізь фільтр UniFilter™-96, GF/B™ при зниженому тиску за допомогою пристрою Filtermate 196 (Packard). Кількість зв'язаної радіоактивності на фільтрі визначають після висушування фільтра та додавання сцинтилянта (Microscint-O; Packard) методом підрахунку сцинтиляції.

С.3. Зв'язування [35 S]GTP γ S

Визначення зв'язування [35 S]GTP γ S з G-протеїнами проводять за модифікованою методикою Лазарено [Lazareno S.: Measurement of agonist-stimulated [35 S]GTP γ S binding to cell membranes. Meth. Molec. Biol. 106, 231-243, 1999].

У попередніх експериментах на зв'язування [35 S]GTP γ S були оптимізовані умови проведення аналізу, в результаті чого були вибрані такі буфери: 20мМ Нерес плюс 100мМ NaCl, який містить 3мМ гуанозиндифосфату (GDP) та 1мМ MgCl₂ для μ -опіоїдних рецепторів мембран клітин яєчників китайського хом'ячка (CHO), або 10мМ GDP та 1мМ MgCl₂ для δ -опіоїдних рецепторів клітинних мембран гліоми C6, і 10мМ GDP та 0,3мМ MgCl₂ для κ -опіоїдних рецепторів мембран CHO. Суміші для проведення аналізу містять 10мкг мембранного протеїну. До розведених мембран додають ще 10мкг/мл сапоніну як поверхнево-активну речовину для збільшення проникнення [35 S]GTP γ S крізь мембрани.

Для аналізу на агоністичну активність, 175мкл розведених мембран попередньо інкубують в описаному вище буфері разом з 25мкл буфера та 25мкл різних концентрацій сполуки у загальному об'ємі 225мкл. Для аналізу антагоністичної активності, замість добавки 25мкл буфера додають еталонний агоніст для визначення базового титру після стимулювання. Для всіх трьох клітинних ліній використовують концентрації DPDPE, U69593 та морфіну у 300нМ для відповідних субтипів рецепторів. Після 20-хвилинного періоду попереднього інкубування при 37°C, додають 25мкл [35 S]GTP γ S до кінцевої концентрації 0,25нМ і суміші для аналізу інкубують далі протягом 20 хвилин при 37°C. Зв'язаний та вільний [35 S]GTP γ S розділяють швидкою фільтрацією крізь UniFilter™-96 GF/B™ при зниженому тиску за допомогою пристрою Filtermate 196 (Packard). Кількість зв'язаної радіоактивності на фільтрі визначають після висушування фільтра та додавання сцинтилянта (Microscint-O; Packard) методом підрахунку сцинтиляції.

Базове зв'язування [35 S]GTP γ S вимірюють шляхом проведення дослідів без використання сполук. Стимулювання агоністом обчислюють як процент збільшення показників над базовим рівнем. Сигмоїдальні криві концентраційної чутливості агоніста для зростання зв'язування [35 S]GTP γ S та криві інгібування антагоніста для інгібування

зв'язування, стимульованого еталонним агоністом [35 S]GTP γ S, аналізують методом нелінійної регресії з використанням комп'ютерної програми GraphPad Prism. Дані одержують шляхом проведення незалежних експериментів, а для точок з різними концентраціями проводять по два паралельні досліди.

С.4. Результати

Усі сполуки за винаходом мають значення pIC₅₀ не нижче 6 для дельта-опіоїдних рецепторів і значення pIC₅₀ не вище 6 для μ - або κ -рецепторів.

Сполуки, вказані у Таблиці 6, мають значення pIC₅₀ від 7 до 8 для дельта-опіоїдних рецепторів і значення pIC₅₀, що дорівнюють 6 чи менше, для μ - або κ -рецепторів.

Сполуки, вказані у Таблиці 7, мають значення pIC₅₀, вищі за 8, для дельта-опіоїдних рецепторів, і значення pIC₅₀, що дорівнюють 6 чи менше, для μ - або κ -рецепторів. Коефіцієнт селективності до дельта-опіоїдних рецепторів порівняно з μ -опіоїдними рецепторами досягає 600.

Таблиця 6

Значення pIC₅₀ для дельта-опіоїдних рецепторів за результатами аналізу з агоністом

Сп.№	pIC ₅₀	Сп.№	pIC ₅₀
43	7,9	22	7,3
17	7,9	87	7,3
30	7,9	45	7,3
105	7,9	51	7,3
78	7,9	4	7,3
101	7,8	55	7,3
28	7,8	71	7,3
11	7,8	99	7,3
29	7,8	34	7,2
67	7,8	72	7,2
7	7,7	81	7,2
9	7,7	64	7,2
52	7,7	18	7,2
103	7,7	42	7,2
26	7,7	10	7,2
27	7,7	33	7,1
15	7,6	37	7,1
69	7,6	80	7,1
50	7,6	90	7,1
32	7,6	56	7,1
93	7,5	47	7,1
65	7,5	43	7,1
84	7,5	48	7,1
66	7,5	79	7,0
75	7,4	111	7,0
13	7,4	7	7,0
76	7,4	68	7,0
96	7,4	95	7,0
94	7,4	92	7,0
70	7,4	49	7,0
36	7,3	74	7,0

Таблиця 7

Результати аналізів
на зв'язування рецепторів
з агоністами (pIC_{50}) та зв'язування з
перенесенням сигналу (pIC_{50}), н.в.: не визначено

Сп. №	Формула	Зв'язування рецепторів агоністів (pIC_{50})			Зв'язування перенесення сигналу (pIC_{50})	
		дельта	мю	каппа	дельта- агоніст	дельта- антагоніст
3		8,8	6	н.в.	7,3	5
38		8,7	6	н.в.	н.в.	н.в.
20		8,6	6	н.в.	7	5
102		8,5	6	н.в.	н.в.	н.в.
25		8,4	6	н.в.	6,9	5
2		8,3	6	н.в.	6,8	5
41		8,3	6	н.в.	н.в.	н.в.
98		8,2	5,6	5,8	6,1	5
19		8,2	6	н.в.	6,5	5
24		8,2	6	н.в.	6,9	5
1		8,1	5	6,3	н.в.	5
31		8,1	6	н.в.	н.в.	н.в.
12		8,0	6	н.в.	7	5

D. Клінічні експерименти: Серцева ішемія

D.1. Щуряча модель Лангендорфа

Випробувані сполуки

Були випробувані сполуки 1, 24 та 25.

Модель

Щуряче серце швидко розсікають, приєднують аорту до канюлі та проводять перфузію фізіологічним буфером (модифікований буфер Кребса-Хенселяйта: NaCl 118ммоль/л, KCl 4,7ммоль/л, MgSO₄ 1,2ммоль/л, KH₂PO₄ 1,2ммоль/л, CaCl₂

1,8ммоль/л, NaHCO₃ 23ммоль/л, глюкоза 11ммоль/л) без крові при тиску перфузії 80мм рт.ст. Кисень розчиняють у фізіологічному буфері. Задають водієм ритму частоту скорочень передсердь 350 ударів за хвилину. До лівого шлуночка вставляють балон, який може бути необов'язково наповненим (калібрувальне попереднє навантаження). Вимірюють діастолічний тиск та створюваний тиск, а також коефіцієнт максимального створюваного тиску як показник скорочуваності (інотропізм) та коефіцієнт спаду тиску до мінімального значення як показник релаксації. Перевагами цієї моделі є те, що серце ізольоване і досліджується в контрольованих умовах без взаємодії з іншими органами, та розумна швидкість та дешевизна методу. Недоліками є: відсутність перфузії крові, використання лише розчиненого кисню, що спричинює до більших значень коронарного кровотоку із значною вазодилатацією коронарної системи; використання замкненої системи без метаболізму та без взаємодії з іншими органами і малої тваринної моделі, досить далекої від реальних клінічних умов.

Протокол

Дослідний період ішемії складає 20 хвилин. Виміри після дослідного періоду ішемії (фаза реперфузії) завжди тривають 40 хвилин. Виміри перед дослідним періодом ішемії тривають 30 хвилин і проводяться після стабілізації. В групі ішемічного прекодиціонування протягом цих 30 хвилин здійснюють такі виміри: 10 хвилин базова лінія, 5 хвилин ішемія, 5 хвилин реперфузія, 5 хвилин ішемія та 5 хвилин реперфузія. В групі сполук за винаходом (4 мкг/500мл буферного розчину) перші 15 хвилин відповідають базовій лінії, після чого йдуть 15 хвилин обробки. Таким чином, час дослідів для всіх груп однаковий.

Результати

Відновлення скорочувальної функції ізольованих сердець за допомогою сполук за винаходом є щонайменше не гіршим, ніж в групі з ішемічним прекодиціонуванням. Однак, слід відзначити, що таке введення сполук за винаходом викликає негативні інотропні ефекти на серці, про що свідчить підвищення тиску наприкінці діастолічного циклу у лівому шлуночку і зменшення створюваного тиску та величини dP/dt_{max} . Це може бути пов'язано з розчинником циклодекстрином, оскільки однаковий ефект спостерігався в 2 експериментах, у яких було введено однакову концентрацію циклодекстрину. Однак, функціональне відновлення після дослідного періоду ішемії не поліпшувалося у порівнянні з контрольною групою. Це свідчить про те, що кардіозахисна дія спричинена не негативний інотропним ефектом перед ішемією.

Статистичний аналіз показав наявність суттєвої різниці між контрольною групою та групою, що одержувала сполуки за винаходом, за показниками створюваного тиску, кінцево-діастолічного тиску, dP/dt_{max} та dP/dt_{min} із $p < 0,000001$ (див. Фіг.1 та Фіг.2).

Шлуночкова фібриляція спостерігалася під час реперфузії у значно меншого числа щурів з групи, що одержувала сполуки за винаходом, у порівнянні з контрольною групою, а також у порівнянні з

групою ішемічного прекодиціонування. Крім того, кількість епізодів шлуночкової фібриляції у групі, що одержувала сполуки за винаходом, була меншою у порівнянні з іншими групами (Таблиця 8).

Таблиця 8

Результати експериментів на щурах за Лангендорфом

Сполука №	Щур №	IC	V _{fib}	EDP	Відновл.
24	X1	10	0	0	91%
	X2	5	1 (коротка)	+5	85%
	X3	7	0	+7	87%
25	Y1	7	2(коротка)	+10	75%
	Y2	5	0	+6	79%
	Y3	7	1 (коротка)	+6	85%
1	Z1	4	0	0	92%
	Z2	6	0	1-7	85%
	Z3	8	1 (коротка)	+8	82%
Контроль	C	21	4	+26	48%

IC: Ішемічна контрактура (мм рт.ст.)

V_{fib}: Число шлуночкових фібриляцій під час реперфузії

EDP: Ступінь нормалізації кінцево-діастолічного тиску (EDP) під час реперфузії;

0= відновлення до базового значення EDP;

+... мм рт.ст. = величина перевищення базової EDP у мм рт.ст.

Відновл.:% відновлення величини створюваного тиску наприкінці реперфузії

D.2. Модель вівці

Для того, щоб подолати недоліки попередньої моделі, було використано складну модель вівці *in vivo*, на якій тим не менш було досягнуто доброго контролю над серцевими ефектами.

Випробувані сполуки

Було випробувано Сполуку 1.

Модель

Як модель використовували вівцю, анестезовану кетаміном та ізофлураном. Апарат штучного кровообігу був приєднаний шляхом венозної канюляції обох порожнистих вен та артеріальної канюляції через сонну артерію. Додаткова канюля з витратоміром у правому шлуночку дозволяє визначити кровотік у коронарних артеріях. Крім вимірів частоти серцевих скорочень та артеріального кров'яного тиску, вимірюють миттєвий тиск у лівому шлуночку, а також об'ємні показники лівого шлуночку за допомогою провідного катетера. Артеріальна канюля штучного серця має також бічну трубку, що веде до легеневої артерії. У такий спосіб можливо цілком контрольовано модулювати переднавантаження лівого шлуночка для одержання незалежних від навантаження результатів вимірів стисливості лівого шлуночка до та після дослідного періоду ішемії. Вимірюють також серцеве споживання кисню, а також регіональну перфузію за допомогою забарвлених мікросфер.

Перевагою цієї моделі є те, що це велика тваринна модель з використанням апарата штучного

кровообігу у метаболічно активній моделі, можливо, у присутності інших несерцевих ефектів, в добре контрольованих умовах роботи серця, у якій відбувається перфузія серця кров'ю. Недоліком вважається технічно складний характер моделі.

Протокол

Дослідний період ішемії становив 30 хвилин, причому протягом цього часу серце залишалося нормотермічним і було повністю розвантажено за допомогою апарата штучного кровообігу та вентиляції шлуночків. Контрольна група за тривалістю періоду була узгоджена з іншими групами. Групу ішемічного прекодиціонування піддавали 3 рази по 5 хвилин прекодиціувальній ішемії з 5-хвилинними інтервалами реперфузії. В трьох дослідних групах штучний кровообіг вмикали за 30 хвилин до початку періоду дослідної ішемії. Штучний кровообіг припиняли через 40 хвилин після закінчення дослідного періоду ішемії. Сполуку 1 (78мг/20мл) вводили за 15 хвилин до початку періоду дослідної ішемії у п'яти технічно успішно проведених експериментах, причому в одному експерименті було введено 10мл розчину, а в чотирьох інших - 100мл. Для обробки даних тут будуть використані результати лише цих чотирьох дослідів. В інших групах завжди обробляли результати 7 експериментів. Перед кожним виміром співвідношення тиск-об'єм у лівому шлуночку систему перемикали на модель правостороннього внутрішньосерцевого шунтування, при якій венозний потік відводиться до апарата штучного кровообігу через порожнисті вени, і кров повертається в організм вівці через легеневу артерію. Це завжди робиться під час визначення базової лінії, негайно після ішемічного прекодиціонування чи введення сполуки 1, безпосередньо перед початком періоду дослідної ішемії та через 40, 70 і 100 хвилин після закінчення періоду дослідної ішемії.

Результати

Звичайні параметри

Не було виявлено ніяких суттєвих розбіжностей між групами за показником середнього кров'яного тиску. Введення сполуки 1 також не спричинювало істотних змін кров'яного тиску. Слід відзначити, що Сполуку 1 вводили під час періоду штучного кровообігу, що очевидно впливало на кров'яний тиск.

Не було виявлено суттєвих розбіжностей за показниками тиску у лівому передсерді, хоч у контрольній групі спостерігалася тенденція до дещо вищих значень тиску у лівому передсерді порівняно з іншими двома групами.

Те ж саме стосується показників швидкості витікання для серця після реперфузії, при наявності тенденції до зростання серцевого кровотоку у групі ішемічного прекодиціонування та в групі, що одержувала Сполуку 1.

Співвідношення тиск-об'єм

Співвідношення тиск-об'єм у лівому шлуночку визначали для контрольної групи, групи ішемічного прекодиціонування та групи, що одержувала Сполуку 1.

Що стосується незалежних від навантаження параметрів, то вивчали втяжну систолічну роботу серця з переднавантаженням (PRSW, M_{sw}), результати визначення якої зображені на Фіг.3.

PRSW показує співвідношення між "систоличною роботою" та кінцево-діастолічним об'ємом. Систолічна робота - це ефективна механічна робота, виконувана серцем при викиданні крові. Величина PRSW є більшою, коли однакова зовнішня механічна робота виконується при меншому кінцево-діастолічному об'ємі (отже, при меншій довжині саркомера), що визначає стан скорочення.

Значення PRSW були значно кращими в групі ішемічного прекодиціювання та в групі, що одержувала Сполуку 1, у порівнянні з контрольною групою після 70 та 100 хвилин реперфузії, і наближались до показників базової лінії. Таким чином, ішемічне прекодиціювання та введення Сполуки 1 забезпечували краще відновлення серцевої стисливості після 30 хвилин ішемії в нормотермічних умовах при розвантаженому шлуночку.

Тау є мірою шлуночкової релаксації. Чим нижче значення тау, тим скоріше відбувається релаксація шлуночка. Цей показник є важливим, тому що, як відомо, діастолічна функція шлуночка більш чутлива до ішемії, ніж систолічна функція. Значення тау були значно нижчими у групі, що одержувала Сполуку 1, у порівнянні з контрольною групою через 70 та 100 хвилин після закінчення дослідного періоду ішемії, а також значно нижчими у групі ішемічного прекодиціювання у порівнянні з контрольною групою після 100 хвилин реперфузії (Фіг.4).

Параметр SW/PVA є показником ефективності використання механічної роботи серця. Систолічна робота є зовнішньою механічною роботою, а PVA є механічною енергією, продукованою серцем при систолічній роботі, а також потенційною енергією, потрібною для досягнення зростання тиску у певному об'ємі. На даний час, цей показник PVA (тиск-об'єм-площа) є механічним параметром, що має найкращу кореляцію зі споживанням кисню. Чим більше величина співвідношення SW/PVA, тим більша робота шлуночка використовується як зовнішня робота для викидання крові. Контрольна група має значно нижчі величини співвідношення SW/PVA у порівнянні з групою ішемічного прекодиціювання та групою, що одержувала Сполуку 1, через 40, 70 та 100 хвилин після закінчення до-

слідного періоду ішемії (Фіг.5).

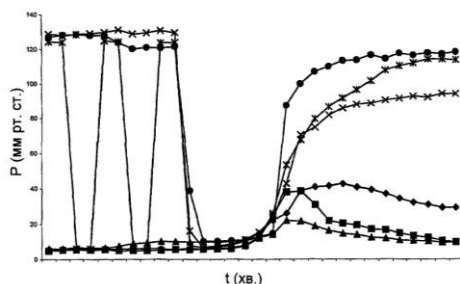
Скорочувальна ефективність, яка є мірою ефективності, з якою споживання O_2 перетворюється на PVA, або механічну енергію, є значно більшою в групі ішемічного прекодиціювання (44,5%) та в групі, що одержувала Сполуку 1 (46,7%), у порівнянні з контрольною групою (32,8%, $p < 0,001$).

Як додаткову перевагу сполук за винаходом можна вказати те, що серце було більш м'яким на дотик у групі, що одержувала Сполуку 1, у порівнянні як з контрольною групою, так і з групою ішемічного прекодиціювання.

Загалом, сполуки за винаходом є щонайменше не менш ефективними, ніж звичайне ішемічне прекодиціювання, як кардіозахисний механізм при 30-хвилинній нормотермічній ішемії міокарду під час штучного кровообігу. Вони посилюють стисливість та серцеву діастолічну функцію. Енергетична ефективність серця, за показниками як споживання O_2 для вироблення PVA, так і перетворення PVA на зовнішню роботу SW, також є більшою. Фармакологічний захист з використанням сполук за винаходом є кращим порівняно з ішемічним прекодиціюванням, оскільки він забезпечує таку ж саму ефективність, як ішемічне прекодиціювання, але пов'язаний з меншими ризиками (перетискання аорти, слабкіша сплутаність свідомості) і потребує менше часу. Також, у порівнянні з концентраціями DADLE, використовуваними в аналогічних експериментах, сполуки за винаходом вводяться в концентраціях, менших принаймні у 10 разів.

D. Клінічні експерименти: Ішемія головного мозку

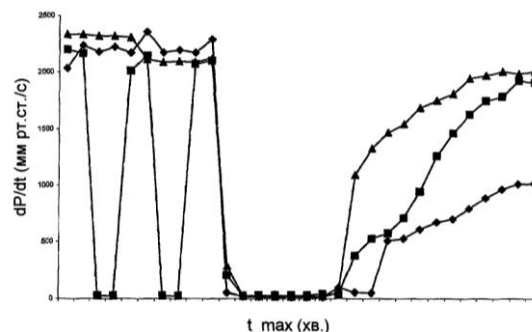
Зменшення ішемії головного мозку чи цереброзахисна дія сполук за винаходом можуть бути визначені за допомогою моделі тимчасової ішемії переднього мозку у щурів, у якій розмір інфаркту визначається після оклюзії середньої мозкової артерії (MCA), наприклад, шляхом накладання шва. Така модель описана [у WO 96/27380]. Також, для оцінки функціональних наслідків ішемії, може бути проведений ряд поведінкових тестів, які розкриті [у WO 96/27380].



ФІГ. 1

Кінцево-діастолічний тиск (EDP) та максимальний систолічний тиск (PSP) для 3 груп.

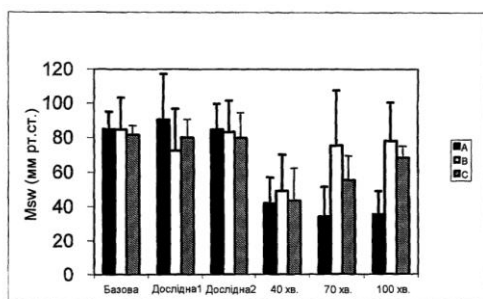
- ◆— EDP для контрольної групи;
- EDP для ішемічно прекодиційованої групи;
- ▲— EDP для групи, що одержувала сполуку 1;
- *— PSP для контрольної групи;
- *— PSP для ішемічно прекодиційованої групи;
- PSP для групи, що одержувала сполуку 1



ФІГ. 2

dP/dt_max для трьох груп.

- ◆— Контрольна група;
- Група ішемічного прекодиціювання;
- ▲— Група, що одержувала сполуку 1.



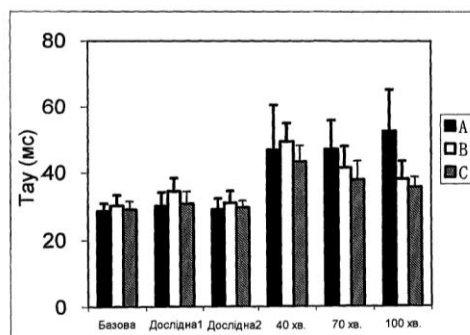
ФІГ. 3

Співвідношення тиск-об'єм у лівому шлуночку для 3 груп. Досліджуваний параметр - втяжна систолічна робота серця з переднавантаженням (M_{sw}).

A: контрольна група;

B: група ішемічного preconditionування;

C: група, що одержувала сполуку I.



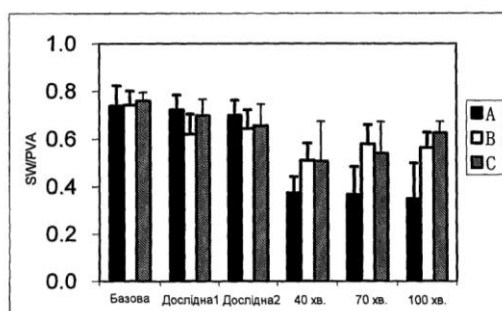
ФІГ. 4

Шлуночкова релаксація для 3 груп. Досліджуваний параметр - τ_{au} .

A: контрольна група;

B: група ішемічного preconditionування;

C: група, що одержувала сполуку I.



ФІГ. 5

SW/PVA для 3 груп.

A: контрольна група;

B: група ішемічного preconditionування;

C: група, що одержувала сполуку I.