



УКРАЇНА

(19) UA (11) 57811 (13) C2  
(51) 7 A61K45/06, A61P5/50МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, ЩО МІСТИТЬ ІНГІБІТОР АЛЬДОЗОРЕДУКТАЗИ ТА ІНГІБІТОР ГЛІКОГЕНФОСФОРИЛАЗИ (ВАРІАНТИ), КОМПЛЕКТ, ЯКИЙ ЇЇ ВКЛЮЧАЄ, ТА СПОСОБИ ЛІКУВАННЯ ССАВЦІВ ЗІ СТАНОМ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

1

(21) 2000052869  
(22) 02 11 1998  
(24) 15 07 2003  
(86) PCT/IB98/01752, 02 11 1998  
(31) 60/086,365  
(32) 21 11 1997  
(33) US  
(46) 15 07 2003, Бюл. № 7, 2003 р.  
(72) Міларі Банавара Лакшман, US, Хувер Денніс Джей, US, Улен Бернар, FR, Тредвей Джудіт Лі, US  
(73) ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ІНК, US  
(56) EP A 0624369 17 11 1994  
WO A 9639385 12 12 1996  
WO A 9639384 12 12 1996  
(57) 1 Фармацевтична композиція, що містить терапевтично ефективну кількість  
а) інгібітора альдозоредуктази,  
б) інгібітора глікогенфосфорилази, та  
в) фармацевтичного носія  
2 Фармацевтична композиція згідно з п. 1, в якій інгібітором альдозоредуктази є 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазоліл]метил]-1-фталазиноцтова кислота або її фармацевтично прийнятна сіль  
3 Фармацевтична композиція згідно з п. 2, в якій інгібітором глікогенфосфорилази є  
[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідроксипіролідін-1-іл)-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-((R)-гідроксидиметилкарбамоілметил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-((R)-гідроксиметоксиметилкарбамоіл)-метил]-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-((R)-гідрокси-[(2-гідроксietил)-метилкарбамоіл]-метил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-бензил-2-(3-гідроксіпіноліпролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

2

[2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[2-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-бензил-3-((цис)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-бензил-2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[2-(1,1-діоксотіазолідін-3-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-(4-фторбензил)-2-(4-гідроксипіперидін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[(1S)-бензил-2-((3RS)-гідроксипіперидін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,  
[2-оксо-2-((1RS)-оксотіазолідін-3-іл)-етил]амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти  
або  
[(1S)-бензил-2-(3-гідроксіазетидін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти  
4 Фармацевтична композиція згідно з п. 3, в якій кількість інгібітора альдозоредуктази становить від 0,1 мг/кг до 20 мг/кг  
5 Фармацевтична композиція згідно з п. 4, в якій кількість інгібітора глікогенфосфорилази становить від 0,1 мг/кг до 15 мг/кг  
6 Спосіб лікування ссавців зі станом інсулінорезистентності, який передбачає введення згаданому ссавцеві терапевтично ефективної кількості  
а) інгібітора альдозоредуктази,  
б) інгібітора глікогенфосфорилази  
7 Спосіб згідно з п. 6, в якому станом інсулінорезистентності є діабет, гіперінсулінемія, порушена толерантність до глюкози, гіперглікемія та/або гіперліпідемія після вживання їжі, діабет II типу, змінена конституція, зменшення маси м'язів, ожиріння, гіпертензія, дисліпідемія, атеросклероз, ішемія тканин, серцево-судинні захворювання, синдром Х, вагітність, стани інфікованості, уремія, гіперандрогенізм, гіперкортизолемія або інші стани надлишку адренокортикального гормону,

(13) C2

(11) 57811

(19) UA

акромегалія, надлишок гормону росту або полікістозне захворювання яєчника

8 Спосіб згідно з п 6, в якому станом інсулінорезистентності є діабет

9 Спосіб згідно з п 8, в якому інгібітором альдозоредуктази є 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазоліл]метил]-1-фталазиноцтова кислота або її фармацевтично прийнятна сіль

10 Спосіб згідно з п 9, в якому інгібітором глікогенфосфорилази є

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідроксипіролідін-1-іл)-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксидиметилкарбамоілметил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксиметоксиметилкарбамоіл)-метил]-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-[(2-гідроксietил)-метилкарбамоіл]-метил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксіпінопролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((цис)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(1,1-діоксотіазолідін-3-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(4-фторбензил)-2-(4-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3RS)-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-оксо-2-((1RS)-оксотіазолідін-3-іл)-етил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

або  
[(1S)-бензил-2-(3-гідроксіазетидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

11 Спосіб згідно з п 10, в якому кількість інгібітора альдозоредуктази становить від 0,1 мг/кг до 20 мг/кг, а кількість інгібітора глікогенфосфорилази становить від 0,1 мг/кг до 15 мг/кг

12 Спосіб згідно з п 11, в якому ссавцем є людина чоловічої або жіночої статі

13 Спосіб згідно з п 6, в якому станом інсулінорезистентності є ожиріння

14 Спосіб згідно з п 6, в якому станом інсулінорезистентності є полікістозне захворювання яєчника

15 Спосіб згідно з п 6, в якому станом інсулінорезистентності є синдром X

16 Спосіб згідно з п 6, в якому станом інсулінорезистентності є гіпертензія

17 Комплект, що складається з

а) терапевтично ефективної кількості інгібітора альдозоредуктази та фармацевтично прийнятного носія в першій одиничній дозованій формі,

б) терапевтично ефективної кількості інгібітора глікогенфосфорилази та фармацевтично прийнятного носія в другій одиничній дозованій формі,

в) контейнер для розміщення згаданих першої і другої дозованих форм

18 Комплект згідно з п 17, в якому інгібітором альдозоредуктази є 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазоліл]метил]-1-фталазиноцтова кислота або її фармацевтично прийнятна сіль

19 Комплект згідно з п 18, в якому інгібітором глікогенфосфорилази є

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідроксипіролідін-1-іл)-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксидиметилкарбамоілметил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксиметоксиметилкарбамоіл)-метил]-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-[(2-гідроксietил)-метилкарбамоіл]-метил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксіпінопролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((цис)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(1,1-діоксотіазолідін-3-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(4-фторбензил)-2-(4-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3RS)-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-оксо-2-((1RS)-оксотіазолідін-3-іл)-етил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

або  
[(1S)-бензил-2-(3-гідроксіазетидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

20 Комплект згідно з п 19, де кількість інгібітора альдозоредуктази становить від 0,1 мг/кг до 20 мг/кг

21 Комплект згідно з п. 20, де кількість інгібітора глікогенфосфорилази становить від 0,1 мг/кг до 15 мг/кг

22 Фармацевтична композиція для досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну у ссавців, яка містить

а) кількість першої сполуки, причому згадана перша сполука є інгібітором альдозоредуктази, та  
б) кількість другої сполуки, причому згадана друга сполука є інгібітором глікогенфосфорилази, де кількість першої сполуки окремо та кількість другої сполуки окремо є недостатньою для досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну і, де комбінований ефект кількостей першої і другої сполук більший, ніж сума ефектів сенсibilізації до інсуліну, що досягаються окремими кількостями першої і другої сполук, та фармацевтично прийнятний розріджувач або носій

23 Фармацевтична композиція згідно з п. 22, в якій інгібітором альдозоредуктази є 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазоліл]метил]-1-фталазиноцтова кислота, або її фармацевтично прийнятна сіль

24 Фармацевтична композиція згідно з п. 23, в якій інгібітором глікогенфосфорилази є

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідроксипіролідін-1-іл)-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксидиметилкарбамоілметил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксиметоксиметилкарбамоіл)-метил]-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-[(2-гідроксietил)-метилкарбамоіл] метил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((цис)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(1,1-діоксотіазолідін-3-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(4-фторбензил)-2-(4-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3RS)-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-оксо-2-((1RS)-оксотіазолідін-3-іл)-етил]амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти або [(1S)-бензил-2-(3-гідроксіазетидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

25 Фармацевтична композиція згідно з п. 24, в якій кількість інгібітора альдозоредуктази становить від 0,1 мг/кг до 20 мг/кг

26 Фармацевтична композиція згідно з п. 25, в якій кількість інгібітора глікогенфосфорилази становить від 0,1 мг/кг до 15 мг/кг

27 Спосіб досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну у ссавців зі станом інсулінорезистентності, який передбачає введення згаданому ссавцеві

а) кількості першої сполуки, причому згадана перша сполука є інгібітором альдозоредуктази, та  
б) кількості другої сполуки, причому згадана друга сполука є інгібітором глікогенфосфорилази,

де кількість першої сполуки окремо та кількість другої сполуки окремо є недостатньою для досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну і, де комбінований ефект кількостей першої і другої сполук є більший, ніж сума ефектів сенсibilізації до інсуліну, що досягається введенням окремих кількостей першої і другої сполуки

28 Спосіб згідно з п. 27, в якому інгібітором альдозоредуктази є 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазоліл]метил]-1-фталазиноцтова кислота або її фармацевтично прийнятна сіль

29 Спосіб згідно з п. 28, в якому інгібітором глікогенфосфорилази є

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідроксипіролідін-1-іл)-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксидиметилкарбамоілметил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксиметоксиметилкарбамоіл)-метил]-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-[(2-гідроксietил)-метилкарбамоіл]-метил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-((3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((цис)-дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(цис-3,4-дигідроксипіролідін-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(1,1-діоксотіазолідін-3-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(4-фторбензил)-2-(4-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3RS)-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-оксо-2-((1RS)-оксотіазолідін-3-іл)-етил]амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти або

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксизетидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

30 Спосіб згідно з п 29, в якому кількість інгібітора альдозоредуктази становить від 0,1 мг/кг до 20 мг/кг

31 Спосіб згідно з п 30, в якому кількість інгібітора глікогенфосфорилази становить від 0,1 мг/кг до 15 мг/кг

32 Спосіб згідно з п 31, в якому ссавцем є людина чоловічої або жіночої статі

33 Спосіб зменшення пошкоджень тканин внаслідок ішемії, який передбачає введення ссавцеві, який потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю

а) інгібітора альдозоредуктази, та

б) інгібітора глікогенфосфорилази

34 Спосіб згідно з п 33, в якому тканинами є тканини серця, мозку, печінки, нирок, легень, кишечника, скелетних м'язів, селезінки, підшлункової залози, нервів, спинного мозку, сітківки ока, або судинної системи

35 Спосіб згідно з п 34, в якому інгібітором альдозоредуктази є 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазопіл]метил]-1-фталазиноцтова кислота або її фармацевтично прийнятна сіль

36 Спосіб згідно з п 35, в якому інгібітором глікогенфосфорилази є

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідроксипіролідин-1-іл)-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідроксипіролідин-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксидиметилкарбамоілметил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідроксиметоксиметилкарбамоіл)-метил]-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-[(2-гідроксietил)-метилкарбамоіл]-метил)-2-фенілетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(цис-3,4-дигідроксипіролідин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-((3S,4S)-дигідроксипіролідин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((цис)-дигідроксипіролідин-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(цис-3,4-дигідроксипіролідин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(1,1-діоксотіазопідин-3-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(4-фторбензил)-2-(4-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3RS)-гідроксипіперидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-оксо-2-((1RS)-оксотіазопідин-3-іл)-етил]амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

або

[(1S)-бензил-2-(3-гідрокси-азетидин-1-іл)-2-оксоетил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти

37 Спосіб згідно з п 36, в якому кількість інгібітора альдозоредуктази становить від 0,1 мг/кг до 20 мг/кг, а кількість інгібітора глікогенфосфорилази становить від 0,1 мг/кг до 15 мг/кг

38 Спосіб згідно з п 37, в якому ссавцем є людина чоловічої або жіночої статі

39 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина серця

40 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина мозку

41 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина печінки

42 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина нирок

43 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина легень

44 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина кишечника

45 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина скелетних м'язів

46 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина селезінки

47 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина підшлункової залози

48 Спосіб згідно з п 38, в якому згаданою тканиною є тканина сітківки ока

49 Спосіб згідно з п 39, в якому згадана комбінація вводиться профілактично

50 Спосіб згідно з п 38, в якому згадана комбінація вводиться перед хірургічним втручанням на серці

51 Спосіб згідно з п 33, в якому пошкодження тканин внаслідок ішемії є ішемізованим пошкодженням і трапляється під час трансплантації органів

52 Спосіб лікування ссавців із станом інсулінорезистентності, який передбачає введення згаданому ссавцеві композиції згідно з п 1

53 Спосіб зменшення пошкоджень тканин внаслідок ішемії, який передбачає введення ссавцеві, який потребує такого лікування, композиції згідно з п 1

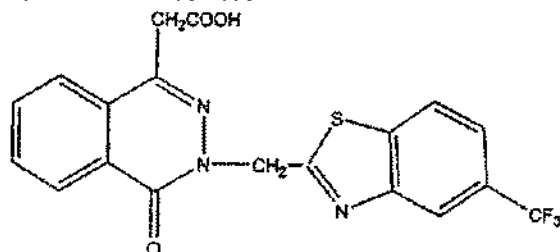
Винахід стосується фармацевтичної комбінації інгібітора альдозоредуктази та інгібітора глікогенфосфорилази, наборів, що містять такі

комбінації та використання таких комбінацій для лікування діабетів, гіперглікемії, гіперхолестеринемії, гіпертензії, гіперінсулінемії,

гіперліпідемії, атеросклерозу та тканинної ішемії у ссавців. Не зважаючи на раннє відкриття інсуліну та його наступне широко розповсюджене використання для лікування діабетів та більш пізні відкриття та використання сульфонілсечовин (наприклад, Хлорпропамід™ (Pfizer), Толбутамід™ (Upjohn), Ацетогексамід™ (Eli Lilly), Толазамід (Upjohn)), бігуанідів (наприклад, Фенформін™ (Ciba Geigy), Метформін™ (G.D. Searle)), інгібиторів альфа-глюкозидази (наприклад, Прекоз™ (Bayer)) та сенситизаторів інсуліну (наприклад, Резулін™ (Parke Davis)) як оральних гіпоглікемічних агентів, все ще є необхідність у лікуванні діабетів. Використання інсуліну, необхідне приблизно для 10% пацієнтів з діабетом, для яких синтетичні гіпоглікемічні агенти не є ефективними (діабет I типу, інсулін-залежний цукровий діабет), потребує багато денних доз, зазвичай у вигляді самостійних ін'єкцій. Визначення необхідної кількості інсуліну потребує частого визначення рівня цукру в сечі або крові. Призначення надлишкової кількості інсуліну викликає гіпоглікемію, що проявляється від незначних відхилень від нормального рівня глюкози в крові до коми, або навіть смерті. Лікування інсулін-незалежних цукрових діабетів (діабет II типу, інсулінонезалежного цукрового діабету NIDDM) зазвичай складається з комбінації дієт, вправ, оральних агентів, наприклад, сульфонілсечовин та, в більш тяжких випадках, інсуліну. Однак, клінічно придатні гіпоглікемічні засоби можуть мати інші побічні ефекти, що обмежує їх використання. У будь-якому випадку, якщо один з цих агентів не діє на конкретного хворого, інший може бути для нього придатним. Цілком зрозуміло, що існує необхідність в гіпоглікемічних агентах, які б мали незначну кількість побічних ефектів або були б ефективними, там де інші не мають дії.

Інгібітори альдозоредуктази складають клас сполук, що стали широко відомі завдяки їх використанню в попередженні та лікуванні станів, що виникають при ускладненнях діабету, таких як діабетична нейропатія та нефропатія. Такі сполуки добре відомі фахівцю та легко ідентифікуються стандартними біологічними тестами.

Наприклад, відомо, що сполука зополрестат, 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-(трифторметил)-2-бензотіазоліл]метил]-1-фталазиніонова кислота, що відома з патенту US 4 939 140 Larson та ін (розкриття якого включено тут як посилання) разом з деякою кількістю пов'язаних з ним сполук, мають корисність як інгібітори альдозоредуктази. Зополрестат має структуру



та, як інгібітор альдозоредуктази є корисним в лікуванні вищезгаданих ускладнень, що викликаються цукровим діабетом.

Певні інгібітори альдозоредуктази вивчені в зв'язку з їх використанням для зниження рівня ліпідів у ссавців.

Визнано, що атеросклероз, хвороба артерій, є основною причиною смертності в Сполучених Штатах та в західній Європі. Добре відомий і ланцюг патологій, що призводить до атеросклерозу та хвороб серця пов'язаних з оклюзією судин. Найпершою стадією в такому ланцюгу є утворення «жирових накопичень» в сонній, коронарній та в церебральній артеріях а також в аорті. Уражені місця мають жовтий колір завдяки присутності згустків ліпідів, що знаходяться в клітинах гладких м'язів та в макрофагах внутрішньої оболонки артерій та аорти. Надалі, холестерин, що знаходиться в жирових накопиченнях призводить до розвитку «фіброзних бляшок», які складаються з нагромадження клітин гладких м'язів обкладених ліпідами і оточених зовнішньоклітинними ліпідами, колагеном, еластином, та протеогліканами. Клітини разом з міжклітинною речовиною утворюють фіброзну кришку, що покриває більш глибокі відкладення залишків клітин та неклітинних ліпідів. Спочатку ліпід являє собою вільний та етерований холестерин. Фіброзна бляшка формуються повільно і з часом може затвердіти та омертвіти, що призводить до «складного ураження», яке є причиною артеріальних закупорок і розвитку тромбозів та спазмів артеріальних м'язів, які є типовою ознакою ускладненого атеросклерозу.

Епідеміологічні дані чітко свідчать, що гіперліпідемія є основним фактором розвитку серцево-судинних захворювань (ССЗ), викликаних атеросклерозом. Останнім часом провідні фахівці в медицині розглядають зниження рівня холестерину в крові, і особливо ліпопротеїнового холестерину низької щільності, як основний засіб запобігання ССЗ. Відомо, що верхня межа «нормального» на сьогоднішній день значно нижча, ніж вона оцінювалась колись. В результаті вважається, що великі групи населення західних країн опинились в стані особливого ризику. Незалежні фактори такого ризику включають непереносимість глюкози, гіпертрофію лівого шлуночка, гіпертензію та належність до чоловічої статі. Серцево-судинні захворювання особливо поширені серед діабетиків, причиною чому є, принаймні частково, наявність у таких хворих декількох факторів ризику. Тому, винятково важливим є успішне лікування гіперліпідемії у всіх пацієнтів взагалі і особливо у діабетиків.

Гіпертензія (або високий тиск крові) трапляється у людей як вторинний симптом різноманітних порушень, таких як стеноз ниркової артерії, феохромоцитома або порушення ендокринної системи. Однак, у багатьох пацієнтів спостерігається також гіпертензія, причину якої не можна пояснити якимсь порушенням. Хоча така «есенціальна» гіпертензія часто супроводжує такі порушення як ожиріння, діабет та гіпертригліцеридемія, однак зв'язок між такими порушеннями не був пояснений. Крім того, багато пацієнтів мають симптоми підвищеного тиску при повній відсутності будь-яких ознак хвороби або

порушення

Відомо, що гіпертензія може безпосередньо призвести до серцевої та ниркової недостатності та інсульту. Подібні стани можуть викликати швидкоплинну смерть. Гіпертензія може також сприяти розвитку атеросклерозу та коронарної хвороби. Подібні стани поступово ослаблюють хворого і можуть призвести через деякий час до смерті. Конкретна причина есенційної гіпертензії невідома, хоча вважається, що деякі фактори сприяють виникненню хвороби. Серед таких факторів: стреси, неконтрольовані емоції, нерегульоване вивільнення гормонів (ренін, ангіотензин, альдостеронова система) надлишок солі та води з причини неправильного функціонування нирок, потовщення стінок та гіпертрофія судинної системи, які призводять до звуження кровеносних судин та генетичні фактори.

Лікування есенційної гіпертензії проводилось з урахуванням вищезгаданих факторів. Таким чином, широкий спектр бета-блокаторів, вазоконстрикторів, інгібіторів ангіотензин конвертуючого ензиму та інших препаратів був розроблений та розповсюджений на ринку, як антигіпертензивні засоби. Лікування гіпертензії із застосуванням даних сполук виявилось ефективним для запобігання швидкоплинній смерті, наприклад від ураження серця та нирок або від крововиливу в мозок. Однак, все ще залишається невиршеною проблема розвитку атеросклерозу та захворювання серця внаслідок гіпертензії, що протікає повільно. З цього факту випливає, що хоча високий кров'яний тиск і слід зменшувати, однак основна причина есенційної гіпертензії не піддається даному лікуванню.

Гіпертензія пов'язувалась з підвищеним рівнем інсуліну в крові, станом відомим як гіперінсулінемія. Інсулін, пептидний гормон, первинна дія якого полягає в стимулюванні засвоєння глюкози, синтезу протеїну та утворення і накопичення нейтральних ліпідів, також діє як стимулятор росту судинних клітин та затримання натрію в нирках. Ці останні функції можуть здійснюватись без впливу на рівень глюкози в крові і відомі як такі, що викликають гіпертензію. Ріст периферійних судин, наприклад, може призвести до звуження периферійних капілярів, в той час як затримання натрію підвищує об'єм крові. Таким чином, зменшення рівня інсуліну при гіперінсулінемії може запобігти аномальному росту судин і затриманню натрію в нирках, викликаних високим рівнем інсуліну, і в такий спосіб полегшити гіпертензію.

Серцева гіпертрофія є значним фактором ризику, що призводить до раптової смерті, інфаркту міокарда та застійної серцевої недостатності. Такі хвороби серця є, принаймні частково, результатом підвищеної схильності до уражень міокарду після ішемії та реперфузії, які можуть статись як у амбулаторного так і у передопераційного (післяопераційного) хворого. Існує велика потреба в медичних препаратах для запобігання або мінімізації тяжких післяопераційних наслідків міокарду, особливо інфаркту міокарду. Як несерцева, так і серцева хірургія пов'язана із значним ризиком інфаркту

міокарда або смерті. Біля 7 мільйонів пацієнтів, яким робиться несерцева хірургічна операція, вважаються такими, що мають ризик, а ймовірність післяопераційної смертності та серйозних серцевих ускладнень досягає 20-25%. Крім того, серед 400,000 пацієнтів, які щорічно проходять коронарну хірургію з штучним кровообігом, інфаркт міокарду трапляється у 5% а смерть у 1-2%. На сьогоднішній день не існує терапії лікарськими препаратами, яка б зменшувала ураження серцевих волокон післяопераційною міокардальною ішемією або стимулювала б стійкість серця до приступів ішемії. Така терапія має зберігати життя і зменшувати госпіталізацію, підвищувати якість життя і зменшувати загальні витрати на лікування пацієнтів з високим ризиком. Вироблення печінкою глюкози є важливим показником терапії інсулінонезалежного цукрового діабету (NIDDM). Печінка є основним регулятором рівня глюкози в крові в пост-абсорбційному (голодному) стані, і рівень вироблення печінкою глюкози у пацієнтів з інсулінонезалежним цукровим діабетом (MIDDM) значно підвищений в порівнянні із здоровою людиною. Подібним чином, в післяобідньому (ситому) стані, коли печінка відіграє порівняно меншу роль в постачанні глюкози до всієї плазми, вироблення печінкою глюкози є надмірно високим у пацієнтів з інсулінонезалежним цукровим діабетом (NIDDM).

Глікогеноліз є важливим процесом для затримки вироблення печінкою глюкози. Печінка виробляє глюкозу шляхом глікогенолізу (розщеплення глікогену) та глікогеногенезу (синтезу глюкози з 2- та 3- вуглецевих прекурсорів). Є декілька свідчень тому, що глікогеноліз має суттєвий вплив на вироблення печінкою глюкози у пацієнтів з інсулінонезалежним цукровим діабетом (NIDDM). По-перше, у здорової людини в пост-абсорбційному стані, до 75% вироблення печінкою глюкози відбувається завдяки глікогенолізу. По-друге, пацієнти, які мають відхилення в накопиченні глікогену в печінці, включаючи хворобу Херса (Hers) (недостатність глікогенфосфорилази), проявляють епізодичну гіпоглікемію. З таких спостережень випливає, що глікогеноліз може бути важливим процесом для вироблення печінкою глюкози.

Глікогеноліз каталізується в печінці, м'язах, та в мозку специфічними ізоформами ензиму глікогенфосфорилази. Такий ензим розщеплює макромолекулу глікогену і вивільняє глюкозо-1-фосфат та нову скорочену макромолекулу глікогену. Два типи інгібіторів глікогенфосфорилази наводились в glucose and glucose analogs [Martin, J.L. et al. Biochemistry 1991, 30, 10101] та caffeine and other purine analogs [Kasvinsky, P.J. et al. J. Biol. Chem. 1978, 253, 3343-3351 and 9102-9106]. Стверджується, що дані сполуки і взагалі інгібітори глікогенфосфорилази можуть бути застосовані для лікування інсулінонезалежного цукрового діабету (NIDDM) шляхом зменшення вироблення печінкою глюкози та зниження гікемії [Blunder, T.B. et al. Diabetologia 1992, 35, Suppl. 2, 569-576 та Martin et al. Biochemistry 1991, 30, 10101].

Механізми, що відповідають за міокардальне

ураження, яке спостерігається після ішемії та реперфузії, до кінця не вивчені. Повідомлялось (M.F. Allard, et al Am J Physiol 267, H66-H74, 1994) що «передішемічне зниження глікогену пов'язане з покращенням функціональним відновленням після ішемії лівого шлуночка гіпертрофованого серця щура»

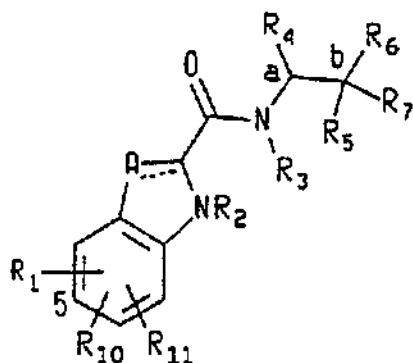
Таким чином, хоча існує багато терапій гіперглікемії, гіперхолестеринемії, гіпертензії, гіперінсулініемії, гіперліпідемії, атеросклерозу, однак постійно ведеться пошук альтернативних терапій необхідність яких не зменшується

#### ПІДСУМОК ВІНАХОДУ

Даний винахід спрямований на фармацевтичні композиції, що містять інгібітори альдозоредуктази та інгібітори глікогенфосфорилази, та на застосування таких композицій для лікування станів інсулінорезистентності, включаючи діабети у ссавців (наприклад людей чоловічої або жіночої статі) або на застосування таких композицій для зменшення пошкодження тканин (наприклад, запобігання суттєвого пошкодження тканин, стимулювання захисту тканин) внаслідок ішемії

Комбінації містять терапевтичне ефективні кількості інгібітора альдозоредуктази та інгібітора глікогенфосфорилази. Кількість інгібітора альдозоредуктази, якій віддається перевага, становить від 0.1 мг/кг до 15 мг/кг. Особлива перевага надається такому інгібітору альдозоредуктази як 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазоліл]метил]-1-фталазиноцтова кислота

Інгібітори глікогенфосфорилази, яким надається перевага, включають сполуки Формули 1



Формула 1 та її фармацевтично прийнятні солі та проліки

де  
приривчаста лінія (---) означає необов'язковий зв'язок,

A є -C(H)=, -C((C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл)= або -C(гало)= коли приривчаста лінія (---) є зв'язком, або A є метилен чи -CH((C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл)- коли приривчаста лінія (---) не є зв'язком,

R<sub>1</sub>, R<sub>10</sub> або R<sub>11</sub> є кожний незалежно H, гало, 4-, 6-, або 7-нітро, ціано, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкокси, фторметил, дифторметил або трифторметил,

R<sub>2</sub> є H,

R<sub>3</sub> є H або (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкіл,

R<sub>4</sub> є H, метил, етил, н-пропіл, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, фенілгідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)

алкокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, тієн-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл або фур-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, де R<sub>4</sub> кільця є моно-, ди-або три-заміщеними незалежно на вуглецю H, гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, гідрокси, зміно або ціано, або

R<sub>4</sub> є пірид-2-, -3- або -4-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, тіазол-2-, -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, імідазол -1-, -2-, -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, пірол-2- або -3- іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкіл, оксазол-2-, -4-або-5-т(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, піразол-3-, -4-або-5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, ізоксазол-3-, -4-або-5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, ізотіазол-3- -4-або- 5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, піридазин-3-або-4-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, примідин-2-, -4-, -5-або-6- іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, піразин-2- або-3- іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл або 1,3,5-тріазин-2-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, де згадані попередні R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно-, ди-або три-заміщеними незалежно гало, трифторметилом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, зміно або гідрокси, а згадані моно-або ди-замісники приєднані до вуглецю,

R<sub>5</sub> є H, гідрокси, фтор, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>) алканол, аміно(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкокси, моно-N- або ди-N,N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіламіно(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, карбокси(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси-карбоніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, бензилоксикарбоніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкокси, або карбонілокси, де згаданий карбонілокси є вуглець-вуглець зв'язаний з фенілом, тіазолілом, імідазолілом, 1H-індолілом, фурилом, піролілом, оксазолілом, піразолілом, ізоксазолілом, ізотіазолілом, піридазинілом, примідинілом, піразинілом або 1,3,5-тріазинілом і, де згадані попередні R<sub>5</sub> кільця необов'язково моно-заміщуються гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, гідрокси, зміно або трифторметилом, а згадані моно-замісники приєднані до вуглецю,

R<sub>7</sub> є H, фтор або (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, або

R<sub>5</sub> та R<sub>7</sub> можуть братись разом, для утворення оксо,

R<sub>6</sub> є карбокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкоксикарбоніт, C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>8</sub> або C(O) R<sub>12</sub> де

R<sub>8</sub> є H, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, гідрокси або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкокси, та

R<sub>9</sub> є H, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, гідрокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкокси, метиленперфторований(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкіл, феніл, піридил, тієніл, фурил, піроліл, піролідініл, оксазоліл, тіазоліл імідазоліл, піразоліл, піразолініл, піразолідініл, ізоксазоліл, ізотіазоліл, піраніл, піперидиніл, морфолініл, піридазиніл, примідиніл, піразиніл, піперазиніл або 1,3,5-, тріазиніл, де згадані попередні

R<sub>9</sub> кільця є C-N зв'язаними, або

R<sub>9</sub> є моно-, ди-або три-заміщеним (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкілом, де згадані замісники є незалежно H, гідрокси, зміно, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкіламіно, або

R<sub>9</sub> є моно-або ди-заміщеним (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкілом, де згадані замісники є незалежно феніл, піридил, піропіл, піропідініл, оксазоліл, тіазоліл, імідазоліл, піразоліл, піразолініл, піразолідініл, ізоксазоліл, ізотіазоліл, піраніл, піридиніл, піперидиніл, морфолініл, піридазиніл, примідиніл, піразиніл, піперазиніл або 1,3,5-, тріазиніл, де неароматичні, що містять азот R<sub>9</sub> кільця є необов'язково моно-заміщеними на азоті (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, бензілом, бензоілом, або (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкоксикарбонілом і, де R<sub>9</sub> кільця є необов'язково моно- заміщеними на вуглецю гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси,

гідрокси, аміном, або моно-N- та ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкіламіном, за умови, що вони не мають четвертинного азоту та азот-кисень, азот-азот або азот-гало зв'язків,

R<sub>12</sub> є піперазин-1-іл, 4-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілпіперазин-1-іл, 4-формілпіперазин-1-іл, морфоліно, тіоморфоліно, 1-оксотіоморфоліно, 1,1-діоксотіоморфоліно, тiazолідин-3-іл, 1-оксо-tiazолідин-3-іл, 1,1-діоксо-tiazолідин-3-іл, 2-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкоксикарбонілпіролідин-1-іл, оксазолідин-3-іл або 2(R)-гідроксиметилпіролідин-1-іл, або

R<sub>12</sub> є 3-та/або 4-моно- або ди-заміщений оксазетидин-2-іл, 2-, 4-, та/або 5-моно- або ди-заміщений оксазолідин-3-іл, 2-, 4-, та/або 5-моно- або ди-заміщений tiazолідин-3-іл, 2-, 4-, та/або 5-моно- або ди-заміщений 1-оксотiazолідин-3-іл, 2-, 4-, та/або 5-моно- або ди-заміщений 1,1-діоксотiazолідин-3-іл, 3- та/або 4-, моно- або ди-заміщений піролідин-1-іл, 3-, 4-, та/або 5-, моно-, ди-або три-заміщений піперидин-1-іл, 3-, 4-, та/або 5-моно-, ди-або три-заміщений піперазин-1-іл, 3-заміщений азетидин-1-іл, 4-та/або 5-моно- або ди-заміщений 1,2-оксазинан-2-іл, 3-та/або 4-моно- або ди-заміщений піразолідин-1-іл, 4-та/або 5-моно- або ди-заміщений ізоксазолідин-2-іл, 4-та/або 5-моно- або ди-заміщений ізотiazолідин-2-іл, де згадані R<sub>12</sub> замісники є незалежно H, гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) -алкіл, гідрокси, зміню, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкіламіно, форміл, оксо, гідроксиміно, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси, карбокси, карбоміл, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілкарбамоіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкоксиміно, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкоксиметокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкоксикарбоніл, карбокси(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкіл або гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкіл,

При умові, якщо R<sub>4</sub> є H, метил, етил або н-пропіл то R<sub>5</sub> є OH,

При умові, якщо R<sub>5</sub> та R<sub>7</sub> є H, то тоді R<sub>4</sub> не є H, метил, етил або н-пропіл, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл а R<sub>6</sub> є C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub>, C(O) R<sub>12</sub> або (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкоксикарбоніл

Перша група сполук Формули 1, який надається перевага, складається з таких сполук, де R<sub>1</sub> є 5-H, 5-гало, 5-метил або 5-ціано, R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є кожний незалежно H або гало,

A є -C(H)=,

R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> є H,

R<sub>4</sub> є феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані фенільні групи є моно-, ди-або три-заміщеними H або гало або моно-або ди-заміщеними незалежно H, гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, гідрокси, зміню або ціано, або

R<sub>4</sub> є тієн-2- або-3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, пірид-2-, -3- або -4-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, тiazол-2-, -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, імідазол -1-, -2-, -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, фур-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, пірол-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, оксазол-2-, -4-або-5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піразол-3-, -4-або-5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, ізоксазол-3-, -4-або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані попередні R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, аміно або гідрокси, а згадані моно-або ди- замісники зв'язані з вуглецем, R<sub>5</sub> є гідрокси,

R<sub>6</sub> є C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub> або C(O) R<sub>12</sub>, та

R<sub>7</sub> є H

В межах вищезгаданої першої групи сполук

Формули 1, який надається перевага, знаходиться перша група сполук, який надається особлива перевага, де зтом вуглецю з має (S) конфігурацію, зтом вуглецю b має (R) конфігурацію,

R<sub>4</sub> є феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, тієн-2-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, тієн-3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, фур-2-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл або фур-3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані кільця є моно-або ди-заміщеними незалежно H або фтором,

R<sub>6</sub> є C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub>,

R<sub>8</sub> є (CrC<sub>3</sub>)алкіл, гідрокси або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкокси, та

R<sub>9</sub> є H, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл, гідрокси, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси, піридил, морфолініл, піперазинил, піролідинил, піперидинил, імідазоліл або тiazоліл або (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл моно-зміщений піридилом, морфолінілом, піперазинилом, піролідинилом, піперидинилом, імідазолілом або тiazолілом

В межах вищезгаданої першої групи сполук, який надається особлива перевага, знаходяться сполуки, яким надається ще більша перевага

[(1S)-((R)-гідрокси-диметилкарбамоіл-метил)-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

{(1S)-[(R)-гідрокси-диметилкарбамоіл-метил)-2-феніл-етил]-амід 5,6-дихлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

(1S)-[(R)-гідрокси-[(метокси-метил-карбамоіл)]-метил]-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

{(1S)-[(R)-гідрокси-[(2-гідроксиетил)-метил-карбамоіл]-метил]-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

{(1S)-[(R)-гідрокси-(метил-піридин-2-іл-карбамоіл) метил]-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти, або

[(1S)-((R)-гідрокси-[метил-(2-піридин-2-іл-етил)-карбамоіл]- метил]-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти

В межах вищезгаданої першої групи сполук, який надається особлива перевага, знаходяться сполуки, де

a

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H,

R<sub>4</sub> є бензил,

R<sub>8</sub> є метил, та

R<sub>9</sub> є метил,

b

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>11</sub> є H,

R<sub>10</sub> є 6-хлор,

R<sub>4</sub> є бензил,

R<sub>8</sub> є метил, та

R<sub>9</sub> є метокси,

c

R<sub>10</sub> є 5-хлор,

H<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H,

R<sub>4</sub> є бензил,

R<sub>8</sub> є метил, та

R<sub>9</sub> є метокси,

d

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H,

R<sub>4</sub> є бензил,

R<sub>8</sub> є метил, та

$R_9$  є 2-(гідрокси)етил,

e

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил,

$R_8$  є метил, та

$R_9$  є піридин-2-іл, та

f

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил,

$R_8$  є метил, та

$R_9$  є 2-(піридин-2-іл)етил

В межах першої групи сполук Формули 1 знаходиться друга група сполук, яким надається особлива перевага, де атом вуглецю a має (S) конфігурацію,

атом вуглецю b має (R) конфігурацію,

$R_4$  є феніл( $C_1-C_2$ )алкіл, тієн-2-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл, тієн-3-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл, фур-2-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл або фур-3-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл, де згадані кільця є моно- або ди-заміщеними незалежно H або фтор,

$R_6$  є C(O)  $R_{12}$ , та

$R_{12}$  є морфоліно, 4-( $C_1-C_4$ )алкілпіперазин-1-іл, 3-заміщений азетидин-1-іл, 3- та/або 4-моно- або ди-заміщений піролідін-1-іл, 4-та/або 5-моно- або ди-заміщений ізоксазолідін-2-іл, 4-та/або 5-моно- або ди-заміщений 1,2-оксазінан-2-іл, де згадані замісники є кожний незалежно H, гало, гідрокси, зміно, моно -N- або ди-N, N-( $C_1-C_6$ ) алкіламіно, оксо, гідроксиіміно, або алкокси

В межах вищезгаданої другої групи сполук, яким надається особлива перевага, знаходяться сполуки, яким надається ще більша перевага

гідрохлорид [(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-(4-метил-піперазин-1-іл)-3-оксо-пропіл]-аміду 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-(3-гідрокси-азетидин-1-іл)-3-оксо-пропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-ізоксазолідін-2-іл-3-оксо-пропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-[1,2]оксазінан-2-іл-3-оксо-пропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідрокси-піролідін-1-іл)-3-оксо-пропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідрокси-піролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксо-пропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)-дигідрокси-піролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3-оксо-пропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти, або

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-морфолін-4-іл-3-оксо-пропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти

В межах вищезгаданої другої групи сполук, яким надається особлива перевага знаходяться сполуки де

a

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил,

$R_{12}$  є 4-метилпіперазин-1-іл,

b

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил, та

$R_{12}$  є 3-гідроксиазетидин-1-іл,

c

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил, та

$R_{12}$  є ізоксалідін-2-іл

d

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил, та

$R_{12}$  є (1,2)-оксазінан-2-іл

e

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил, та

$R_{12}$  є 3(S)-гідроксипіролідін-1-іл,

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил, та

$R_{12}$  є (3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл,

g

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил, та

$R_{12}$  є (3S,4S)-дигідроксипіролідін-1-іл, та

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил, та

$R_{12}$  є морфоліно

Друга група сполук Формули 1, якій надається перевага складається з тих сполук, де

$R_1$  є H, гало, метил або ціано,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є кожний незалежно H або гало,

A є -C(H)=

$R_2$  та  $R_3$  є H,

$R_4$  є феніл( $C_1-C_2$ )алкіл, де згадані фенільні групи є моно-, ди-або три-заміщеними H або гало або моно-або ди-заміщенням незалежно H, гало, ( $C_1-C_4$ ) алкілом, ( $C_1-C_4$ ) алкокси, трифторметилом, гідрокси, аміно або ціано, або

$R_4$  є тієн-2- або-3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, пірид-2-, -3- або -4-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, пiazол-2-, -4- або -5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, імідазол -1-, -2-, -4- або -5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, фур-2- або -3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, пірол-2- або -3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, оксазол-2-, -4-або-5-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл, піразол-3-, -4-або-5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, ізоксазол-3-, -4-або -5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, де згадані попередні  $R_4$  гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно гало, ( $C_1-C_4$ ) алкілом, ( $C_1-C_4$ ) алкокси, трифторметилом, аміно або гідрокси, а згадані моно-або ди- замісники зв'язані з вуглецем,

$R_5$  є гідрокси,

$R_6$  є карбокси або ( $C_1-C_4$ ) алкоксикарбоніл, та

$R_7$  є H, фтор або ( $C_1-C_6$ )алкіл

В межах другої групи сполук Формули 1, якій надається особлива перевага, знаходяться сполуки, яким надається ще більша перевага, де атом вуглецю a має (S) конфігурацію,

атом вуглецю b має (R) конфігурацію,

$R_4$  є феніл( $C_1-C_2$ )алкіл, тієн-2-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл, тієн-3-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл, фур-2-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл або

фур-3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані кільця є моно- або ди-заміщеними незалежно Н або фтор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є Н,

R<sub>6</sub> є карбокси,

R<sub>7</sub> є Н

В межах безпосередньо попередньої групи перевага віддається сполуці, де

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є Н, та

R<sub>4</sub> є бензил

Третя група сполук Формули 1, який надається перевага, складається з тих сполук, де

R<sub>1</sub> є Н, гало, метил або ціано,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є кожний незалежно Н або гало,

A є -C(H)=,

R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> є Н,

R<sub>4</sub> є феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані фенільні групи є моно-, ди-або три-заміщеними незалежно Н або гало або моно-або ди-заміщеним незалежно Н, гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, гідрокси, зміню або ціано, або R<sub>4</sub> є тієн-2- або-3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, пірид-2-, -3- або -4-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, тiazол-2-, -4- або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, імідазол -1- -2- -4- або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, фур-2- або -3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піроп-2- або -3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, оксазол-2-, -4-або-5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піразол-3-, -4-або-5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, ізоксазол-3-, -4- або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані попередні R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) лкокси, трифторметилом, зміню або гідрокси, а згадані моно-або ди- замінники зв'язані з вуглецем,

R<sub>5</sub> є фтор, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси, зміню(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкіламіно(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, карбокси(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси-карбоніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, бензілоксикарбоніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси,

R<sub>6</sub> є карбокси або(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкоксикарбоніл, та

R<sub>7</sub> є Н, фтор або (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл

Четверта група сполук Формули 1, який надається перевага, складається з тих сполук, де R<sub>1</sub> є Н, гало, метил або ціано, R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є кожний незалежно Н або гало, A є -C(H)=, R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> є Н,

R<sub>4</sub> є феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані фенільні групи є моно-, ди-або три-заміщеними незалежно Н або гало або моно-або ди-заміщеним незалежно Н, гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, гідрокси, зміню або ціано, або

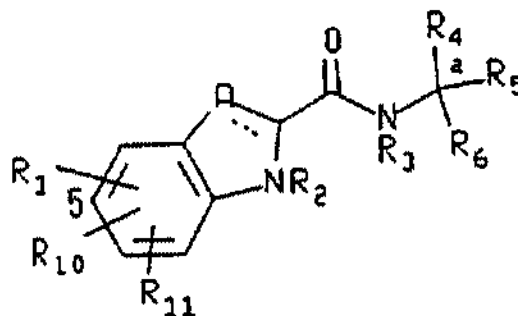
R<sub>4</sub> є тієн-2- або-3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, пірид-2-, -3- або -4-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, тiazол-2-, -4- або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, імідазол -1-, -2-, -4- або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, фур-2- або -3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піроп-2- або -3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, оксазол-2-4-або-5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, пірззол-3-, -4-або-5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, ізоксазол-3-, -4-або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані попередні R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, зміню збо гідрокси, в згадані моно-або ди- замінники зв'язані з вуглецем,

R<sub>5</sub> є фтор, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси, аміно(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілзміно(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, карбокси(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси-карбоніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, бензілоксикарбоніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси,

R<sub>6</sub> є C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub> або C(O) R<sub>12</sub>, та

R<sub>7</sub> є Н фтор або (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл

Інгібітори глікогенфосфорилази включають сполуки формули 1A



Формула 1A

та їх фармацевтично прийнятні солі та проліки, де

приривчаста лінія (---) означає необов'язковий зв'язок,

A є -C(H)=, -C((C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл)=, -C(гало)= або -N=, коли приривчаста лінія (---) є зв'язком,

або A є метилен чи -CH((C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл)-, коли приривчаста лінія (---) не є зв'язком,

R<sub>1</sub> R<sub>10</sub> або R<sub>11</sub> є кожний незалежно Н, гало, 4-, 6-, або 7-нпро, ціано, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)

алкокси, фторметил, дифторметил або трифторметил,

R<sub>2</sub> є Н,

R<sub>3</sub> є Н або (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкіл

R<sub>4</sub> є Н, метил, етил, н-пропіл, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, фенілгідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, (феніл)((C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси)(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, тієн-2- або -3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл або фур-2- або -3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, де R<sub>4</sub> кільця є моно-, ди-або три-заміщеними незалежно на вуглецю Н, гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, гідрокси, аміно, ціано або 4,5-дигідро-1Н-імідазол-2-іл, або R<sub>4</sub> є пірид-2-, -3- або -4- іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, тiazол-2-, -4- або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкіл, імідазол-2-, -4- або -5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, піроп-2- або-3-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкіл, оксазол-2-, -4-або-5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, піразол-3-, -4-або-5-іл-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, ізоксазол-3-, -4-або-5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, ізотізол-3-, -4-або-5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкіл, придазин-3-або-4- іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, піримідин-2-, -4-, -5-або-6- іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, піразин-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, 1,3,5-тріазин-2- іл(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл або індоп-2-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкіл, де згадані попередні R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно гало, трифторметилом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, зміню,гідрокси або ціано а згадані замінники приєднані до вуглецю, або R<sub>4</sub> є R<sub>15</sub> - карбонілоксиметил, де згаданий R<sub>15</sub> є феніл, тiazоліл, імідазоліл, 1Н-індопіл, фурил, піропіл, оксазоліл, піразоліл, ізоксазоліл, ізотіазоліл, приділ, придазиніл, піримідиніл, піразиніл, або 1,3,5-тріазиніл і, де згадані R<sub>15</sub> кільця є необов'язково моно-, ди-або три-заміщеними незалежно гало, зміню, гідрокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси або трифторметилом, а згадані моно- або ди-замінники зв'язані з вуглецем, R<sub>5</sub> є Н,

R<sub>6</sub> є карбокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкоксикарбоніл, бензілоксикарбоніл, C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub> або C(O) R<sub>12</sub>, де R<sub>8</sub> є Н, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл, цикло(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл, цикло(C<sub>1</sub>-

$C_8$ )алкіл( $C_1-C_5$ ) алкіл, гідрокси або ( $C_1-C_8$ )алкокси, та

$R_9$  є Н, цикло( $C_3-C_8$ )алкіл, цикло( $C_3-C_8$ )алкіл( $C_1-C_5$ ) алкіл, цикло( $C_4-C_7$ )алкєніл, цикло( $C_3-C_7$ )алкіл( $C_1-C_5$ ) алкокси, цикло( $C_3-C_7$ )алкокси, гідрокси, метилен-перфторований( $C_1-C_8$ )алкіл, фєніл або гетерокільце, де згадане гетерокільце є піридил, фурил, піроліл, піролідиніл, оксазоліл, тiazоліл, імідазоліл, піразоліл, піразолініл, піразолідиніл, ізоксазоліл, ізотіазоліл, піраніл, піридиніл, піперидиніл, морфолініл, придазиніл, примідиніл, пiazиніл, піперазиніл, 1,3,5-тріазиніл, бензотіазоліл, бензоксазоліл, бензімідазоліл, тіохроманіл або тетрагідробензотіазоліл, де згадані гетероциклічні кільця є вуглець-азот з'єднаними, або

$R_9$  є ( $C_1-C_8$ )алкіл або ( $C_1-C_8$ )алкокси, де згадані ( $C_1-C_8$ )алкіл або ( $C_1-C_8$ )алкокси необов'язково заміщаються цикло( $C_4-C_7$ )алкілен-1-ілом, фєнілом, тєнілом, піридилом, фурилом, піролілом, піролідинілом, оксазолілом, тiazолілом, імідазолілом, піразолілом, піразолінілом, піразолідинілом, ізоксазолілом, ізотіазолілом, піранілом, піридинілом, морфолінілом, тіоморфолінілом, 1-оксоморфолінілом, 1,1-діоксоморфолінілом, придазинілом, примідинілом, пiazинілом, піперазинілом, 1,3,5-тріазинілом або індолілом та, де згадані ( $C_1-C_8$ )алкіл або ( $C_1-C_8$ )алкокси є необов'язково додатково незалежно моно- або ди-заміщеними гало, гідрокси, ( $C_1-C_5$ ) алкокси, зміню, моно- $N$ - або ди- $N$ ,  $N$ -( $C_1-C_5$ ) алкіламіно, ціано, карбокси, або( $C_1-C_4$ ) алкоксикарбонілом, та, де  $R_9$  кільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно на вуглецю гало, ( $C_1-C_4$ )алкілом, ( $C_1-C_4$ ) алкокси, гідрокси, гідрокси( $C_1-C_4$ )алкілом, аміно( $C_1-C_4$ )алкілом, моно- $N$ - або ди- $N$ ,  $N$ -( $C_1-C_5$ ) алкіламіно( $C_1-C_4$ )алкілом, ( $C_1-C_4$ ) алкокси( $C_1-C_4$ )алкілом, зміню, моно- $N$ - або ди- $N$ ,  $N$ -( $C_1-C_5$ ) алкіламіно, ціано, карбокси, ( $C_1-C_5$ ) алкоксикарбонілом, карбамоілом, формілом або трифторметилом, а згадані  $R_9$  кільця додатково можуть бути необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно ( $C_1-C_5$ )алкілом або гало, при умові що вони не мають четвертинного азот на будь-якому з  $R_9$  гетерокільця,  $R_{12}$  є морфоліно, тіоморфоліно, 1-оксотіоморфоліно, 1,1-діоксотіоморфоліно, тiazолідин-3-іл, 1-оксотіазолідин-3-іл, 1,1-діоксотіазолідин-3-іл, піролідин-1-іл, піперидин-1-іл, піперазин-1-іл, піперазин-4-іл, азетидин-1-іл, 1,2-оксазинан-2-іл, піразолідин-1-іл, ізоксазолідин-2-іл, ізотіазолідин-2-іл, 1,2-оксазетидин-2-іл, оксазолідин-3-іл, 3,4-дигідроізохінолін-2-іл, 1,3-дигідроізоіндол-2-іл, 3,4-дигідро-2Н-хінол-1-іл, 2,3-дигідро-бензо[1,4]оксазін-4-іл, 2,3-дигідро-бензо[1,4]-тіазін-4-іл, 3,4-дигідро-2Н-хіноксапін-1-іл, 3,4-дигідро-бензо[с][1,2]оксазін-1-іл, 1,4-дигідро-бензо[д][1,2]оксазін-3-іл, 3,4-дигідро-бензо[е][1,2]оксазін-2-іл, 3Н-бензо[а]ізоксазол-2-іл, 3Н-бензо[с]ізоксазол-1-іл або азепан-1-іл, де згадані  $R_{12}$  кільця є необов'язково моно-, ди-або тризаміщеними незалежно гало, ( $C_1-C_5$ )алкілом, ( $C_1-C_5$ ) алкокси, гідрокси, аміно, моно- $N$ - або ди- $N$ ,  $N$ -( $C_1-C_5$ ) алкіламіно, формілом, карбокси, карбамоілом, моно- $N$ - або ди- $N$ ,  $N$ -( $C_1-C_5$ )

алкілкарбамоілом, ( $C_1-C_8$ ) алкокси( $C_1-C_3$ ) алкокси, ( $C_1-C_5$ ) алкоксикарбонілом, бензілоксикарбонілом, ( $C_1-C_5$ ) алкоксикарбоніл( $C_1-C_5$ ) алкілом, ( $C_1-C_4$ ) алкоксикарбоніламіно, карбокси( $C_1-C_5$ )алкілом, моно- $N$ - або ди- $N$ ,  $N$ -( $C_1-C_5$ ) алкілсарбамоіл( $C_1-C_5$ )алкілом, гідрокси( $C_1-C_5$ )алкілом, ( $C_1-C_4$ ) алкокси( $C_1-C_4$ )алкілом, аміно( $C_1-C_4$ )алкілом, моно- $N$ - або ди- $N$ ,  $N$ -( $C_1-C_5$ ) алкіламіно( $C_1-C_4$ )алкілом, оксо, гідроксиіміно або ( $C_1-C_8$ ) алкоксиіміно і, де вибирається не більше двох замісників з оксо, гідроксиіміно або ( $C_1-C_6$ ) алкоксиіміно, а оксо, гідроксиіміно або ( $C_1-C_6$ ) алкоксиіміно розташовані на неароматичному вуглеці, та, де згадані  $R_{12}$  кільця є необов'язково додатково моно- або ди-заміщеними незалежно ( $C_1-C_5$ )алкілом або гало, при умові, що коли  $R_6$  є ( $C_1-C_5$ ) алкоксикарбоніл або бензілоксикарбоніл, то  $R_1$  є 5-гало, 5-( $C_1-C_4$ )алкіл або 5-ціано, а  $R_4$  є (фєніл)(гідрокси) ( $C_1-C_4$ )алкіл, (фєніл)(( $C_1-C_4$ ) алкокси) ( $C_1-C_4$ )алкіл, гідроксиметил або  $Ag$ ( $C_1-C_2$ )алкіл, гідроксиметил або  $Ag$ ( $C_1-C_2$ )алкіл, де  $Ag$  є тієн-2- або -3-іл, фур-2- або -3-іл або фєніл, де згаданий  $Ag$  є необов'язково моно- або ди-заміщений незалежно гало, при умові, що коли  $R_4$  є бензил а  $R_5$  є метил, то  $R_{12}$  не є 4-гідроксипіперидин-1-іл або коли  $R_4$  є бензил а  $R_5$  є метил, то  $R_6$  не є  $C(O)N(CH_3)_2$ ,

при умові, що  $R_1$  і  $R_{10}$  і  $R_{11}$  є Н,  $R_4$  не є імідазол-4-ілметил, 2-фєнілетил або 2-гідрокси-2-фєнілетил,

при умові, що обидва  $R_8$  і  $R_9$  є  $n$ -пєнтил,  $R_1$  є 5-хлор, 5-бромо, 5-ціано, 5( $C_1-C_5$ )алкіл, 5( $C_1-C_5$ ) алкокси або трифторметил,

при умові, що  $R_{12}$  є 3,4-дигідроізохінол-2-іл, згаданий 3,4-дигідроізохінол-2-іл не є заміщений карбокси (( $C_1-C_4$ )алкілом,

при умові, що  $R_8$  є Н, а  $R_9$  є ( $C_1-C_8$ )алкіл,  $R_9$  не є заміщений карбокси або ( $C_1-C_4$ ) алкоксикарбонілом на вуглецю, які приєднується до атому азоту  $NHR_9$ , та

при умові, що коли  $R_6$  є карбокси, а  $R_1$   $R_{10}$   $R_{11}$  та  $R_5$  є Н, то  $R_4$  не є бензил, Н, (фєніл)(гідрокси)метил, метил, етил або  $n$ -пропіл

Перша група сполук Формули 1А складається з тих сполук, де

$R_1$  є 5-Н, 5-гало, 5-метил, 5-ціано або 5-трифторметил,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є кожний незалежно Н або гало,

$A$  є  $-C(H)=$ ,

$R_2$  та  $R_3$  є Н,

$R_4$  є Н, метил, фєніл( $C_1-C_2$ )алкіл, де згадані фєнільні групи є моно- або ди-заміщеними

незалежно Н, гало або моно-або ди-заміщеними незалежно Н, гало, ( $C_1-C_4$ ) алкілом, ( $C_1-C_4$ ) алкокси, трифторметилом, гідрокси, зміню або ціано, або

$R_4$  є тієн-2- або-3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, пірид-2-, -3- або -4-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, тiazол-2-, -4- або -5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, імідазол -1-, -2-, -4- або -5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, фур-2- або -3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, пірол-2- або -3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, оксазол-2- 4-або-5-іл-( $C_1-C_2$ )алкіл, піразол-3-, -4-або-5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, ізоксазол-3-, -4-або 5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, ізотіазол-3-, -4-або -5-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, придазин-3-або-4-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, примідин-2-, -4-, -5- або-6-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, пiazин-2-або-3-іл( $C_1-C_2$ ) алкіл, або 1 3 5-тріазин-2-іл( $C_1-$

C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані попередні R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно гапо, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси, трифторметилом, зміно або гідрокси, а згадані моно-або ди- замісники зв'язані з вуглицем, R<sub>5</sub> є H, та

R<sub>6</sub> є C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub> або C(O) R<sub>12</sub>

В межах вищезгаданої першої групи сполук Формули ІА, яким надається перевага, знаходиться перша група сполук, який надається особлива перевага, де R<sub>4</sub> є H, феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, тієн-2- або-3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, фур-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно H або фтор R<sub>8</sub> є C(O) R<sub>12</sub>, та

R<sub>12</sub> є морфоліно, тіоморфоліно, 1-оксотіоморфоліно, 1,1-діоксотіоморфоліно, тіазолідин-3-іл, 1-оксотіазолідин-3-іл, 1,1-діоксотіазолідин-3-іл, піролідин-1-іл, піперидин-1-іл, піперазин-1-іл, піперазин-4-іл, азетидин-1-іл, 1,2-оксазинан-2-іл, піразолідин-1-іл, ізоксазолідин-2-іл, ізотіазолідин-2-іл, 1,2-оксазетидин-2-іл, оксазолідин-3-іл, 1,3-дигідроізондоп-2-іл, або азепан-1-іл, де згадані R<sub>12</sub> кільця є необов'язково моно-, або ди-заміщеними незалежно гапо, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси, гідрокси, аміно, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкіламіно, формілом, карбокси, карбомілом, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкілкарбамілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкоксикарбонілом, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкілом, аміно(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкіламіно(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, оксо, гідроксиіміно або (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкоксиіміно, при умові, що тільки R<sub>12</sub> гетерокільця тіазолідин-3-іл, піролідин-1-іл, піперидин-1-іл, піперазин-1-іл, піперазин-4-іл, азетидин-1-іл, 1,2-оксазинан-2-іл, ізоксазолідин-2-іл, або оксазолідин-3-іл є моно- або ди-заміщеними оксо, гідроксиаміно або (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкоксиіміно, та, де R<sub>12</sub> кільця є необов'язково додатково моно-, або ди-заміщеними незалежно(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкілом

В межах вищезгаданої групи сполук, яким надається особлива перевага, знаходяться сполуки

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксиімінопіролідин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[2-(цис-3,4-дигідрокси-піролідин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[2-((3S,4S) дигідрокси-піролідин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(цис-3,4-дигідрокси-піролідин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[2-(1,1- діоксо-тіазолідин-3-іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

(2-оксо-2- тіазолідин-3-іл-етил)-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(4-фтор-бензил)-2-(4-гідрокси-піперидин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3RS)- гідрокси-піперидин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти

[2-оксо-2-((1RS)-оксо-1 -тіазолідин-3-іл)-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(2-фтор-бензил)-2-(4-гідрокси-піперидин-

1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3S,4S) дигідрокси-піролідин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(3-гідрокси-азетидин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксиіміно-азетидин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(4-гідроксиіміно-піперидин-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індоп-2-карбонової кислоти

В межах вищезгаданої групи сполук, яким надається особлива перевага знаходиться перша група сполук, яким надається ще більша перевага, де R<sub>4</sub> є моно- або ди-заміщений піролідин-1-іл, де згадані замісники є незалежно карбокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкоксикарбоніл, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси, гідрокси, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, зміно, аміно(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкіламіно(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкіламіно, та

R<sub>12</sub> кільця є необов'язково додатково незалежно заміщеними (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкілом

3 попередньої групи сполук, яким надається особлива перевага, ще більша перевага

надається сполукам, де

a

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H, та

R<sub>12</sub> є цис-3,4-дигідрокси-піролідин-1-іл,

b

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H, та

R<sub>12</sub> є (3S, 4S)-дигідрокси-піролідин-1-іл,

c

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H, та

R<sub>12</sub> є 1,1-діоксо-тіазолідин-3-іл, d

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H, та

R<sub>12</sub> є тіазолідин-3-іл, та

e

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H, та

R<sub>12</sub> є 1-оксо-тіазолідин-3-іл,

В межах вищезгаданої групи сполук, яким надається особлива перевага знаходиться друга група сполук, яким надається ще більша перевага, де

R<sub>4</sub> є фенілметил, тієн-2- або-3-ілметил, де згадані R<sub>4</sub> кільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними фтором, та

R<sub>12</sub> є тіазолідин-3-іл, 1-оксо-тіазолідин-3-іл, 1,1-діоксо-тіазолідин-3-іл або оксазолідин-3-іл або згадані R<sub>12</sub> замісники необов'язково заміщуються карбокси або (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкоксикарбонілом, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілом, аміно(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілом, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкіламіно(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілом, або R<sub>12</sub> є моно- або ди-заміщений азетидин-1-іл або моно- або ди-заміщений піролідин-1-іл або моно- або ди-заміщений піперидин-1-іл, де згадані замісники є незалежно карбокси (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкоксикарбоніл, гідрокси(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкілом, аміно(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)

алкіламіно( $C_1-C_3$ )алкіл, гідрокси, ( $C_1-C_5$ ) алкокси, зміню, моно -N- або ди-N, N-( $C_1-C_5$ ) алкіламіно, оксо, гідроксиіміно або ( $C_1-C_5$ ) алкоксиіміно,

$R_{12}$  кільця є необов'язково додатково моно- або ди-заміщеними незалежно ( $C_1-C_3$ )алкілом. В межах попередньої групи сполук перевага надається сполукам, де

a

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,  $R_4$  є 4-фторбензил,

$R_{12}$  є 4-гідроксипіперидин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

b

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,  $R_4$  є 4-бензил,

$R_{12}$  є 3-гідроксипіперидин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

c

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є 4-бензил,

$R_{12}$  є цис-3,4-гідрокси-піролідин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

d

$R_1$  5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_{12}$  є 3-гідроксиіміно-піролідин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

e

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є 2-фторбензил,

$R_{12}$  є 4-гідроксипіперидин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

f

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил,

$R_{12}$  є (3S, 4S)-дигідрокси-піролідин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

g

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,  $R_4$  є бензил,

$R_{12}$  є 3-гідрокси-азетидин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

h

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил,

$R_{12}$  є 3-гідроксиіміно-азетидин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є бензил,

$R_{12}$  є 3-гідроксиіміно-піперидин-1-іл, та конфігурація вуглеця (a) є (S),

Друга група сполук, яким надається особлива перевага в межах першої групи сполук, яким надається перевага, включає сполуки, де

$R_4$  є H, феніл( $C_1-C_2$ )алкіл, тієн-2- або-3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, фур-2- або -3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, де  $R_4$  гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно H або фтор  $R_6$  є C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub>, та

$R_8$  є ( $C_1-C_5$ )алкіл, гідрокси або ( $C_1-C_4$ ) алкокси, та

$R_9$  є H, цикло( $C_4-C_6$ )алкіл, цикло( $C_3-C_6$ )алкіл( $C_1-C_5$ )алкіл, метилен-перфторований( $C_1-C_5$ )алкіл, піридил, піролідиніл, оксазоліл, тiazоліл, імідазоліл, піперидиніл, бензотіазоліл або тіохроманіл, або

$R_9$  є ( $C_1-C_5$ )алкіл, де згаданий ( $C_1-C_5$ )алкіл необов'язково заміщається цикло( $C_4-C_6$ )алкенілом, фенілом, тієнілом, піридилом, піролідином, оксазолілом, тiazолілом, імідазолілом, піразолілом, піперидинілом, морфолінілом, тіоморфолінілом, 1-оксоморфолінілом або 1,1-діоксотіоморфолінілом, де згаданий ( $C_1-C_5$ )алкіл або ( $C_1-C_4$ )алкокси є необов'язково додатково незалежно моно- або ди-заміщеними гапо, гідрокси, ( $C_1-C_5$ )алкокси, зміню, моно -N- або ди-N, N-( $C_1-C_5$ ) алкіламіно ціано, карбокси або ( $C_1-C_4$ ) алкоксикарбонілом, та, де згадані  $R_9$  кільця є необов'язково моно-, або ди-заміщеними незалежно на вуглецю гапо, ( $C_1-C_5$ )алкіл, ( $C_1-C_5$ ) алкокси, гідрокси, аміно, моно -N- або ди-N, N-( $C_1-C_5$ ) алкіламіно, карбамоіл, ( $C_1-C_5$ ) алкоксикарбоніл

В межах попередньої другої групи сполук, яким надається особлива перевага знаходяться сполуки де

a

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є 4-бензил,

$R_8$  є метил, та

$R_9$  є -(диметиламіно) пропіл,

b

конфігурація вуглеця (a) є (S),

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є 4-бензил,  $R_8$  є метил, та

$R_9$  є 3-піридил,

c

конфігурація вуглеця (a) є (S),

$R_1$  є 5-хлор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,  $R_4$  є 4-бензил,

$R_8$  є метил, та

$R_9$  є 2-гідроксиетил,

d

конфігурація вуглеця (a) є (S),

$R_1$  є 5-фтор,

$R_{10}$  та  $R_{11}$  є H,

$R_4$  є 4-фторфенілметил,

$R_8$  є метил, та

$R_9$  є 2-морфоліноетил

Третя група сполук, яким надається особлива перевага в межах першої групи сполук, яким надається перевага, включає сполуки, де

$R_4$  є H, феніл( $C_1-C_2$ )алкіл, тієн-2- або-3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, фур-2- або -3-іл( $C_1-C_2$ )алкіл, де  $R_4$  гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно H або фтор

$R_6$  є C(O)NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub>, та

$R_8$  є ( $C_1-C_5$ )алкіл, гідрокси або ( $C_1-C_4$ ) алкокси, та

$R_9$  є ( $C_1-C_4$ ) алкокси, де згаданий ( $C_1-C_4$ ) алкокси необов'язково заміщається цикло( $C_4-C_6$ )алкенілом, фенілом, тієнілом, піридилом, піролідином, оксазолілом, тiazолілом, імідазолілом, піразолілом, піперидинілом, морфолінілом, тіоморфолінілом, 1-

оксоморфолінілом або 1,1-діоксотіоморфолінілом, де згаданий (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкіл або (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкокси є необов'язково додатково незалежно моно- або ди-заміщеними гало, гідрокси, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкокси, зміно, моно -N- або ди-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкіламіно ціано, карбокси або (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкоксикарбонілом, та, де згадані R<sub>9</sub> кільця є необов'язково моно-, або ди-заміщеними незалежно на вуглецю гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкокси, гідрокси, аміо, моно -N- або ди-N, N-(d-C<sub>5</sub>) алкіламіно, карбамоіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) алкоксикарбоніл

В межах попередньої третьої групи сполук, яким надається особлива перевага знаходяться сполуки, де

a

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H,

R<sub>4</sub> є 4-бензил,

R<sub>8</sub> є метил, та

R<sub>9</sub> є 2-гідроксиетокси,

b

конфігурація вуглеця (a) є (S),

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H

R<sub>4</sub> є 4-фторфенілметил,

R<sub>8</sub> є метил, та

R<sub>9</sub> є метокси,

c

конфігурація вуглеця (a) є (S),

R<sub>1</sub> є 5-хлор,

R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є H R<sub>4</sub> є 4-бензил,

R<sub>8</sub> є метил, та R<sub>9</sub> є метокси

Другою групою сполук Формули IA, яким надається перевага, є сполуки, де R<sub>1</sub> є 5-гало, 5-метил, 5-ціано або трифторметил, R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є кожний незалежно H або гало, A є -C(H)=, R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> є H,

R<sub>4</sub> є H, феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, тієн-2- або-3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, фур-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані кільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно H або фтор R<sub>5</sub> є H, та

R<sub>6</sub> є (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)алкоксикарбоніл

Третьою групою сполук Формули IA, яким надається перевага, є сполуки, де R<sub>1</sub> є 5-гало, 5-метил, 5-ціано або трифторметил, R<sub>10</sub> та R<sub>11</sub> є кожний незалежно H або гало, A є -C(H)=, R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> є H,

R<sub>4</sub> є H, метил або феніл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані фенільні групи є моно- або ди-заміщеними незалежно H, гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкокси, трифторметил ом, гідрокси, аміно або ціано і, де згадані фенільні групи є додатково моно- або ди-заміщеними незалежно H або гало, або

R<sub>4</sub> є тієн-2- або-3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, пірид-2-, -3- або -4-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піазол-2-, -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, імідазол -1-, -2- -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, фур-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, пірол-2- або -3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, оксазол-2-, -4- або-5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піразол-3-, -4- або-5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, ізоксазол-3-, -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, ізіпазол-3-, -4- або -5-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піридазин-3- або-4-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, примідин-2-, -4-, -5- або-6-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, піразин-2- або-3-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>) алкіл, або 1,3,5-тріазин-2-іл(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)алкіл, де згадані попередні R<sub>4</sub> гетерокільця є необов'язково моно- або ди-заміщеними незалежно гало, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкілом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) алкокси,

трифторметилом, зміно або гідрокси, а згадані моно- або ди- замісники зв'язані з вуглецем,

R<sub>5</sub> є H, та

R<sub>6</sub> є карбокси

В межах попередньої групи сполук, яким надається особлива перевага, знаходиться сполука, якій надається ще більша перевага, де R<sub>1</sub> є 5-хлор

Іншим аспектом даного винаходу є спосіб лікування ссавців з ознаками інсулінорезистентності, що передбачає введення ссавцеві, який проявляє інсулінорезистентність, терапевтичне ефективною кількістю

a першої сполуки, причому згадана сполука є інгібитором альдозоредуктази, та

b другої сполуки, причому друга сполука є інгібитором глікогенфосфорилази

Стани інсулінорезистентності, яким надається перевага, взяті окремо або групою, включають діабети, гіперінсулінемію, порушену толерантність до глюкози, гіперглікемію та/або гіперліпідемію після введення їжі, діабети II типу, змінену конституцію, зменшення маси м'язів, ожиріння (особливо ожиріння внутрішніх органів), гіпертензія, дисліпідемія (напр підвищений рівень вільної жирної кислоти, тригліцеридів, ЛННЩ(ліпопротеїнів наднизької щільності), ЛНЩ(ліпопротеїнів низької щільності), та знижений рівень ЛВЩ (ліпопротеїнів високої щільності), атеросклероз, ішемія тканин та серцево-судинні захворювання, ожиріння, синдром X («метаболический синдром»), вагітність, стани інфікованості, уремії, гіперандрогенізм, гіперкортизолемія, або інші стани надлишку адренокортикального гормону, акромегалія, надлишок гормону росту або полікістозне захворювання яєчника

Стани інсулінорезистентності, яким надається особлива перевага, взяті окремо або групою, включають дисліпідемію, ішемію тканин, ожиріння, полікістозне захворювання яєчника, синдром X та гіпертензію. Зокрема, ще більша перевага надається діабетам

Інгібитором альдозоредуктази, якому надається перевага, є 3,4 - дигідро-3-[[5-трифторметил]-2-бензотіазопіл]метил]-1-фталазіноцтова кислота або її фармацевтичне прийнятні солі

Перевага надається таким інгібіторам глікогенфосфорилази як

[(1S)-бензил-(2R)-гідрокси-3-((3S)-гідроксипіролідін-1 -іл)-3-оксопропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((3S,4S)- дигідроксипіролідін-1-іл)-(2R)-гідрокси-3- оксопропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-диметилкарбамоіл-метил)-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-метокси-метил-карбамоіл)-метил]-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-((R)-гідрокси-[(2-гідрокси-етил)-метил-карбамоіл]-метил)-2-феніл-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(3-гідроксиіміно-піролідін-1 -іл)-

2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(цис-3,4-дигідрокси-піролідін-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-3-((цис)-дигідрокси-піролідін-1 -іл)-(2R)-гідрокси-3- оксопропіл]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-((3S,4S)- дигідрокси-піролідін-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-(цис -3,4-дигідрокси-піролідін-1-іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-(1,1 -діоксо-тіазолідін-3-іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-(4-фтор-бензил)-2-(4-гідрокси-піперидін-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[(1S)-бензил-2-((3RS)- гідрокси-піперидін-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

[2-оксо-2-((1RS)-оксо-тіазолідін-3-іл)-етил]амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти, або

[(1S)-бензил-2-(3-гідрокси-азетидін-1 -іл)-2-оксо-етил]-амід 5-хлор-1 Н-індол-2-карбонової кислоти,

Ссацем, якому надається особлива перевага, є людина чоловічої або жіночої статі Інший аспект даного способу, якому надається перевага, передбачає майже одночасне введення першої і другої сполук

Іншим аспектом даного винаходу є синергчна фармацевтична композиція для досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну ссавців, яка містить

а кількість першої сполуки, причому згадана перша сполука є інгібітором альдозоредуктази, та

б кількість другої сполуки, причому згадана друга сполука є інгібітором глікогенфосфорилази, де кількість першої сполуки окремо та кількість другої сполуки окремо є недостатньою для досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну, якщо вони призначаються окремо і, де комбінований ефект кількостей першої і другої сполук є більшим за суму ефектів підвищення сприйнятливості, які досягаються при вживанні окремих доз першої і другої сполуки, та фармацевтичне прийнятного розбавника або носія

Іншим аспектом даного винаходу є комплект, що складається з

а терапевтичне ефективної кількості інгібітора альдозоредуктази та фармацевтичне прийнятного носія в першій одиничній дозованій формі,

б терапевтичне ефективної кількості інгібітора глікогенфосфорилази та фармацевтичне прийнятного носія в другій одиничній формі дозування,

с контейнер для розміщення згаданих першої і другої дозованих форм

Ще один аспект даного винаходу є синергчний спосіб досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну у ссавців, з ознаками інсулінорезистентності, який передбачає введення ссавцям

а кількості першої сполуки, причому згадана перша сполука є інгібітором альдозоредуктази, та

б кількості другої сполуки, причому згадана

друга сполука є інгібітором глікогенфосфорилази, де кількість першої сполуки окремо та кількість другої сполуки окремо недостатні для досягнення ефекту сенсibilізації до інсуліну, якщо вони вводяться окремо і, де комбінований ефект кількостей першої і другої сполуки більший за суму ефектів підвищення сприйнятливості, які досягаються при вживанні окремих доз першої і другої сполуки

Ще один аспект даного винаходу спрямований на спосіб зменшення пошкоджень тканин викликаних, або які могли бути викликані ішемією, що передбачає введення ссавцеві, який потребує такого лікування, терапевтичне ефективної кількості

а інгібітора альдозоредуктази, та

б інгібітора глікогенфосфорилази

ішемізовані тканини, яким надається перевага, взяті окремо або групою, включають ішемізовані тканини серця, мозку, печінки, нирок, легень, кишки скелетних м'язів, селезінки, підшлункової залози, нервів, спинного мозку, сітківки ока, або судинної системи

Особлива перевага надається таким ішемізованим тканинам як тканини серця

Бажано, щоб комбінація даного винаходу вживалась профілактично

Ішемічні пошкодження, що лікуються у відповідності з даним винаходом, можуть статись під час трансплантації органів

Бажано, щоб комбінація даного винаходу вживалась перед хірургічним втручанням на серці

Термін інсулінорезистентні стани стосується станів (синдром або стан інсулінорезистентності) при яких сприйнятливість або швидка реакція на інсулін в тканинах органів, або клітинах тіла ссавця є зменшеною в порівнянні з нормальним (сприйнятливим до інсуліну) станом Така стійкість призводить до ряду аномалій метаболізму глюкози, протеїнів і ліпідів, незбалансованості електролітів і, росту, наприклад, органів, тканин та клітин, які можуть проявлятися наступними станами гіперінсулінемією, зменшеною толерантністю до глюкози, гіперглікемією та/або гіперліпидемією після введення їжі, діабетом II типу, зміненою конституцією, зменшеною масою м'язів, ожирінням(особливо абдоминально-висцеральне ожиріння), гіпертензією, дисліпидемією(наприклад, збільшеним рівнем вільної жирної кислоти, тригліцеридів, ЛННЩ(ліпопротеїни наднизької щільності) і ЛНЩ (ліпопротеїни низької щільності) та зниженим рівнем ЛВЩ (ліпопротеїни високої щільності), атеросклерозом, ішемією тканин, серцево-судинними захворюваннями (Korpevan and Albon, 1997, DeFronzo and Ferrannini, 1991, Reaven, 1991, Malmstrom, et al, 1997) Як результат інсулінорезистентності, виникає необхідність більшої кількості інсуліну для наближення або досягнення такої ж біологічної дії інсуліну в органах, тканинах та клітинах як і в нормальному стані, що в свою чергу вимагає підвищеної секреції інсуліну підшлунковою залозою (погіршена інсулінемія), і в більш екстремальних випадках, панкреатична недостатність та нестача інсуліну призводять до діабету I типу Стани

тійкості до інсуліну можуть, наприклад, включати ожиріння, синдром Х (інша назва «метаболічний синдром»), вагтність, стани інфікованості, уремії, гіперандрогенізм, гіперкортизолемія, або інші стани надлишку адренокортикального гормону, акромегалія, надлишок гормону росту або полікістозне захворювання яєчника, або можуть бути пов'язаними з похилим віком або етнічними групами (Korpevan and Albion, 1997)

Термін ефект сенсibiliзації до інсуліну відноситься до стану, коли тканини хворого пацієнта стимулюють до нормального або навіть кращого біологічного реагування на певну кількість інсуліну

Термін «зменшення» включає часткове запобігання або запобігання яє, хоча і більше за те, що відбувається при невживанні ніяких ліків або вживанні плацебо, але всеж таки менше за 100% абсолютного повного запобігання

Термін «пошкодження внаслідок [ ] ішемії» так як він вводиться в даній роботі, відноситься до станів, безпосередньо пов'язаних із зменшенням постачанням крові до тканин, наприклад спричиненим закупоркою кровноносних судин, які постачають кров до тканин, що призводить до зменшення притоку кисня до тканин, порушення діяльності тканин, припинення діяльності тканин і некрозу В іншому випадку, коли потік крові або перфузія є кількісно адекватною, здатність крові переносити кисень або способи перфузії органу можуть зменшитись, наприклад в гіпоксичному середовищі, коли постачання кисню зменшується, порушується, а потім припиняється діяльність тканин і настає некроз Термін інгібітор альдозоредуктази відноситься до сполук, які стримують біотрансформацію глюкози в сорбітол, яка каталізується ензимом альдозоредуктазою Термін інгібітор глікогенфосфорилази відноситься до будь-якої речовини чи реагенту, або будь-яких комбінацій речовини та/або реагентів, які зменшують, гальмують або зовсім припиняють ензимну дію глікогенфосфорилази На сьогоднішній день відома така ензимна дія глікогенфосфорилази як розщеплення глікогену шляхом каталізу зворотної реакції макромолекули глікогену та неорганічного фосфату з утворенням глюкозо-1-фосфату та макромолекули глікогену, яка на один залишок глікозиду коротша за початкову макромолекулу глікогену (спрямований вперед глікогеноліз) Термін «лікування» або лікувати, так як він вводиться в даній роботі охоплює превентивне (напр профілактичне) та паліативне лікування

Під «фармацевтичне прийнятний» мається на увазі те, що носії, розбавники, наповнювачі та/або солі мають бути сумісними з іншими інгредієнтами формули та нешкідливими для пацієнта

Термін «проліки» означає сполуки, для яких передусє дії ліків і які після прийому вивільняють ліки in vivo шляхом хімічних або фізіологічних процесів(наприклад, проліки, після попадання у фізіологічний рН або при взаємодії з ензимом перетворюються в необхідну лікувальну форму) Показові сполуки після розщеплення вивільняють відповідну вільну кислоту

Під алкленом розуміють насичений

вуглеводень(прямий ланцюг або розгалужений), де атом водню видалений з кожного з кінцевих вуглеців Прикладами таких груп(їх кількість охоплює тільки окремий приклад) є метилен, етилен, пропілен, бутилен, пентилен, гексилен та гептилен

Під гало розуміють хлор, бром, йод або фтор

Під алкілом розуміють насичений вуглеводень прямого ланцюга або насичений вуглеводень розгалуженого ланцюга Прикладами таких груп(їх кількість охоплює тільки окремий приклад) є метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутил, сек-бутил, третинний бутил, пентил, ізопентил, неопентил, третинний пентил, 1-метилбутил, 2-метилбутил, 4-метилбутил, гексил, ізогексил, гептил та октил

Під алкокси розуміється насичений алкіл прямого ланцюга або насичений алкіл розгалуженого ланцюга, зв'язаний через окси Прикладами таких алкокси груп(їх кількість охоплює тільки окремий приклад) є метокси, етокси, пропокси, ізопропокси, бутокси, ізобутокси, третинний бутокси, пентокси, ізопентокси, неопентокси, третинний пентокси, гексокси, ізогексокси, гептокси та октокси

Так як він вводиться в даній роботі, термін моно-N- або ди-N,N-(C<sub>1</sub>-C<sub>x</sub>) алкіл відноситься до-(C<sub>1</sub>-C<sub>x</sub>) алкілової частки взятої незалежно якщо це ди-N,N-(C<sub>1</sub>-C<sub>x</sub>) алкіл (X відноситься до цілих чисел)

Слід розуміти що, коли карбоциклічна або гетероциклічна частка може бути приєднана до субстрату через атоми, що різняться, і точне місце приєднання не вказане, то тоді маються на увазі всі можливі місця- буде це атом вуглецю, або наприклад, тривалентний атом азоту Наприклад, термін «піридил» означає 2-,3-, або 4-піридил, термін «тієніл» означає 2-, або 3-тієніл, і т д

Вираз «фармацевтичне прийнятна сіль» означає нетоксичну аніонну сіль, що містить такі аніони як хлорид, бромід, йодид, сульфат, бісульфат, фосфат, ацетат, малеат, фумарат, оксалат, лактат, тартрат, цитрат, глюконат, метансульфонат та 4-толуол-сульфонат

Вираз також означає нетоксичну катіонову сіль, таку як натрій, калій, кальцій, магній, амоній або протонований бензатин (N'-добензилетилендіамін), холін, етаноламін, діетаноламін, етилендіамін, мегламін(N-метил-глюкамін), бенетамін(N-бензилфенетиламін), піперазин або трометамін (2-аміно-2-гідроксиметил-1,3-пропандіол)

Вираз «реакційний інертний розчинник» та «інертний розчинник» відноситься до розчинника, який не взаємодіє з початковими матеріалами, реагентами, проміжними сполуками та продуктами та, що призводить до зворотної дії на вихід кінцевого продукту

Плюс або мінус в дужках обозначають напрямок площини в якому поляризоване світло відхиляється тим чи іншим стереоізомером

Будь-який хімік зрозуміє, що деякі сполуки даного винаходу можуть мати один або два атоми в певній стереохімічній або геометричній конфігурації, даючи початок таким стереоізомерам як енантіомери та діастереомери, та конфігураційні ізомери такі як цис- і транс- олефіни

та цис- і транс- моделі заміщення на насичених аlicиклических кільцях. Всі подібні ізомери та їх суміші включаються в даний винахід.

ДТТ означає дітіотреїтол. ДМСО означає диметил сульфоксид. ЕДТА — етилендіамін тетраоцтова кислота.

Інші особливості та переваги будуть розкриті в наступних розділах.

Детальний опис винаходу

В основному сполуки даного винаходу можна одержати застосовуючи добре відомі в хімії способи, особливо якщо прийняти до уваги пояснення, наведені в даній роботі. Деякі способи виготовлення сполук є подальшим викладом винаходу і ілюструються схемами реакцій. Інші способи можуть описуватись в експериментальному розділі. Будь-який інгібітор альдозоредуктази може застосовуватись як сполука даного винаходу. Термін інгібітор альдозоредуктази відноситься до сполук, які стримують біотрансформацію глюкози в сорбітол, яка каталізується альдозоредуктазою. Таке стримування легко визначається фахівцями на основі стандартних TecTiB(J. Malone, Diabetes, 29 861-864, 1980 «Red Cell Sorbitol, and Indicator of Diabetic Control»). Нижче наводяться численні інгібітори альдозоредуктази, хоча кваліфіковані фахівці зможуть додати до них ще й інші. Описання патентів США, перелічених нижче, подається для довідки. Загально вживані в хімії USAN назви та інші визначення, а також посилання на відповідні патенти, що описують сполуки, наводяться в дужках. Дію інгібітора альдозоредуктази в тканинах можна оцінити шляхом визначення кількості інгібітора, необхідної для зниження сорбітолу в танинах (тобто, шляхом стримування подальшого вироблення сорбітолу, що є результатом блокування альдозоредуктази), або зниження рівня фруктози в тканинах (шляхом стримування вироблення сорбітолу, що є результатом блокування альдозоредуктази, а відтак і вироблення фруктози). Не заглиблюючись в якусь окрему теорію або механізм, можна сказати, що інгібітор альдозоредуктази запобігає або зменшує ішемічні пошкодження, як це описано нижче. Відповідно, прикладами інгібіторів альдозоредуктази, що застосовуються в сполуках і методах даного винаходу можуть бути:

1 3-(4-бромо-2-фторбензил)-3,4-дигідро-4-оксо-1-фталазиноцтова кислота (ponalrestat, US 4,251,528)

2 M[(5-трифторметил)-6-метокси-1-нафталеніл]ізоксометил]-M-метилглутин (olerezal, US 4,600,724),

3 5-[(2,E)-p-метилціннамліден]-4-оксо-2-тіоксо-3-тіазолідиноцтова кислота (epalrestat, US 4,464,382, 054,791,126, US 4,831,045),

4 3-(4-бромо-2-фторбензил)-7-хлор-3,4-дигідро-2,3-діоксо-1 (2H)-хіназоліноцтова кислота (zenarestat, US 4,734,419, and 4, 883,800),

5 2R, 4R-6,7-дихлор-4-гідрокси-2-метилхроман-4-оцтова кислота (US 4,883,410),

6 2R, 4B-6,7-дихлор-6-фтор-4-гідрокси-2-метилхроман-4-оцтова кислота (US 4,883,410),

7 3,4-дигідро-2,8-діізопропіл-3-оксо-2H-1,4-бензоксазин-4-оцтова кислота (US 4,771,050),

8 3,4-дигідро-3-оксо-4-[(4,5,7-трифтор-2-бензотіазоліл)метил]-2H-1,4-бензотіазин-2-оцтова кислота (SPR-210, US 5,252,527),

9 N-[3,5-диметил-4-[(гідрометил)сульфоніл]феніл]-2-метил-бензоацетамід (ZD5522, US 5,270,342 and US 5,430,060),

10 (8)-6-фторспіро[хроман-4,4'імідазолідин]-2,5'-діон (сорбініл, US 4,130,714),

11 п-2-метил-6-фтор-спіро(хроман-4',4'-імідазолідин)-2',5'-діон (US 4,540,704),

12 2-фтор-спіро(9H-фтор-9,4'імідазолідин)-2',5'-діон (US 4,438,272),

13 2,7-дифтор-спіро(9H-фтор-9,4'імідазолідин)-2',5'-діон (US 4,436,745, US 4,438,272),

14 2,7-дифтор-5-метокси-спіро(9H-фтор-9,4'імідазолідин)-2',5'-діон (US 4,436,745, US 4,438,272),

15 7-фтор-спіро(5H-інденіл[1,2-b]піридин-5,3'-піролідин)-2,5'-діон (US 4,436,745, US 4,438,272),

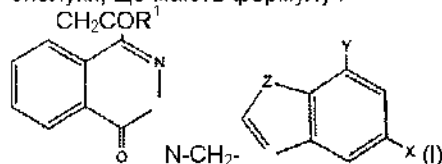
16 α-цис-6'-хлор-2',3'-дигідро-2'-метил-спіро-(імідазолідин-4,4'-4'-Н-пірано(2,3-b)піридин)-2,5'-діон (US 4,980,357),

17 спіро[імідазолідин-4,5'(6H)-хінолін]-2,5'-діон-3'-хлор-7,8'-дигідро-7'-метил-(5'-цис)(US 5,066,659),

18 (25,43)-6-фтор-2',5'-діоксоспіро(хроман-4,4'-імідазолідин)-2-карбоксамід (US 5,447,946), та

19 2-[(4-бромо-2-фторфеніл)метил]-6-фторспіро[ізохінолін-4(1H),3'-піролідин]-1,2',3,5'(2H)-тетрон (ARI-509, US 5,037,831)

Інші інгібітори альдозоредуктази включають сполуки, що мають формулу I



Або фармацевтичне прийнятні солі, де Z є O або S

R<sup>1</sup> є гідрокси або група, яка може бути зміщеною in vivo для утворення сполуки Формули I,

де R<sup>1</sup> є OH, а

X та Y є однаковими або різними і вибираються з водню, трифторметилу, фтору та хлору

Підгрупа, який надається перевага і, яка знаходиться в межах вищезгаданої групи інгібіторів альдозоредуктази включає сполуки під номерами 1,2,3,4,5,6,9,10 та 17, та наступні сполуки Формули I

20 3,4-дигідро-3-(5-фторбензотіазол-2-ілметил)-4-оксофталазин-1-іл-оцтова кислота [R<sup>1</sup> = гідрокси, X=F, Y=H],

21 3-(5,7-дифторбензотіазол-2-ілметил)-3,4-дигідро-4-оксофталазин-1-іл-оцтова кислота [R<sup>1</sup> = гідрокси, X=Y=F],

22 3-(5-хлорбензотіазол-2-ілметил)-3,4-дигідро-4-оксофталазин-1-іл-оцтова кислота [R<sup>1</sup> = гідрокси, X=Cl Y=H],

23 3-(5,7-дихлорбензотіазол-2-ілметил)-3,4-дигідро-4-оксофталазин-1-іл-оцтова кислота [R<sup>1</sup> = гідрокси, X=Y=Cl],

24 3,4-дигідро-4-оксо-3-(5-трифторметилбензоксазол-2-ілметил)фталазин-1-ілоцтова кислота [ $R^1$  = гідрокси,  $X = CF_3$ ,  $Y = H$ ],

25 3,4-дигідро-3-(5-фторбензоксазол-2-ілметил)-4-оксофталазин-1-ілоцтова кислота [ $R^1$  = гідрокси,  $X = F$ ,  $Y = H$ ],

26 3-(5,7-дифторбензоксазол-2-ілметил)-3,4-дигідро-4-оксофталазин-1-ілоцтова кислота [ $R^1$  = гідрокси,  $X = Y = F$ ],

27 3-(5-хлорбензоксазол-2-ілметил)-3,4-дигідро-4-оксофталазин-1-ілоцтова кислота [ $R^1$  = гідрокси,  $X = Cl$ ,  $Y = H$ ],

28 3-(5,7-дихлорбензоксазол-2-ілметил)-3,4-дигідро-4-оксофталазин-1-ілоцтова кислота [ $R^1$  = гідрокси,  $X = Y = Cl$ ],

29 zopolrestat, 1-фталазиноцтова кислота, 3,4-дигідро-4-оксо-3-[[5-(фторметил)-2-бензотіазоліл]метил]-[ $R^1$  = гідрокси,  $X$  = трифторметил,  $Y = H$ ] В сполуках 20-30, та 29  $Z \in S$  В сполуках 24-28  $Z \in O$

З вищезгаданої групи, більша перевага надається сполукам 20-29, а ще більша перевага сполуці 29

Сполуки інгібітора альдозоредуктази даного винаходу можна легко придбати в готовому вигляді або одержати застосовуючи звичайні способи органічного синтезу, особливо беручи до уваги необхідні патентні описання специфікацій

Будь-який інгібітор глікогенфосфорилази може застосовуватись, як друга сполука даного винаходу Термін інгібітор глікогенфосфорилази відноситься до будь-якої речовини чи реагенту або будь-яких комбінацій речовини та/або реагентів як зменшують, гальмують або зовсім припиняють ензимну дію глікогенфосфорилази На сьогоднішній день відома така ензиматична дія глікогенфосфорилази як розщеплення глікогену шляхом каталізу зворотної реакції макромолекули глікогену та неорганічного фосфату з утворенням глюкоз-1-фосфату та макромолекули глікогену, яка на на один залишокглікозиду коротша за початкову макромолекулу глікогену (спрямований вперед глікогеноліз) Така дія легко визначається фахівцями на основі стандартних тестів (напр як описується нижче) Багато таких сполук включено до наступних публікацій РСТ патентних заявок РСТ заявка РСТ з номером публікації WO 96/39384 та WO 96/39385 Однак фахівцям відомі і інші інгібітори глікогенфосфорилази

Загалом сполуки формули I та IA можуть бути одержані способами, відомими в хімічній галузі, особливо з огляду на опис, що міститься тут Додатковими аспектами даного винаходу є певні способи одержання сполук формули I та IA, що ілюструються наступними реакційними схемами

СХЕМА 1

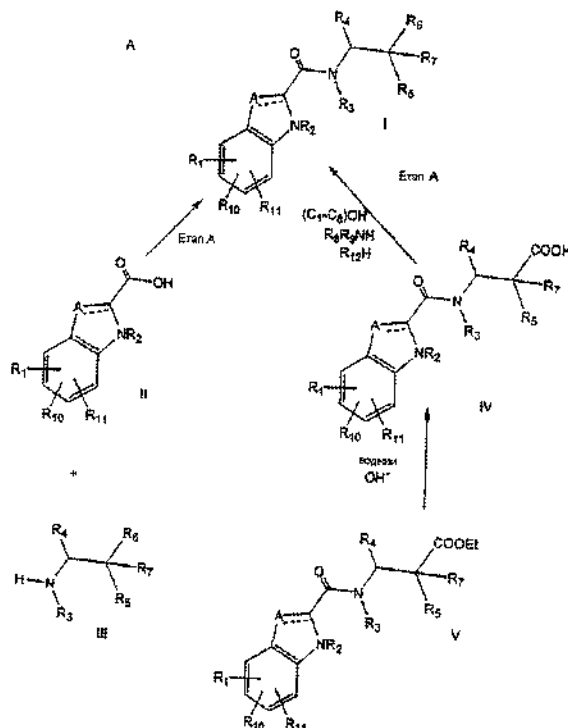


СХЕМА 2

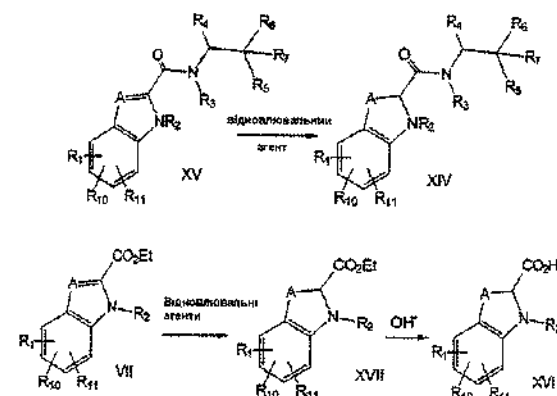
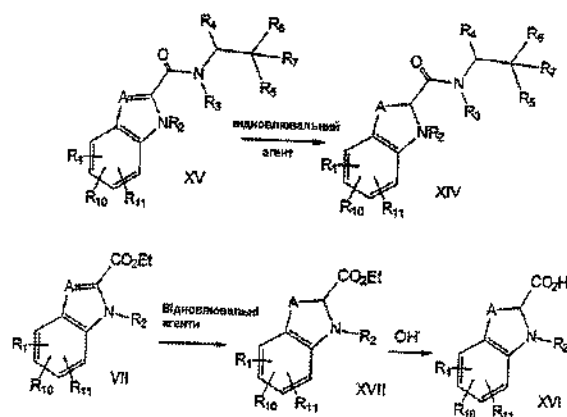
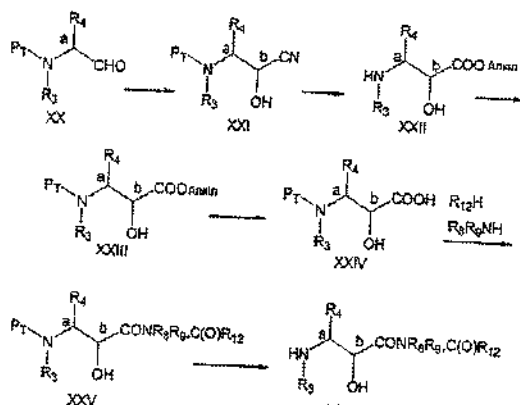


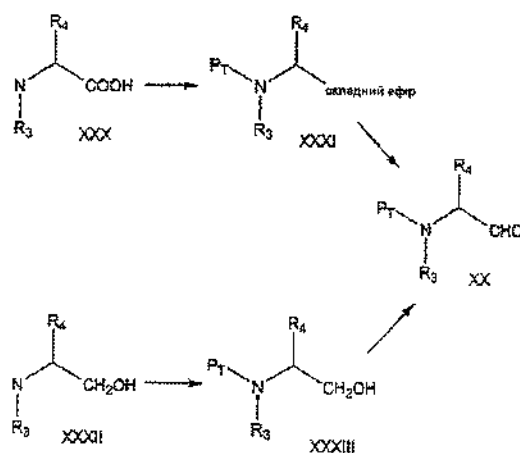
СХЕМА 3



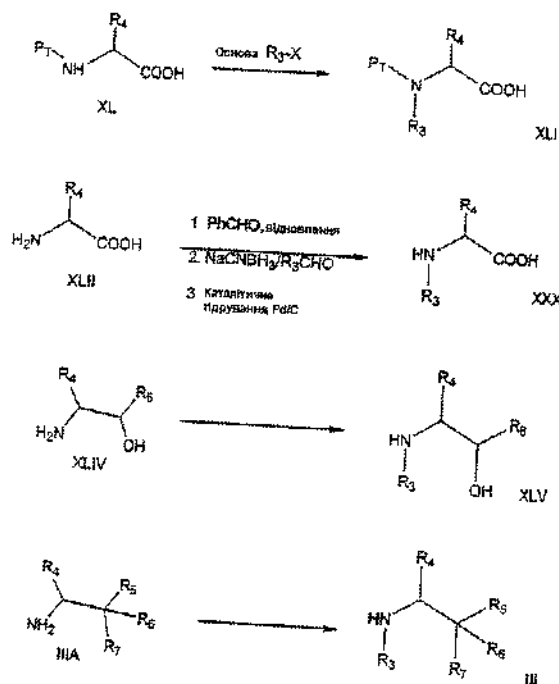
CXEMA 4



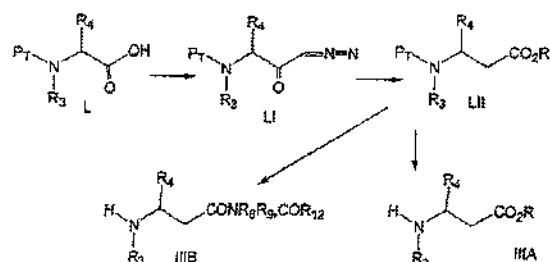
CXEMA 5



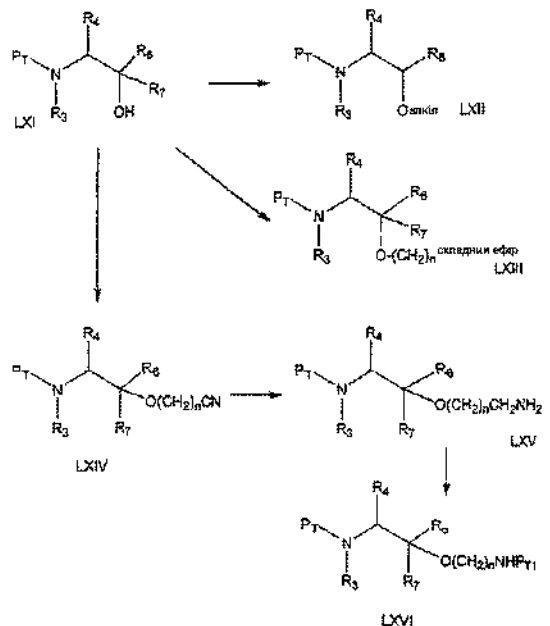
CXEMA 6



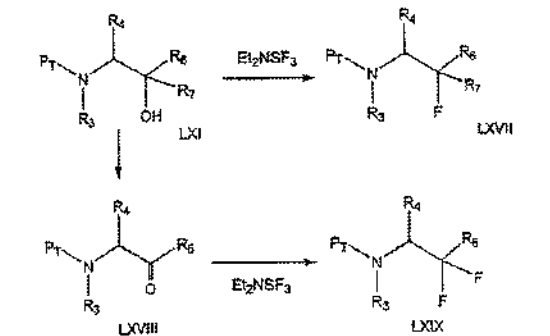
CXEMA 7



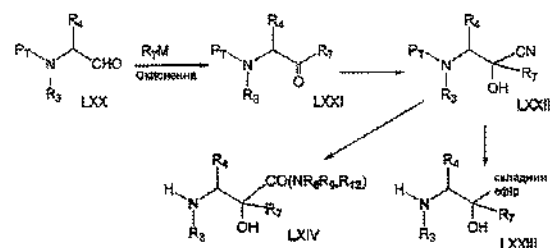
CXEMA 8



CXEMA 9



CXEMA 10



Згідно зі схемою I сполуки формули 1, в яких  $R_1, R_{10}, R_{11}, A, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$  та  $R_7$  визначені вище, можуть бути одержані будь-яким з двох загальних способів. В першому способі цільова

сполука формули I можуть бути одержані сполученням придатної індоп-2-карбонової кислоти або індопін-2-карбонової кислоти формули I з придатним аміном формули III (тобто, шляхом ацилювання аміну). В другому способі цільова сполука формули I може бути одержана сполученням придатної сполуки формули IV (тобто сполуки формули I, в якій  $R_6$  є карбокси) з придатним спиртом або аміном формули  $R_8R_9NH$  або  $R_{12}H$  або спиртом, в якому  $R_8$ ,  $R_9$  та  $R_{12}$  визначені вище (тобто, ацилюванням аміну або спирту).

В основному сполука Формули II з'єднується із сполукою Формули III або сполука Формули IV з'єднується з відповідним аміном (напр  $R_{12}H$  або  $R_8R_9NH$ ) або із спиртом в присутності придатного з'єднуючого агента. Придатний з'єднуючий агент є той, що трансформує карбонову кислоту в реактивну суміш, що утворює амідний або ефірний зв'язок в ході реакції з аміном або спиртом відповідно.

З'єднуючим агентом може бути любий реагент, який здійснює таку конденсацію в одноетапній реакції при змішуванні з карбоксильною кислотою та аміном або спиртом. Якщо необхідно конденсувати кислоту з спиртом, то бажаним було б застосувати значний надлишок спирту як реакційний розчинник, з додаванням або без від 10 до 15 еквіваленту диметиламінопіридину. Прикладом зв'язуючих реагентів можуть бути 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодімід, гідрохлорид гідроксибензотриазол (DEC/HBT), карбонілдімідазол, дициклогексилкарбодімід/гідроксибензотриазол (HBT), 2-етокси-1-етоксикарбоніл-1,2-дигідрокінолін (EEDQ), карбонілдімідазол/HBT, та діетилфосфорилціанід. З'єднання відбувається в інертному розчиннику, бажано апротонному розчиннику при температурі від -20 до 50°C протягом від 1 до 48 годин. Прикладами розчинників є ацетонітрил, дихлорметан, диметилформамід та хлорформ. З'єднуючим агентом може бути також агент, який перетворює карбонову кислоту в активовану проміжну сполуку, яка виділяється та/або утворюється на першому етапі, і вводиться в реакцію з аміном або спиртом на другому. Прикладом таких агентів та активованих проміжних сполук можуть бути хлористий тионіл або хлористий оксаліл для утворення хлорангідриду, фторангідриду ціанурової кислоти для утворення фторангідриду або алкілхлорформату, такого як ізобутил чи ізопропенілхлорформат (з третинною аміном) для утворення змішаного ангідриду карбонової кислоти. Якщо зв'язуючим агентом є хлористий оксаліл, то бажано було б застосувати невелику кількість диметилформаміду як співрозчинника разом з іншим розчинником (таким як дихлорметан) для каталізу утворення хлорангідриду. Фахівці знайомі з процесом застосування зв'язуючих агентів та критеріями підбору відповідних розчинників і температур, однак про це можна дізнатись із літератури. Ці та інші умови, що застосовуються при з'єднанні карбонових кислот описані в Houben-Weyl, Vol XV, part II, E. Wunsh, Ed., G. Thieme Verlag, 1974,

Stuttgart, and M. Bodansky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag Berlin 1984, and The Peptides Analysis and Biology (ed E. Gross and J. Meienhofer), vols 1-5 (Academic Press NY 1979-1983).

Сполуки формули IV, де  $R_1R_{10}R_nAR_2R_3R_4R_5$  та  $R_7$  є такими як вони були визначені вище, можна одержати з відповідного ефіру Формули V (тобто сполуки формули I, де  $R_6$  є  $(C_1-C_5)$  алкоксикарбоніл або бензилоксикарбоніл) шляхом гідролізу водним лугом при температурі від близько 20°C до 100°C і в більшості випадків при біля 20°C від 30хв до 24 годин.

Альтернативно, сполуки Формули IV одержуються шляхом активації індопкарбонової кислоти Формули II зв'язуючим агентом (як це описано вище), після чого утворюється активована проміжна сполука (така як хлорангідрид, фторангідрид або змішаний ангідрид), яка потім вводиться в реакцію із сполукою Формули III, де  $R_3R_4R_5$  та  $R_7$  є такими як вони були визначені вище, а  $R_6$  є карбокси у відповідному розчиннику в присутності відповідної основи. Відповідними розчинниками можуть бути вода чи метанол або їх суміш, разом з співрозчинником, таким як дихлорметан, тетрагідрофуран або діоксан. Відповідними основами можуть бути гідроксиди натрію, калію або літію, бікарбонат натрію або калію, карбонат натрію або калію, карбонат калію разом з бромідом тетрабутил амонію (1 еквівалент) в достатній кількості, щоб поглинути кислоту, вивільнену в реакції (в основному така кількість є достатньою, щоб підтримувати рН реакції на рівні більшому, ніж 8). Основу можна додавати поступово збільшуючи її кількість, разом з активованою проміжною сполукою для досягнення відповідного контролю над рН реакції. Реакція протікає при температурі від -20 до 50°C. Розробляються способи ізоляції для видалення домішків, і в більшості випадків передбачають видалення співрозчинників, що змішуються з водою, шляхом випарювання, видалення домішків при високому рН за допомогою органічного розчинника, окиснення до низького рН (1-2) і фільтрації або екстрагування необхідного продукту відповідним розчинником, таким як етилацетат або дихлорметан.

Сполуку Формули V можна одержати шляхом з'єднання відповідної сполуки Формули III, де  $R_6$  є алкоксикарбоніл з відповідною сполукою Формули II застосовуючи описану вище процедуру.

Альтернативно, сполуки Формули I, що містять атоми сірки в стані (у вигляді) окиснення сульфоксиду або сульфону, можна одержати з відповідних сполук Формули I, що мають атом сірки в неокисненій формі, шляхом обробки відповідним окиснюючим агентом, таким як m-хлорпероксибензойна кислота в дихлорметані при температурі від 0 до 60°C в неокисненій формі від 1 до 48 годин, застосовуючи від 1 до 1,3 еквіваленту для переведення в стан окиснення сульфоксиду, та більше 2 еквівалентів для переведення в стан окиснення сульфону.

Альтернативно, сполуки Формули I які є моно- або ди-алкілованими на  $R_5$  аміноалкокси можна одержати з відповідної сполуки Формули I, де  $R_5$  є

аміноалкокси шляхом моноалкілювання або діалкілювання на  $R_5$  аміні для одержання необхідної сполуки Формули I. Таке моно- або діалкілювання може бути проведена шляхом обробки сполуки  $R_5$  аміноалкокси одним еквівалентом відповідної карбонільної сполуки (для моноалкілювання) або більше ніж двома еквівалентами відповідної карбонільної сполуки (для діалкілювання) та придатним заміщуючим агентом в придатному розчиннику. Придатними умовами заміщення можуть бути ціаноборгидрид натрію або боргидрид натрію в метанолі, чи етанолі або водневий/гідрогенезаційний каталізатор (такий як паладій або вуглець) в полярному розчиннику, такому як вода, метанол або етанол при температурі від 0 до 60°C від 1 до 48 годин.

Альтернативно, сполуки Формули I, де  $R_5$  є алкокси (RCOO-) одержуються шляхом О-алкілювання відповідної сполуки Формули I відповідним хлорангідридом або іншою активізованою похідною кислоти в присутності, якщо необхідно придатної основи (наприклад третинний амін, така як триалкіламін або піридин), бажано в апротонному розчиннику, такому як тетрагідрофуран при температурі від 0 до 50°C хлорангідридом або від 0 до 48 годин.

Альтернативно, сполуки Формули I, де  $R_5$  та  $R_7$  беруться разом як оксо, можна одержати шляхом окиснення відповідної сполуки Формули I, наприклад, де  $R_5$  є гідрокси, а  $R_7$  є Н відповідним окиснюючим агентом. Показові окиснювальні агенти включають Dess-Martin реагент в дихлорметані, карбодімід та диметилсульфоксид та кислотний каталізатор (Pfitzner-Moffat умови або їх модифікації, в яких застосовується водорозчинний карбодімід) або реакції типу Swern (наприклад оксаліл хлорид/DMCO/триетиламін). Для сполук Формули I, що мають інші чутливі до окиснення функціональні групи може бути корисним відповідний захист або позбавлення захисту таких функціональних груп. Наприклад в Реакційній схемі I деякі сполуки Формули I містять первинний амін, вторинний амін або карбонові кислоти в тій частині молекули, яка визначена як  $R_5$  або  $R_8$ , що може вплинути на хід реакції з'єднання по Реакційній схемі I, якщо проміжна сполука Формули III, або  $R_{12}$  Н або  $R_8$   $R_9$  NH залишиться незахищеним. Відповідно, первинний або вторинний амін може захищатись там, де вони присутні на частках  $R_5$  або  $R_8$  проміжної сполуки Формули III або аміну ( $R_8$   $R_9$  NH або  $R_{12}$  Н) відповідною захисною групою під час реакції з'єднання по Реакційній схемі I. Продуктом такої реакції з'єднання є сполука Формули I, що містить захисну групу. На подальшому етапі ця захисна група знімається для одержання сполуки Формули I. Відповідні захисні групи для захисту аміну або карбонової кислоти включають захисні групи, які звичайно застосовуються для синтезу пептиду (такі як N-трет-бутоксикарбоніл, N-карбобензілокси, та 9-фторенілметиленокискарбоніл для амінів і нижчі ефіри алкілу та бензилу для карбонових кислот) і які не є хімічно реактивними в умовах з'єднання, що описувались вище, та можуть бути знятими не

змінюючи іншої функціональної групи сполуки Формули I. Початкові індоп-2-карбонові кислоти, що застосовуються в Реакційній схемі, якщо їх не можна придбати в торгівлі або про них не відомо з попереднього досвіду (такий досвід широко висвітлюється в літературі) одержуються, застосовуючи звичайні способи синтезу.

Наприклад, у відповідності із Реакційною схемою II ефір індопу формули VII можна одержати із сполуки Формули VI (де Q підбирається для того щоб одержати А як це визначено вище) шляхом синтезу індопу Фішера (Fisher Indol Synthesis Robinson, B (Wiley, New York, 1982)) після чого проводиться омилення утвореного ефіру індопу Формули VII для одержання відповідної кислоти формули VIII. Початковий арилгідразон можна одержати шляхом конденсації вже готового гідразину з відповідною похідною карбонілу або шляхом реакції Jappiklingemann (Organic Reactions, Phillips, R R 1959, 10, 143).

Альтернативно індоп-2-карбонову кислоту Формули VIHA можна одержати шляхом конденсації орто метил нтро сполуки Формули IX з ефіром оксалату що призводить до утворення ефіру індопу Формули X, після чого відбувається відновлення нтро групи з подальшим гідролізом.

Такий трьохетапний процес, відомий як синтез індопу Райзера (Reissert) (Reissert Cytrnische Berichte 1897, 30, 1030). Умови для виконання цієї послідовності та посилання на неї наводяться в літературі (Kemack, et al, J Chem Soc 1921, 119, 1602, Cannon et al, J Med Chem 1981, 24, 238, Julian, et al in Heterocyclic compounds, vol 3 (Wiley, New York, 1982, R C Elderfield, ed) p18). Прикладом проведення такої послідовності є наведені тут Приклади 10A-10C.

3-Гало-5-хлор-1Н-індоп-2-карбонові кислоти можна одержати шляхом галогенізації 5-хлор -1Н-індоп-2-карбонових кислот.

Альтернативно, (Реакційна схема II) заміщені індопіни Формули XIV можна одержати шляхом відновлення відповідних індолів Формули XV відновним агентом, таким як магній в метанолі при температурі від 25°C до 65°C і протягом від 1 до 48 годин (Реакційна схема III).

Індолінкарбонові кислоти Формули XVI одержуються шляхом омилювання відповідного ефіру Формули XVII (Реакційна схема III). Сполука Формули XVII одержується шляхом відновлення відповідного ефіру індопу Формули VII відновним агентом, таким як магній в метанолі, як це описувалось вище стосовно трансформації сполуки Формули XV в сполуку Формули XIV.

В наступних параграфах висвітлюються способи приготування численних амінів, які застосовуються в згаданих вище Схемах Реакцій.

У відповідності із Реакційною схемою IV сполуки Формули XXII (аміни Формули III в Реакційній схемі I, де  $R_5$  є OH,  $R_7$  є Н, а  $R_6$  є ефір) або сполуки Формули XXVI ( $R_6$  є C(O) NR<sub>8</sub>  $R_9$  або C(O)  $R_{12}$ ) одержуються починаючи з N-захисного (обозначений P<sub>7</sub>) альдегіду Альдегід Формули XX або едукт бісульфту натрію Формули XX обробляється калієм або ціанідом натрію у водному розчині з співрозчинником, таким як

діоксан або етилацетат при температурі 0-50°C після чого утворюється ціаногдрин Формули XXI. Ціаногдрин Формули XXI обробляється спиртом (напр (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алканол, такий як метанол) та катализатором сильної кислоти, такої як хлористий водень(соляна кислота) при температурі 0-50°C після чого при необхідності додається вода. Потім знімається захисна група (P<sub>1</sub>), якщо вона існує, застосовуючи відповідний спосіб зняття захисту і одержується сполука Формули XXII. Наприклад, якщо N-захисною групою P<sub>1</sub> є трет-бутоксикарбоніл (t-Boc) сполука Формули XXIII утворюється безпосередньо із сполуки Формули XXI і нема необхідності додавати воду. Сполука Формули XXII може бути захищена на азоті відповідною захисною групою, для того щоб одержати сполуку Формули XXIII, після чого проводиться дроліз ефіру водним лугом при температурі 0-50°C із сполуки реакційно інертному розчиннику і утворюється відповідна гідроксикислота Формули XXIV. Сполука Формули XXIV з'єднується (процес з'єднання аналогічний описаному в Реакційній схемі I) з відповідним R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, NH або H R<sub>12</sub> зміню для одержання сполуки Формули XXV, яка потім позбавляється захисту, що призводить до утворення сполуки Формули XXVI (тобто сполука Формули III, де R<sub>5</sub> є OH, R<sub>7</sub> є H, а R<sub>6</sub> є C(O) R<sub>12</sub> або C(O) NR<sub>8</sub> R<sub>9</sub>). Приклад перетворення ціаногдриду Формули XXII з видавлення t-boc захисної групи наводиться в РСТ публікації WO/9825574, Приклад 1а інші приклади в яких ціаногдрид перетворюється в нижчі ефіри алкілу можна знайти в патенті US 4 814 342 та ЕПО публікації 0438233.

Деякі сполуки Формули I є стереомеричними завдяки стереохімічній конфігурації атомів вуглецю позначених а і b. Кваліфіковані фахівці можуть одержати сполуки Формули XXII та XXVI з потрібною конфігурацією у відповідності із Реакційною схемою IV. Наприклад, альдегід Формули XX можна одержати в будь-якій енантіомеричній формі (конфігурація а) застосовуючи способи, наведені в літературі і окреслені нижче (див Реакційна схема V). Ціаногдрин Формули XXI можна одержати із сполуки Формули XX шляхом обробки ціанідом натрію або калію, як це описувалось вище, при збереженні конфігурації вуглеця а, результатом чого є суміш стереоізомерів вуглеця b.

Кваліфікований хімік може застосувати на цій стадії кристалізацію для відокремлення ізомерів або очищення одного ізомера.

Для прикладу, одержання сполуки Формули XXI, де P<sub>1</sub> є Boc, R<sub>3</sub> є H, R<sub>4</sub> є бензил, конфігурація атомів вуглецю а та b є (S) та (R) відповідно, застосовуючи дану схему разом з очищенням кристалізацією, описується в Biochemistry 1992,31,8125-8141. Альтернативно, відокремлення ізомера може здійснюватись шляхом хроматографії або рекристалізації після трансформації сполуки Формули XXI (суміш ізомерів) в сполуку Формули XXII, XXIII, XXI, XXV, XXVI V IV або I застосовуючи способи та/або описані тут послідовності. Проміжні сполуки Формули XXI із специфічною конфігурацією на атомах вуглецю а і b

трансформуються в проміжні сполуки Формули XXII із збереженням даної конфігурації шляхом обробки спиртом та катализатором сильної кислоти, після чого, при необхідності додається вода, як це було описано вище.

Альтернативно, необхідний ізомер сполуки Формули XXI можна одержати шляхом дериватизації проміжної сполуки Формули XXI та хроматографічного відокремлення діастереомеричних похідних (наприклад хлористим триметилсилілом (TMS) або хлористим трет-бутилдиметилсилілом (TBDMS) з одержанням O-TMS або O-TBDMS похідних). Силілова похідна проміжної сполуки Формули XXI, що має одну стереоізомерну форму атомів вуглецю а та b перетворюється із збереженням конфігурації в проміжну сполуку Формули XXII (якщо силілова група не видаляється на даному етапі, то вона видаляється потім застосовуючи відповідний спосіб, такий як обробка тетрабутиламмонієм в тетрагідрофурані), застосовуючи описані вище способи перетворення сполуки Формули XXI в сполуку Формули XXII. У відповідності із Реакційною схемою V альдеїди Формули XX (початковий матеріал для Реакційної схеми IV) одержуються з відповідних амінокислот Формули XXX. Амінокислота Формули XXX захищається на азоті захисною групою (P<sub>1</sub>)(такою як Boc). Захищена група ефірується спиртом та трансформується в ефір, бажано етиловий ефір або метиловий сполуки Формули XXXI. Це можна здійснити шляхом обробки сполуки Формули XXX йодидом етилу або метилу в присутності придатної основи (напр K<sub>2</sub> CO<sub>3</sub>) в полярному розчиннику такому як диметилформамід. Сполука Формули XXXI відновлюється, наприклад, піридом діізобутилалюмінію в гексані або толуолі або їх суміші при температурі 78-50°C. J Med Chem, 1985, 28, 1779-1790, після чого утворюється альдегід Формули XX. Альтернативно, (в Реакційній схемі V це не ілюструється), аналогічні N-метоксиметиламида, що відповідають сполуці Формули XXXI, де спиртовий замісник ефіру заміщується N(OMe)Me, утворюються із сполуки Формули XXX, N,O-диметилгідроксипаміду та відповідного зв'язуючого агенту (наприклад, 1-(3-диметиламінопропіл) 3-етилкарбодіамід дигідрохлорид (DEX)). Одержана сполука відновлюється, наприклад, піридом літію алюмінію в реакційно нейтральному розчиннику, такому як простий ефір або тетрагідрофуран при температурі 0-25°C до утворення альдегіду Формули XX. Такий двоетапний спосіб є загальним для трансформації N-захисної амінокислоти до альдегідів Формули XX (Fehrentz and Castro, Synthesis 1983, 676-678).

Альтернативно, альдеїди Формули XX можна одержати окисненням захищених аміноспиртів Формули XXXIII, застосовуючи, наприклад піридин-80<sub>3</sub> при температурі -10-40°C у реакційноінертному розчиннику, бажано диметилсульфоксиді. Захищені аміноспирти Формули XXXIII, якщо їх не можна придбати в торгівлі, одержуються шляхом захисту аміноспиртів Формули XXXII. Аміноспирти Формули

XXXII одержуються шляхом відновлення амінокислот Формули XXX. Таке відновлення здійснюється при обробці сполук Формули XXX гідридом алюмінію літію у відповідності із способом описаним Дікманом (Dickman) et al, Organic Synthesis, Wiley New York, 1990, Collect Vol VII, p530, або борогідрид натрію-сірчана кислота, застосовуючи спосіб Abiko and Masamune, Tetrahedron Lett 1992 333, 5517-5518, або борогідрид натрію-йод у відповідності із способом McKennon and Meyers, J Org Chem 1993, 58, 3568-3571, які наводять також і інші способи перетворення амінокислот Формули XXX в аміноспирти Формули XXXII. У відповідності із Реакційною схемою VI сполуки Формули XXX, що застосовуються в Реакційній схемі V можна одержати наступним способом. Амінокислоти Формули XLI одержуються шляхом N-алкилювання захищених ( $P_T$ ) амінокислот Формули XL при обробці відповідною основою та алкилювальним агентом. Специфіка способів такої алкилювання описана Бенотом Benoit, Can J Chem 1977, 55, 906-909, та Хансенем J Org Chem 1985, 50, 945-950. Наприклад, якщо  $R_3$  є метил, то застосовуються гідрид натрію та йодид метилу в тетрагідрофурані. Позбавлення захисту сполуки Формули XLI дає необхідну сполуку Формули XXX.

Альтернативно, амінокислота Формули XLII може бути N-алкилюваною шляхом трьохетапної послідовності, яка передбачає відновне бензилювання (таку як бензальдегід, Pd/C-каталізована гідрогенізація) для одержання похідної  $MOHO-N$ -бензилу та відновлювальну амінацію, застосовуючи відповідну ацильну сполуку (наприклад з формальдегідом та ціанобромідом, для того щоб ввести  $R_3$  як метил) для одержання N-Бензил, N- $R_3$ -заміщеної кислоти. N-бензил захисна група легко видаляється (наприклад гідрогенізацією з відповідним каталізатором) і одержуються сполуки Формули XXX. Специфічні умови даного трьохетапного процесу алкилювання описані Рейнхольдом Reinhold et al, J Med Chem, 1968, 11, 258-260.

Тільки що згаданий спосіб може також застосовуватись для введення  $R_3$  частки в проміжну сполуку Формули I. Па для утворення проміжної сполуки Формули XLV (яка є проміжною сполукою Формули III, де  $R_7$  є OH). Тільки що згаданий спосіб може також застосовуватись для введення  $R_3$  частки в проміжну сполуку Формули XXXa (яка є проміжною сполукою Формули III, де  $R_3$  є H).

Застосовані в схемах (наприклад XL, XLII) амінокислоти, якщо їх не можна придбати в торгівлі, одержуються численними добре відомими фахівцям способами. Наприклад можна застосувати синтез Стрекера (Strecker Synthesis) або його варіанти. У відповідності з яким, альдегід ( $R_4$  CHO), ціанід натрію або калію та хлористого амонію вступають в реакцію і утворюють відповідний амініотрип. Амініотрип гідролізується мінеральною кислотою для одержання необхідної  $R_4$  C(NH<sub>2</sub>)COOH амінокислоти Формули XIII. Альтернативно, можна застосувати спосіб Бухерер-берга (Bucherer-Berg),

у відповідності з яким гідантоїн утворюється нагріванням альдегіду ( $R_4$  CHO) разом з карбонатом амонію та ціанідом калію, після чого проводиться гідроліз (наприклад, гідроксидом барію в киплячому діоксані з кислотою або основою для одержання необхідної  $R_4$ C(NH<sub>2</sub>)COOH амінокислоти Формули XLII.

В літературі згадуються й інші способи синтезу амінокислот, які дадуть фахівцям змогу одержати  $R_4$ C(NH<sub>2</sub>)COOH проміжні сполуки Формули XLII, необхідні для синтезу сполук Формули XLII.

Придатні способи синтезу або розкладання сполук Формули XLII можна знайти в роботах Дутейпера (Duthaler) (Tetrahedron 1994, 50, 1539-1650) або Вільямса (R M Williams, Synthesis of optically active amino acids Pergamon Oxford, UK, 1989). Специфічним способом синтезу проміжної сполуки Формули XLII, в будь-якій з енантіомеричних форм, з відповідної  $R_4$  X (X=Cl, Br, або I) є спосіб Піррунга (Pirrung) та Кришнамурті (Krishnamurthy) (J Org Chem 1993, 58, 957-958) або спосіб О'Доннелла (O'Donnell) (J Am Chem Soc 1989, 111, 2353-2355). Необхідні  $R_4$  X проміжні сполуки одержуються багатьма відомими хімікам способами. Наприклад, сполуки, де  $R_4$  X є  $CH_2$  X можна одержати радикальною галогенізацією сполуки  $Ar$  CH<sub>3</sub> або формулюванням арену та перетворенням спирту в бромід.

Ще одним способом синтезу проміжних сполук формули XLII в будь-якій енантіомеричній формі є спосіб Корейя та Лінка (Corey and Link) (J Am Chem Soc 1992, 114, 1906-1908). Так, проміжна сполука з формулою  $R_4$  COCCl<sub>3</sub> енантіоспецифічно відновлюється в проміжну сполуку  $R_4$  CH(OH)CCl<sub>3</sub> яка після обробки азидом та основою перетворюється в проміжну сполуку  $R_4$ CH(N<sub>3</sub>)COOH, яка відновлюється каталітичною гідрогенізацією до необхідної сполуки Формули XLII. Необхідний трихлорметилкетон  $R_4$ COCCl<sub>3</sub> одержується шляхом реакції альдегіда  $R_4$ CHO з аніоном трихлорметилу, після чого відбувається окиснення (Gallina and Giordano, Synthesis 1989, 466-468).

Аміни проміжної сполуки Формули III (що застосовуються в Реакційній Схемі I), де  $R_5$  та  $R_7$  є H можна одержати у відповідності із Реакційною схемою VII. Амінокислота Формули L (відповідно захищена ( $P_T$ )) активується перетворенням в хлорангідрид, фторангідрид або змішаний ангідрид (наприклад, застосовуючи ізобутилхлорформат та триетиламін в інертному розчиннику такому як тетрагідрофуран або діоксан при температурі 0°C- 40°C і проміжна сполука обробляється діазометаном і одержується діазокетон формули LI. Діазокетон формули LI обробляється спиртом (ROH) (наприклад, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алканолом, такий як метанол), та відповідним каталізатором, таким як нагрівання, окис срібла або бензоат срібла для одержання ефіру формули LII. Ефір Формули LII позбавляється захисту і одержується сполука Формули IIIA (через реорганізацію Вольфа (Wolff)). Альтернативно ефір Формули LII гідролізується наприклад лугом, і з'єднується з відповідним  $R_{12}$  H або NH  $R_8$   $R_9$  для одержання сполуки Формули IIIB, як це описувалось вище. У відповідності із Реакційною

схемою VII аміни проміжної сполуки Формули III, де  $R_5$  є замісник приєднаний до кисню (напр алкокси) (застосовувався в Реакційній схемі I) можна одержати наступним способом Сполука Формули LXI алкілується на кисню обробкою відповідним алкілувальним агентом (наприклад, алкілідрид, алкілбромід, алкілхлорид або алкіл силат) та придатною основою для утворення алкоксиду (гідрид натрію або калію), у відповідному полярному апротонному розчиннику (наприклад, диметилформамід або тетрагідрофуран) при температурі від  $0^\circ\text{C}$  до  $150^\circ\text{C}$  що призводить до утворення сполуки Формули LXII Сполука Формули LXII позбавляється захисту для утворення необхідної амінової проміжної сполуки

Аміни проміжної сполуки Формули III, де  $R_5$  є ( $C_1$ - $C_6$ ) алкоксикарбонілалкокси (застосовувався в Реакційній схемі I) одержуються наступним способом Сполука Формули LXI алкілується ефіром гало-алканоату для утворення сполуки Формули LXIII, яка потім позбавляється захисту для утворення необхідного аміну Відповідну кислоту можна одержати шляхом гідролізу ефіру, застосовуючи водний луг, у придатному розчиннику  $T_1$  аміни Формули III, де  $R_6$  містить ефір, а  $R_5$  містить карбокси можна одержати з аміну Формули LXIII (як це описувалось вище в цьому параграфі), де  $R_5$  містить функціональну групу карбонової кислоти, захищену як ефір трет-бутилу, шляхом обробки безводною кислотою для одержання відповідної кислоти на  $R_5$  без гідролізу ефіру на  $R_6$  позиції Сполуки Формули LXVI (аміни проміжної сполуки Формули III, де  $R_5$  захищений аміноалкокси) можна одержати із сполуки Формули LXI Сполука Формули LXI алкілується гало-алкан-нітрилом для утворення сполуки Формули LXIV Сполука Формули LXIV відновлюється до початкового аміну шляхом обробки воднем та придатним каталізатором (наприклад, родій-на-вуглеці в присутності аміаку і бажано в полярному, апротонному розчиннику такому як вода, метанол або етанол для одержання початкового аміну Формули LXV Сполука Формули LXV захищається на азоті захисною групою ( $P_{T1}$ ), яка знаходиться ортогонально до другої захисної групи, після чого проводиться позбавлення захисту  $P_T$  захисної групи для одержання необхідної сполуки Формули III Захищена сполука Формули III з'єднується з відповідною сполукою Формули II і, одержана в результаті сполука Формули I позбавляється захисту

Сполуки Формули LXIII та LXIV, де  $n$  є два одержуються обробкою сполуки Формули LXI надлишком ефіру акрилату або акрилонітрилу, в присутності придатної основи, такої як гідроксид натрію або калію, в придатному розчиннику, бажано полярному апротонному розчиннику

У відповідності з Реакційною схемою IX сполуки Формули LXVII та Формули LXIX (сполуки Формули III, де  $R_5$  є F або  $R_5$  та  $R_7$  обидва є F) можна одержати із сполуки Формули LXI Сполука Формули LXI обробляється відповідним фторуєчим агентом, таким як трифторид діетиламіносірки в реакційне інертному

розчиннику, такому як апротонний розчинник, бажано дихлорметан, для одержання сполуки Формули LXVII Сполука Формули LXVII позбавляється захисту

Сполука Формули LXI окисяється до сполуки Формули LXVIII застосовуючи умови, описані вище для одержання сполук Формули I, де  $R_5$  та  $R_7$  разом утворюють оксо Сполука Формули LXVIII фторується при відповідних умовах (наприклад трифторид діетиламіносірки в дихлорметані)

У відповідності із Реакційною схемою X сполука Формули LXXIII або сполука Формули LXIV, де  $R_7$  є алкіл (тобто, сполука Формули III, де  $R_7$  є алкіл) одержуються із сполуки Формули LXX (аналогічний спосіб одержання амінів див в Реакційній схемі V) Сполука формули LXX обробляється органометалічним реагентом  $R_7$  M, а одержаний вторинний спирт окисляється, як це описувалось в попередньому параграфі, для утворення сполуки Формули LXXI Сполука Формули LXXI перетворюється за допомогою ціаногідрину Формули LXXII в сполуку формули LXXIII застосовуючи тіж самі умови що і для трансформації сполуки Формули XXI в сполуку Формули XXII в Реакційній схемі IV Альтернативно, сполука Формули LXXII перетворюється в сполуку Формули LXIV так, як це описувалось для перетворення проміжної сполуки ціано в амід в Реакційній схемі V Сполука з формулою  $R_8$   $\text{NH}_2$  або  $R_9$   $\text{NH}_2$  моноалкілується сполукою карбонілу відповідно в  $R_8$  та  $R_9$  в необхідних умовах відновного амінування Щоб уникнути діалкілювання бажано було б захистити аміни( $R_8\text{NH}_2$  або  $R_9\text{NH}_2$ ) відповідною захисною групою  $P_T$ , щоб одержати  $\text{Re}(P_T)$   $\text{NH}_2$  або  $R_9(P_T)$   $\text{NH}_2$ , наприклад шляхом реакції з бензальдегідом і відновним агентом Захищені аміни моноалкілюються карбонільною сполукою відповідно в  $R_8$  та  $R_9$  в придатних умовах відновного амінування, для одержання  $R_8R_9N(P_T)$  Захисна група вилучається (наприклад, вичерпною каталітичною гідрогенізацією копи  $P_T$  є бензил) для одержання сполуки з формулою  $R_8R_9\text{NH}$  Описання придатних умови відновного амінування можна знайти в літературі Вони включають умови наведені Борхом (Borch)(Organic Reactions, Wiley New York, 1948 (14), 174), Хатчинсом (Hutchins) (Org Prep Proced Int 1979 (11), 20, та Лейном (Lane) (Synthesis 1975, 135) Про умови відновного амінування, які більш придатні для N-моноалкілювання, повідомляти Моралес (Morales) (Synthetic Communications 1984, 1213-1220) та Верадро (Veradro) (Synthesis 1992 121-125)  $R_8$   $\text{NH}_2$  або  $R_9$   $\text{NH}_2$  аміни можуть також моноалкілюватись відповідно  $R_8X$  та  $R_9X$ , а захисна група вилучатись для одержання сполуки з формулою  $R_8$   $R_9\text{NH}$  Можна також застосувати додатковий метод для одержання амінів з формулою  $R_8$   $R_9\text{NH}$ , де  $R_8$  -  $\text{NH}$  або  $R_9$  -  $\text{NH}$  знаходяться в кисень-азот зв'язку Так, сполука з формулою ( $C_1$ - $C_4$ ) алкоксикарбоніл-NHOH або  $\text{NH}_2\text{CONHOH}$  алкілується на азоті або кисні шляхом обробки основою та надлишком відповідного алкілувального агента ( $R-X$ ) для одержання ( $C_1$ - $C_4$ )алкоксикарбони  $\text{N(R)OR}$ , який потім знову гідролізується для одержання сполуки

з формулою  $R_8R_9NH$  (де  $R_8 = R_9 = R$ ) Придатні умови, основа, та алкілувальний агент описуються Гоелом і Кропсом (Goel and Krolls) (Org Prep Proced Int 1987, 19, 75-78) та Майором і Флеком (J Am Cytv Soc 1928,50,1479) Альтернативно амін з формулою  $NH_2CONH(OH)$  може послідовно алкілюватись спочатку на кисні щоб одержати  $NH_2CONH(OR')$ , а потім на азоті, щоб одержати  $NH_2CONH(OR'') (OR')$  шляхом послідовної обробки алкілувальними агентами відповідно  $R'X$  та  $R''X$  в присутності придатної основи Придатна основа та алкілувальний агент описуються Креуцкампом і Мессігером (Kreutzkamp and Messinger) (Chem Ber 100,3463-3465 (1967) та Даненом (Danen)(J Chem Soc 1973,95,5716-5724) Гідроліз цих похідних гідрокси сечовини дає аміни  $R'ON H_2$  та  $R'ON HR''$ , які відповідають деяким амінам з формулою  $R_8R_9NH$  Кваліфіковані хіміки можуть адаптувати способи описані в даному параграфі до інших алкілюючих агентів  $R, R'$  та  $R''-X$  для одержання інших амінів з формулою  $R_8R_9NH$ , де  $R_8-N$  або  $R_9-N$  знаходяться в кисень-азот зв'язку Uno et al (SynLett 1991, 559-560) описує  $BF_3$  - каталізоване додавання органометалічного реагенту  $R-Li$  до  $O$ -алкілоксиму з формулою  $R'CH=N-OR''$ , для одержання сполук з формулою  $R'CH-NH(OR')$  Такий спосіб може також застосовуватись для одержання сполук з формулою  $R_8R_9NH$ , де один з  $R_8-NH$  або  $R_9-NH$  знаходиться в кисень-азот зв'язку

Проліки даного винаходу, де карбонова група в карбоксильній кислоті Формули I заміщається ефіром можна одержати шляхом з'єднання карбонової кислоти з відповідним алкілгалідом в присутності основи, такої як карбонат калію в інертному розчиннику, такому як диметилформамід при температурі  $0-100^\circ C$  протягом 1-24 години Альтернативно кислота з'єднується з відповідним спиртом як розчинником в присутності каталітичної кількості кислоти, такої як концентрована сірчана кислота при температурі  $20-120^\circ C$ , протягом від 1 до 24 годин Іншим способом є реакція кислоти із стехіометричною кількістю спирту в присутності каталітичної кількості кислоти в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, з супутним вилученням води, що утворюється фізичними (наприклад Dean-Stark trap) хімічними (наприклад, молекулярні сита) шляхами Проліки даного винаходу, де спиртова функціональна група була модифікована на ефір, можна отримати шляхом з'єднання спирту з відповідним алкілбромідом або йодидом в присутності основи, такої як карбонат калію в інертному розчиннику, такому як диметилформамід при температурі  $0-100^\circ C$ , протягом від 1 до 24 годин Ефіри алканоламінометилу можна одержати шляхом реакції спирту з біс-(алканоламіно)метаном в

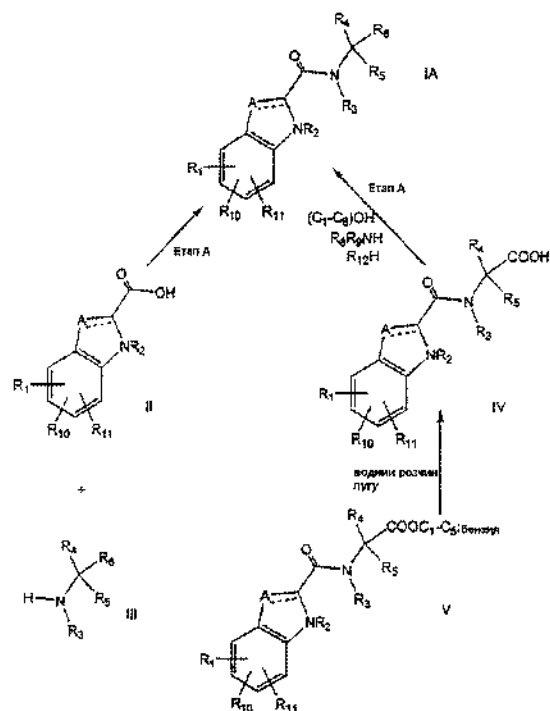
присутності каталітичної кількості кислоти в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, у відповідності із способом описаним в US 4,997,984 Альтернативно ці сполуки можна одержати способами описаними Хофманом (Hoffman) et al в J Org Chem 1994,59,3530

Ефіри діалкілфосфату можна одержати шляхом реакції спирту з діалкілхлорфосфатом в присутності основи в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран Дипрогенфосфати можна одержати шляхом реакції спирту з діарил або дібензилхлорфосфатом, як це описувалось вище, після чого проводиться гідроліз або гідрогенізація в присутності благороднометалевого каталізатора

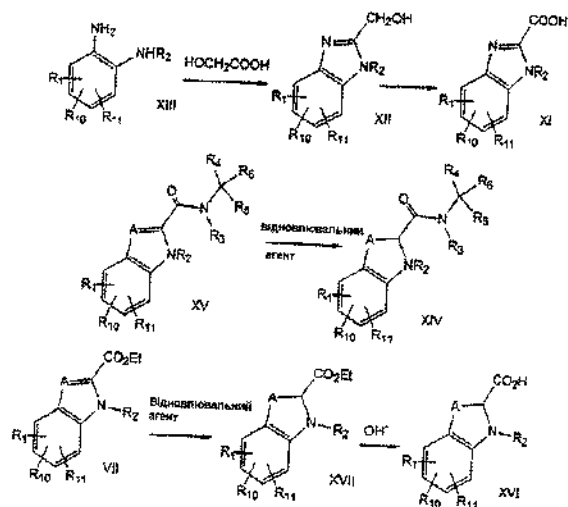
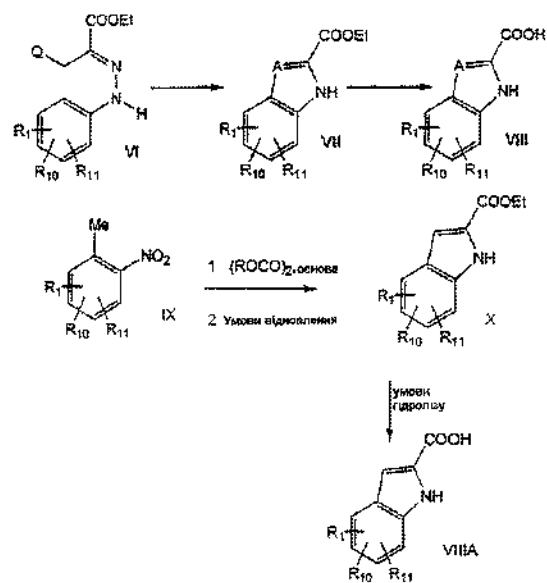
Глікозиди одержуються шляхом реакції спирту і карбогідрату в інертному розчиннику, такому як толуол в присутності кислоти Як правило вода, що утворилась в результаті реакції, вилучається, та як це описувалось вище Іншим способом є реакція спирту з відповідно захищеним глікозилгалідом в присутності основи після чого проводиться зняття захисту

$N$ -(1-гідроксиалкіл)аміди,  $N$ -(1-гідрокси-1-(алкоксикарбоніл)метил)аміди або сполуки, де  $R_2$  був заміщений  $C(OH)C(O)OY$  можна одержати шляхом реакції початкового амідю або індолю з відповідним альдегідом в нейтральних або основних умовах (наприклад етоксид натрію в етанолі) при температурі між  $25$  та  $70^\circ C$   $N$ -алкоксиметиліндоли або  $N$ -1-(алкокси)алкіліндоли можна одержати шляхом реакції  $N$ -незаміщеного індолю з необхідним алкіл галідом в присутності основи в інертному розчиннику 1-( $N,N$ -діалкіламінометил)індоп, 1-(1-( $M,M$ -діалкіламіно)етил)індоп та  $N,N$ -діалкіламінометил амідю (наприклад,  $R_3 = CH_2 N(CH_3)_2$ ) можна одержати шляхом реакції початкової  $N-H$  сполуки з відповідним альдегідом та аміном в спиртовому розчиннику при  $25-70^\circ C$  Циклічні проліки (наприклад, проліки даного винаходу, де  $R_2$  та  $R_3$  є звичайним вуглецем) можна одержати шляхом реакції початкової сполуки (ліків) з альдегідом або кетоном або їх диметилацеталом в інертному рзчиннику в присутності каталітичної кількості кислоти з вилученням супутної води або метанолу Альтернативно ці сполуки можна одержати шляхом реакції аміноспирту або гідроксамідю з гем-дібромоалкіланом в пррисутності основи (наприклад, карбонат калію) в інертному розчиннику(напр диметилформамід) Сполуки Формули IA можна одержати так, як це описано нижче

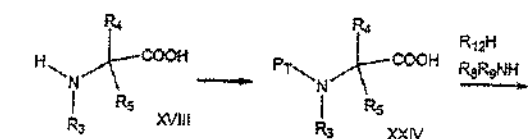
Номера схем і формул після цього абзацу тексту відносяться до номерів схем і формул, що будуть з'являтись надалі (тобто їх не слід плутати з попереднім розглядом)



CXEMA 12



CXEMA 14



CXEMA 15

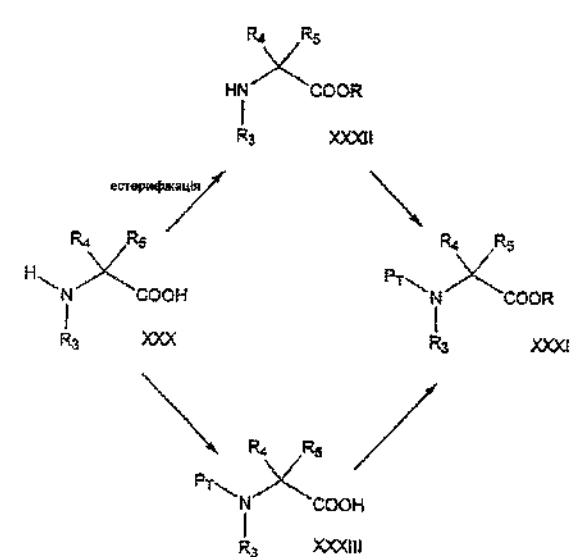
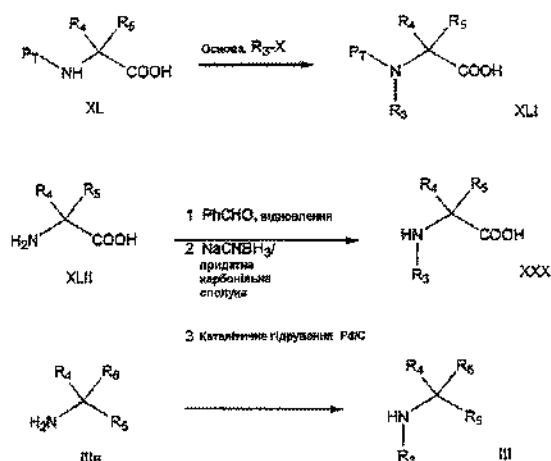


СХЕМА 16



У відповідності із Реакційною схемою XI сполуки Формули IA, де  $R_1$ ,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $A$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  та  $R_8$  є такими як вони визначались вище можна одержати застосовуючи один з двох загальних способів. У відповідності з першим способом необхідну сполуку Формули IA можна одержати шляхом з'єднання відповідної індоп-2-карбонової кислоти Формули II індопін-2-карбонової кислоти або бензімідазол-2-карбонової кислоти з відповідним аміном Формули III (напр ацилювання аміну). В другому способі необхідна сполука Формули IA одержується шляхом з'єднання відповідної сполуки Формули IV (тобто сполука Формули IA, де  $R_8$  є карбокси) з відповідним спиртом або аміном з формулою  $R_8R_9NH$  або  $R_{12}H$ , де  $R_8$ ,  $R_9$  та  $R_{12}$  є такими як вони визначені вище (тобто, ацилювання аміну або спирту). Як правило перевага надається першому способу (з'єднання сполук Формули II із сполуками Формули III).

Як правило сполука Формули II з'єднується із сполукою Формули I. Якщо сполука Формули IV з'єднується з відповідним аміном (наприклад  $R_8R_9NH$  або  $R_{12}H$ ) або спиртом в присутності відповідного з'єднуючого агента. Придатним з'єднуючим агентом є той що переводить карбонову кислоту в реактивний вид, який утворює амідний або ефірний зв'язок в ході реакції відповідно з аміном або спиртом.

З'єднуючим агентом може бути любий реагент, який здійснює таку конденсацію в одностайній реакції при змішуванні з карбоксильною кислотою та аміном або спиртом. Якщо необхідно конденсувати кислоту з спиртом, то бажаним було б застосувати значний надлишок спирту як реакційний розчинник, з додаванням або без від 10 до 15 еквіваленту диметиламінопіридину. Прикладом зв'язуючих реагентів можуть бути 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодімідгідрохлорид, гідроксibenзотриазол (DEC/HBT), карбонілдімідазол, дициклогексилкарбодімід/гідроксibenзотриазол (HBT), 2-етокси-1-етоксикарбоніл-1,2-дигідрокінолін (EEDQ), карбонілдімідазол/HBT, та діетилфосфорилціанід. З'єднання відбувається в інертному розчиннику, бажано апротонному розчиннику при температурі 20-50°C протягом від

1 до 48 годин. Прикладами розчинників є ацетонітрил, дихлорметан, диметилформамід та хлорформ. З'єднуючим агентом може бути також агент який перетворює карбонову кислоту в активовану проміжну сполуку, яка виділяється та/або утворюється на першому етапі, і вводиться в реакцію з аміном або спиртом на другому. Прикладом таких агентів та активованих проміжних сполук можуть бути хлористий тійл або хлористий оксаліл для утворення хлорангідриду, фторангідриду ціанурої кислоти для утворення фторангідриду або алкілхлорформат, такий як ізобутіл чи ізопропілхлорформат (з третинною аміном) для утворення змішаного ангідриду карбонової кислоти. Якщо зв'язуючим агентом є хлористий оксаліл, то бажано було б застосувати невелику кількість диметилформаміду як співрозчинника разом з іншим розчинником (таким як дихлорметан) для каталізу утворення хлорангідриду. Такий хлорангідрід може бути з'єднаний шляхом змішування з проміжною сполукою Формули III у відповідному розчиннику разом з відповідною основою. Відповідними розчинник/основа сполуками наприклад є дихлорметан, диметилформамід або ацетонітрил або їх суміші в присутності третинного аміну наприклад, триетиламін. Інші розчинник/основа сполуки включають воду або  $(C_1-C_4)$ спирт або їх суміші разом із співрозчинником таким як дихлорметан, тетрагідрофуран або діоксан та основою такою як карбонат натрію або калію, натрій калій гідроксиду літій або бікарбонат натрію в кількості, достатній аби погинути кислоту, вивільнену в реакції. Застосування фазоперетворюючого катализатора (в основному 1 - Юмоль %) такого як четвертинний галід амонію (наприклад бромід тетрабутиламонію або хлористий метил триоктіламонію) має переваги коли застосовується суміш тільки частково розчинних розчинників (наприклад, дихлорметан-вода або дихлорметан-метанол). Фахівцям відомі способи застосування таких з'єднуючих агентів та вибір відповідних розчинників та температур або про них можна дізнатись з літератури. Ці та інші умови, що застосовуються при з'єднанні карбонових кислот описані в Houben-Weyl, Vol XV, part II, E. Wunsh, Ed., G. Thieme Verlag, 1974, Stuttgart, and M. Bodansky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag Berlin 1984, and The Peptides Analysis and Biology (ed E. Gross and J. Meienhofer), vols 1-5 (Academic Press NY 1979-1983).

Сполуки формули IV, де  $R_1$ ,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $A$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  та  $R_7$  є такими як вони були визначені вище, можна одержати з відповідного ефіру Формули V (тобто сполуки формули I, де  $R_8$  є  $(C_1-C_4)$  алкоксикарбоніл або бензілоксикарбоніл) шляхом гідролізу водним лугом при температурі 20-100°C від 30хв до 24 годин.

Альтернативно, сполуки Формули IV одержуються шляхом активації індопкарбонової кислоти Формули II зв'язуючим агентом (як це описано вище) після чого утворюється активована проміжна сполука (така як хлорангідрід, фторангідрід або змішаний ангідрид), яка потім

вводиться в реакцію із сполукою Формули III, де  $R_3$ ,  $R_4$  та  $R_5$  є такими як вони були визначені вище, а  $R_6$  є карбокси, у відповідному розчиннику в присутності відповідної основи. Відповідними розчинниками можуть бути вода чи метанол або їх суміш, разом з співрозчинником, таким як дихлорметан, тетрагідрофуран або діоксан. Відповідними основами можуть бути гідроксиди натрію, калію або літію, бікарбонат натрію або калію, карбонат натрію або калію, карбонат калію разом з бромідом тетрабутил амонію (1 еквівалент) в достатній кількості щоб поглинути кислоту, вивільнену в реакції (в основному така кількість є достатньою, щоб підтримувати pH реакції на рівні більшому ніж 8). Основу можна додавати поступово збільшуючи її кількість, разом з активованою проміжною сполукою для досягнення відповідного контролю над pH реакції. Реакція протікає при температурі від 20 до 50°C. Розробляються способи ізоляції для видалення домішок, і в більшості випадків передбачають видалення співрозчинників, що змішуються з водою, шляхом випарювання, видалення домішків при високому pH за допомогою органічного розчинника, окиснення до низького pH (1-2) і фільтрації або екстрагування необхідного продукту відповідним розчинником, таким як етилацетат або дихлорметан. Сполуку Формули V можна одержати шляхом з'єднання відповідної сполуки Формули III, де  $R_6$  є алкоксикарбоніл з відповідною сполукою Формули II застосовуючи описану вище процедуру.

Альтернативно, сполуки Формули I, що містять атоми сірки в у вигляді сульфоксиду або сульфону, можна одержати з відповідних сполук Формули IA, що мають атом сірки в неокисненій формі, шляхом обробки відповідним окиснюючим агентом, таким як m-хлорпероксибензойна кислота в дихлорметані при температурі від 0 до 20°C в неокисненій формі від 1 до 48 годин, застосовуючи від 1 до 1,3 еквіваленту для переведення в стан окиснення сульфоксиду, та більше 2 еквівалентів для переведення в стан окиснення сульфону.

Наприклад в Реакційній схемі XI деякі сполуки Формули IA містять функціональні групи первинного аміну, вторинного аміну або карбонової кислоти в тій частині молекули, яка визначена як  $R_6$ , що може вплинути на хід реакції з'єднання по Реакційній схемі XI, якщо проміжна сполука Формули III, або  $R_{12}$  H або  $R_8$   $R_9$  NH захищений. Відповідно, функціональну групу первинного аміну, вторинного аміну або функціональну групу карбонової кислоти може захищатись там, де вона присутня на частках  $R_6$  проміжної сполуки Формули III або  $R_8$   $R_9$  NH або  $R_{12}$  H аміну відповідною захисною групою під час реакції з'єднання по Реакційній схемі XI. Продуктом такої реакції з'єднання є сполука Формули IA, що містить захисну групу. На подальшому етапі ця захисна група знімається для одержання сполуки Формули IA. Відповідні захисні групи для захисту аміну або карбонової кислоти включають захисні групи, які звичайно застосовуються для синтезу пептиду (такі як N-т-бутоксикарбоніл, N-карбобензилокси, та 9-фторилметиленоксихарбоніл для амінів і нижчі

ефіри алкілу та бензилу для карбонових кислот) і які не є хімічно реактивними в умовах з'єднання, що описувались вище, та можуть бути знятими не змінюючи іншої функціональної групи сполуки Формули IA. Початкові індол-2-карбонові кислоти, що застосовуються в Реакційній схемі XI, якщо їх не можна придбати в торгівлі або про них не відомо з попереднього досвіду (такий досвід широко висвітлюється в літературі) одержуються застосовуючи звичайні способи синтезу. Наприклад, у відповідності із Схемою Реакції XII ефір індолу формули VII (коли A не є воднем) можна одержати із сполуки Формули VI (, де Q підбирається для того щоб одержати A як це визначено вище, окрім для N) шляхом синтезу індолу Фішера (Fisher Indol Synthesis Robinson, B (Wiley, New York, 1962)) після чого проводиться омилювання утвореного ефіру індолу Формули VII для одержання відповідної кислоти Формули VIII. Початковий арилігдрозон можна одержати шляхом конденсації вже готового гідразину з відповідною похідною карбонілу або шляхом реакції Japp-Klingemann (Organic Reactions, Phillips, R R 1959, 10, 143).

Альтернативно індол-2-карбонову кислоту Формули VIIIA можна одержати шляхом конденсації орто метил нітро сполуки Формули IX з ефіром оксалату що призводить до утворення ефіру індолу Формули X, після чого відбувається відновлення нітро групи з подальшим гідролізом.

Такий трьохетапний процес, відомий як синтез індолу Райзера (Reissert) (Reissert Cytmische Berichte 1897, 30, 1030). Умови для виконання цієї послідовності та посилання на неї наводяться в літературі (Kemack, et al, J Chem Soc 1921, 119, 1602, Cannon et al, J Med Chem 1981, 24, 238, Julian, et al in Heterocyclic compounds, vol 3 (Wiley, New York, 1962, R C Elderfield, ed) p18).

3-Гало-5-хлор-1H-індол-2-карбонові кислоти можна одержати шляхом галогенізації 5-хлор -1H-індол-2-карбонових кислот.

У відповідності із Реакційною схемою XIII проміжні сполуки бензімідазол-2-карбонової кислоти Формули XIII можна одержати шляхом конденсації орто-діаміно сполуки Формули XIII з гліколевою кислотою, після чого проводиться окиснення одержаного бензілімідазол-2-метанол (Bisliguski, A And Przeworski, G Ber 1912, 45, 3483). Альтернативно (Реакційна схема XII) заміщені індоліни Формули XIV можна одержати шляхом відновлення відповідних індолів Формули XV відновним агентом, таким як магній в метанолі при температурі від 25 до 60°C, і проводиться від 1 до 48 годин (Реакційна схема III).

Індолінкарбонові кислоти Формули XVI одержуються шляхом омилювання відповідного ефіру Формули XVII (Реакційна схема XIII). Ефір Формули XVII одержується шляхом відновлення відповідного ефіру індолу Формули VII відновним агентом, таким як магній в метанолі, як це описувалось вище стосовно трансформації сполуки Формули XV в сполуку Формули XIV.

В наступних параграфах висвітлюються способи приготування численних амінів які застосовуються в згаданих вище Схемах Реакцій.

У відповідності із Реакційною схемою XIV альфа-амінокислота може бути захищеною на азоті відповідною захисною групою ( $P_T$ ) (напр  $t$ -Boc) для утворення сполуки Формули XXIV. Фахівець може легко вибрати необхідну захисну групу та метод її введення. Наприклад, двома звичайними захисними групами є  $t$ -Boc (введена шляхом обробки амінокислоти ди- $t$ -бутилдикарбонатом у відповідному протонному розчиннику або розчинній суміші при високому pH) та Cbz(введена шляхом обробки амінокислоти бензилхлорформатом у відповідному, бажано протонному розчиннику розчинній суміші та основі). Сполука Формули XXV з'єднується (спосіб з'єднання аналогічний описаному в Реакційній схемі XI) з відповідним  $R_8 R_9 NH$  або  $R_{12} H$  аміном для утворення сполуки Формули XXV, яка потім позбавляється захисту в результаті чого утворюється сполука Формули IIIb (тобто, сполука Формули III, де  $R_8$  є  $C(O) R_{12}$  або  $C(O)N R_8 R_9$ ). Якщо захисна група  $t$ -Boc шляхом обробки сполуки Формули XXV кислотою у відповідному, бажано апротонному розчиннику. Кислоти, для такого позбавлення захисту, включають  $HCl$ ,  $MeSO_3 H$  або трифторцтова кислота.

У відповідності із Реакційною схемою XV сполука Формули XXXI (N-захищений амін Формули III, де  $(C_6H_5)_3C$  алкоксикарбоніл або бензилоксикарбоніл) можна одержати з відповідного незахищеного аміну сполуки Формули XXX шляхом N-захисту (утворюється захищена амінокислота Формули XXXII) після чого проводиться естерифікація. Наприклад, сполуку Формули XXXIII можна ефірувати відповідним спиртом і кислотним катализатором, таким як хлористий водень або хлористий тіоніл, або у випадку трет-бутанілу, шляхом обробки амінокислоти ізобутиленом та кислотним катализатором, таким як сірчана кислота або шляхом обробки алкіл галідом (напр метил йодид) та основою (напр карбонатом калію). Альтернативно, естерифікація може проводитись перед захищенням.

У відповідності із Реакційною схемою XVI сполуки Формули XXX, де  $R_3$  не є  $H$  і які застосовуються в Реакційній схемі V можна одержати наступним способом. Аміно кислоти Формули XLI можна одержати N-алкілацією захищених ( $P_T$ ) амінокислот шляхом обробки відповідною основою та алкілувальним агентом. Специфічні способи такої алкілування описані Беноттоном Benoiton Can J Chem 1977, 55, 906-910 та Хансенем Hansen, J Org Chem 1985, 50 945-950. Наприклад, коли  $R_3$  є метил, а  $P_T$  є Boc, то застосовують гідрид натрію або йодид метилу. Позбавлення захисту сполуки Формули XLI дає необхідну сполуку Формули XXX.

Альтернативно, амінокислота Формули XLII може бути N- алкілованою шляхом трьохетапної послідовності, яка передбачає відновне бензилювання (таку як бензальдегід,  $Pd/C$ -каталізована гідрогенізація) для одержання похідної моно- $M$ -бензилу та відновне амінування, застосовуючи відповідну ацильну кислоту (наприклад з формальдегідом та ціанобромідом, для того щоб ввести  $R_3$  як метил) для одержання

N-Бензил, N-  $R_3$  -заміщеної кислоти N-бензил захисна група легко видаляється (наприклад гідрогенізацією з відповідним катализатором) і одержуються сполуки Формули XXX. Специфічні умови даного трьохетапного процесу алкілування описані Рейнхольдом Reinhold et al J Med Chem, 1968, 11, 258-260.

Тільки що згаданий спосіб може також застосовуватись для введення  $R_3$  частки в проміжну сполуку Формули IIIa (яка є проміжною сполукою Формули III, де  $R_7$  є  $OH$ ). Застосовані в схемах (наприклад XL XLII) амінокислоти, якщо їх не можна придбати в торгівлі, одержуються численними добре відомими фахівцям способами. Наприклад можна застосувати синтез Стрекера (Strecker Synthesis) або його варіації. У відповідності з яким, альдегід ( $R_4 CHO$ ), ціанід натрію або калію та хлористого амонію вступають в реакцію і утворюють відповідний аміонітрил. Аміонітрил гідролізується мінеральною кислотою для одержання необхідної  $R_4 C(NH_2)COOH$  амінокислоти Формули XLII. Альтернативно, можна застосувати спосіб Бухерера-Берга (Bucherer-Berg), у відповідності з яким пдантион утворюється нагріванням альдегіду ( $R_4 CHO$ ) разом з карбонатом амонію та ціанідом калію, після чого проводиться гідроліз (наприклад, гідроксидом барію в кип'ячому діоксані з кислотою або основою для одержання необхідної  $R_4 C(NH_2)COOH$  амінокислоти Формули XLII).

В літературі згадуються й інші способи синтезу амінокислот, які дадуть фахівцям змогу одержати  $R_4 C(NH_2)COOH$  проміжні сполуки Формули XLII, необхідних для синтезу сполук Формули IA.

Придатні способи синтезу або розкладення сполук Формули XLII можна знайти в роботах Дутейлера (Duthaler) (Tetrahedron 1994, 50, 1539-1650) або Вільямса (R M Williams, Synthesis of optically active amino acids Pergamon Oxford, UK, 1989). Специфічним способом синтезу проміжної сполуки Формули XLII, в будь-якій з енантімеричних форм, з відповідної  $R_4 X$  ( $X=Cl, Br$ , або  $I$ ) є спосіб Піррунга (Pirruna) та Кришнамурті (Krishnamurthy) (J Org Chem 1993, 58, 957-958) або спосіб О'Доннела (O'Donnell) (J Am Chem Soc 1989, 111, 2353-2355). Необхідні  $R_4 X$  проміжні сполуки одержуються багатьма відомими хіміками способами. Наприклад, сполуки, де  $R_4 X$  є  $CH_2 X$  можна одержати радикальною галогенізацією сполуки  $ArCH_3$  або утворенням арену та перетворенням спирту в бромід.

Ще одним способом синтезу проміжних сполук формули XLII в будь-якій енантімеричній формі є спосіб Корейя та Лінка (Corey and Link) (J Am Chem Soc 1992, 114, 1906-1908). Так, проміжна сполука з формулою  $R_4 COCCl_3$  енантіоспецифічно відновлюється в проміжну сполуку  $R_4 CH(OH)CCl_3$  яка після обробки азидом та основою перетворюється в проміжну сполуку  $R_4 CH(N_3)COOH$ , яка відновлюється каталітичною гідрогенізацією до необхідної сполуки Формули XLII. Необхідний трихлорметил кетон  $R_4 COCCl_3$  одержується шляхом реакції альдегіда  $R_4 CHO$  з аніоном трихлорметилу після чого відбувається окиснення (Gallina and Giordano, Synthesis 1989, 466-468).

Сполука з формулою  $R_8NH_2$  або  $R_9NH_2$  моноалкілується сполукою карбонілу відповідно в  $R_8$  та  $R_9$  в необхідних умовах відновного амінування. Щоб уникнути діалкілювання бажаним було б захистити аміни ( $R_8NH_2$  або  $R_9NH_2$ ) відповідною захисною групою  $P_T$  щоб одержати  $R_8(P_T)NH_2$  або  $R_9(P_T)NH_2$ , наприклад шляхом реакції з бензальдегідом і відновним агентом. Захищені аміни моноалкілюються карбонільною сполукою відповідно в  $R_8$  та  $R_9$  в придатних умовах відновного амінування, для одержання  $R_8R_9NH$ . Захисна група ( $P_T$ ) вилучається (наприклад, вичерпною каталітичною гідрогенізацією копи  $P_T$  є бензил) для одержання сполуки з формулою  $R_8R_9NH$ . Описання придатних умови відновного амінування можна знайти в літературі. Вони включають умови наведені Борхом (Borch)(Organic Reactions, Wiley New York, 1948 (14), 174), Хатчинсом (Hutchins) (Org Prep Proced Int 1979 (11), 20, та Лейном (Lane) (Synthesis 1975, 135). Про умови відновного амінування, які більш придатні для N-моноалкілювання, повідомляли Моралес (Morales) (Synthetic Communications 1984,1213-1220) та Верадро (Veradro) (Synthesis 1992 121-125).  $R_8NH_2$  або  $R_9NH_2$  аміни можуть також моноалкілюватись відповідно  $R_8X$  та  $R_9X$ , де  $X$  є хлорид, бромід, тосилат, або мезилат. Альтернативно проміжна сполука з формулою  $R_8(P_T)NH_2$  або  $R_9(P_T)NH_2$  може алкілюватись  $R_8X$  або  $R_9X$  а захисна група вилучатись для одержання сполуки з формулою  $R_8R_9NH$ .

Можна також застосовувати додатковий метод для одержання амінів з формулою  $R_8R_9NH$ , де  $R_8 - NH$  або  $R_9 - NH$  знаходяться в кисень-азот зв'язку. Так, сполука з формулою  $(C_1-C_4)$ алкоксикарбоніл- $NHONH$  або  $NH_2CONHONH$  алкілується на азоті або кисні шляхом обробки основою та надлишком відповідного алкілювального агенту ( $R-X$ ) для одержання  $(C_1-C_4)$ алкоксикарбоніл- $M(H)OP$ , який потім знову гідролізується для одержання сполуки з формулою  $R_8R_9NH$  (де  $R_8 = R_9 = R$ ). Придатні умови, основа, та алкілювальний агент описуються Гоелом і Кропсом (Goel and Krolls) (Org Prep Proced Int 1987, 19, 75-78) та Майором і Флеком (J Am Cytv Soc 1928,50,1479). Альтернативно N-гідроксисечовина  $NH_2CONH(OH)$  може послідовно алкілюватись спочатку на кисні щоб одержати  $NH_2COIMH(OR')$ , а потім на азоті, щоб одержати  $NH_2CONH(OR'')(OR')$  шляхом послідовної обробки алкілювальними агентами відповідно  $R'X$  та  $R''X$  в присутності придатної основи. Придатна основа та алкілювальний агент описуються Креуцкампом і Меццихрепом (MeccihrepOM(Kreutzkamp and Messinger) (Chem Ber 100,3463-3465 (1967) та Даненом (Danen)(J Chem Soc 1973,95,5716-5724). Гідроліз цих похідних гідрокси сечовини дає аміни  $R'ONH_2$  та  $R''ONHR''$ , які відповідають де-яким амінам з формулою  $R_8R_9NH$ . Кваліфіковані хіміки можуть адаптувати способи описані в даному параграфі до інших алкілюючих агентів  $R,R'$  та  $R'',X$  для одержання інших амінів з формулою  $R_8R_9NH$ , де  $R_8 - N$  або  $R_9 - N$  знаходяться в кисень-азот зв'язку. Uno et al (SynLett 1991, 559-560) описує  $BF_3$  - каталізоване додавання органометалічного реагенту  $R-Li$  до O-алкілоксиму з формулою  $R'CH=N-OR''$ , для одержання сполук з формулою

$R'RCH-NH(OR'')$ . Такий спосіб може також застосовуватись для одержання сполук з формулою  $R_8R_9NH$ , де один з  $R_8 - NH$  або  $R_9 - NH$  знаходиться в кисень-азот зв'язку.

Проліки даного винаходу, де карбонова група в карбоксильній кислоті Формули 1A заміщається ефіром можна одержати шляхом з'єднання карбонової кислоти з відповідним алкілгалідом в присутності основи, такої як карбонат калію в інертному розчиннику, такому як диметилформамід при температурі від 0 до 100°C від 1 до 24 годин. Альтернативно кислота з'єднується з відповідним спиртом як розчинником в присутності каталітичної кількості кислоти, такої як концентрована сірчана кислота при температурі від 20 до 120°C, на протязі від 1 до 24 годин. Альтернативно кислота з'єднується з відповідним спиртом в присутності каталітичної кількості кислоти в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, з супутним вилученням води, що утворюється фізичними (наприклад Dean-Stark trap) хімічними (наприклад, молекулярні сита) шляхами. Проліки даного винаходу, де спиртова функціональна група була одержана заміщенням як ефір можна отримати шляхом з'єднання спирту з відповідним алкілбромідом або йодидом в присутності основи, такої як карбонат калію в інертному розчиннику, такому як диметилформамід при температурі від 0 до 100°C, протягом від 1 до 24 годин. Ефіри алканоламінометилу можна одержати шляхом реакції спирту з біс-(алканоламіно)метаном в присутності каталітичної кількості кислоти в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, у відповідності із способом описаним в US 4,997,984. Альтернативно ці сполуки можна одержати способами описаними Хофманом (Hoffman) et al в J Org Chem 1994,59,3530.

Ефіри діалкілфосфату можна одержати шляхом реакції спирту з діалкіл хлорфосфатом в присутності основи в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран. Дипрогенфосфати можна одержати шляхом реакції спирту з діарил або дибензилхлорфосфатом, як це описувалось вище, після чого проводиться гідроліз або гідрогенізація в присутності благородного металевого каталізатора. Глікозиди одержуються шляхом реакції спирту і карбогідрату в інертному розчиннику, такому як толуол в присутності кислоти. Як правило вода, що утворилась в результаті реакції, вилучається, та як це описувалось вище. Іншим способом є реакція спирту з відповідно захищеним глікозилгалідом в присутності основи, після чого проводиться зняття захисту.

N-(1-гідроксиалкіл)аміди, N-(1-гідрокси-1-(алкоксикарбоніл)метил)аміди або сполуки, де  $R_2$  був заміщений  $C(OH)C(O)OY$  можна одержати шляхом реакції початкового амідю або індолю з відповідним альдегідом в нейтральних або основних умовах (наприклад етоксид натрію в етанолі) при температурі 25-70°C. N-алкоксиметил індоли або N-1-(алкокси)алкіліндоли можна одержати шляхом реакції N-незаміщеного індолю з необхідним алкіл галідом в присутності основи в інертному розчиннику 1-(N,N-

діалкіламінометил)індол, 1-(1-(N,N-діалкіламіно)етил)індол) та N,N-діалкіламінометил амід (наприклад,  $R_3 = CH_2 N(CH_3)_2$ ) можна одержати шляхом реакції початкової N-H сполуки з відповідним альдегідом та аміном в спиртовому розчиннику при 25-70°C. Проліки даного винаходу, де  $R_2$  та  $R_3$  є звичайним вуглецем можна одержати шляхом реакції початкової сполуки (лікві) з бензальдегідом або кетоном або їх диметилацеталом в інертному розчиннику в присутності каталітичної кількості кислоти з вилученням сукупної води або метанолу.

Початкові матеріали та реагенти для описаних вище схем реакції (наприклад, аміни, заміщені індокарбонові кислоти, заміщені індолінкарбонові кислоти, амінокислоти) можна одержати вищезгаданими способами, однак їх легко придбати або синтезувати звичайними способами. Наприклад багато з проміжних сполук, що застосовуються для одержання сполук Формули I та IA пов'язані або одержані шляхом заміщення з амінокислот що існують в природі, і які викликають значний науковий інтерес та комерційний попит, відповідно багато проміжних сполук можна придбати в торгівлі або про них можна дізнатись з літератури або одержати з інших легко доступних речовин описаними в літературі способами.

Деякі способи одержання сполук, що описувались в даній роботі (напр сполуки Формули I, сполуки Формули IA) можуть вимагати захисту віддаленої функціональної групи. Ступінь необхідності такого захисту може бути різною в залежності від природи віддаленої функціональної групи та від умов одержання сполуки. Фахівці без особливих зусиль визначають необхідність захисту, та легко користуються способами такого захисту або його зняття. Загальний огляд захисних груп наводиться в T.W. Green, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1991.

Деякі сполуки даного винаходу мають асиметричні атоми вуглецю та енантімери або діастереомери. Діастереомеричні суміші можна розділити на окремі діастереомери на основі їх фізико-хімічної різноманітності, застосовуючи добре відомі способи, наприклад, шляхом хроматографії та/або фракціональної кристалізації. Енантіомери можна розділити шляхом перетворення енантіомеричної суміші в діастереомеричну суміш в ході реакції з відповідною оптично активною сполукою (напр спирт), розділення діастереомерів і перетворення (напр гідроліз) окремих діастереомерів у відповідні чисті енантіомери. Всі такі ізомери, включаючи діастереомери, енантіомери та їх суміші вважаються частиною даного винаходу.

Багато сполук даного винаходу є кислотними і утворюють сіль з фармацевтичне прийнятною дією. Деякі із сполук даного винаходу є основними і утворюють сіль з фармацевтичне прийнятною дією. Всі ці солі входять в рамки даного винаходу і їх можна одержати звичайними способами. Наприклад їх можна одержати шляхом простого контакту кислотної речовини з основою, як правило в стехіометричній пропорції, у водному, безводному або частково водному середовищі.

Солі відокремлюються фільтрацією, осадженням нерозчинником з подальшою фільтрацією, випарюванням розчинника або, у випадку водних розчинів, ліофілізацією.

Крім того, якщо сполуки даного винаходу утворюють гідрати або солвати, то вони також входять в рамки даного винаходу.

Застосування сполук даного винаходу як медичних агентів для лікування згаданих тут хвороб у ссавців (напр людей) демонструється дією сполук даного винаходу в описаних нижче традиційних, *in vitro*, та *in vivo* тестах. Такі тести також дозволяють порівняти дію сполук даного винаходу з дією інших сполук. Результати такого порівняння застосовуються для визначення об'ємів доз для лікування згаданих хвороб у ссавців, включаючи людину.

#### Тести інгібітора альдозоредуктази

Дію інгібітора альдозоредуктази можна визначити кількістю інгібітора альдозоредуктази, необхідного для зниження рівня сорбітолу, а відтак і рівня фруктози в тканинах, у відповідності з наступним тестом.

У Sprague-Dawley щурів чоловічої статі штучно викликають діабет шляхом внутрішньовенної ін'єкції стрептозоцину в кількості 55мг/кг в pH 4.5 цитратному буфері, їх вільно годують, контролюючи умови утримання, температури, та освітлення. Після п'яти тижнів діабетного стану, щури анестезуються надмірною дозою пентобарбіталу і тканини швидко вилучаються та аналізуються на сорбітол та фруктозу.

Рівень сорбітолу аналізується у відповідності з методом Дональда Donald M. Eades et al., «Rapid Analysis of Sorbitol, Galactitol, Mannitol and Moinositol Mixtures From Biological Sources», *Journal of Chemistry*, 490 1-8, (1989).

Фруктоза в тканинах ензиматичне вимірюється, застосовуючи модифікацію методу Arneyama (*Methods in Enzymology*, 89 20-29, 1982), у відповідності з яким феріціанід заміщується резазуріном, барвником, який заміщується до високо флуоресцентного резорурфіну. Кількість флуоресцентного резорурфіну є стехіометричною кількістю фруктози окисненій деїдрогеназою фруктози. Тест включає 0.1мл нейтралізованого 6% нервового екстракту перхлоровою кислотою з кінцевим об'ємом 1.5мл. Після інкубації на протязі 60 хвилин, при кімнатній температурі в закритому ящику, визначається флуоресценція при збудженні = 560nm, емісії = 580nm з щільностями 5мм на флуоресцентному спектрофотометрі Perkin-Elmer model 650-40. Концентрація фруктози розраховується в порівнянні із серіями відомих стандартів фруктози.

#### Тести інгібітора глікогенфосфорилази

Три різні очищені ізоензими глікогенфосфорилази (ГФ), де глікогенфосфорилаза знаходиться в активному «а» стані (називається глікогенфосфорилаза а, або скорочено Гфа(ОРа), та які згадуються в даній роботі як глікогенфосфорилаза печінки людини - ГФПЛа(YLGPa), глікогенфосфорилаза м'язів людини - ГФМЛа(HMBGPa) та глікогенфосфорилаза мозку людини - ГФМЛ(HBGPa) можна одержати наступними способами.

### Експресія та фрагментація

HLGP та HMGP к ДНК експресуються з плазмиди pKK233-2 (Pharmacia Biotech Inc, Piscataway, New Jersey) в штамі E coli XL-1 Blue) (Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA) Штам інокулюють в LB середовище (містить 10г триптон, 5г дріжджового екстракту, 5г NaCl та 1мл 1N NaOH на літр) плюс 100мг/л ампіциліну, 100мг/л піридоксину та 600мг/л  $MnCl_2$  та вирощується при 37°C до щільності клітин  $OD_{550} = 1.0$  На цій стадії клітини індукуються 1мМ ізопропіл-1-тіо- $\beta$ -D-галактозиду (IPTG) Через три години після індукції клітини відокремлюються центрифугуванням і осад клітин зберігається при -70°C до необхідності очищення

HBGP кДНК можна експресувати кількома способами, наприклад, способом, описаним Крераром (Cregar et al J Biol Cytm 270 13748-13758) Метод описаний Крераром (Cregar et al J Biol Cytm 270 13748-13756) для експресії HBGP полягає в наступному HBGP кДНК експресуються з плазмидою pTACTAC в штамі E coli 25A6 Штам інокулюють в LB середовище, (яке містить 10г триптон, 5г дріжджового екстракту, 5г NaCl та 1мл 1N NaOH на літр) плюс 50 мг/л ампіциліну і вирощується протягом ночі, потім ресуспензуються в свіжому LB середовищі плюс 50мг/л ампіциліну та знову інокулюються в 40X об'єм LB/амп середовища, що містить 250рМ ізопропіл-1-тіо- $\beta$ -D-галактозиду (IPTG), 0.5мМ піридоксину та 3мМ  $MgCl_2$  і вирощується при 22°C на протязі 48-50 годин Клітини потім відокремлюються центрифугуванням і осад клітин заморожують при -70°C до необхідності очищення

HLGP кДНК експресуються з плазмидою pBlueBackII (Stratagene Corp, San Diego, CA), що котрансфекується з Baculo Gold Linear Viral ДНК (Pharmingen, San Diego, CA) в Sf9 клітини Згодом рекомбінований вірус видалається Для продукування протеїну, вирощені Sf9 клітини інфікуються поліінфекційними агентами (глої) 0.5 та при щільності клітин  $2 \times 10^6$  клітин/мл Після вирощування на протязі 72 годин при 27°C клітини центрифугують і осад клітин зберігають при -70°C до необхідності очистки Очищення Глікогенфосфорилази експресованої в E Coli

Осад клітин E coli, описаний вище, ресуспензують в 25мМ  $\beta$ -глицерофосфату (pH 7.0) з 0.2мМ DTT, 1мМ  $MgCl_2$ , плюс наступні інгібітори протеаз

0.7сг/мл Пепстатин А

0.5м/мл Леупептин

0.2мМ фенілметилсульфоніл фторид (PMSF)

0.5мМ EDTA

лізуються попередньою обробкою 200м/мл ліозиму та 3м/мл ДНКаз, після чого проводиться руйнування ультразвуком в порціях по 250мл на протязі 5X15 хвилин на льоду, застосовуючи Branson Model ультразвуковий розщеплювач клітин (Branson Sonic Power Co, DanburyCT) Потім лізати клітин E coli відокремлюються центрифугуванням при 35,000 обертах на протязі години, після чого проводиться фільтрація через 0.45 мікронні фільтри GP в розчинній фракції лізатів (за оцінкою менше 1% загальних протеїнів) очищається шляхом моніторингу

активності ензиму (як це описано нижче в розділі Аналіз активності GPa) з серії хроматографічних етапів, описаних нижче і мобілізована металафінна хроматографія (IMAC)

Дана стадія ґрунтується на методі Луонга (Luong et al Journal of Chromatography(1992) 584, 77-84) 500мл відфільтрованих розчинних фракцій лізатів клітин (одержаних з приблизно 160-250г оригінального осаду клітин) завантажуються в 130мл колонку IMAC Chelating - Sepharose (Pharmacia LKB Biotech Inc, Piscataway, New Jersey), в яку вже закладено 50мМ  $CuCl_2$  та 25мМ  $\beta$ -глицерофосфату, 250мМ NaCl та 1мМ імідазолу при pH 7 збалансованого буферу Колонка промивається врівноважувачим буфером, поки  $A_{280}$  не повернеться до основного значення Потім пробу елюють з колонки, застосовуючи такий же самий буфер, що містить 100мМ імідазолу, для того щоб відокремити зв'язану G P та інші зв'язані протеїни Після цього об'єднуються фракції з GP активністю (приблизно 600мл) та додаються етилендіамінтетрацтова кислота (EDTA), DL-дитіотреїтол (DTT) фенілметилсульфоніл фторид (PMSF), леупептин та пепстатин А, для одержання відповідно 0.3мМ, 0.2мМ, 0.2мМ, 0.5м/мл та 0.7м/мл концентрацій Об'єднана GP обезсоплюється над Sephadex G-25 колонкою (Sigma Chemical Co, St Louis, Missouri) врівноважується за допомогою 25мМ Tris HCl (pH 7.3), 3мМ DTT буфером (Буфер А) для вилучення імідазолу і зберігається на льоду до другого етапу хроматографії  $\beta'$ -AMF-Sepharose хроматографія

Об'єднана обезсоплена ГФ проба (приблизно 600мл) змішується з 70мл 5'-AMF-Sepharose (Pharmacia LKB Biotech Inc, Piscataway, New Jersey), яка була врівноважена Буфером А (див вище) Суміш злегка збовтується на протязі години при 220°C, потім закладається в колонку і промивається Буфером А, поки  $A_{280}$  не повернеться до основного значення ГФ та інші протеїни елюються з колонки за допомогою 25мМ Tris-HCl, 0.2мМ DTT та 10мМ аденозин 5'-монофосфату (AMF) при pH 7.3 (Буфер В) Фракції, що містять ГФ збираються після ідентифікації шляхом визначення активності ензиму (описується нижче) і візуалізації  $M_r$  приблизно 97кД полюс ГФ протеїну, шляхом електрофорезу поліакриламідного гелю сульфат додецил натрію (SDS-PAGE), після чого проводиться забарвлення сріблом (2D-silver StainII «Daichi Kit», Daichi Pure Chemicals Co, LTD, Tokyo, Japan) і потім діалізується Об'єднана ГФ діалізується в 25мМ  $\beta$ -глицерофосфату, 0.2мМ DTT, 0.3мМ EDTA, 200мМ NaCl, pH 7.0 буфер (Буфер С) і зберігається на льоду до застосування

Перед застосуванням ГФ ензиму, ензим перетворили з неактивної форми, яку він мав після експресії в штамі E coli XL-1 Blue, (позначений ГФб) (Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA), в активну форму (позначений ГФа), застосовуючи спосіб описаний в розділі (А)-Активція ГФ

Очищення Глікогенсфосфорилази експресованої в Sf9 клітинах

Sf9 клітини в осаді, що описувались вище, ресуспензуються в 25мМ  $\beta$ -глицерофосфату (pH 7.0), застосовуючи 0.2мМ DTT, 1мМ  $MgCl_2$ , плюс

наступні інгібітори протеаз

0 7μ/мл Пепстатин А

0 5μ/мл Леупептин

0 2мМ фенілметилсульфоніл фторид(PMSF)

0 5мМ EDTA,

лізуються попередньою обробкою 3μ/мл ДНК-азою, після чого проводиться руйнування ультразвуком в порціях на протязі 3 X 1 хвилин на льоду, застосовуючи Branson Model ультразвуковий розщеплювач клітин (Branson Sonic Power Co., Danbury CT) Потім лізати Sf9 клітин відокремлюються центрифугуванням при 35,000 обертань на протязі години, після чого проводиться фільтрація через 0 45 мікронні фільтри ГФ в розчинній фракції лізатів (за оцінкою менше 1,5% всіх протеїнів) очищається шляхом моніторингу активності ензиму (як це описано нижче в розділі Аналіз активності ГФа) з серії хроматографічних етапів, описаних нижче

Імобілізована метал-афінна хроматографія(IMAC)

Хроматографія імобілізованої спорідненості металу проводиться так, як це описувалось вище Потім, об'єднана, обезсолена ГФ зберігається на льоду до подальшого процесу

Активация ГФ

Перед подальшою хроматографією, фракція неактивного ензиму, такого яким він був експресований в Sf9 клітинах (обозначається ГФb) перетворюється в активну форму (обозначається ГФа), застосовуючи спосіб описаний в Розділі (A) Активация ГФ

Аніон-обмінна хроматографія

Після активації І MAC очищеної ГФb до ГФа шляхом реакції з (імобілізованою кіндою фосфорілази, об'єднані ГФа фракції діалізуються проти 25мМ Tris-HCl, pH 7 5, що містить 0 5мМ DTT, 0 2мМ EDTA, 1 0мМ фториду фенілметилсульфонілу(PMSF), 1 0μ/мл пепстатину А Потім зразок поміщається в MonoQ аніон-обмінну хроматографічну колонку(PHATASIA Biotech Inc., Piscataway, New Jersey) Колонка промивається зрівноважуючим буфером, поки A<sub>280</sub> не повернеться до основного значення Потім зразок елююється з колонки лінійним градієнтом 0-0 25М NaCl для вилучення зв'язаної ГФ та інших зв'язаних протеїнів Фракції, що містять ГФ елюються в межах між 0 1-0 2М NaCl, як це було визначено моніторингом елюенту в момент піку оптичної густини протеїну при A<sub>280</sub> Після цього ГФ протеїн ідентифікується візуалізацією M<sub>r</sub> приблизно 97кД полюс ГФ протеїну електрофорезом поліакриламідного гелю сульфат додецилу натрію з наступним забарвленням сріблом (2D-silver StainII «Daichi Kit», Daichi Pure Chemicals Co., LTD, Tokyo, Japan) і потім об'єднується Зібрана ГФ діалізується в 25мМ N,N-bis[2-(Гідроксиметил)-2-аміноетансульфонової кислоти, 1 0мМ DTT, 0 5мМ EDTA, 5мМ NaCl, pH 6 8 буфер та зберігається на льоду до застосування

Визначення активності ензиму ГФ

А) активация ГФ перетворення ГФb в ГФа

Перед визначенням активності ГФ ензиму, ензим переводиться з неактивної форми, яку він мав після експресії в штамі E coli XL-1 Blue, (позначений ГФb) (Stratagene Cloning Systems, La

Jolla, CA), в активну форму (позначений ГФа) фосфорилуванням GP фосфорилкіназою, як викладено нижче Фракція неактивного ензиму, експресованого в Sf9 клітинах (позначений ГФb) також перетворюється в активну форму (позначена ГФа), застосовуючи наступний спосіб Реакція ГФ з Імобілізованою Кіназою Фосфорілази

Кіназа фосфорілази (Sigma Chemical Company, St Louis, MO) імобілізували на Affi-Gel 10 (BioRad Corp., Melville, NY) відповідно інструкціям виробника Якщо говорити коротко, то ензим кінази фосфорілази (Юмг) інкубується з промитими Affi-Gel гранулами(імг) в 2 5мл 100мМ HEPES і 80мМ CaCl<sub>2</sub> при pH 7 4 на протязі 4 годин при 4°C Потім гранули Affi-Gel промивали таким же самим буфером і перед блокуванням з 50мМ HEPES та 1М гліцинметилового ефіру при pH 8 на протязі 1 години при кімнатній температурі Блокуючий буфер випускається і заміщується 50мМ HEPES (pH 7,4) 1мМ β-меркаптоетанолу та 0,2% NaN<sub>3</sub> для зберігання Перед застосуванням, для того щоб перетворити ГФb в ГФа, гранули Affi-Gel імобілізованої кінази фосфорілази врівноважуються шляхом промивання в буфері, який використовується для здійснення реакції кінази і складається з 25мМ β-гліцерофосфату, 0 3мМ DTT та 0 3мМ EDTA при pH 7 8 (тестовий буфер кінази)

Часково очищена неактивна ГФb, що була одержана після хроматографії 5'-AMF-Sepharose, яка згадується вище (з E coli) або суміш ГФа та ГФb одержується після І MAC, що згадується вище (з Sf9 клітин), розбавляються 1 10 кіназним тестовим буфером, а потім змішуються із згаданим вище ензимом кінази фосфорілази, імобілізованим на Affi-Gel гранулах Добавляється NaATP до 5мМ та MgCl<sub>2</sub> до 6мМ Одержана суміш обережно перемішується при 25°C 30-60хвилин Зразок випускається з гранул, після чого оцінюється відсоток активації ГФb при перетворенні в ГФа шляхом визначення активності ГФ ензиму в присутності і у відсутності 3 3мМ AMF Потім розраховується відсоток активності загального ензиму ГФ завдяки активності ГФа ензиму(AMF-залежний), для цього застосовується наступна формула

$$\% \text{ загальної HLGP} = \frac{\text{HLGP активність} - \text{AMP}}{\text{HLGP активність} + \text{AMP}}$$

Альтернативно, перетворення ГФb в ГФа можна монітувати шляхом ізоелектричного фокусування в основі якого лежить зміна електрофазної мобільності, яка спостерігається після перетворення ГФb в ГФа Зразки ГФ аналізуються шляхом ізоелектричного фокусування (ІЕФ) застосовуючи Pharmacia PfastGel System (Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, New Jersey), фабричні гелі (pI межа 4-6 5) та рекомендований виробником спосіб Розірвані ГФb та ГФа візуалізуються на гелях шляхом забарвлення сріблом (2D-silver StainII «Daichi Kit», Daichi Pure Chemicals Co., LTD, Tokyo, Japan) Ідентификація ГФb та ГФа здійснюється шляхом порівняння із стандартами одержаних із E coli ГФb та ГФа, яке проводиться

паралельно, із застосуванням таких же самих гелів, що і для експериментальних зразків. Аналіз активності ГФа

Захворювання/стан лікування/профілактика вивплена в даній роботі для сполук інгібітора глікогенфосфорилази, може бути опосередковано визначена оцінюванням впливу сполук даного винаходу на активність активованої форми глікогенфосфорилази (ГФа) застосовуючи один з двох методів, активність глікогенфосфорилази а вимірюється шляхом моніторингу утворення глюкозо-1-фосфату з глікогену або, в ході зворотної реакції, шляхом вимірювання синтезу глікогену з глюкозо-1 -фосфату, виходячи з кількості вивільнених неорганічних фосфатів. Всі реакції можуть проводитись на 96-коміркових мікротитрованих пластинах і зміна оптичної густини, завдяки утворенню продукту реакції, вимірюється по довжині хвилі, як це описується нижче, на MCC/340 MK II Elisa Reader (Lab Systems, Finland) зв'язаним з Titertech Microplate Stacher (ICN Biomedical Co, Huntsville, Alabama).

Для того щоб виміряти активність ензиму ГФ з напрямком вперед, проводиться моніторинг утворення глюкозо-1-фосфату з глікогену застосовуючи мультиензимний загальний метод Pesce (Pesce M A, Bodourian, S H Harris, R C та Nicholson O F (1977) Clinical Chemistry 23, 1711-1717) модифікований наступним способом від 1 до 100μг ГФа, 10 одиниць фосфоглюкомутази та 15 одиниць деїдрогенази глюкозо-6-фосфату (Boehringer Mannheim Biochemicals, Indianapolis, IN) розбавляються до 1мМ в Буфері А.

Буфер А має рН 7.2 і містить 50мМ HEPES, 100мМ KCl, 2.5мМ етиленглікогелтетраоцтової кислоти (EGTA), 2.5мМ MgCl<sub>2</sub>, 3.5мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> та 0.5мМ дитіотреїтолу. 20μл цієї речовини додається до 80шл Буфера А, що містить 0.47мг/мл глікогену, 9.4мМ глюкози, 0.63мМ окисненої форми нікотинамід аденін динуклеотид фосфату (НАДФ<sup>+</sup>). Сполуки, які підлягають аналізу, додаються як 5μл розчин в 14% диметилсульфоксиді (ДМСО) перед доданням ензиму. Основний ступінь активності ензиму ГФа при відсутності інгібіторів, визначається шляхом додавання 5шл 14% диметилсульфоксиду (ДМСО) і ступінь повного інгібування активності ГФа визначається шляхом додавання 20μл 50мМ тестової речовини позитивного контролю, кофеїну. Реакція контролюється при кімнатній температурі шляхом вимірювання конверсії окисненого НАДФ<sup>+</sup> у відновлений НАДФ при 340нм.

Для визначення активності ензиму ГФ в зворотньому напрямку, вимірюється конверсія глюкозо-1 -фосфату в глікоген плюс неорганічний фосфат, застосовуючи загальний метод описаний Енгерсом (Engers, H D, Shechosky, S та Madsen, N B (1970) Con J Biochem 48, 746-754) який модифікується наступним способом від 1 до 100μг ГФа розбавляються до 1мл в Буфері В.

Буфер В має рН 7.2 і містить 50мМ HEPES, 100мМ KCl, 2.5мМ EGTA 2.5мМ MgCl<sub>2</sub> та 0.5мМ дитіотреїтолу. 20μл цієї речовини додається до 80μл Буфера В, що містить 1.25мг/мл глікогену, 9.4мМ глюкози, 0.63мМ глюкозо-1-фосфату. Сполуки, які підлягають аналізу, додаються як 5шл

розчин в 14% ДМСО, перед тим як додати ензим. Основний ступінь активності ензиму ГФа при відсутності інгібіторів, визначається шляхом додавання 5μл 14% ДМСО і ступінь активності повністю інгібованої ГФа визначається шляхом додавання 20μл 50мМ кофеїну. Така суміш інкубується при кімнатній температурі на протязі 1 години, після чого вимірюється неорганічний фосфат, що вивільняється з глюкозо-1-фосфату, застосовуючи загальний метод Ланзетта (Lanzetta, P A, Alvarez, L J Remach, P S and Candia, O A (1979) Anal Biochem 100, 95-97) який модифікується наступним способом. 150μл 10мг/мл молібдату амонію, 0.38мг/мл зеленого малахіту в 1N HCl додаються до ензимної суміші. Після 20 хвилин інкубації при кімнатній температурі, вимірюється оптична густина при 620нм.

Згадані вище тести, виконані із залученням ряду ступенів концентрації тестової сполуки, дозволяють визначити показник IC<sub>50</sub> (концентрація тестової сполуки, що вимагає 50% інгібування) для інгібування in vivo активності ензиму ГФа, застосовуючи тестову сполуку. Тест на інсулінорезистентність.

Сполуки даного винаходу легко адаптуються для клінічного застосування як гіпоглікемічні агенти. Гіпоглікемічну активність сполук даного винаходу можна визначити по кількості тестової сполуки, необхідної для зниження рівня глюкози в порівнянні з носієм без тестової сполуки, у об/об мишей чоловічої статі. Тест також дозволяє визначити приблизну мінімальну ефективну дозу (МЕД) для зниження in vivo концентрації глюкози в плазмі даних мишей, для даних тестових сполук.

Оскільки концентрація глюкози в крові тісно пов'язана з розвитком діабетичних розладів, то дані сполуки, шляхом гіпоглікемічної дії, попереджають, затримують та/або зменшують діабетичні розлади.

П'яти-восьмитижневі миші C57BL/6J-ob-ob (одержуються з Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) чоловічої статі, розміщуються по п'ятеро в клітку, під звичайним наглядом. Після тижневої акліматизації, миші зважуються, і перед тим як почнуться будь-які процедури береться 25мклрптрів крові з ретро-орбитального синусу. Зразки крові негайно розбавляються 1:5 фізіологічним розчином, що містить 0.025% гепарину натрію, і зберігаються на льоду для метаболічного аналізу. Тварини розподіляються на групи обробки так, щоб кожна група мала однакові засоби концентрації глюкози в плазмі. Після розподілу на групи, кожний день, на протязі чотирьох днів, тваринам орально вводять носій, що містить 1) 0.25% мас/об метилцелюлози у воді без регулювання pH, 2) 0.1% Pluronic®P105 Block Copolymer Surfactant (BASF Corporation, Parsippany NJ) в 0.1% фізіологічній без регулювання pH. На п'ятий день тварини знову зважуються, а потім їм орально вводиться окремо тестова сполука або носій. Всі ліки вводяться в носії, що містить 1) 0.25% мас/об метилцелюлози у воді без регулювання pH, або 2) 10% ДМСО/0.1% Pluronic® P105 (BASF Corporation, Parsippany, NJ) в 0.1% фізіологічній без регулювання pH. Через три години

у мишей береться кров з ретро-орбітального синусу для визначення рівнів метаболіту крові. Зібрані зразки центрифугуються на протязі двох хвилин при 10,000 обертань при кімнатній температурі. Супернатант тестується на глюкозу, наприклад, застосовуючи Abbot VP™ (Abbot Laboratories, Diagnostics Division, Irving, TX) та VP Super System® Autoanalyzer (Abbot Laboratories, Irving, TX), або Abbot Spectrum CCX™ Autoanalyzer (Abbot Laboratories, Irving, TX) використовуючи реагентну систему A-Gent™ Glucose-UV Test (Abbot Laboratories, Irving, TX) (модифікація методу Піхтеріха і Даувадлера *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 101 860(1971)) (гексокіназний метод) використовуючи 100мг/дл стандарт. Потім розраховується рівень глюкози в плазмі по рівнянню Глюкоза плазми(мг/дл)=Показник зразка x 8 14, де 8 14 є фактор розбавлення, приведений у відповідність з гематокритом плазми (гематокрит 44%).

Тварини, яким давали носій, в основному зберігають незмінний гіперлікемічний рівень (наприклад більший або, що дорівнює 250мг/дл), тварини, яким вводили тестову сполуку у відповідних дозах, мають значно знижений рівень глюкози. Гіполікемічна активність тестових сполук визначається на 5-й день шляхом статистичного аналізу (непарний t-тест) середньої концентрації глюкози в плазмі між групою, якій вводили тестову сполуку і групою, якій вводили носій. Вищезгаданий тест, проведений із застосуванням ряду доз тестових сполук, дозволяє визначити приблизну мінімальну ефективну дозу для зниження in vivo концентрації глюкози.

Сполуки даного винаходу легко адаптуються для застосування як агенти для реверсії гіперінсулінемії, як агенти для зниження тригліцеридів та як гіпохолестеринемічні агенти. Таку активність можна визначити по кількості тестової сполуки, необхідної для зниження рівня інсуліну, тригліцеридів або холестерину в порівнянні з контрольним носієм без тестової сполуки, у об/об мишей чоловічої статі.

Оскільки концентрація холестерину в крові тісно пов'язана з розвитком кардіоваскулярних, церебро-васкулярних або розладів периферійних судин, то сполуки даного винаходу, шляхом гіпохолестеринемічної дії, попереджають, затримують та/або зменшують атеросклероз.

Оскільки концентрація інсуліну в крові пов'язана із прискоренням росу судинних клітин та з підвищенням рівнем затримання натрію в нирках (окрім інших факторів наприклад, стимулювання засвоєння глюкози), а як відомо ці фактори викликають гіпертензію, то сполуки даного винаходу, шляхом гіпоінсулінемічної дії, попереджають, затримують та/або зменшують гіпертензію.

Оскільки концентрація тригліцеридів та вільних жирних кислот в крові сприяє підвищенню загального рівня ліпідів в крові, то сполуки даного винаходу, шляхом дії, що знижує рівень тригліцеридів та вільних жирних кислот, попереджають, затримують та/або зменшують гіперліпемію.

Вільні жирні кислоти сприяють підвищенню

загального рівня ліпідів в крові і негативно пов'язані зі сприйнятливістю до інсуліну в численних фізіологічних та патологічних випадках.

Миші (одержуються з Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) віком від п'яти до восьми тижнів, чоловічої статі, розміщуються по п'ятеро в клітку, під звичайним наглядом, вільно годуються у відповідності із стандартною дієтою. Після тижневої акліматизації, миші зважуються, і перед тим, як почнуться будь-які процедури береться 25 мікролітрів крові з ретро-орбітального синусу. Зразки крові негайно розбавляються 15 фізіологічним, що містить 0.025% гепарину натрію, і зберігаються на льоду для аналізу глюкози в плазмі. Тварини розподіляються на групи обробки так, щоб кожна група мала схожі значення концентрації глюкози в плазмі.

Сполука, яка підлягає аналізу вводиться орально, через шлунковий зонд як 0.02%-2.0% розчин (маса/об'єм (м/о)) в 1) 10% ДМСО/0.1% Pluronic® P105 Block Copolymer Surfocant (BASF Corporation, Parsippany NJ) в 0.1% фізіологічній без регулювання pH, або 2) 0.25% м/о метилцелюлози у воді без регулювання pH. Сполуку вводять один або два рази на день на протязі від 1 до 15 днів. Контрольні миші одержують лише 10% ДМСО/0.1% Pluronic® P105 в 1% фізіологічній без регулювання pH або 0.25% в/о метилцелюлози у воді без регулювання pH.

Через три години після прийому останньої кількості, тварини умертвляються декапітацією, а кров збирається в 0.5мл пробірки сепаратора сироватки, що містять 3.6мг 11 мас/мас фтористого натрію суміш оксалату калію. Зібрані зразки центрифугуються на протязі 2 хвилин при 10,000 обертань при кімнатній температурі, після чого відділяється супернатант сироватки і розбавляється 11 об/об 1 TIU/мл розчину апротиніну в 0.1% фізіологічній, без регулювання pH.

Потім зразки розбавленої сироватки зберігаються при -80°C до аналізу. Розморожені, розбавлені зразки сироватки аналізуються на рівень інсуліну, тригліцеридів, та вільних жирних кислот. Концентрацію інсуліну в сироватці визначають застосовуючи комплект Equate® RI/INSULIN (метод подвійний антитіл), який можна придбати у Bnax, South Portland, ME. Коефіцієнт похибки становить ≤ 10%. Тригліцериди в сироватці визначаються, застосовуючи Abbot VP™ та та VP Super System® Autoanalyzer (Abbot Laboratories, Irving, TX), або Abbot Spectrum CCX™ (Abbot Laboratories, Irving, TX) застосовуючи реагентну систему A-Gent™ Triglycerides Test (Abbot Laboratories, Irving, TX) (метод парних ліпаз, модифікація методу Семпсона (Sampson et al *Clinical Chemistry* 21, 1989 (1975)). Загальний рівень холестерину в сироватці визначається застосовуючи Abbot VP™ та та VP Super System® Autoanalyzer (Abbot Laboratories, Irving, TX), або Abbot Spectrum CCX™ (Abbot Laboratories, Irving, TX) та реагентну систему A-Gent™ Cholesterol Test (Abbot Laboratories, Irving, TX) (холестерин-естераза парний метод, модифікація методу Аллана (Allain et al *Clinical Chemistry* 20, 470 (1974))), використовуючи 100 та 300мг/дл

стандарти Концентрація вільної жирної кислоти визначається, застосовуючи комплект від Amano International Enzyme Co, Inc, пристосований для роботи з Abbot VP™ та VP Super System® Autoanalyzer (Abbot Laboratories, Irving, TX), або Abbot Spectrum CCX™ Autoanalyzer (Abbot Laboratories, Irving, TX) Потім рівень інсуліну, тригліцеридів, вільних жирних кислот та загальний рівень холестерину вираховується за допомогою рівнянь,

Інсулін сироватки( $\mu\text{U}/\text{мл}$ )=Показник зразка  $\times$  2  
Тригліцериди сироватки( $\text{мг}/\text{дл}$ )=Показник зразка  $\times$  2  
Холестерин(загальний) сироватки( $\text{мг}/\text{дл}$ )=Показник зразка  $\times$  2  
Вільна жирна кислота ( $\text{цекв}/\text{л}$ )=(Показник зразка  $\times$  2, де 2 - фактор розбавлення

У тварин, яким вводили наповнювач, не спостерігалось ніяких змін, у сироватці був рівень інсуліну 275( $\mu\text{U}/\text{мл}$ ), тригліцеридів (235 $\text{мг}/\text{дл}$ ) вільних жирних кислот (1500 $\text{цекв}/\text{мл}$ ), загального холестерину (190 $\text{мг}/\text{дл}$ ), тварини, яким вводили сполуки даного винаходу в основному мали знижений рівень інсуліну, тригліцеридів, вільних жирних кислот та загального холестерину в сироватці Для тестових сполук, щодо зниження рівня інсуліну, тригліцеридів, вільних жирних кислот та загального холестерину в сироватці визначається статистичним аналізом (непарний t-тест) середньої концентрації інсуліну, тригліцеридів, вільних жирних кислот та загального холестерину між групою, що вживала тестову сполуку та групою, що вживала наповнювач

Дію сполук даного винаходу, щодо забезпечення захисту від ішемії (напр пошкодження тканин серця) можна продемонструвати *in vitro*, спираючись на публікації Бутвела Butwell et al *Am J Physiol*, 264, H1884-H1889, 1993, та Алларда, Allard et al *Am J Physiol*, 1994 267 H66-H74 Експерименти проводяться, застосовуючи препарування ізольованого серця щура, в основному так, як це описано в статті, що згадувалась вище Нормальним Sprag-Dawel щурам, чоловічої статі, у яких штучно викликають гіпертрофію серця шляхом операції по перев'язці аорти, BBW щурам з гострим діабетом або контрольним BBW щурам, попередньо вводиться гепарин (1000 $\text{u}$ ), потім пентобарбітал (65 $\text{мг}/\text{кг}$ ). Після того, як досягнута глибока анестезія, що можна визначити по відсутності рефлексу в кінцівках, серце швидко відділяють і поміщають в льодяний фізрозчин Серце ретроградно перфузується через аорту в межах 2 хвилин Темп серця та вентрикулярний тиск визначається, застосовуючи латекс балон в лівому шлуночку з трубками високого тиску, які з'єднані з трансдуктором тиску Серце перфузується розчином, що містить ( $\text{мМ}$ ) NaCl 118, KCl 4.7,  $\text{CaCl}_2$  1.2,  $\text{MgCl}_2$  1.2,  $\text{NaHCO}_3$  25, глюкозу 11 Перфузійний апарат знаходиться під жорстким температурним контролем і обладнаний ємкостями для перфузату та води, що омиває перфузійні трубки для підтримки температури серця 37°C Оксигенація перфузату здійснюється через педатричний порожньо-волоконний оксигенатор (Sariax, Terumo Corp, Tokyo, Japan)

безпосередньо проксимальне до серця Серця зазнають дві перфузійного розчину + тестова сполука на протязі 10 хвилин або більше, потім 20 хвилин глобальної ішемії і знову 60 хвилин перфузії при відсутності тестової сполуки Серцеві ритми контрольного серця і того, що оброблялось тестовою сполукою порівнюються після ішемії Тиск в лівому шлуночку контрольного і обробленого тестовою сполукою серця порівнюється після ішемії В кінці експерименту серця знову перфузуються і забарвлюються для визначення співвідношення інфарктної ділянки і ділянки з ризиком (% ІД/ДР), як це описується нижче

Терапевтичну дію сполук даного винаходу, щодо запобігання пошкодження тканин в результаті ішемічного шинсульту, можна також продемонструвати *in vivo*, опираючись на публікацію Ліу (Liu et al, *Circulation*, Vol 84, N 1 (July 1991)), що висвітлюється в даній роботі Тест *in vivo* визначає ступінь захищеності серця у групі, що одержує тестову сполуку відносно групи, що одержує солевий наповнювач Для інформації слід зазначити, що короткі періоди міокардіальної ішемії, після чого відбувається реперфузія коронарних артерій захищають серце від подальшої гострої міокардіальної ішемії (Murry et al, *Circulation* 74 1124-1133, 1986) Ознакою кардіозахисту є зменшення інфаркту міокарду Такого зменшення можна досягти фармацевтичними засобами, застосовуючи агоністи рецептора аденозину, які вводяться в вену інтактних, анестезованих кроликів, що досліджуються як *in situ* модель пре-ішемії міокарду (Liu et al, *Circulation*, 84 350-356, 1991) *In vivo* тест визначає чи можуть сполуки фармакологічно індукувати кардіозахист, тобто, зменшити розмір інфаркту міокарду, якщо їх парентально ввести інтактним анестезованим кроликам Дію сполук даного винаходу можна порівняти з пре-ішемізованими станами, застосовуючи агоніст  $\text{A}_1$  аденозину,  $\text{N}^6$ -1-(феніл-2R-ізопропіл) аденозін (ФІА), які виявились здатними стимулювати кардіозахист в інтактних анестезованих кроликах, що досліджуються *in situ* (Liu et al, *Circulation*, 84 350-356, 1991) Конкретна методологія описується нижче

Хірургія новозеландські білі кролики чоловічої статі (3-4 $\text{кг}$ ) анестезуються пентобарбіталом (30 $\text{мг}/\text{кг}$ ) Проводиться трахеотомія шляхом вентрального цервікального розрізу і кролики вентилуються 100%киснем, застосовуючи вентилятор позитивного тиску Катетери вставляються в ліву шийну вену для введення препарату, та в ліву сонну артерію для вимірів тиску крові, потім шляхом лівої торакотомії розкриваються серця і на найбільшу гілку лівої коронарної артерії надівається петля (00 шовк), ішемія викликається шляхом стискання петлі Послаблення петлі призводить до реперфузії ураженої ділянки Ознакою міокардіальної ішемії є регіональний ціаноз, ознакою реперфузії є переремія Протокол експеримент починається після того, коли хоча б на 30 хвилин стабілізуються артеріальний тиск та серцевий ритм Пре-ішемічні стани створюються подвійним

пережиманням коронарної артерії на 5 хвилин з наступною 10 хвилинною реперфузією. Фармакологічні передумови створюються шляхом подвійного впливання тестової сполуки через, наприклад, 5 хвилин та подальшого 10 хвилинного викикування перед наступним втручанням або шляхом впливання агоністу аденозину, ФІА (0.25 мг/кг). Після створення ішемічних передумов, фармакологічних передумов або при відсутності умов (контроль наповнювачем без умов) артерія пережимється на 30 хвилин, а потім реперфузується на протязі двох годин, для індукування інфаркта міокарду. Тестова сполука та ФІА розчиняються у фізіологічній або іншому придатному наповнювачі і вводяться в межах від 1 до 5 мл/кг відповідно.

Забарвлення (Liu et al, *Circulation*, 84 350-356, 1991) після двохгодинної реперфузії, серця швидко вилучаються, вишукуються на апарат Лангендорфа (Langendorf) і промиваються на протязі 1 хвилини нормальним фізіологічним, нагрітим до температури тіла (38°C). Потім шовковий шов, що застосовується як петля, міцно затягується, щоб пережати артерію і 5% суспензія флуоресцентних частинок (1-10 мкм) Duke Scientific Corp (Palo Alto, CA) впливається разом з перфузатом для забарвлення всього міокарду, окрім ділянки з ризиком (нефлуоресцентний шлуночок). Потім серця заморожуються і витримуються протягом ночі при -20° C. На наступний день серця препарують 2-х мм зрізами і забарвлюються 1% трифенілтетразолій хлоридом (TTC). Оскільки TTC реагує з живими тканинами, то забарвлення буде різним у живих тканин (червоні) і у мертвих тканин (незабарвлені). Площа інфаркту (незабарвлена) та площа з ризиком (без флуоресцентних частинок) розраховуються для кожного зрізу лівого шлуночка, застосовуючи попередньо відкалібрований аналізатор забарвлення. Щоб упорядочити розбіжності ішемічних пошкоджень на ділянках з ризиком між серцями, дані виражаються у вигляді співвідношення між інфарктною площею і площею з ризиком. Всі дані виражаються як Mean  $\pm$  Sem і статистично порівнюються застосовуючи одинарний фактор ANOVA або непарний t-тест. Значимість розглядається як  $p < 0.05$ .

Даний винахід можна випробувати на здатність редукування або запобігання ішемічних пошкоджень несерцевих тканин, наприклад мозку або печінки, застосовуючи способи, наведені в науковій літературі. Сполуки даного винаходу можна вводити застосовуючи придатний спосіб та носій, зручний час введення, а саме, перед ішемізованим нападом, під час ішемічного нападу, після ішемічного нападу (період реперфузії) або під час будь-якої іншої експериментальної стадії, що описується нижче.

Здатність даного винаходу зменшувати ішемічне пошкодження мозку можна продемонструвати, наприклад у свавців, застосовуючи метод Парка Park et al (*Ann Neurol* 1988, 24, 543-551). Якщо коротко, то у відповідності із способом Парка дорослі Sprague-Dawley щури анестезуються спочатку 2% галотаном, а потім механічною вентиляцією оксид азоту-кисень

сумішшю (70% 30%), що містить 0.5-1% галотану. Потім проводиться трахеостомія. Об'єм потоку з вентилятора регулюється так, щоб підтримувати тиск артеріального діоксиду вуглецю на рівні 35 мм рт.ст. та артеріальну оксигенацію ( $P_a O_2 > 90$  мм рт.ст.). Температура тіла контролюється ректальним термометром і підтримується на нормальному рівні шляхом зовнішнього обігріву. Потім, застосовуючи операційний мікроскоп, у тварин проводиться субтемпоральна кранісектомія, для того щоб відкрити основний ствол лівої середньої церебральної артерії (СЦА), відкрита артерія пережимється мікробіполярною коагуляцією, щоб утворити великі ділянки ішемічного пошкодження в корі головного мозку та в базальному ядрі. Після трьох годин пережимання СЦА щури глибоко анестезуються 2% галотаном і проводиться торакотомія для вливання гепаринизованого фізіологічного розчину Рідина збирається шляхом розрізу правої порожнини. Після промивання фізіологічним вводиться приблизно 200 мл 40% формальдегіду, льодяної оцтової кислоти та абсолютного метанолового розчину (FAM, 1:1:8, об/об/об), потім тварин декапітують і голови поміщаються на 24 години в фіксатор. Потім мозок вилучається, обробляється, поміщається в парафін і розсікається (приблизно 100 зрізів на мозок). Потім зрізи забарвлюються гематоксилін-еозіном або комбінацією крезолового фіолетового та блакитного Люксолу і вивчаються під світловим мікроскопом для того, щоб знайти та звірити ішемічне пошкодження застосовуючи аналізатор зображення (Napht Quantimet). Ішемізовані об'єми та площини виражаються в абсолютних одиницях ( $mm^3$  та  $mm^2$ ) та, як відсоток загального репону, що вивчається. Для сполук та способів даного винаходу щодо зменшення ішемічних пошкоджень мозку, викликаних пережиманням СЦА проявляється в зменшенні площі та об'єму відносного або абсолютного ішемічного пошкодження в зрізах мозку щурів, що одержували ліки в порівнянні із зрізами мозку контрольних щурів, які одержували плацебо.

Інші методи, які можна застосувати для демонстрації корисності даного винаходу щодо зменшення ішемічних пошкоджень описані Nakayama, et al в *Neurology* 1988, 38 1667-1673, Memezawa, et al в *Stroke* 1992, 23 552-559, Folbergrova et al в *Proc Acad Sci* 1995, 92 5057-5059, Gotti et al в *Brain Res* 1990, 552 290-307.

Корисність сполук та способів даного винаходу щодо зменшення ішемічних пошкоджень печінки можна продемонструвати, наприклад, у свавців застосовуючи метод Yokoyama et al (*Am J Physiol* 1990, 258 G564-G570). Якщо коротко, то у відповідності із способом Yokoyama голландні Sprague-Dawley щури анестезуються пентобарбіталом натрію (40 мг/кг), потім проводиться трахеотомія і тварини вентилуються кімнатним повітрям. Печінка видаляється і поміщається в середовище камери, де підтримується постійна температура 37°C і перфузується через воротну вену при постійному тиску в 15 см  $H_2O$  модифікованим, без гемоглобіну Krebs-Henseleit буфером (в мМ 118 NaCl, 4.7 KCl,

27 NaHCO<sub>3</sub> 2.5 CaCl<sub>2</sub>, 1.2 MgSO<sub>4</sub>, 1.2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05 EDTA та 11мМ глюкози, плюс 300U гепарину) РН буферу підтримується на рівні 7.4 шляхом загозовування буферу 95% O<sub>2</sub> -5% CO<sub>2</sub>. Кожна печінка перфузується при інтенсивності потоку 20мл/хв, способом одноразового проходження, на протязі 30хв промивання та зрівноваження (пре-ішемічний період), після чого настає двохгодинний період глобальної ішемії, а потім двохгодинний період реперфузії, в умовах ідентичних передішемічному періоду. Перфузат збирається в пре-ішемічний період, зразу ж після ішемічного періоду, та кожні 30хв двохгодинного періоду реперфузії. Зразки перфузату аналізуються на наявність гепатоцелюлярних ензимів, наприклад аспартат-аміно-трансферази(АСТ), аланін-аміно-трансферази(АЛТ) та лактат-дегідрогенази (ЛДГ), по яким визначається ступінь ішемічних пошкоджень тканин печінки. Дію АСТ, АЛТ та ЛДГ в перфузаті можна визначити кількома способами, наприклад, рефлектиметричним способом, застосовуючи автоматичний Kodak Ektachem 500 аналізатор, про який згадує Nakano et al (Hepatology 1995,22 539-545). Для сполук та способів даного винаходу щодо зменшення ішемічних пошкоджень печінки, викликаних пережиманням, проявляється в зменшенні виділення гепатоцелюлярних ензимів зразу ж після пережимання та/або підчас післяішемічної реперфузії, в групі щурів, що одержувала ліки в порівнянні з контрольною групою, що одержувала placebo.

Інші способи та параметри, які можна застосувати для демонстрації корисності сполук та способів даного винаходу щодо зменшення ішемічних пошкоджень печінки описуються Nakano et al (Hepatology 1995,22 539-545).

Сполуки даного винаходу можуть вводиться будь-яким способом який, бажано, забезпечував би доставку сполуки до необхідних тканин (напр печінка та/або тканини серця). Такі способи включають оральний, парентеральний, інтрадуоденальний і т.д. в основному сполуки даного винаходу вводяться одноразово (напр один раз на день) або багаторазово.

Сполуки даного винаходу є корисними для зменшення або мінімізації безпосередніх порушень в будь-яких тканинах, чутливих до ішемічних/реперфузійних пошкоджень (напр серце, мозок, легені, нирки, печінка, кишки, скелетні м'язи, сітчатка), які є результатом випадків ішемії (напр інфаркт міокарду). Тому, активні сполуки ефективно застосовуються як профілактичний засіб для запобігання тобто, зменшення або припинення, порушень в тканинах (напр серцеві тканини) у пацієнтів з ризиком ішемії. В основному сполуки даного винаходу вводяться орально але може застосовуватись і парентеральне введення (напр внутрішньовенне, внутрішньом'язове, трансдермальне, підшкірне, ректальне або інтрамедулярне) наприклад тоді, коли оральний прийом не відповідає цілям або, коли пацієнт не може проковтнути ліки. Може застосовуватись також і локальне введення, наприклад тоді, коли пацієнт страждає від шлунково-кишкових порушень або тоді, коли ліки

краще всього нанести на поверхню тканин або органу, що визначається лікарем.

Дві різні сполуки даного винаходу можуть вводиться одночасно або послідовно в будь-якому порядку або вони можуть вводиться в єдиній фармацевтичній композиції, що містить описаний вище інгібітор альдозоредуктази та описаний вище інгібітор глікогенфосфорилази.

В будь-якому випадку кількість сполуки та частота введення будуть залежати від пацієнта що лікується, гостроти захворювання, способу введення ліків, та від рішення лікаря, який прописує ліки. З огляду на різницю між пацієнтами, викладені нижче кількісні показники доз носять необов'язковий характер і лікар може титрувати кількості для досягнення необхідного терапевтичного ефекту (напр зниження рівня глюкози, інсуліну). Обмірковуючи інтенсивність лікування лікар має враховувати багато факторів, таких як вік пацієнта, хвороби, якими пацієнт хворів і якими хворіє (напр серцево судинні захворювання).

Так, наприклад, в одному з режимів введення, сполука даного винаходу може вводиться безпосередньо перед операцією на серці (напр в межах двадцяти чотирьох годин перед операцією), коли існує ризик міокардіальної ішемії. В іншому режимі сполуки можуть вводиться після операції (напр в межах двадцяти чотирьох годин після операції), коли існує ризик міокардіальної ішемії. Сполуки даного винаходу можуть також вводиться регулярно кожний день.

В основному застосовується така кількість сполуки даного винаходу, яка є достатньою для досягнення відповідного ефекту сенситивізації до інсуліну.

Інакше кажучи, застосовується кількість сполуки, яка є достатньою для досягнення нормальної біологічної дії інсуліну при «нормальній концентрації» ознакою чого буде еуглікемія, нормоглікемія, та нормальна ліпідемія (напр тригліцериди, холестерин, вільні жирні кислоти) і, крім цього нормальний тиск та нормальна толерантність до глюкози.

Застосовується також кількість сполуки, яка є ефективною для захисту від ішемії.

Застосовується також кількість інгібітора альдозоредуктази даного винаходу, яка є ефективною для прояву дій даного винаходу, наприклад, зниження рівня тригліцеридів і холестерину, а також зменшення гіперінсулінемії. В більшості випадків ефективна доза.

Інгібіторів альдозоредуктази даного винаходу становить від 0.1мг/кг/день до 100мг/кг/день в єдиних або поділених дозах, бажано від 0.1мг/кг/день до 20мг/кг/день в єдиних або поділених дозах.

В основному, для прояву дії даного винаходу, наприклад зниження рівня глюкози, тригліцеридів, вільних жирних кислот, холестерину в крові та зменшення гіперінсулінемії, ефективна доза сполук інгібітора глікогенфосфорилази даного винаходу становить від 0.005мг/кг/день до 50мг/кг/день, бажано від 0.05мг/кг/день до 25мг/кг/день, а ще краще від 0.1 до 15мг/кг/день.

Сполуки даного винаходу в основному

вводяться у вигляді фармацевтичної композиції, що містить принаймні одну із сполук даного винаходу та фармацевтичне прийнятний наповнювач або розбавник. Таким чином сполуки даного винаходу можуть вводиться окремо або разом в будь-якій оральній, парентеральній або трансдермальній формі дозування.

Для орального прийому фармацевтична композиція може мати форму розчинів суспензій, таблеток, капсул, порошоків і т.д. Таблетки, що містять різноманітні наповнювачі, такі як цитрат натрію, карбонат кальцію, та фосфат кальцію застосовуються паралельно з різними дезінтегруючими агентами, такими як крохмаль і бажано картопляний або тапіоковий та деякі складні силікати, разом із зв'язувачими агентами, такими як полівінілпіролідон, сахароза, желатин та гуміарабік. Для виготовлення таблеток дуже часто стають в пригоді такі змащувальні реагенти як стеарат магнію, лаурил-сульфат натрію та тальк. Тверді суміші подібного типу застосовуються також для наповнення твердих та м'яких желатинових капсул, в зв'язку з цим перевага надається таким матеріалам як лактоза або молочний цукор, а також поліетиленгліколь з високою молекулярною масою. Якщо для орального прийому необхідні водні суспензії та/або еліксири, сполуки даного винаходу можуть поєднуватись з різноманітними підсопложувачами, смаковими агентами, барвниками, емульгаторами та/або суспензгаторами, а також з такими розчинниками як вода, етанол, пропіленгліколь, гліцерин та їх сполуки.

Для парентерального введення застосовуються розчини в сезамовому чи арахисовому маслі або у водному пропіленгліколі, а також стерильні водні розчини відповідних розчинних у воді солей. При необхідності, такі водні розчини можна відповідним чином буферувати, а рідкий розчин перевести в ізотонічний достатньою кількістю солі або глюкози. Подібні водні розчини особливо придаті для внутрішньовенних, внутрішньом'язових, підшкірних та інтраперитонеальних ін'єкцій. Вищезгадане, стерильне водне середовище, легко одержується звичайними, добре відомими фахівцям способами. Для трансдермального введення застосовуються розбавлені, стерильні, водні або частково водні розчини (звичайно з концентрацією від 0.1% до 5%) подібні до описаних вище.

Способи одержання різноманітних фармацевтичних сполук з певною кількістю активного інгредієнту вже відомі фахівцям або стануть зрозумілими з пояснень даної роботи. Для довідок щодо способів одержання фармацевтичних сумішей дивіться Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easter, Pa., 15<sup>th</sup> Edition (1975).

Фармацевтичні композиції винаходу можуть містити 0.1%-95% сполук(и) винаходу, бажано 1%-70%. В будь-якому випадку композиція або склад, що вводиться, буде містити сполуку(и) винаходу в кількості, що є достатньою для ефективного лікування хвороби/стану у пацієнта.

Оскільки один з аспектів даного винаходу пов'язаний з лікуванням, наприклад, стану

інсулінорезистентності шляхом введення комбінації активних інгредієнтів, які можуть вводиться і окремо, то винахід також пов'язаний і з комбінуванням окремих фармацевтичних композицій в одному комплекті. Комплект складається з двох окремих фармацевтичних композицій інгібітора альдозоредуктази та інгібітора глікогенфосфорилази, що описувались вище. Комплект включає контейнер для розміщення окремих композицій, такий як наприклад пляшка або пакет з перегородкою. Як правило до комплекту входить інструкція щодо введення окремих компонентів. Комплект особливо зручний в тих випадках, коли окремі компоненти вводяться в різних дозованих формах (напр оральна і парентеральна), через різні відрізки часу, або якщо за рішенням лікаря необхідно титрувати компоненти сполуки.

Прикладом подібного комплекту може бути так званий блістер пакет. Блістер пакети добре відомі в пакувальній промисловості і широко застосовуються для пакування одиничних форм (таблетки, капсули і т.д.). Блістер пакети складаються з листа відносно цупкого матеріалу покритого пластикою, бажано прозорою плівкою. Під час пакування на пластиковій плівці робляться заглиблення. Заглиблення мають розміри і форму таблеток або капсул. Потім таблетки або капсули поміщуються в заглиблення і запечатуються цупким матеріалом. В результаті, таблетки або капсули опиняються в заглибинах між пластикою плівкою і листом. Бажано, щоб міцність листа була такою, щоб таблетки або капсули можна було легко випучати натисканням на пластикову плівку в місці заглиблення розриваючи лист.

Може виникнути необхідність додати до комплекту пам'ятку, наприклад, напроти таблеток або капсул нанести числа, що вказують дату, коли слід приймати форму дозування. Іншим прикладом пам'ятки може бути календар надрукований на картці. Напр "Перший тиждень, Понеділок, Вівторок і т.д. Другий тиждень, Понеділок, Вівторок, »

«Щоденною дозою» може бути одна таблетка або капсула або декілька таблеток або капсул, що приймаються в певний день. Також сполука Формули 1 і проліки або фармацевтично прийнятна сіль згаданої сполуки або згаданих проліків може складатись з однієї таблетки або капсули, в той час як щоденна кількість другої сполуки може складатись з декількох таблеток або капсул і навпаки. Про це слід нагадувати в пам'ятці.

Ще один специфічний комплект даного винаходу включає роздатчик призначений для розподілення щоденних доз у відповідності з графіком їх введення. Бажано щоб роздатчик мав пам'ятку для ще більш ретельного дотримання режиму. Прикладом такої пам'ятки може бути механічний лічильник, що відмічає кількість виданих доз. Ще одним прикладом пам'ятки може бути мікрочип пам'яті, що працює від електричної батарейки і з'єднаний з монітором на рідких кристалах або пристроєм голосового нагадування, який, наприклад, зчитує дату, коли була прийнята

остання щоденна доза та/або нагадує коли слід приймати наступну

Сполуки даного винаходу окремо, або в комбінації один з одним чи з іншими сполуками вводяться в загальноприйнятних композиціях. Наступні приклади композицій є ілюстративними і даний винахід не обмежується лише ними.

В наступних композиціях «активний інгредієнт» означає сполуку даного винаходу, а відтак відноситься до інгібітора альдозоредуктази, інгібітора глікогенфосфорилази або їх комбінацій.

#### Рецептура 1 Желатинові капсули

Тверді желатинові капсули одержуються, застосовуючи наступні інгредієнти

Інгредієнт	Кількість (мг/капс)
Активний інгредієнт	0 25-100
Крохмаль NF	0-650
Сипучий порошок крохмалю	0-50
Силіконова рідина 350 сантістокс	0-15

Таблетки готують, застосовуючи наступні інгредієнти. Рецепт 2 Таблетки

Інгредієнт	Кількість (мг/таблетка)
Активний інгредієнт	0 25-100
Целюлоза, мікрокристаліч	200-650
Діоксид Силікону	10-650
Стеарова кислота	5-15

Компоненти змішуються і пресуються в таблетки.

Альтернативно, таблетки, кожна з котрих містить 0 25-100мг активних інгредієнтів виготовляються наступним способом.

#### Рецептура 3 Таблетки

Інгредієнт	Кількість (мг/таблетка)
Активний інгредієнт	0 25-100
Крохмаль	45
Целюлоза, мікрокристаліч	35
Полівінілпіролідон(10% розчин у воді)	4
Натрій карбоксиметилцелюлоза	4 5
Стеарат магнію	0 5
Тальк	1

Активні інгредієнти, крохмаль та целюлоза пропускаються через сито з вічками №45 США та ретельно перемішуються. Розчин полівинілпіролідону змішується з одержаними порошками і пропускається через сито з вічками №14 США. Виготовлені таким способом гранули активних інгредієнтів, котрі пропускаються через сито з вічками №18 США. Карбоксиметил крохмаль натрію, стеарат магнію і тальк, попередньо пропущені через сито з вічками №60 США, додаються до гранул, які після змішування пресують в таблетки.

Суспензія, кожна котрих містить 0 25-100мг активного інгредієнту на 5мл виготовляються наступним способом.

#### Рецептура 4 Суспензія

Інгредієнт	Кількість (мг/5мл)
Активний інгредієнт	0 25-100
Натрій карбоксиметилцелюлоза	50
Сироп	1 25
Розчин бензойної кислоти	0 10
Смакова добавка	q v
Барвник	q v
Очищена вода	5мл

Активні інгредієнти пропускаються через сито з вічками №45 США і змішуються з натрієм карбоксиметилцелюлозою і сиропом, для того щоб одержати однорідну пасту. Розчин бензойної кислоти, смакова добавка та барвник розбавляються водою і додаються при перемішуванні. Для доведення до необхідного об'єму додається вода. Аерозольний розчин містить наступні інгредієнти. Рецепт 5 Аерозоль

Інгредієнт	Кількість(%від ваги)
Активний інгредієнт	0 25
Етанол	25 75
Пропеллент 22 (хлордифторметан)	70 00

Активний інгредієнт змішується з етанолом і суміш додається до порції пропелленту 22, охолоджується до 30°C і подається на пристрій для наповнення. Необхідна кількість препарату загрузається в сталений нержавіючий контейнер і розбавляється залишками пропелленту. Після цього до контейнера додають розпилювач. Супозиторії (свечки) виготовляються наступним способом. Рецепт 6 Супозиторії

Інгредієнт	Кількість (мг/супозиторій)
Активний інгредієнт	250
Насичені гліцериди жирної кислоти	2,000

Активний інгредієнт пропускається через сито з вічками №60 США і суспензується в насичених гліцеридів жирної кислоти, попередньо розплавлених при мінімально необхідній температурі. Суміш виливається в супозиторну форму з номінальною ємністю 2гр і охолоджується.

Дозована форма для внутрішньовенного введення одержується наступним способом. Рецепт 7 розчин для внутрішньовенного введення

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	20
Ізотонічний фізіологін	1,000

Розчин згаданих інгредієнтів вводиться пацієнту внутрішньовенно із швидкістю 1мл на хвилину.

Згаданий активний інгредієнт може бути комбінацією агентів.