



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **102216** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)
C07D 309/30 (2006.01)
C07C 327/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2009 01334	(72) Винахідник(и):	Уоллейс Джон Л. (СА), Чіріно Джузеппе (ІТ), Сантагада Вінченцо (ІТ), Кальєндо Джузеппе (ІТ)
(22) Дата подання заявки:	18.07.2007	(73) Власник(и):	АНТІБ ТЕРАПЬЮТІКС ІНК., 3553-31 Street NW, Calgary, Alberta T2L 2K7, Canada (CA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	25.06.2013	(74) Представник:	Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	60/807,639, 60/887,188	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2007 197479 A1; 23.08.2007 US 2006 0270635 A1; 30.11.2006 WO 2006 125293 A1; 30.11.2006 WO 2006 125295 A1; 30.11.2006 US 6 869 974 B1; 22.03.2005 Eva S. Istvan and Johann Deisenhofer "Structural Mechanism for Statin Inhibition of HMG-CoA Reductase" // Science 2001: 292, 1160-1164. LEFFLER ET AL.: 'Carbamate Antimalarials' JACS vol. 70, no. 10, pages 3439 - 3442
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	18.07.2006, 30.01.2007		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	12.05.2009, Бюл.№ 9		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.06.2013, Бюл.№ 12		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/CA2007/001273, 18.07.2007		

(54) 4-ГІДРОКСИТІОБЕНЗАМІДНІ ПОХІДНІ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

(57) Реферат:

Винахід стосується похідних статинів, що включають H₂S-вивільняючий фрагмент 4-оксибензтіоамідної групи, який або ковалентно зв'язаний з лікарською речовиною, або утворює сіль з лікарською речовиною.

UA 102216 C2

Опис

Ця заявка опублікована як часткове продовження заявки РСТ/CA2006/000484, опублікованої 31 березня 2006, за якою був заявлений пріоритет на основі заявки РСТ/CA2005/000819, опублікованої 27 травня 2005. Далі, ця заявка являє собою часткове продовження заявки на патент США 11/759154, яка являє собою часткове продовження заявки РСТ/CA2006/000484 і за якою був заявлений пріоритет на основі попередньої заявки на патент США №60/804067, опублікованої 6 червня 2006. Далі, за цією заявкою заявлений пріоритет на основі попередніх заявок на патент США №№ 60/807639, опублікованої 18 липня 2006, і 60/887188, опублікованої 30 січня 2007.

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Даний винахід стосується похідних лікарських речовин, що вивільняють сірководень (H_2S), які мають поліпшену активність і/або зменшені побічні ефекти. Зокрема, даний винахід стосується похідних лікарських речовин, що включають H_2S -вивільняючий фрагмент 4-гідрокситіобензаміду, або ковалентно пов'язаний з лікарською речовиною, або створюючий сіль з лікарською речовиною.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Оксид азоту (NO) і монооксид вуглецю (CO), що синтезуються, відповідно, з L-аргініну під дією NO-синтетази і з гема під дією оксигенази гема, являють собою, відповідно, добре відомі нейромедіатори і також беруть участь в регуляції судинного тону. Нещодавні дослідження допускають, що сірководень (H_2S) являє собою третій газоподібний медіатор ссавців. H_2S синтезується з L-цистеїну або під дією цистатіонін бета-синтетази (CBS) або цистатіонін гамма-ліази (CSE), обидва ферменти використовують піридоксаль 5'-фосфат (вітамін B6) як кофактор.

Передбачається, що H_2S збуджує АТФ-чутливі калієві канали (K_{ATP}) в гладких м'язових клітинах судин, нейронах, кардіоміоцитах і панкреатичних бета-клітинах. На додаток, H_2S може реагувати з реакційноспроможними кисневими і/або азотними молекулами, обмежуючи їх токсичні ефекти і також пом'якшуючи їх фізіологічні функції, діючи аналогічно оксиду азоту.

Недавні дослідження показали, що H_2S бере участь в регуляції судинного тону, скороченнях міокарда, нейротрансмісії і секреції інсуліну. Недолік H_2S спостерігається в різних тваринних моделях артеріальної і легеневої гіпертензії, хвороби Альцгеймера, пошкодження слизової оболонки шлунка і цирозу печінки. Передбачається, що екзогенний H_2S поліпшує стан при міокардіальній дисфункції, пов'язаний з ішемією/реперфузійним пошкодженням і зменшує пошкодження слизової шлунка, зумовлене протизапальними лікарськими речовинами.

Більш конкретно, недавно спостерігали, що H_2S приводить в дію протизапальну і анальгезуючу активності. H_2S являє собою ендогенну сполуку, що продукується в численних тканинах і впливає на численні функції (Wang, Two's company, three's a crowd: can H_2S be the third endogenous gaseous transmitter? FASEB J. 2002; 16: 1792-1798). Також, як було показано, він являє собою вазодилатор і може придушувати адгезію лейкоцитів до ендотелію судин (Wang, 2002; Fiorucci et al., Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. Gastroenterology. 2005; 129: 1210-1224). Далі, Fiorucci et al. (2005) було продемонстровано, що попередня обробка донором H_2S може зменшувати тяжкість зумовленого NSAID шлункового пошкодження на щурах.

Передбачається, що продукція ендогенного H_2S змінюється при багатьох хворобах. Крім того, рівні H_2S можуть залежати від лікарських речовин, що застосовуються в цей час. Наприклад, ацетилсаліцилова кислота і нестероїдні протизапальні лікарські речовини (NSAID), як було показано, мають переважний ефект на CSE- H_2S шлях в слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту (Fiorucci, S. et al.). Цей ефект може робити внесок в пошкодження слизової оболонки шлунка, зумовлене цими лікарськими речовинами. Таким чином, фармакологічна модуляція рівнів H_2S може мати значний терапевтичний потенціал.

Також передбачається, що H_2S може грати роль при серцево-судинній патології і, як такий, його рівень повинен досліджуватися у пацієнтів з різним факторами ризику атеросклерозу, такими як артеріальна гіпертензія, гіперліпідемія, цукровий діабет, і т.д. Показано, що H_2S гаситься реакційноспроможними частками кисню (ROS) (Whiteman, M. et al., The novel neuromodulator hydrogen sulfide: an endogenous peroxynitrate 'scavenger'?, J Neurochem. 2004; 90: 765-768), і обговорюється важлива роль окислювального стресу при численних хворобах, таких як атеросклероз, артеріальна гіпертензія, хвороба Альцгеймера, і т.д., передбачається, що надмірна продукція ROS може викликати дефіцит H_2S .

Бета-блокатори, які застосовуються для лікування ангіни, гіпертонії і серцевої аритмії, виявляють респіраторні побічні ефекти, такі як задишка, бронхостеноз, і т.д., і, отже, можуть викликати проблеми у пацієнтів, схильних до астми, бронхіту, і подібному. Отже, бета-блокатори додатково погіршують стан при респіраторних хворобах, таких як астма. Однак у

астматичних пацієнтів повинні застосовуватися зменшені дози згаданих лікарських речовин для того, щоб не наражати на додаткову небезпеку функцію дихання. Таким чином, ефективність бета-блокаторів є зменшеною.

5 Антитромботичні засоби, такі як, наприклад, дипіридамо́л, аспірин, і т.д., що застосовуються для профілактики тромбозних явищ, мають ряд побічних ефектів, таких як біль в шлунку, нудота і інші ускладнення відносно шлунково-кишкового тракту. У пацієнтів, що мають патології, пов'язані з окислювальним стресом, терапевтична дія або переносимість цих лікарських речовин, як у випадку аспірину, значно зменшені.

10 Бронходилататори, наприклад, салбутамол, і т.д., застосовуються при лікуванні астми і бронхіту і лікарські речовини, активні у відношенні холінергічної системи, застосовуються при патологіях, таких як нетримання сечі. Їх введення може викликати побічні ефекти, що ушкоджують серцево-судинну систему пацієнта, викликаючи проблеми як у серцево-судинних, так і гіпертензивних пацієнтів.

15 Відхаркувальні і муколітичні засоби, які застосовуються в терапії запальних станів органів дихання, можуть призводити до збільшення печії і роздратування шлунка, особливо у пацієнтів немолодого віку.

Інгібітори резорбції кістки, такі як дифосфонати (наприклад, алендронат, і т.д.) являють собою лікарські речовини, що мають високу шлунково-кишкову токсичність.

20 Інгібітори фосфодієстерази, такі як, наприклад, силденафіл, запринаст, що використовуються при лікуванні серцево-судинних і респіраторних захворювань, характеризуються аналогічними проблемами, такими як переносимість і/або ефективність, зокрема, в патологічних станах при окислювальному стресі.

Протиалергічні лікарські засоби, наприклад, цетиризин, монтелукаст, і т.д. мають подібні проблеми в згаданих патологічних станах, особливо відносно їх ефективності.

25 Антиангіотензинові засоби, такі як АСОВІ-інгібітори, наприклад, еналаприл, каптоприл, і т.д., і інгібітори рецепторів, наприклад, лозартан, і т.д., застосовуються при лікуванні серцево-судинних захворювань. Ці лікарські речовини можуть викликати респіраторні побічні ефекти (тобто, кашель, і т.д.), зокрема, в патологічних станах при окислювальному стресі.

30 Антидіабетичні лікарські речовини, як інсулін-сенситілізуючі, так і викликаючі гіпоглікемію, такі як, наприклад, сульфонілсечовини, толбутамід, гліпирід, гліклазид, глібурид, нікотинамід і т.д., неефективні при профілактиці ускладнень при діабеті. Їх введення може давати побічні ефекти, такі як, наприклад, пошкодження шлунка. Ці явища стають більш інтенсивними при патологічних станах окислювального стресу.

35 Антибіотики, наприклад, ампіцилін, кларитроміцин, і т.д., і протівірусні засоби, наприклад, ацикловір, і т.д., виявляють проблеми відносно їх переносимості, наприклад, вони спричиняють подразнення шлунково-кишкового тракту.

40 Протипухлинні лікарські речовини, наприклад, доксорубіцин, даунорубіцин, цисплатин, і т.д., мають високу токсичність, в ряді органів, серед яких шлунок і кишечник. Згадана токсичність додатково погіршує стан при вищезазначених патологіях при окислювальному стресі.

Лікарські речовини проти деменції, наприклад, нікотин і холіноміметичні препарати, характеризуються слабкою переносимістю, особливо при патологічних станах при окислювальному стресі.

45 Таким чином, існує необхідність в створенні доступних лікарських засобів, що мають поліпшені терапевтичні характеристики, тобто, що мають знижену токсичність і/або більш високу ефективність, з тим, щоб що вони могли вводитися пацієнтам при хворобливих станах при окислювальному стресі і/або ендотеліальних дисфункціях, уникаючи серйозних недоліків лікарських речовин попереднього рівня техніки.

50 Несподівано, автори даного винаходу уперше виявили, що 4-гідрокситіобензамід (що також позначається тут як 4-НТВ або TBZ) є ефективним вивільняючим H_2S фрагментом в тканинах, коли він або ковалентно пов'язаний з лікарською речовиною, або утворює сіль з лікарською речовиною, причому отримані похідні лікарських речовин мають знижені побічні ефекти. Наприклад, похідні лікарські речовини згідно з даним винаходом створюють значно менші шлунково-кишкові і/або серцево-судинні побічні ефекти.

55 СУТЬ ВІНАХОДУ

В одному аспекті даного винаходу надані похідні лікарських речовин, де згадані похідні включають H_2S -вивільняючий фрагмент 4-гідрокситіобензаміду (що також позначається тут як 4-НТВ або TBZ), який або пов'язаний ковалентно з лікарською речовиною, або утворює сіль з лікарською речовиною. Сполуки згідно з даним винаходом виявляють несподівано сильну активність в порівнянні з лікарською речовиною, взятою окремо, 4-гідрокситіобензамідом,

взятим окремо, і поєднанням лікарської речовини і 4-гідрокситіобензаміду, що вводиться роздільно, але послідовно, виявляють зменшені побічні ефекти, або і те, і інше.

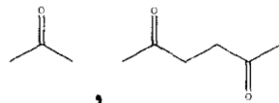
Сполуки згідно з даним винаходом створюють помірний, короточасний приріст концентрацій H_2S в плазмі. Без необхідності бути пов'язаним з будь-якою теорією короточасний приріст концентрацій H_2S в плазмі, який залишається в межах фізіологічного діапазону, може робити внесок в посилення активності лікарських речовин, зменшене пошкодження шлунково-кишкового тракту і/або зменшену серцево-судинну токсичність.

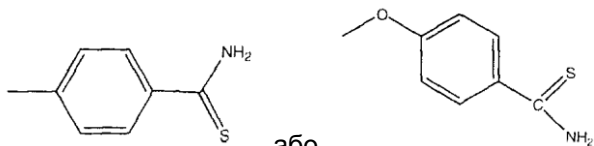
Далі, сполуки згідно з даним винаходом несподівано викликають значно менший приріст в систолічному тиску крові при введенні гіпертензивним щурам, що спостерігалось при введенні лікарської речовини як такої. Зменшена схильність підвищувати тиск крові може зменшувати серцево-судинні побічні ефекти, що часто спостерігаються при тривалому застосуванні деяких з лікарських речовин.

Згідно з даним винаходом надані сполуки, що мають наступну загальну формулу:

A-Y-X (Формула I),

де A являє собою залишок лікарської речовини, Y є вибраним з групи, що складається з -

15 C(O)O-, -C(O)NH-, -C(O)OC(O)-, -C(O)NHCH₂C(O)-, O, S, N, , або група



відсутня, і X являє собою прийнятні солі сполук, в яких, якщо Y відсутній, то похідне лікарської речовини може являти собою сіль A і X. В переважному варіанті здійснення A і X пов'язані через ефірний місток, ангідридний місток, тіоефірний місток, амідний місток або азо-місток. В одному варіанті здійснення, солі утворюються із залишком лікарських речовин, з використанням тіокарбамоїлбензоату замість 4-гідрокситіобензаміду.

Лікарська речовина може бути вибрана з множини відомих класів лікарських речовин, включаючи, наприклад, білки, пептиди, нуклеотиди, лікарські речовини проти ожиріння, харчові продукти із збільшеною поживною цінністю, кортикостероїди, інгібітори еластази, анальгетики, протигрибкові препарати, протиракові засоби, протирвотні засоби, анальгетики, серцево-судинні засоби, протизапальні препарати, антигельмінтні засоби, антиаритмічні засоби, антибіотики (включаючи пеніциліни), антикоагулянти, антидепресанти, антидіабетичні агенти, антиепілептичні засоби, антигістаміни, антигіпертензивні засоби, антимукарінові засоби, антимікобактеріальні агенти, антинейропластичні агенти, імуносупресанти, засоби, направлені на щитовидну залозу, противірусні агенти, анксиолітичні заспокійливі (снотворні засоби і нейролептики), в'язучі засоби, бета-адреноблокатори, серцеві іонотропні агенти, кортикостероїди, проти кашлеві засоби (відхаркувальні і муколітичні засоби), діуретики, допамінергічні засоби (лікарські речовини проти синдрому Паркінсона), гематостатичні засоби, імунологічні засоби, препарати, регулюючі ліпідний обмін, м'язові релаксанти, парасимпатоміметичні засоби, тиреокальцитонін і бісфосфонати паразитовидної залози, простагландини, статеві гормони, антиалергічні агенти, стимулятори, анорексичні засоби, симпатоміметичні засоби, засоби, активні відносно щитовидної залози, вазодилатори і ксантини.

Наступні лікарські речовини є особливо застосовними згідно з даним винаходом:

40 нестероїдні протизапальні лікарські речовини (NSAID): ацетилсаліцилова кислота (ASA), диклофенак, напроксен, індометацин, флурбіпрофен, суліндак, ібупрофен, ацеклофенак, ацетметацин, беноксапрофен, бензофенак, бромфенак, буклоксова кислота, бутибуфен, карпрофен, цефекоксиб, циклопрофен, цинметацин, кліденак, клопірак, дифлусинал, етодолак, еторикоксиб, фенбуфен, фенклофенак, фенхлорак, фенопрофен, фентіазак, флуноксапрофен, фурапрофен, фурубифен, фурафенак, ібуфенак, індопрофен, ізоксепак, кетопрофен, кеторолак, локсопрофен, лоназолак, луміракоксиб, метіазинова і мефенамова кислоти, меклофенамова кислота, мелоксикам, набуметон, піромідова кислота, салсалат, міропрофен, оксапрозин, оксепінак, паракоксиб, фенілбутазон, пірпрофен, піроксикам, пірозолак, протизінова кислота, рофекоксиб, саліцилат натрію, супрофен, тіапрофенова кислота, толметин, валдекоксиб, зомепірак, і подібні;

аналгезуючі лікарські речовини: ацетамінофен, ацетаміносалол, амінохлортеноксазин, ацетилсаліцилова 2-аміно-4-піколінова кислота, ацетилсаліцилсаліцилова кислота,

анілеридин, беноксапрофен бензилморфіну, ацетат 5-бромсаліцилової кислоти, буцетин, бупренорфин, буторфанол, капсаїцин, цинцгофен, цирамадол, клометацин, клоніксин, кодеїн, дезоморфін, дезоцин, дигідрокодеїн, дигідроморфін, димепгептанол, дипіроцетил, ептазоцин, етоксазен, етилморфін, еугенол, флоктафенін, фосфосал, глафенін, гідрокодон, гідроморфон, гідроксипетидин, ібуфенак, пара-лактофенетид, леворфанол, мептазинол, метазоцин, метопон, морфін, налбуфін, нікоморфін, норлеворфанол, норморофін, оксикодон, оксиморфон, пентазоцин, феназоцин, фенокол, фенотеридин, фенілбутазон, фенілсаліцилат, фенілпрамідол, саліцин, саліциламід, тіорфан, трамадол, діациреїн, актарит, і подібні;

лікарські речовини проти запалення товстої кишки: 4- або 5-аміносаліцилова кислота, тримебутин, і подібні;

респіраторні і урогенітальні засоби (бронходилатори і лікарські речовини, активні у відношенні холінергічної системи, відхаркувальні засоби/муколітики, антиастматичні/антиалергічні антигістамінові лікарські речовини): бронходилатори і лікарські речовини, активні у відношенні холінергічної системи: ацефілін, албутерол, бамбутерол, баміфілін, метилсульфат бевоніуму, бітолтерол, карбутерол, кленбутерол, хлорпrenalін, діоксетдрин, дифілін, ефедрин, епінефрин, епроксинол, етафредин, етилнорепінефрин, етофілін, фенотерол, бромід флутопріуму, гексопrenalін, бромід іпратропіуму, ізотарин, ізопротенерол, мабутерол, метапротеренол, оксипутинін, бромід окситропіуму, пірбутерол, прокатерол, протокилол, проксифілін, репротерол, рімітерол, салметерол, зотеренол, тербуталін, 1-теобромоцтова кислота, бромід тіотропіуму, третохінол, тулобутерол, запринаст, циклодрин, NS-21, 2-гідрокси-2,2-дифеніл-N-(1,2,3,6-тетрагідропіридин-4-ілметил)ацетамід і подібні;

відхаркувальні/муколітичні засоби: амброксол, бромгексин, доміодол, ердостейн, гуаїакол, гуаїфенесин, йодований гліцерин, летостейн, месна, зобрерол, степронін, терпін, тіопронін, і подібні;

антиастматичні/антиалергічні антигістамінні лікарські речовини: акривастин, алокламід, амлексанокс, цетиризин, клобензепам, хромоглікат, хромолін, епінастин, фексофенадин, формотерол, гістамін, гідроксизин, левокабастин, лодоксамід, мабутерол, монтелукаст, недокроміл, репіринаст, сератродаст, суплатаст, тозилат, терфенадин, тіарамід, урусгіол, бромгексин, і подібні;

АСЕ-інгібітори: алацеприл, беназеприл, каптоприл, церонаприл, цилазаприл; делаприл, еналаприл, еналаприлат, фосиноприл, імідаприл, лісиноприл, лосартан, мовелтиприл, нафтопідил, періндоприл, хінаприл, раміприл, спіраприл, темокаприл, трандолаприл, урапідил, і подібні;

бета-блокатори: ацебутолол, алпренолол, амосулолол, аротинолол, атенолол, бетаксолол, бевантолол, букомол, буфетолол, буфуролол, бунітролол, бупранолол, бутолфілол, каразолол, картеолол, карведілол, целіпролол, цетамолол, дилевало, епанолол, есмолол, інденолол, лабетало, мепіндолол, метипранолол, метопролол, мопролол, надолол, надоксолол, небіволол, ніфенало, ніпридалол, окспренолол, пенбутолол, піндолол, практолол, пронетало, пропранолол, зотало, сульфінало, талінолол, тертатолол, тілізолол, тимолол, толіпролол, ксибенолол, і подібні;

антитромботичні засоби і вазодилатори: ацеторфан, ацетилсаліцилова кислота, аргатробан, баметан, гемісукцинат бенфуродил, бензіодарон, бетагістин, бромвінцамін, буфеніод, цитіколін, клобенфулол, клопідогрел, цикланделат, далтепарин, дипіридамо, дропеніламін, еноксапарин, фенділін, іфенпродил, ілопрост, індобуфен, ісбогрел, ізоксисуприн, гепарин, ламіфібан, мідродин, надропарин, нікотиніольний спирт, нілідрин, озагрел, пергексилін, фенілпропаноламін, преніламін, папверолін, натрієва сіль ревіпарину, ридогрел, сулоктиділ, тинефедрин, тинзапарин, трифлусал, ніацинат ксантінолу, і подібні;

антидіабетичні засоби: акарбос, карбутамід, гліборнурид глібутіазол, міглітол, репаглілід, троглітазон, 1-бутил-3-метаніл-сечовина, толрестат, нікотинамід, і подібні;

протипухлинні лікарські речовини: анцитабін, антраміцин, азацитидін, азасерин, 6-азауридин, бікалутамід, карубіцин, карзинофілін, хлорамбуцил, хлорзотоцин, цитарабін, даунорубіцин, дефосфамід, демеколцин, деноптерин, 6-діазо-5-оксо-1-норлейцин, доцетаксел, доксифлуридин, доксорубіцин, дролоксифен, едатрексат, ефлорнітин, еноцитабін, епірубіцин, епітіостанол, етанідазол, етопозид, фенретинід, флударабін, фторурацил, гемцитабін, гексестрол, ідарубіцин, лонідамін, маномустин, мелфалан, меногарил, 6-меркаптопурин, метотрексат, мітобронітол, мітолактол, мітоміцини, мітоксантрон, мопідамо, мікофенолова кислота, ніноптерин, ногаламіцин, паклітаксель, пентостатин, пірарубіцин, піритрексим, плікаміцин, подофілілова кислота, порфімер-натрій, порфіроміцин, пропагерманій, пуроміцин, ранімустин, ретиноева кислота, роквінімекс, стрептонігрин, стрептозоцин, теніпозид,

тєнуазонова кислота, тіаміприн, тіогуанін, томудекс, топотекан, триметрексат, туберцидин, убенімекс, вінбластин, вінкрістин, віндезин, вінорелбін, зорубіцин, і подібні;

противиразкові лікарські речовини: ε-ацетамідокапрова кислота, арбапростил, цетраксат, циметидин, екабет, енпростил, есапразол, ірзогладин, мізопростол, омепразол, орнопростил, пантопразол, плаунотол, ріопростил, росапростол, ротраксат, зофалкон, тримопростил, і подібні;

протиіперліпідемічні лікарські речовини (стати́ни): аторвастатин, циластатин, дермостатин, флувастатин, ловастатин, мєвастатин, ністатин, пєнтостатин, пєпстатин, привастатин-натрій, симвастатин, і подібні;

антибіотики: амдіноцилін, амоксицилін, ампіцилін, апалцилін, апіциклін, аспоксицилін, азидамфєнікол, азидоцилін, азлоцилін, азтреонам, бензоїлпас, бензил пеніцилінова кислота, біапєнем, бікозаміцин, капреоміцин, карбеніцилін, каріндацилін, карумонан, цефаклор, цефадроксил, цефамандол, цетиризин, цефазедон, цефазолін, цефбуперазон, цефклідин, цефдинір, цефдиторєн, цефєпім, цефєтамєт, цефіксим, цефмєноксим, цефмєтазол, цефмінокс, цефодизин, цефоніцид, цефопєразон, цефоранід, цефотаксим, цефотєртан, цефотіам, цефокситін, цефозопран, цефпімізол, цефпірамід, цефпіром, цефпрозил, цефроксадин, цефсулодин, цефтазидим, цефтерам, цефтезол, цефтибутєн, цефтіофур, цефтізоксим, цефтриаксон, цефуроксим, цефузонам, цефацєтрил натрій, цефалєксин, цефалогліцин, цефалоридин, цефалоспорин С, цефалотин, цефалірин-натрій, цефрадин, хлорамфєнікол, хлортєтрациклін, циноксацин, клавуланова кислота, клємотоцилін, клєксацилін, циклацилін, циклосєрин, демєклоциклін, диклєксацилін, єпіцилін, фєнбєцилін, флємоксєф, флєксацилін, єтацилін, іміпєнем, лєнампіцилін, лєракарбєф, лімєциклін, мафєнід, мєклоциклін, мєропєнем, мєтампіцилін, мєтациклін, мєтицилін-натрій, мєзлоцилін, міноциклін, мєксалактам, мупіроцин, міксин, нєгаміцин, новобіоцин, оксацилін, паніпєнем, калієвая соль пеніциліну G, пеніцилін N, пеніцилін O, пеніцилін V, калієва соль фєнєтициліну, піпациклін, піпєрацилін, пірліміцин, порфіроміцин, пропіцилін, хінацилін, рітипєнем, ролітєртрациклін, санциклін, сєдєкаміцин, спєктиноміцин, сулбактам, сулбєніцилін, тємоцилін, тєтрациклін, тикарцилін, тигємонам, тубєрцидин, азитроміцин, кларитроміцин, диртроміцин, єнвіоміцин, єритроміцин, джосаміцин, мідєкаміцин, міокаміцин, олєандоміцин, ріфабутин, ріфамід, фіаміцин, ріфаксимін, рокітаміцин, спіраміцин, тролєандроміцин, віоміцин, віргініаміцин; амікацин, апраміцин, арбєкацин, дибєкацин, дигідрострєптоміцин, фортиміцини, гєнтаміцин, мікронєміцин, нєоміцин, нєтилміцин, паромєміцин, рибостаміцин, сизєміцин, спєктиноміцин, стрєптоміцин, тобраміцин, трєспєктроміцин; бакампіцилін, цєфкапєн-півоксил, цєфподоксим-проксєтил, паніпєнем, півампіцилін, півцєфалєксин, султаміцилін, талампіцилін; карбєміцин, кліндаміцин, лінкоміцин, мікаміцин, росараміцин, ципрофлєксацин, клінафлєксацин, дифлєксацин, єноксацин, єнрофлєксацин, флєроксацин, флумєквін, грєпафлєксацин, лємєфлєксацин, надіфлєксацин, налідиксова кислота, норфлєксацин, офлєксацин, пазуфлєксацин, пєфлєксацин, піпємідова кислота, піромідова кислота, руфлєксацин, сарфлєксацин, тєсульфєксаин, трєвафлєксацин, клємоциклін, гуамєциклін, окситєтрациклін, ніфурпіринол, ніфурпразин; параміносаліцилова кислота, гідразид параміносаліцилової кислоти, клєфазимін, дєзоксидигідрострєптоміцин, єтамубтол, глїконіазид, ізоніазид, опініазид, фєніламіносаліциклєт, ріфампін, ріфапєнтин, саліназид, 4-4'-сульфінілдіанілін, ацєдіасульфєн, дапзон, сукцисульфєн, параміносульфанілілбєнзиламін, тіазолсульфєн, ацєтилсульфамєтоксипіразин, мафєнід, 4'-(мєтилсульфамєоїл)сульфаніланілід, салєзєсульфадімідин, сульфабєнзамід, сульфєацєтамід, сульфєахлєрпіридазин, сульфєахризєїдин, сульфєацитин, сульфєадіазин, сульфєадикрамід, сульфєадимєтоксин, сульфєадоксин, сульфєаєтидол, сульфєагуанідин, сульфєагуанєл, сульфєалєн, сульфєамєразин, сульфєамєтєр, сульфєамєтазин, сульфєамєтізол, сульфєамєтомідин, сульфєамєтоксєзол, сульфєамєтоксипіридазин, сульфєамєтилтіазол, сульфєамєтрол, сульфєамідохризєїдин, сульфєамєксєл, сульфєаніламід, 2-параміносульфанілілєтанєл, N,4-сульфанілілсульфаніламід, сульфєанілілсєчєвина, N-сульфаніліл-3,4-ксилєамід, сульфєапєрин, сульфєафєназол, сульфєапроксилєн, сульфєапіразин, сульфєапіридин, сульфєазємізол, сульфєасимєазин, сульфєатіазол, сульфєатієсєчєвина, сульфєізомідин, сульфєізоксєзол, 4-сульфаніламідє саліцилова кислота; нєгаміцин, карумонан, клєксихін, нітрокєлін, аргінін, мєтронідазол, і подібні;

протівірусні лікарські речовини: ациклєвір, амєнтадин, цидєфєвір, цитарабін, диданєзин, дидєзоксидєнєзин, єдоксудин, фамциклєвір, флєксуридин, ганциклєвір, ідоксуридин, інданєвір, кєтоксал, лємівудин, MADU, пєнциклєвір, подєфілєтоксин, рибавірин, римєнтадин, сахінавір, зєривудин, ставудин, тріфлуридин, вєлєациклєвір, вєдєрабін, ксєназєєва кислота, залцитабін, зидєвудин; і подібні;

інгібітори резорбції кістки (бісфосфонати): алендронова кислота, бутедронова кислота, етидронова кислота, оксидронова кислота, памідронова кислота, рisedронова кислота, і подібні;

лікарські речовини проти деменції: аміридин, лазабемід, мофегілін, салбелузол, оксирацетам, іпідакрин, небрацетам, такрин, велнакрин, і подібні.

Вищезазначені попередники лікарських речовин готуються згідно з способами, відомими в попередньому рівні техніки. Див., наприклад, The Merck Index, 13th Edition (2001), Merck & Co., Whitehouse Station, N.J., яка включена в даний опис за допомогою посилання. Якщо доступні, можуть бути застосовані відповідні ізомери, включаючи оптичні ізомери.

Фармацевтично прийнятні солі сполук згідно з даним винаходом, такі як, наприклад, солі з лужними металами і лужноземельними металами, нетоксичними амінами і амінокислотами також являють собою частину даного винаходу. Переважні солі сполук згідно з даним винаходом являють собою солі з аргініном і агматиним. Також включеними є фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти.

Похідні за винаходом можуть бути застосовані згідно з терапевтичним показаннями для ліків-попередника, роблячи можливим досягнення переваг, що наводяться далі для ці лікарських речовин.

Похідні NSAID згідно з даним винаходом є дуже добре переносимими і ефективними, навіть коли організм ослаблений і знаходиться в стані окислювального стресу. Похідні NSAID можуть бути застосовані при тих патологіях, в яких запалення грає значну патогенетичну роль, як, наприклад, без обмеження, у випадку раку, астми, інфаркту міокарда.

Більш конкретно, похідні NSAID згідно з даним винаходом можуть бути застосовані для, без обмеження, лікування запалення в індивідуума, і для лікування інших розладів, асоційованих із запаленням, наприклад, як аналгетик в лікуванні болю і головних болів, або як жарознижуюче для лікування лихоманки. Наприклад, сполуки за винаходом можуть бути застосовані для лікування артриту, включаючи, без обмеження, ревматоїдний артрит, спондилоартропатії, подагричний артрит, остеоартрит, системний червоний вовчак і ювенільний артрит. Такі сполуки за винаходом можуть бути застосовані для лікування астми, бронхіту, менструальних колік, тендиніту, бурситу, хворобливих станів шкіри, таких як псоріаз, екзема, опіки і дерматит, і постопераційного запалення, включаючи очне хірургічне втручання, таке як операція на катаракті і хірургічне втручання, що стосується рефракції. Сполуки за винаходом також можуть бути застосовані для лікування шлунково-кишкових станів, таких як запальне захворювання кишечника, хвороба Крона, гастрит, спастичний коліт і виразковий коліт, і для запобігання або лікуванню раку, такого як колоректальний рак. Сполуки за винаходом можуть бути застосовані для лікування запалення при таких хворобах, як судинні хвороби, головні болі при мігрені, вузелковий періартеріїт, тиреоїдит, апластична анемія, хвороба Ходжкіна, склеродома, ревматична атака, діабет I типу, захворювання нейром'язового з'єднання, включаючи міастенію gravis, захворювання білої речовини мозку, включаючи множинний склероз, саркоїдоз, невротичний синдром, синдром Бехчета, поліміозит, гінгівіти, нефрит, гіперчутливість, опухання, що має місце після пошкодження, міокардіальна ішемія, і подібне. Сполуки також можуть бути застосовані при лікуванні офтальмічних захворювань, таких як ретиніт, ретинопатії, увеїт, світлобоязнь, і гостре пошкодження очної тканини. Сполуки також можуть бути застосовані при лікуванні запалення органів дихання, таких як запалення, які асоційовані з вірусними інфекціями і фіброзно-кістозною дегенерацією. Сполуки також можуть бути застосовані для лікування певних розладів центральної нервової системи, таких як кортикальні деменції, включаючи хворобу Альцгеймера. Сполуки за винаходом можуть бути застосовані як протизапальні агенти, наприклад при лікуванні артриту, з додатковою перевагою значно менших шкідливих побічних ефектів. Ці сполуки також можуть бути застосовані при лікуванні алергічного риніту, синдрому респіраторного дистресу, синдрому ендотоксичного шоку, атеросклерозу і пошкодження центральної нервової системи, отриманого при інсульті, ішемії і травмі. Сполуки також можуть бути застосовані при лікуванні болю, без обмеження, післяопераційного болю, зубного болю, м'язового болю, і болю, що має місце при раку. Крім можливості бути застосованими для лікування людини, ці сполуки також можуть бути застосовані для лікування ссавців, включаючи коней, собак, кішок, шурів, мишей, вівців, свиней і т.д.

Похідні протиколітної лікарської речовини згідно з даним винаходом, наприклад, похідні 4- або 5-аміносаліцилової кислоти, похідні тримебутину, і подібні, можуть бути застосовані для профілактики або лікування різних захворювань, особливо запальних станів шлунково-кишкового тракту, включаючи, без обмеження, запальні стани рота, такі як запалення слизової оболонки, інфекційні захворювання (наприклад, вірусні, бактерійні і грибові хвороби), і хвороба

Крона; запальні стани стравоходу, такі як езофагіт, стани, отримані при хімічному ушкодженні (наприклад, проковтуванні лугу), шлунково-стравоходний рефлюкс, біліарний рефлюкс, езофагіт Барета, хвороба Крона і доброякісна стриктуру стравоходу; запальні стани, такі як гастрит (наприклад, що викликається *Helicobacter pylori*, порушення шлункової кислотності і атрофічний гастрит), глютеїнова хвороба, виразка шлунка і дванадцятипалої кишки, передракові пошкодження шлунка, невиразкова диспепсія і хвороба Крона; запальні стани шлунка, такі як хвороба Крона, надмірний розвиток мікрофлори, пептична виразка і тріщина кишки; запальні стани товстої кишки, такі як хвороба Крона, виразковий коліт, спастичний коліт, інфекційний коліт (наприклад, псевдомембранний коліт, такий як коліт, що викликається бактерією *Clostridium difficile*, сальмонельозний ентерит, шигелові інфекції, йерсиніози, криптоспоридіоз, мікроспридіальні інфекції, і вірусні інфекції), зумовлений радіацією коліт, коліт у пацієнтів зі зниженою імунною реакцією (наприклад, тифліт), передракові стани товстої кишки (наприклад, дисплазія, запальні стани кишки і поліпи товстої кишки), проктит, запалення, асоційоване з гемороєм, спастична прокталгія і ректальні тріщини; печінкові стани, стани, що стосуються жовчного міхура і/або жовчних протоків, такі як холангіт, первинний склерозуючий холангіт, первинний жовчний цироз печінки і холецистит; і гнійне запалення кишечника.

Статини застосовуються для профілактики і лікування атеросклерозу, який викликає біль в грудях, серцеві напади, інсульти і кульгавість, що перемежається, у індивідуумів, які знаходяться або можуть знаходитися в групі ризику по атеросклерозу. Фактори ризику для атеросклерозу включають ненормально підвищені рівні холестерину, спадковість при серцевих нападах (особливо в молодості), немолодий вік і діабет. Більшості пацієнтів статини призначають в зв'язку з високими рівнями холестерину. Незважаючи на те, що зменшення рівнів холестерину є важливим, хвороба серця є складною і можуть грати роль інші фактори, такі як запалення. Відомо, однак, що статини виявляють несприятливі ефекти, такі як, наприклад, захворювання печінки, можливо мають канцерогенний потенціал, створюють м'язові побічні ефекти і міопатію.

Похідні статину згідно з даним винаходом можуть зменшувати побічні ефекти, асоційовані зі статинами, і/або мати поліпшену фармакологічну активність. Несподівано, похідне симвастатину, складний 4-тіокарбамоїлфеніловий ефір-2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-іловий ефір янтарної кислоти, значно зменшує агрегацію тромбоцитів при концентраціях 3, 10 і 30 мкМ в порівнянні з відповідним статином, що вводиться окремо. Далі, похідне симвастатину згідно з даним винаходом спричиняє значне збільшення тромбоцитарного cAMP в порівнянні з тими ж концентраціями симвастатину, що вводиться окремо.

Похідні адренергічних блокаторів, або α - або β -блокаторів, згідно з даним винаходом можуть бути застосовані для профілактики або лікування гіпертензії, стенокардії, випадання мітрального клапану, застійної серцевої недостатності, інфаркту міокарда, глаукоми, головних болів при мігрені, тахікардії і тремору із зменшеними побічними ефектами.

Похідні антитромботичних лікарських засобів згідно з даним винаходом, наприклад, похідні аспірину, потенціюють антитромботичну активність з поліпшеною шлунковою переносимістю. Основне призначення антитромботичних лікарських речовин полягає в профілактиці і лікуванні венозної тромбоемболії (VTE), запобіганні інсульту у пацієнтів з фібриляцією передсердя і профілактиці і лікуванні гострого ішемічного синдрому (ACS).

Похідні бронходилаторів і похідні лікарських речовин, активних відносно холінергічної системи, можуть бути застосовані для полегшення симптомів астми шляхом розслаблення напруження м'язів, які звужують просвіт повітряних шляхів. У короткодійних формах похідні бронходилаторів пом'якшують або зупиняють симптоми астми і є дуже корисними під час приступу астми. У тривало діючих формах похідні бронходилаторів допомагають контролювати симптоми астми і запобігають приступам астми. Похідні згідно з даним винаходом зменшують побічні ефекти шляхом впливу на серцево-судинну систему, такі як тахікардія, гіпертонія, і т.д.

Похідні відхаркувальних і муколітичних засобів згідно з даним винаходом можуть бути застосовані для розпушення і видалення слизу і мокрот з дихальних шляхів. Шлунково-кишкова переносимість відхаркувальних і муколітичних засобів може бути поліпшена у випадку модифікованих 4-гідрокситіобензамідом похідних, як вперше описано в даному винаході.

Похідні бісфосфонатів згідно з даним винаходом можуть бути застосовані при лікуванні або профілактиці порушень кальцієвого метаболізму або хвороби, наприклад, остеопорозі, хворобі Бехтерева, метастазах кістки, мочекам'яної хвороби, гетеротропних окостеніннях, ревматоїдному артриті, остеоартриті або дегенеративному артрозі. Токсичність відносно шлунково-кишкового тракту у похідних згідно з даним винаходом може бути зменшена.

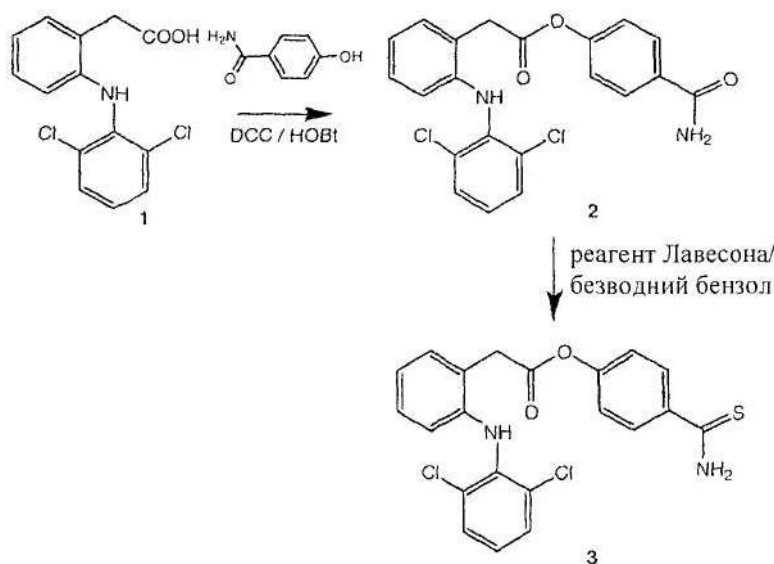
Терапевтична ефективність похідних інгібіторів фосфодіестерази (PDE) (бронходилаторів) згідно з даним винаходом є поліпшеною і побічні ефекти зменшені. PDE інгібітори мають доведений потенціал як протизапальні лікарські речовини, особливо при дихальних захворюваннях. Вони придушують вивільнення запальних сигналів, наприклад, цитокінів, і інгібують продукцію реакційноспроможних кисневих молекул. PDE-інгібітори мають високий терапевтичний і комерційний потенціал як нестероїдні протизапальні засоби при запальних дихальних захворюваннях, таких як астма, COPD і риніти.

Більш висока ефективність і/або менші побічні ефекти можуть також спостерігатися для похідних антилейкотрієнових лікарських речовин, АСА-інгібіторів, антидіабетичних лікарських речовин, антибіотиків, противірусних і протипухлинних лікарських речовин.

Сполуки згідно з даним винаходом можуть бути одержані по наступних схемах:

Схема 1, представлена нижче, використовує як приклад синтез похідного NSAID, 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти. У цій схемі реагент Лавесона застосовується для введення сірки у вивільняючий сірководень фрагмент після того, як група ковалентно зв'язується із залишком NSAID.

Схема 1



Диклофенак (1), який має вільну карбоксильну групу, спочатку розчиняли в диметилформаміді і додавали гідроксибензотриазол (HOBT) і 1,3-дициклогексилкарбодіімід (DCC). До цієї суміші додавали 4-гідроксибензамід в умовах, придатних для утворення проміжної сполуки сполуки згідно з даним винаходом (наприклад, 4-карбамоїлфеніл 2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл)ацетату (2)); у вказаній проміжній сполуці відсутня сірка. Придатну сполуку, яке може вводити сірку, таку як реагент Лавесона, додавали для отримання сполуки згідно з даним винаходом (наприклад, 4-тіокарбамоїлфеніловий ефір [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (3).

У залежності від специфічного стану або хворобливого стану, які виліковуються, індивідуумам можуть вводитися сполуки згідно з даним винаходом при будь-якому прийнятному терапевтично ефективному і безпечному дозуванні, яке може бути легко визначене фахівцем в даній галузі. Ці сполуки, найбільш бажано, можуть вводитися в дозуванні, що варіює від близько 1 до близько 2000 мг на день, у вигляді окремої або розділених доз, хоч неминуче будуть мати місце варіювання в залежності від ваги і стану індивідуума, який виліковується, і вибраного конкретного шляху введення. Зрозуміло, що дозування буде залежати від конкретної лікарської речовини, що застосовується, створюючої сполуку згідно з даним винаходом. Однак рівень дозування, який знаходиться в діапазоні від близько 0,1 до приблизно 100 мг/кг, переважно між приблизно 5 і 90 мг/кг, і більш переважно між приблизно 5 і 50 мг/кг, є найбільш бажаним. Варіювання можуть, проте, мати місце в залежності від маси і стану пацієнтів, які виліковуються, і їх індивідуальної реакції на згаданий медикамент, також як від типу вибраної фармацевтичної композиції, періоду і інтервалу часу, під час якого таке введення проводиться. У деяких випадках рівні дозування нижче нижньої межі згаданого вище діапазону можуть бути

більш ніж достатніми, в той час як в інших випадках набагато великі дози можуть застосовуватися, не викликаючи яких-небудь небажаних побічних ефектів, за умови, що такі великі дози спочатку розділяються на декілька невеликих доз для введення протягом дня.

5 Сполуки згідно з даним винаходом можуть бути введені в будь-якій фармацевтичній формі, природа якої буде залежати від шляху введення. Ці фармацевтичні композиції можуть бути приготовані традиційними способами, із застосуванням сумісних, фармацевтично прийнятних наповнювачів або носіїв. Приклади таких композицій включають капсули, таблетки, черезшкірні пластири, ромби, пастилки, спреї, сиропи, порошки, гранули, гелі, еліксири, супозиторії, і подібне, препарати для приготування розчинів для негайного прийому, ін'єктовані препарати, ректальні, назальні, очні, вагінальні і т.д. препарати. Переважним шляхом введення є пероральний і ректальний шляхи.

10 Таблетки, що містять різні наповнювачі, такі як мікрокристалічна целюлоза, цитрат натрію, карбонат кальцію, фосфат дикальцію і гліцин, можуть вживатися для перорального введення відповідно до різних розпушуючих агентів, таких як крохмаль (переважно кукурудзяний, картопляний крохмаль або крохмаль з тапіоки), альгінова кислота і певні комплексні силікати, спільно з гранулюючими зв'язуючими, подібними полівінілпіролідону, сахарозі, желатину і гуміарабіку. Крім того, змащувальні агенти, такі як стеарат магнію, лаурилсульфат натрію і тальк, можуть застосовуватися для цілей таблетування. Тверді композиції подібного типу також можуть вживатися як наповнювачі в желатинових капсулах; переважні речовини для цієї мети також включають лактозу або молочний цукор, також як високомолекулярні поліетиленгліколі. Якщо водні суспензії і/або еліксири бажані для перорального введення активного компонента, вони можуть бути об'єднані з підсолоджувачами або ароматизуючими речовинами, забарвлюючим агентом і, якщо так необхідно, емульсифікуючими і/або суспендуючими агентами, спільно з такими розріджувачами, як вода, етанол, пропіленгліколь, гліцерин і їх різні поєднання.

25 Лікарська форма може бути складена для безпосереднього вивільнення, контрольованого вивільнення, тривалого вивільнення, відстроченого вивільнення або направленого відстроченого вивільнення. Визначення цих термінів відомі для фахівців в даній галузі. Крім того, профіль вивільнення дозованої форми може керуватися полімерною сумішевою композицією, композицією з покритою матрицею, композицією в формі окремих частинок, композицією в формі окремих покритих частинок, композицією, основою на іонообмінній смолі, основаній на осмосі композицією, або полімерною композицією, що піддається біологічному розкладанню. Без необхідності бути пов'язаним з будь-якою теорією, передбачається, що вивільнення може здійснюватися за допомогою сприятливої дифузії, розчиненням, розмивом покриття, іонним обміном, осмосом або їх поєднаннями.

30 Для парентерального введення може застосовуватися розчин активної сполуки або в кунжутній, або в арахісовій олії або у водному пропіленгліколі. Водні розчини повинні бути відповідним чином забуферені (переважно до рН більше 8), якщо необхідно, і рідкий розріджувач спочатку приводиться до ізотонії. Водні розчини придатні для цілей внутрішньовенної ін'єкції. Приготування всіх цих розчинів в стерильних умовах легко досягається стандартними фармацевтичними методиками, добре відомими фахівцям в даній галузі.

40 Наступні приклади далі описують і роблять можливим для фахівця в даній галузі техніки здійснювати і застосовувати винахід. Однак, буде зрозуміло, що ці варіанти здійснення надані з метою ілюстрації винаходу, і не повинні обговорюватися як обмежуючі об'єм винаходу, який визначений в формулі винаходу.

КОРОТКИЙ ОПИС ФІГУР

50 На фігурі 1 представлений індекс активності захворювання на мишах, що мають TNBS-зумовлений коліт після обробки 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойною кислотою (сполука XXVII), месаламіном окремо, 4-гідрокситіобензамідом (4-НТВ) окремо і сумішшю месаламіну і 4-НТВ.

На фігурі 2 показана активність мієлопероксидази (МПО) миші, що має TNBS-зумовлений коліт після обробки 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойною кислотою (сполука XXVII), месаламіном окремо, 4-НТВ окремо і сумішшю месаламіну і 4-гідрокситіобензаміду (4-НТВ).

55 На фігурі 3 показані величини сприйняття болю для месаламіну і 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойної кислоти (сполука XXVII) в присутності або за відсутності глібенкламіду.

На фігурі 4 представлені індекси сприйняття болю для 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойної кислоти (сполука XXVII), месаламіну і 4-гідрокситіобензаміду (4-HBT).

5 На фігурі 5 представлена діаграма адгезії лейкоцитів на відрізок часу 60-65 хвилин для 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойної кислоти (сполука XXVII) в присутності аспірину або аспірину разом з глібенкламідом.

На фігурі 6 представлена діаграма, що показує генерацію H_2S з цистеїну, 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойної кислоти (сполука XXVII) і 4-гідрокситіобензаміду (4-HBT).

10 На фігурі 7a показаний індекс абдомінального рефлексу відсмикування (величина AWR) в моделі на щурах сприйняття вісцерального болю із застосуванням носія, малеату тримебутину і тіокарбамоїлбензоату тримебутину (сполука III).

На фігурі 7b показаний індекс абдомінального рефлексу відсмикування (величина AWR) в моделі сприйняття вісцерального болю на щурах із застосуванням носія і тіокарбамоїлбензоату окремо.

На фігурі 8 показаний індекс шлункового пошкодження, виміряний у щурів, оброблених носієм, диклофенаком, 4-гідрокситіобензамідом (TBZ) і 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (сполука XVII).

20 На фігурі 9 представлений вміст простагландину E_2 (PGE_2) в шлунку, отриманого на щурах, оброблених носієм, диклофенаком, 4-гідрокситіобензамідом (TBZ) і 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (сполука XVII).

На фігурі 10 представлений індекс шлункового пошкодження, виміряний у щурів, оброблених носієм, напроксеном, і 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XX).

25 На фігурі 11 представлений рівень синтезу тромбосану B_2 в крові щурів фігури 10.

На фігурі 12 показана кількість ексудованого PGE_2 , отриманого в підшкірній кишені щура із застосуванням дослідження повітряної кишені на щурах, при обробці носієм, диклофенаком і 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (сполука XVII).

На фігурі 13 показано вміст всього тромбосану B_2 (TXB_2) в крові щурів по фігурі 12.

30 На фігурі 14 показане інгібування збільшення об'єму лапи щурів, оброблених носієм, диклофенаком і 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (сполука XVII).

На фігурі 15 показана кількість ексудованого PGE_2 , отримана в підшкірній кишені щура із застосуванням дослідження кишені на щурах при введенні носія, напроксену, і 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XX).

35 На фігурі 16 представлений синтез тромбосану (нг/мл) в крові людини (in vitro) у вигляді функції концентрації індометацину і 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [1-(4-хлорбензоїл)-5-метокси-2-метил-1-Н-індол-3-іл]оцтової кислоти (сполука XIX).

40 На фігурі 17 представлена площа поверхні, в mm^2 , шлункових виразок на щурах після денного лікування протягом одного тижня носієм, диклофенаком, 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XVII), напроксеном і 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XX).

На фігурі 18 показаний приріст систолічного тиску крові (мм Hg) на щурах, оброблених носієм, напроксеном і 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XX).

45 На фігурі 19 показана кількість сірководню, що утворюється з 4-гідрокситіобензаміду (TBZ) і 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (сполука XVII) при інкубуванні в буфері і в гомогенаті печінки.

50 На фігурі 20 показана дія симвастатину і змішаного 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-ілового ефіру янтарної кислоти (сполука I) на ADP-зумовлену агрегацію тромбоцитів людини.

На фігурі 21 показана дія симвастатину і 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-ілового ефіру янтарної кислоти (сполука I) на концентрації cAMP тромбоцитів людини.

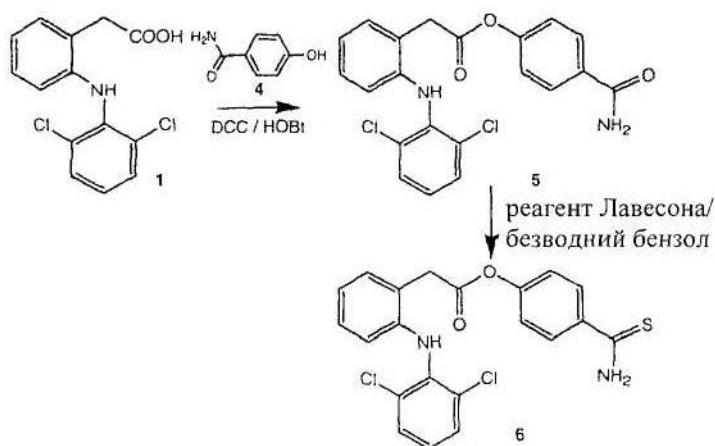
ДОКЛАДНИЙ ОПИС ПЕРЕВАЖНИХ ВАРІАНТІВ ЗДІЙСНЕННЯ

Одержання сполук

60 Тонкошарову хроматографію проводили на силікагелевих пластинках Macherey-Nagel 50 з флуоресцентним індикатором і пластинки оглядали в УФ-світлі (254 нм). Для колонкової

хроматографії використали Kieselgel 60. Всі синтетичні реагенти купувалися в хімічній компанії Aldrich-Sigma і використовувалися без очищення. Розчинники були аналітичного класу чистоти або вищої чистоти і використовувалися в тому вигляді, як вони постачалися. Роторний випарник Buchi R-114 використали для видалення розчинників у вакуумі. Структури встановлювалися спектроскопічними методами ^1H -ЯМР на протонах і ^{13}C -ЯМР. Спектри вимірювали на приладі Varian Mercury Plus 400. Хімічні зсуви вимірювали відносно Me_4Si як внутрішній стандарт. Мас-спектри синтезованих продуктів отримували на мас-спектрометрі Applied BioSystem API 2000. Точки плавлення вимірювали на приладі Buchi B-540. Чистоту кінцевої сполуки визначали методом RP-HPLC. Колонка була приєднана до інжектора моделі Rheodyne 7725, система для HPLC Waters 600, детектором оптичної густини Waters 486, що переналаштовується, встановленим на довжину хвилі 215 або 235 нм, і записуючому пристрою Waters 746. Синтезовані сполуки мали задовільні елементні аналізи; аналізи проводилися тільки по ключових елементах, результати знаходилися в межах $\pm 0,4\%$ від теоретичних величин.

ПРИКЛАД 1. Синтез 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (також позначається як Сполука XVII)



Синтез 4-карбамоїлфеніл 2-[2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]ацетату (5)

До розчину 1 (диклофенак, 890 мг, 3,0 ммоль) в 50 мл N,N-диметилформаміду, додавали гідроксибензотриазол (445 мг, 3,3 ммоль) і DCC (680 мг, 3,3 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідроксибензамід (4, 616 мг, 4,5 ммоль) і перемішували протягом 1 години при 0°C і 3 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску, масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в хлороформі; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 5 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9/1), з якою отримували 4-карбамоїлфеніл-2-(2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл)ацетат (5) (212 мг, 17% вихід).

Синтез 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл] оцтової кислоти (6)

4-Карбамоїлфеніл 2-(2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл)ацетат (5, 480 мг, 1,14 ммоль) і реагент Лавесона (460 мг, 1,14 ммоль) розчиняли в 20 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 50°C і перемішували протягом 6 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску; неочищений залишок очищали на колонці з силікагелем (дихлорметан/метиловий спирт 9,5/0,5) для отримання чистої сполуки 6 (446 мг, 91% вихід).

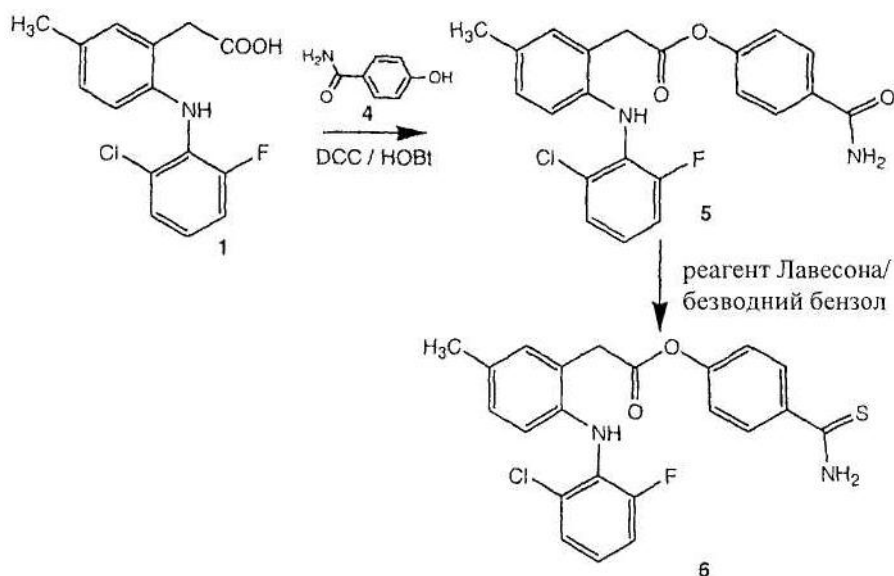
^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 4,07 (с, 2H), 6,59 (д, 1H), 6,67 (с, 1H), 6,98 (т, 1H), 7,14 (т, 1H), 7,19 (д, 1H), 7,28 (т, 1H), 7,33 (д, 2H), 7,63 (с, 1H), 7,97 (д, 2H);

^{13}C -ЯМР (DMCO-d_6): δ 38,8, 118,8, 121,8, 122,6, 123,7, 124,4, 128,7, 129,1, 129,6, 131,2, 137,2, 137,8, 142,9, 153,5, 170,5, 193,2, 201,7.

MS (EI), m/e 431 (M^+);

т.пл. $170\text{--}172^\circ\text{C}$.

ПРИКЛАД 2. Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл-2-(2-(2-хлор-6-фторфеніламіно)-5-метилфеніл)ацетату (також позначається як Сполука XVIII)



Синтез 4-карбамоїлфеніл 2-(2-(2-хлор-6-фторфеніламіно)-5-метилфеніл)ацетату (5)

До розчину 1 (луміракоксиб, 223 мг, 0,75 ммоль) в 15 мл диметилформаміду, додавали гідроксибензотриазол (111 мг, 0,825 ммоль) і DCC (170 мг, 0,825 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідроксибензамід (4, 154 мг, 1,125 ммоль) і перемішували протягом 1 години при 0°C і 3 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в хлороформі; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 5 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9/1), після колонки отримували 4-карбамоїлфеніл-2-(2-(2-хлор-6-фторфеніламіно)-5-метилфеніл) ацетат (5) (111 мг, 35% вихід).

Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл 2-(2-(2-хлор-6-фторфеніламіно)-5-метилфеніл)ацетату (6)

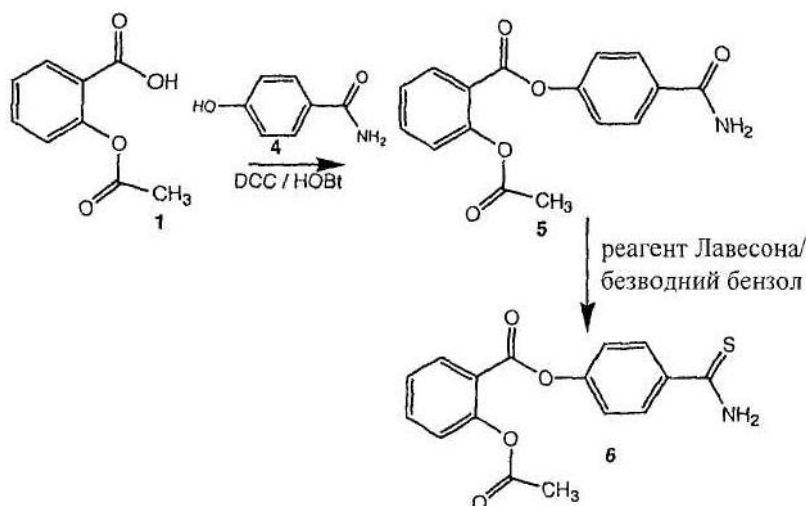
4-Карбамоїлфеніл-2-(2-(2-хлор-6-фторфеніламіно)-5-метилфеніл)ацетат, 5 (110 мг, 0,27 ммоль) і реагент Лавесона (109 мг, 0,27 ммоль) розчиняли в 15 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 60°C і перемішували протягом 3 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску; неочищений залишок очищали на колонці з силікагелем (дихлорметан/метиловий спирт 9,5:0,5) для отримання чистої сполуки 6 (59 мг, вихід 51%).

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 2,32 (с, 3H), 4,01 (с, 2H), 6,46 (с, 1H), 6,70 (д, 1H), 6,92 (т, 1H), 7,01 (д, 2H), 7,11 (д, 2H), 7,19 (д, 1H), 7,62 (с, NH), 7,84 (д, 2H);

^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 20,8, 30,7, 115,1, 119,2, 122,0, 122,3, 124,1, 124,9, 126,1, 128,2, 129,2, 132,3, 134,8, 138,6, 140,9, 153,7, 154,6, 156,2, 170,4, 201,7

MS (EI), m/e 429 (M^+); т.пл.: 120-122°C.

ПРИКЛАД 3. Синтез 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру 2-ацетоксибензойної кислоти (також позначається як Сполука XVI)



Синтез 4-карбамоїлфеніл 2-ацетоксибензоату (5)

До розчину 1 (ацетилсаліцилова кислота, 500 мг, 2,77 ммоль) в 15 мл диметилформаміду, додавали гідроксибензотриазол (412 мг, 3,05 ммоль) і DCC (628 мг, 3,05 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідроксибензамід (4, 418 мг, 3,05 ммоль) і перемішували протягом 1 години при 0°C і 3 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в хлороформі; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 5 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9/1), з колонки отримували 4-карбамоїлфеніл 2-ацетоксибензоат (5) (410 мг, 47% вихід).

Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл 2-(2-(2-хлор-6-фторфеніламіно)-5-метилфеніл)ацетату (6)

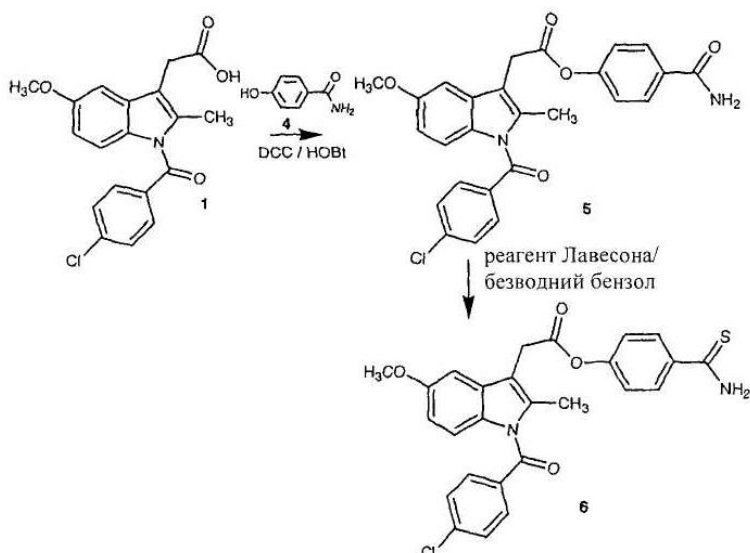
4-Карбамоїлфеніл 2-ацетоксибензоат, 5 (410 мг, 1,37 ммоль) і реагент Лавесона (554 мг, 1,37 ммоль) розчиняли в 35 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 60°C і перемішували протягом 3 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску; неочищений залишок очищали на колонці з силікагелем (дихлорметан/метиловий спирт 9,5:0,5) для отримання 470 мг неочищеної сполуки 6. Отриману сполуку очищали методом препаративної HPLC, що проводиться в системах двох розчинників: А: 100% ацетонітрил з 0,1% TFA, В: 100% H_2O з 0,1% TFA (лінійний градієнт від 10% А до 60% А протягом 35 хв., УФ-детектування при 254 нм, швидкість потоку 30 мл/хв.), що дало чисту сполуку 6 (324 мг, вихід 71%).

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 2,30 (с, 3H), 7,17 (д, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,40 (т, 1H), 7,66 (т, 1H), 7,94 (д, 2H), 8,2 (д, 1H).

^{13}C -ЯМР (DMCO-d_6): δ 21,2, 121,9, 122,4, 124,3, 126,4, 128,7, 132,4, 135,1, 137,3, 151,5, 153,7, 162,7, 169,8, 201,8.

MS (EI), m/e 316(M^+); т.пл.: 154-156°C.

ПРИКЛАД 4. Синтез 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [1-(4-хлорбензоїл)-5-метокси-2-метил-1H-індол-3-іл]оцтової кислоти (також позначається як Сполука XIX)



Синтез 4-карбамоїлфеніл 2-[1-(4-хлорбензоїл)-5-метокси-2-метиліндол-3-іл]ацетату (5)

До розчину 1 (індометацин, 3 г, 8,38 ммоль) в 60 мл диметилформаміду додавали гідроксибензотриазол (1,25 г, 9,22 ммоль) і DCC (1,9 г, 9,22 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші 4-гідроксибензаміду (4, 1,72 г, 12,6 ммоль) додавали і перемішували протягом 1 години при 0°C і 2 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в етилацетаті; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, 5% розчином NaHCO_3 , 10% лимонною кислотою і потім висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 5 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), з колонки отримували 4-карбамоїлфеніл-2-[1-(4-хлорбензоїл)-5-метокси-2-метиліндол-3-іл]ацетат (5) (479 мг, 12% вихід).

Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл-2-[1-(4-хлорбензоїл)-5-метокси-2-метиліндол-3-іл]ацетату (6)

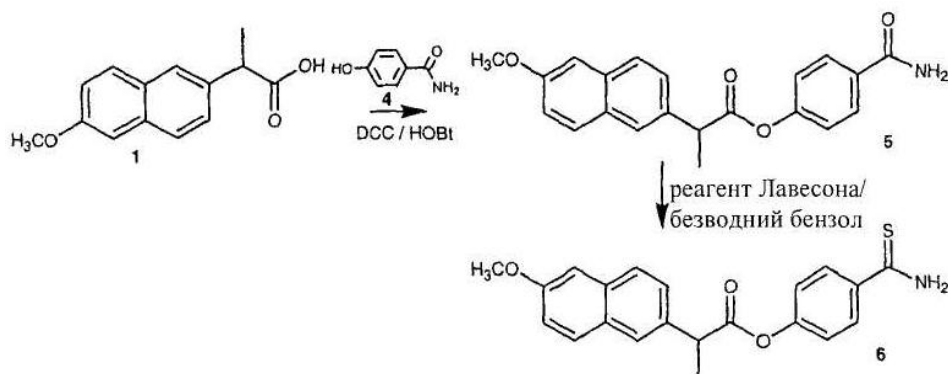
Розчиняли 4-карбамоїлфеніл-2-[1-(4-хлорбензоїл)-5-метокси-2-метиліндол-3-іл]ацетат 5 (340 мг, 0,71 ммоль) і реагент Лавесона (287 мг, 0,71 ммоль) в 15 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 60°C і перемішували протягом 4 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску; неочищений залишок очищали на колонці з силікагелем (дихлорметан/метиловий спирт 9,5:0,5) для отримання 178 мг неочищеної сполуки 6. Отриману сполуку очищали методом препаративної HPLC, що проводиться в системах з двома розчинниками: А: 100% ацетонітрил з 0,1% TFA, В: 100% H_2O 0,1% TFA (лінійний градієнт від 10% А до 80% А протягом 30 мін, УФ-детектування при 254 нм, швидкість потоку 30 мл/хв.), що дало чисту сполуку 6 (56 мг, 16% вихід).

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 2,45 (с, 3H), 3,83 (с, 3H, OCH₃), 3,91 (с, 2H), 6,70 (д, 1H), 6,88 (д, 1H), 7,04 (с, 1H), 7,11 (д, 2H), 7,47 (д, 2H), 7,67 (д, 2H), 7,88 (д, 2H).

^{13}C -ЯМР (DMCO-d_6): δ 13,6, 30,8, 56,0, 101,5, 111,9, 112,0, 115,3, 121,7, 128,6, 129,4, 130,8, 131,2, 131,4, 134,0, 136,8, 137,1, 139,7, 156,2, 157,9, 167,6, 169,8, 201,8.

MS (EI), m/e 493 (M^+); т.пл.: 224-226°C.

ПРИКЛАД 5. Синтез 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (також позначається як Сполука XX)



Синтез 4-карбамоїлфеніл 2-(2-метоксинафталін-6-іл)пропаноату (5).

До розчину 1 (напроксен, 4 г, 17,4 ммоль) в 80 мл диметилформаміду додавали гідроксибензотриазол (2,59 г, 19,14 ммоль) і DCC (2,59 г, 19,14 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідроксибензамід (4, 3,58 г, 26,1 ммоль) і перемішували протягом 1 години при 0°C і 2 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в етилацетаті; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, 5% розчином NaHCO_3 , 10% лимонною кислотою і потім висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 5 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), з колонки отримували 4-карбамоїлфеніл-2-(2-метоксинафталін-6-іл)пропаноат (5) (1,91 г, 32% вихід).

Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл 2-(2-метоксинафталін-6-іл)пропаноату (6)

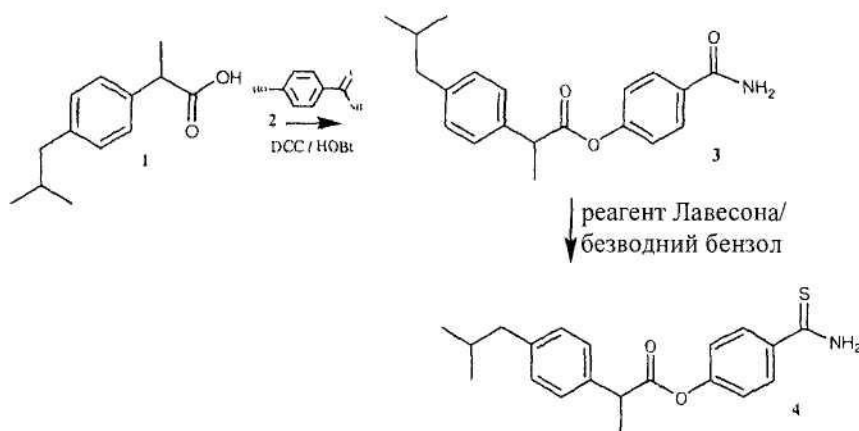
4-Карбамоїлфеніл 2-(2-метоксинафталін-6-іл)пропаноат 5 (1,80 г, 4,34 ммоль) і реагент Лавесона (1,75 г, 4,34 ммоль) розчиняли в 130 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 60°C і перемішували протягом 4 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску; неочищений залишок очищали на колонці з силікагелем (дихлорметан/метиловий спирт 9,75:0,25) для отримання 2,9 г неочищеної сполуки 6. Отриману сполуку очищали на відкритій колонці з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), що дало чисту сполуку 6 (970 мг, вихід 61%).

^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1,59 (д, 3H), 3,86 (с, 3H, OCH_3), 4,24 (дд, 1H), 7,06 (д, 2H), 7,18 (д, 1H), 7,31 (с, 1H), 7,50 (д, 1H), 7,84 (с, 1H), 7,85 (д, 1H), 7,86 (с, 1H), 7,89 (д, 2H), 9,47 і 9,84 (с, 2H, NH_2).

^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 19,1, 45,2, 55,9, 106,5, 119,6, 121,6, 126,6, 126,9, 128,0, 129,4, 129,9, 134,2, 135,6, 137,8, 153,4, 158,1, 173,3, 199,7. MS (EI), m/e 366 (M^+);

т.пл.: 196-198

ПРИКЛАД 6. Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл 2-(4-ізобутилфеніл) пропаноату



До розчину 1 (ібупрофен, 3,87 г, 18,8 ммоль) в 80 мл диметилформаміду, додавали гідроксибензотриазол (2,8 г, 20,7 ммоль) і DCC (4,27 г, 20,7 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідроксибензамід (2, 3,9 г, 28 ммоль) і

перемішували протягом 1 години при 0°C і 2 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в етилацетаті; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, 5% розчином NaHCO_3 , 10% лимонною кислотою і потім висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 3 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), з колонки отримували 4-карбамоїлфеніл 2-(4-ізобутилфеніл)пропаноат (3) (2,48 г, вихід 40%).

Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл 2-(4-ізобутилфеніл)пропаноату (4)

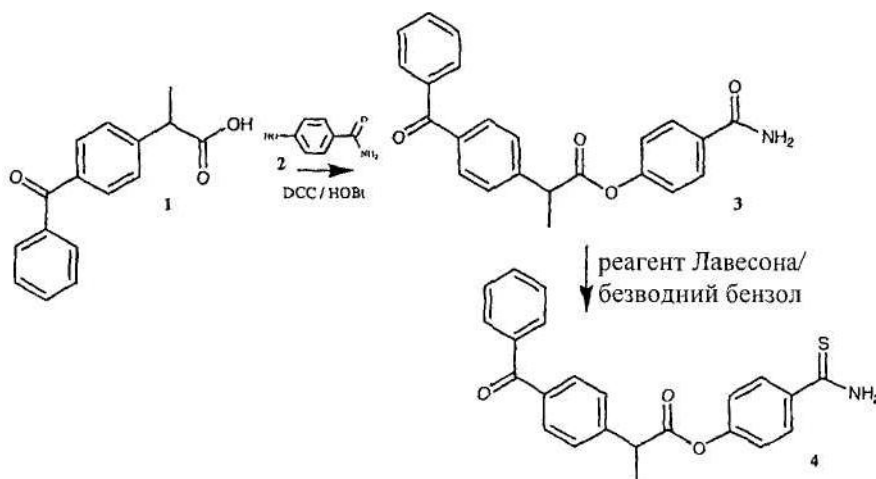
4-карбамоїлфеніл 2-(4-ізобутилфеніл)пропаноат, 3 (2,48 г, 7,62 ммоль) і реагент Лавесона (3,1 г, 7,62 ммоль) розчиняли в 130 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 60°C і перемішували протягом 4 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску. Отриману сполуку очищали на відкритій колонці з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), що дало чисту сполуку 4 (1,45 г, 55% вихід).

^1H -ЯМР (DMSO-d_6): δ 0,84 (д, 6H), 1,48 (д, 3H), 1,79-1,82 (м, 1H), 2,42 (д, 2H), 4,05 (дд, 1H), 7,05 (д, 2H), 7,15 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,88 (д, 2H), 9,49 і 9,87 (с, 2H, NH_2).

^{13}C -ЯМР (DMSO-d_6): δ 19,2, 22,9, 30,3, 44,9, 121,6, 127,9, 129,5, 130,0, 137,8, 138,0, 140,8, 153,3, 173,3, 199,6.

MS (EI), m/e 341 (M^+); Т.пл.: 121-123°C.

ПРИКЛАД 7. Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл-2-(4-оксофеніл) фенілпропаноату



Синтез 4-карбамоїлфеніл-2-(4-оксофеніл)фенілпропаноату (3)

До розчину 1 (кетопрофен, 3 г, 11,8 ммоль) в 80 мл диметилформаміду додавали гідроксибензотриазол (1,76 г, 13 ммоль) і DCC (2,68 г, 13 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідроксибензамід (2, 2,43 г, 17,7 ммоль) і перемішували протягом 1 години при 0°C і 2 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в етилацетаті; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, 5% розчином NaHCO_3 , 10% лимонною кислотою і потім висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 3 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), з якої отримували 4-карбамоїлфеніл-2-(4-оксофеніл)фенілпропаноат (3) (1,84 г, 42% вихід).

Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл-2-(4-оксофеніл)фенілпропаноату (4)

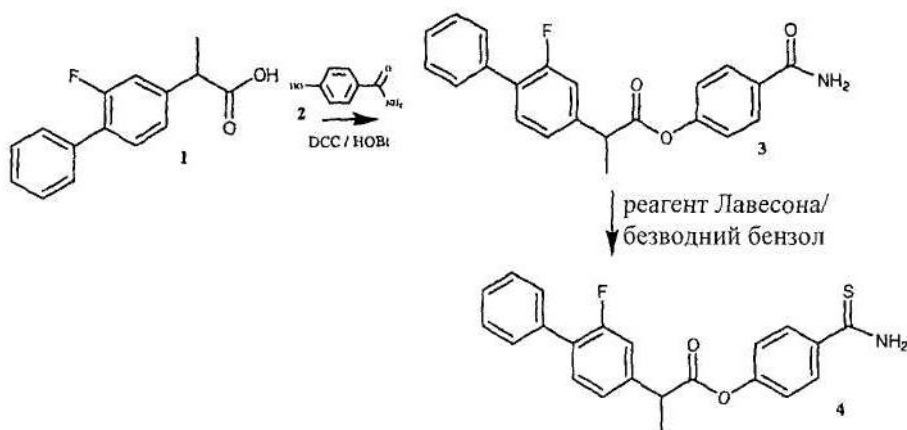
4-карбамоїлфеніл-2-(4-оксофеніл)фенілпропаноат (3) (1,84 г, 4,93 ммоль) і реагент Лавесона (2 г, 4,93 ммоль) розчиняли в 100 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 60°C і перемішували протягом 4 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску. Отриману сполуку очищали на відкритій колонці з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), що дало чисту сполуку 4 (0,45 г, вихід 23%).

^1H -ЯМР (DMSO-d_6): δ 1,53 (д, 3H), 4,25 (дд, 1H), 7,08 (д, 2H), 7,54-7,73 (м, 9H), 7,90 (д, 2H), 9,51 і 9,88 (с, 2H, NH_2).

^{13}C -ЯМР (DMSO-d_6): δ 19,2, 44,9, 121,6, 129,3, 129,5, 129,8, 130,3, 132,6, 133,5, 137,6, 137,9, 138,1, 141,2, 153,3, 154,5, 156,1, 163,8, 172,9, 199,6.

MS (EI), m/e 390 (M^+); Т.пл.: 114-116°C.

ПРИКЛАД 8. Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл-2-(3-фтор-4-феніл) фенілпропаноату



Синтез 4-карбамоїлфеніл-2-(3-фтор-4-феніл)фенілпропаноату (3)

До розчину 1 (флурбіпрофен, 2 г, 8,2 ммоль) в 80 мл диметилформаміду додавали гідроксибензотриазол (1,22 г, 9,02 ммоль) і DCC (1,86 г, 9,02 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідроксибензамід (2, 1,7 г, 12,2 ммоль) і перемішували протягом 1 години при 0°C і 2 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в етилацетаті; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, 5% розчином NaHCO_3 , 10% лимонною кислотою і потім висушували над безводним MgSO_4 , фільтрували і розчинник упарювали. Неочищений продукт 3 завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), з якої отримували 4-карбамоїлфеніл-2-(3-фтор-4-феніл)фенілпропаноат (3) (1,09 г, 37% вихід).

Синтез 4-тіокарбамоїлфеніл-2-(3-фтор-4-феніл)фенілпропаноату (4)

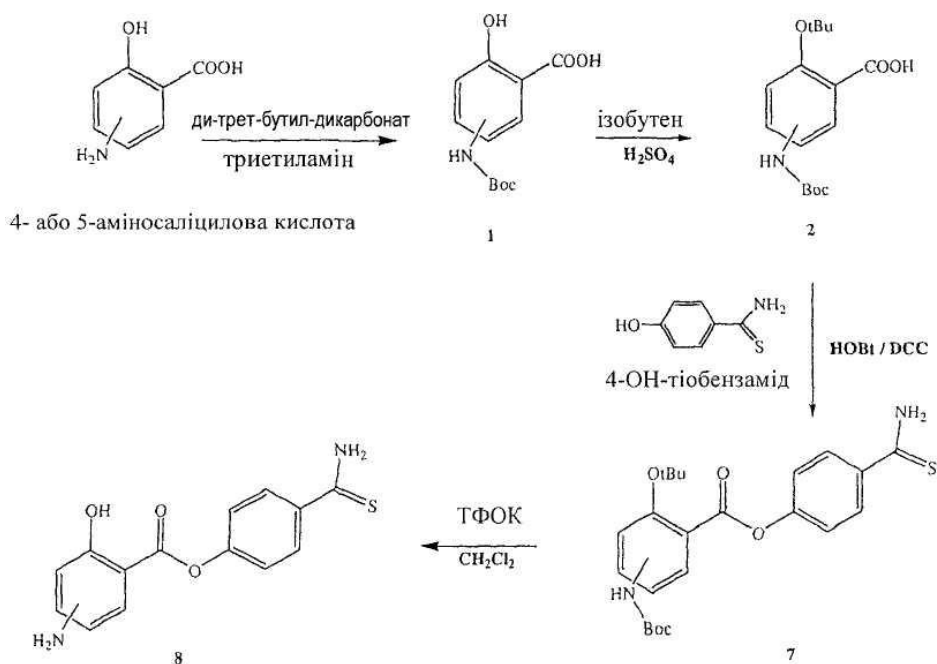
4-карбамоїлфеніл-2-(3-фтор-4-феніл)фенілпропаноат 3 (1,09 г, 3 ммоль) і реагент Лавесона (1,21 г, 3 ммоль) розчиняли в 70 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 60°C і перемішували протягом 4 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску. Отриману сполуку очищали на відкритій колонці з силікагелем і елюювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5/0,5), що дало чисту сполуку 4 (0,35 г, 31% вихід).

^1H -ЯМР (DMSO-d_6): δ 1,55 (д, 3H), 4,21 (дд, 1H), 7,32-7,55 (м, 8H), 7,90 (д, 2H), 9,51 і 9,88 (с, 2H, NH_2).

^{13}C -ЯМР (DMSO-d_6): δ 19,1, 44,7, 115,9, 116,2, 121,7, 124,8, 128,6, 129,3, 129,4, 129,5, 131,7, 135,8, 137,7, 142,6, 153,7, 158,3, 163,5, 173,1, 199,6.

MS (EI), m/e 380 (M^+); Т.пл.: 142-144°C.

ПРИКЛАД 9. Загальна схема синтезу для 4-тіокарбамоїлфенілових ефірів 4- або 5-аміно-2-гідроксибензойної кислоти (8) (також позначається як Сполука XXVII)



Синтез 4- або 5-трет-бутоксикарбоніламіно-2-гідроксибензойної кислоти (1)

До розчину 4- або 5-аміносаліцилової кислоти (10,0 ммоль) в 25 мл діоксану і 12,5 мл води, додавали триетиламін (15,0 ммоль) і ди-трет-бутилдикарбонат (15,0 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1/2 години. Реакційну суміш перемішували механічно протягом 24 годин при кімнатній температурі. Після упарювання розчинника до залишку по краплях додавали 3М HCl (15 мл). Осад фільтрували, промивали водою і висушували. Залишок завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю CH_2Cl_2 /MeOH (9/1), з колонки отримували 4- або 5-трет-бутоксикарбоніламіно-2-гідроксибензойну кислоту (1) (вихід 80%).

Синтез 4- або 5-трет-бутоксикарбоніламіно-2-трет-бутоксibenзойної кислоти (2)

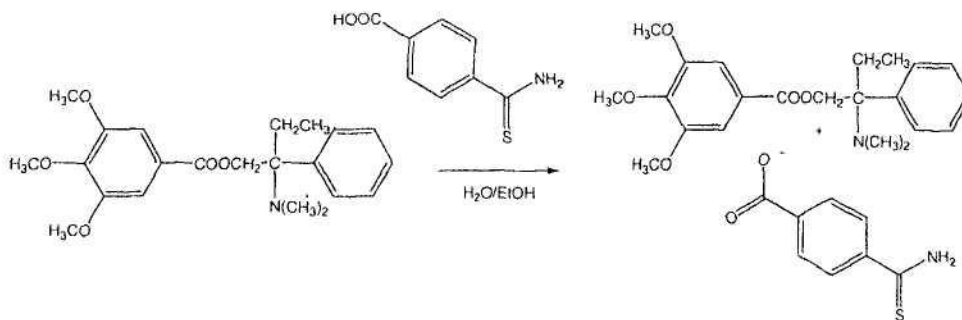
Суміш сполуки (1) (12,0 ммоль), концентрованої H_2SO_4 (6,0 ммоль) і DCM (100 мл) перемішували в атмосфері ізобутиленового газу (5 psi) протягом 6 годин при кімнатній температурі. Розчин промивали холодним 10% $NaHCO_3$ (2×100 мл), насиченим сольовим розчином (100 мл), висушували (Na_2SO_4) і упарювали. Залишок розчиняли в суміші 1:1 MeOH/ CCl_4 (400 мл), промивали водою (300 мл), потім екстрагували сумішшю 1:1 MeOH/вода (2×200 мл). Екстракт сушили (Na_2SO_4) і упарювали до отримання білої твердої речовини (2), яку перекристалізовували з суміші DCM/гексан (вихід 83%).

Синтез 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру 4- або 5-аміно-2-гідроксибензойної кислоти (8)

До розчину 4- або 5-трет-бутоксикарбоніламіно-2-гідроксибензойної кислоти (2) (3,0 ммоль) в 50 мл диметилформаміду, додавали гідроксибензотриазол (3,3 ммоль) і DCC (3,3 ммоль) при перемішуванні при 0°C протягом 1 години. До реакційної суміші додавали 4-гідрокситіобензамід (3,0 ммоль) і перемішували механічно протягом 3 годин при 0°C і 72 години при кімнатній температурі. Після фільтрування фільтрат упарювали при зниженому тиску для видалення розчинника. Масляний залишок, отриманий таким чином, розчиняли в етилацетаті; органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, висушували над безводним $MgSO_4$, фільтрували і розчинник упарювали. Неочищену проміжну сполуку (7) обробляли 40% TFA розчином в CH_2Cl_2 . Через 2 години розчинник видаляли, що приводило до сполуки (8) у вигляді неочищеного залишку. Залишок завантажували на відкриту колонку з силікагелем і елюювали сумішшю CH_2Cl_2 /MeOH (8/2), з колонки отримували 4-тіокарбамоїлфеніловий ефір 4- або 5-аміно-2-гідроксибензойної кислоти (8), сполуки формули XXVII, (вихід 48%).

ПРИКЛАД 10. Синтез тримебутинтіокарбамоїлбензоату

Отримання 4-тіокарбамоїлбензоату 2-(диметиламіно)-2-фенілбутилового ефіру 3,4,5-триметоксибензойної кислоти (тримебутинтіокарбамоїлбензоат)



III

До суміші 4-(тіокарбамоїл)бензойної кислоти (0,1 моль) і тримебутину (0,1 моль) додавали суміш води (200 мл) і етилового спирту (20 мл) і отриману суспензію перемішували при кімнатній температурі доти, поки вона не ставала прозорою. Потім розчин заморожували і ліофілізували для отримання бажаної солі (вихід кількісний).

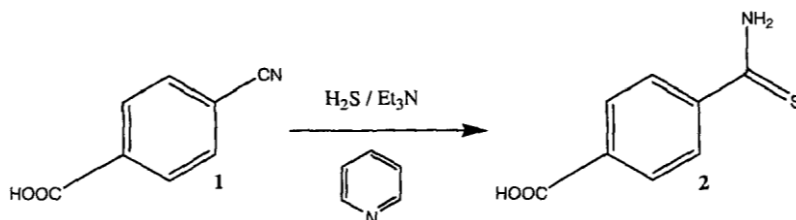
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 0,60 (т, 3H), 1,45-1,75 (м, 4H), 1,80-1,90 (м, 2H), 2,28 (с, 6H), 2,90-3,40 (м, 2H), 3,69 (с, 9H), 3,95 (м, 1H), 4,73 (дд, 2H), 7,01 (с, 2H), 7,22 (т, 1H), 7,35 (т, 2H), 7,46 (д, 2H), 7,93 (дд, 4H), 9,65 (ушир.с, 1H, NH), 10,05 (ушир.с, 1H, NH).

¹³C-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ 9,07, 28,9, 56,5, 60,8, 64,5, 65,7, 107,1, 125,3, 127,4, 128,1, 128,6, 129,5, 129,7, 132,3, 141,8, 142,5, 148,5, 153,4, 154,8, 165,9, 169,4, 172,5, 188,6.

Т.пл. 66-68°C (розкл.).

Синтез 4-(тіокарбамоїл)бензойної кислоти

Сполуку синтезували по методиці, раніше описаній в літературі (Fairfull, E.S., Lowe J.L, Peak D.A. J. Chem. Soc. 1952, 742), яка включена в даний опис за допомогою посилання.



4-{(Тіокарбамоїл)бензойна кислота (2)

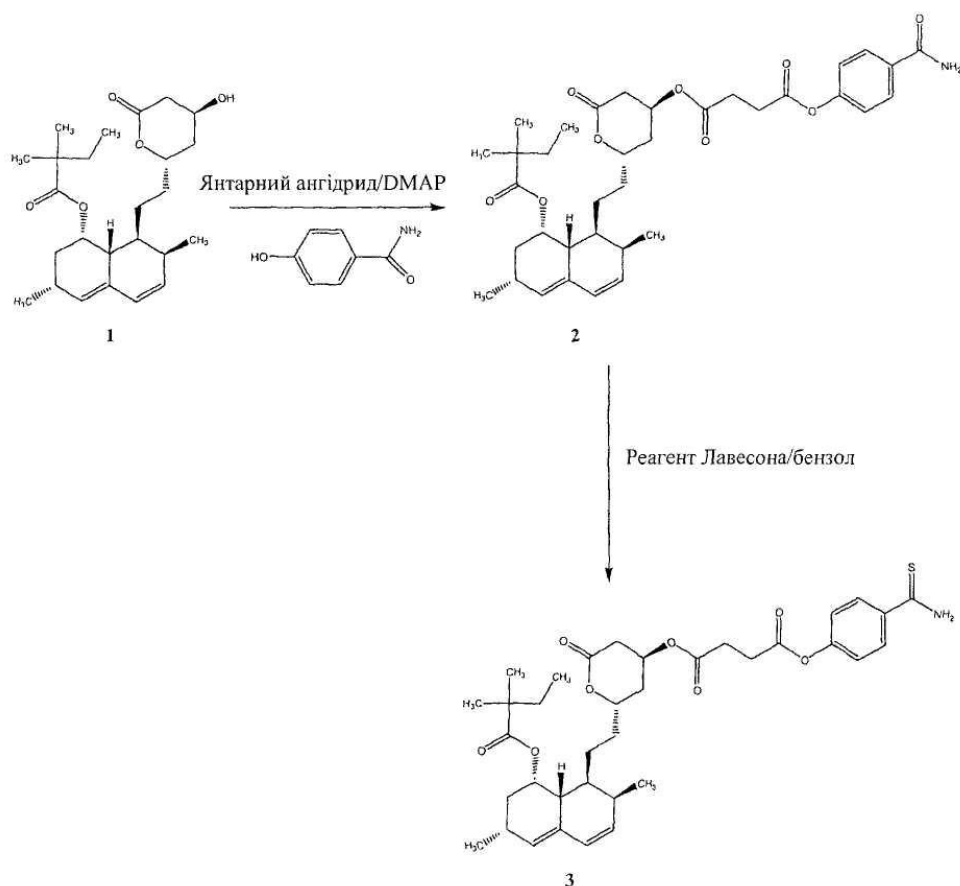
3 г 4-ціанобензойної кислоти 1 (20,4 ммоль) розчиняли в 40 мл піридину і додавали 2,1 мл триетиламіну (20,4 ммоль). Сухий сірководень пропускали через розчин постійним потоком протягом 4 годин. Потім суміш виливали у воду і тверду речовину збирали фільтруванням, перекристалізація з петролейного ефіру приводила до 2,51 г чистої сполуки 2 (вихід 68%).

MS (ESI), m/e 182,2 (M*).

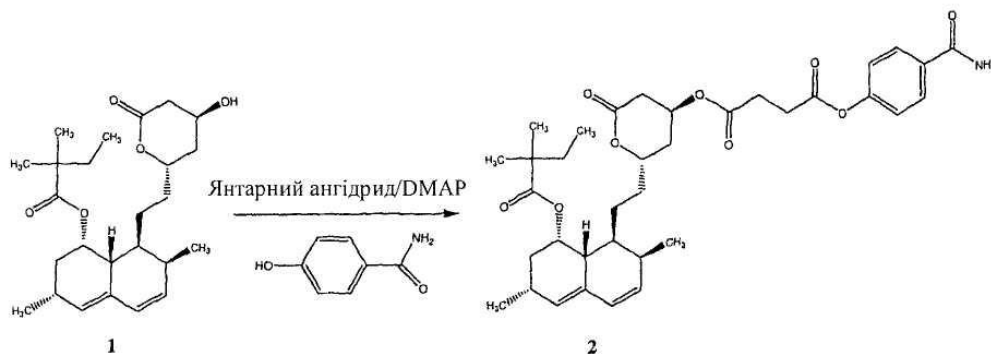
¹H-ЯМР (ДМСО-d₆): δ 7,92 (дд, 4H), 9,68 (с, 1H, NH), 10,12 (с, 1H, NH), 13,25 (с, 1H, OH).

¹³C-ЯМР (ДМСО-d₆): δ 127,3, 129,6, 132,0, 148,5, 169,4, 188,6. Т. пл. 296-298°C (розкл.)

ПРИКЛАД 11. Синтез змішаного 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру - 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-ільного ефіру янтарної кислоти (3) (також позначається як Сполука I)



5 Синтез змішаного 4-карбамоїлфенілового ефіру - 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-ілового ефіру янтарної кислоти (2)



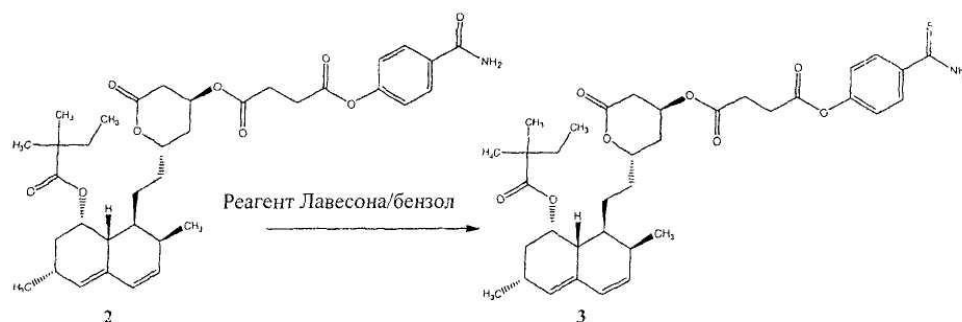
10 Розчин 420 мг (0,001 моль) симвастатину (1) в 3 мл дихлорметану обробляли 110 мг янтарного ангідриду і 10 мг DMAP. Через 36 годин при перемішуванні додавали 210 мг (0,001 моль) EDCI і 170 мг (0,0012 моль) 4-гідроксибензаміду.

Через 1 годину розчинник видаляли при зниженому тиску і неочищений залишок очищали на колонці з силікагелем, при елююванні сумішшю дихлорметан/метиловий спирт (9,5/0,5) з отриманням сполуки 2 у вигляді білої твердої речовини (350 мг; вихід 55%).

15 MS (EI), m/e 638 (M⁺);

¹H-ЯМР (DMCO-d₆) δ 0,831 (м, 6H, 2-Me), 1,075 (м, 9H, 3-Me), 1,53 (м, 6H), 1,97 (м, 2H), 2,27 (м, 5H), 2,52 (д, 2H), 2,62 (д, 2H), 3,68 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 5,52 (м, 1H), 5,50 (ушир.т, 1H), 5,77 (дд, 1H), 5,96 (д, 1H); 7,08 (д, 2H), 7,87 (д, 2H), 7,94 (ушир.с, 2H).

20 Синтез змішаного 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру - 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-ілового ефіру янтарної кислоти (3)



Змішаний 4-карбамоїлфеніловий ефір - 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-іловий ефір янтарної кислоти (2) (0,35 г, 0,000548 моль) і реагент Лавесона (0,221 г, 0,000548 моль) розчиняли в 30 мл безводного бензолу. Реакційну суміш відігрівали до 50°C і перемішували протягом 6 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску; неочищений залишок очищали на колонці з силікагелем (дихлорметан/метиловий спирт 9,5:0,5) для отримання 35 мг чистої сполуки 3 (вихід 10%).

MS (EI), m/e 654 (M⁺);

¹H-ЯМР (ДМСО) δ 0,831 (м, 6H, 2-Me), 1,075 (м, 9H, 3-Me), 1,53 (м, 6H), 1,97 (м, 2H), 2,27 (м, 5H), 2,52 (д, 2H), 2,62 (д, 2H), 3,68 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 5,52 (м, 1H), 5,50 (ушир.т, 1H), 5,77 (дд, 1H), 5,96 (д, 1H); 7,11 (д, 2H), 7,9 (д, 2H), 9,48 (с, 1H), 9,86 (с, 1H).

ТЕСТУВАННЯ СПОЛУК

ПРИКЛАД 12. Порівняння індексів активності захворювання і мієлопероксидазної (МРО)-активності 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойної кислоти

Стандартна експериментальна тваринна модель коліту, викликаного введенням в товсту кишку миші 2,4,6-тринітробензолсульфонові кислоти (TNBS) використовується в наступному прикладі. Докладний опис цієї моделі опублікований (Santucci et al. (2003) Gastroenterology 124:1381-94), робота включена в даний опис як довідковий матеріал. Стисло, Balb/c-миші 6-8-тижневого віку отримували TNBS введенням в товсту кишку при дозі 1,5 мг в 0,1 мл 30% етанолу. Мишей рандомізували для різних груп обробки (n=6 на групу). Починаючи на одну годину пізніше і продовжуючи кожні 12 годин протягом 5 днів, мишей обробляли перорально носієм (1% карбоксиметилцелюлозою (СМЦ)), окремо 5-АSА (месаламін) (100 мг/кг), 4-гідрокситіобензамідом (позначається на фігурах як 4-НТВ) (100 мг/кг), 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойною кислотою (100 мг/кг) (надалі позначається як Сполука XXVII) і еквімолярними дозами месаламіну (50 мг/кг) і (4-НТВ) (50 мг/кг). *p<0,05 приведення по відношенню до групи, обробленої носієм. Кожна група складалася з щонайменше 5 тварин.

Мишей досліджували (сліпим методом) в день закінчення експерименту на присутність діареї, тестували на приховану кров і вимірювали їх масу тіл. "Коефіцієнт розвитку хвороби" обчислювали, основуючись на цих даних (по шкалі від 0 до 4, як описано в роботі, цитованій вище). Після умертвіння вирізали зразок товстої кишки для вимірювання активності мієлопероксидази (МРО) як маркера просочення гранулоцитів. Всі результати приводили в порівнянні з результатами, отриманими на здорових мишах аналогічним чином.

На фігурі 1 показано, що сполука XXVII є майже в три рази більш ефективною в порівнянні або з месаламіном окремо, 4-НТВ окремо або сумішшю месаламіну і 4-НТВ відносно ослаблення симптомів хвороби. Далі, Фігура 2 показує, що сполука XXVII значно зменшує запалення, що показано зменшенням просочення гранулоцитів (зменшена МРО-активність).

ПРИКЛАД 13. Порівняння дії 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойної кислоти і месаламіну в моделі сприйняття вісцерального болю на щурах

У наступному прикладі застосовували модель сприйняття вісцерального болю на щурах, передклінічну модель спастичного коліту. Щури (самець, Вістар, 200-250 г, отримані від Charles River, Monza, Italy), витримувалися в пластикових клітках і контрольованих умовах з 12-годинним циклом день-ніч, з включенням світла о 7:00 ранку. Водопровідна вода і стандартна лабораторне харчування були необмежено доступними. До експериментів, щури індивідуально тренувалися, знаходячись 2-3 години в день в клітці з оргскла протягом 2-3 днів. Це дозволяло їм пристосовуватися до середовища рух-обмеження. Корм був недоступний протягом 12 годин до проведення реєстрації колоректального розтягнення (CRD). Експерименти проводили з

пробудженими щурами і проводили сліпим методом, в якому спостерігач не був поінформований про природу лікарської речовини, що вводиться кожній тварині.

У день тестування щурів усипляли ефірною інгаляцією і 2-см гумовий балон вставляли ректально на 2 см від краю анального отвору і фіксували при основі хвоста. Балон був пов'язаний через двоканальний катетер з датчиком тиску для постійного контролю ректального тиску комп'ютером (PowerLab PC, A.D. Instruments, Milford, MA, USA) і з шприцом для накачування/спускання повітря з балону. Потім щурів вміщували в невеликі клітки (20×8×8 см) на підвищеній платформі Plexiglas™, їм дозволяли прокинутися і пристосуватися протягом 1 години. Після відновлення від усиплення з тваринами проводили методику CRD і тестували їх поведінкові відгуки. За ніч до експериментів балони накачували і залишали протягом ночі, так що латекс розтягувався і балони ставали податливими.

20-секундний CRD, що проводиться кожні 5 хвилин, застосовували з приростом в 0,4 мл від початкових 0,4 мл до 1,6 мл води. Для досягнення точного вимірювання характеристик товстої кишки і сприйняття розтягнення повторювали двічі для кожної інтенсивності і дані для кожної тварини усереднювали для аналізу. Кожна тварина проходила подвійний набір CRD. Через двадцять хвилин після першої послідовності CRD (0,4 мл - 1,6 мл води), лікарські речовини вводили внутрішньочеревинно (i.p.) і проводили другу послідовність CRD. Поведінкові відгуки протягом першої і другої послідовності CRD реєстрували і порівнювали.

Поведінковий відгук на CRD оцінювали шляхом вимірювання абдомінального рефлексу відсмикування (AWR) із застосуванням напівкількісного вимірювання (1). AWR являє собою руховий рефлекс, що неконтролюється, аналогічний вісцеромоторному рефлексу, але він має велику перевагу в тому, що, в протилежність останньому, не вимагає абдомінального хірургічного втручання для імплантування пишучих електродів і наявності проволочок в стінці абдомінального м'яза, які можуть спричиняти додаткове підвищення чутливості (Ness, T.J. and Gebhart, G.F. (1990) Pain 41:167-234, яка включена в даний опис за допомогою посилання).

Вимірювання AWR, що полягає у візуальному спостереженні відгуку тварини CRD різних рівнів спостерігачем в сліпому методі і співвіднесенні величини AWR згідно з поведінковою шкалою, яка раніше описана в Al-Chaer, E.D. et al. (2000) Gastroenterology 19: 1276-85, робота включена в даний опис за допомогою посилання, в якій величині 0 відповідає відсутність поведінкового відгуку на CRD, величині 1 відповідає коротке рушення головою при початку дії подразника, потім спостерігається нерухомість, величині 2 відповідає м'яке скорочення абдомінальних м'якулів, хоч щури не підіймають живіт з платформи, величині 3 відповідає сильне скорочення абдомінальних м'якулів з підйомом живота з платформи і величині 4 відповідає жорстке стиснення абдомінального м'яза, яке підтверджується згинанням тіла дугою і підйомом живота, тазових структур і мошонки.

Модель сприйняття вісцерального болю на щурах, як описано вище, застосовували для порівняння величин реакції на 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойну кислоту (сполука XXVII) або у присутності, або за відсутності, глібенкламід, інгібітора АТФ-чутливих K^+ (K_{ATP}) каналів.

Фігура 3 показує одиниці сприйняття болю як відгук на 0,8 мл колоректального розтягнення в групах щурів (щонайменше 5 на групу), що отримували носій, месаламін (100 мг/кг), і сполуку XXVII (100 мг/кг). Сполука XXVII значно зменшує сприйняття болю (* $p < 0,05$ по відношенню до групи, обробленої носієм), в той час як месаламін не має значного ефекту. Зменшення сприйняття болю сполукою XXVII оберталось шляхом попередньої обробки глібенкламідом (10 мг/кг i.p. за 30 хв. до), в той час як попередня обробка глібенкламідом не впливає на сприйняття болю в групах, що отримували носій або месаламін, в припущенні, що антиноцицептивна активність сполуки XXVII може бути опосередкована АТФ-чутливими K^+ (K_{ATP}) каналами. Фігура 4 показує, що 4-гідрокситіобензамід (4-НТБ) окремо (100 мг/кг) не має значного ефекту на сприйняття болю.

ПРИКЛАД 14. Вплив 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси) бензойної кислоти на адгезію лейкоцитів до ендотелію судин in vivo.

Адгезію лейкоцитів досліджували із застосуванням прижиттєвої мікроскопії, як описано в деталях раніше (Wallace et al., (1993) Am. J. Physiol 265: 993-998, яка включена в даний опис за допомогою посилання). Щурів анестезували дією пентобарбіталу натрію (60 мг/кг i.p.) і проводили розтини припіканням вздовж абдомінальної ділянки. Трахеотомію проводили для полегшення дихання. Щурів вміщували в положення на спині, і сегмент брижи тимчасово виводили на поверхню через абдомінальний розріз. Брижу акуратно вміщували над оптично прозорою основою для огляду, який дозволяв просвічування 2-см² сегмента тканини. Всю незахищену тканину покривали марлею, змоченою в фізіологічному розчині для мінімізації зневоднення. Температуру основи втримували при 37°C і брижу поливали підігрітим

фізіологічним розчином, забуференим бікарбонатом (pH 7,4). Прижиттєвий мікроскоп (Nikon L25/0,35) і окуляр $\times 10$ використовували для спостереження за мезентеріальним капілярним кровообігом. Для дослідження вибиралися посткапілярні венули з діаметрами, що варіюють від 20 до 40 мкм. Відеокамера, встановлена на мікроскопі (Panasonic™, цифровий 5000), передавала зображення на монітор, і зображення записували для аналізу при відтворенні із застосуванням касетного відеомігнітофона. Зображення брижового капілярного кровообігу записували за 5 хвилин перед введенням аспіріну (фоновий рівень), в момент введення аспіріну (час 0-5) і кожні 15 хвилин протягом 60 хвилин. Адгезію лейкоцитів вимірювали кількісно сліпим методом з відеозображень судин, здійснених протягом 5-хвилинних періодів, як число лейкоцитів, які залишаються нерухомими вздовж стінки судини протягом 30 сек. або більше (виражали на 100 мкм довжини венули). Групи щурів (щонайменше 5 в кожній групі) заздалегідь обробляли 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойною кислотою (сполука XXVII) (100 мг/кг), месаламіном (50 мг/кг) або носієм за 60 хв. перед введенням аспіріну (або носія). Ці лікарські речовини вводилися внутрішньошлунково. У деяких експериментах щурів обробляли глібенкламідом (10 мг/кг i.p.) або носієм за 30 хв. перед введенням цих сполук.

Фігура 5 показує адгезію лейкоцитів на кінцевий момент часу експеримента (хвилини 60-65). Ця фігура ілюструє здатність сполуки XXVII придушувати зумовлену аспірином адгезію лейкоцитів і здатність попередньої обробки глібенкламідом обертати цей ефект інгібування адгезії лейкоцитів.

ПРИКЛАД 15. Генерація H_2S з 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойною кислоти

5-Аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойну кислоту (сполука XXVII) тестували на генерацію H_2S в трьох різних умовах. Вимірювалися концентрації H_2S , які генерувалися в межах 1 години при 1 нМ концентраціях L-цистеїну, 4-НВТ (4-гідрокситіобензамід) і 5-аміно-2-(4-тіокарбамоїлфеноксикарбонілокси)бензойною кислоти. Вивільнення H_2S тестували в трьох умовах: (i) коли сполука знаходилася в буфері, (ii) коли сполука знаходилася в гомогенаті печінки, і (iii) коли сполука знаходилося в гомогенаті печінки спільно з інгібітором цистатіонін γ -ліази (PAG = DL-пропаргілгліцин; 2 нМ). Результати представлені на Фігурі 6. $*p < 0,05$ в порівнянні з вивільненням в групі, обробленій носієм. $*p > 0,05$ по відношенню до відповідної групи "гомогенатів печінки". Ензиматичну місткість продукції H_2S визначали із застосуванням того ж реактора, який описаний раніше (Khan et al. (1980) Microchem J. 25, 388-395, яка включена в даний опис за допомогою посилання). 2-мл реакційну суміш для дослідження вводили в реактор. Суміш містила 1 нМ L-цистеїну (або сполуки), 2 нМ піридоксаль 5'-фосфату і 100 нМ буферу з фосфатом калію (pH=7,4). Постійний потік азоту пропускали через суміш через газопідвідний капіляр. Реакції ініціювали шляхом перенесення пробірок з крижаної бані в баню з водою при 37°C. Потік азоту переносив сіководневу кислоту у другий реактор, що містить 4 мл неокислюючого сіководень буферного розчину (SAOB), що складається з 2М КОН, 1М саліцилової кислоти і 0,22 М аскорбінової кислоти при pH 12,8[5]. Після інкубування при 37°C протягом 90 хвилин додавали 1 мл 10% розчину трихлороцтової кислоти до суміші з тим, щоб зупинити реакцію. Залишок H_2S в суміші переводили в потоку азоту протягом ще 60 хвилин інкубації при 37°C. Концентрацію сульфідів в SAOB-розчині вимірювали за допомогою сульфідчутливого електроду (Модель 9616 S^{2-}/Ag^+ електрод, Orion Research, Beverly, MA, USA). Для досліджень, в яких тестові сполуки інкубували в гомогенаті печінки, 100-150 мг виділеної печінки щурів гомогенізували в 1 мл екстракторі білка T-PER, що охолоджується льодом. Гомогенати додавали до реакційної суміші при концентрації 10% (мас./об.). 2 нМ DL-пропаргілгліцину інкубували з гомогенатом печінки протягом 5 хв. при 37°C перед ензиматичною реакцією. Khan, S.U. Morris, G.F. і Hidirolou, M. (1980). Швидка оцінка концентрації сульфідів в рубці і крові з сульфідспецифічним іонним електродом описана в Microchem. J. 25:388-395, яка включена в даний опис за допомогою посилання.

Результати, представлені на фігурі 6, допускають, що сполука XXVII має наступні відмітні ознаки:

1. Сполука XXVII вивільняє H_2S мимовільно (в буфері), що бажано для місцевого ефекту в травному тракті. 4-НВТ і L-цистеїн не вивільняють значущі кількості H_2S , якщо інкубуються тільки в буфері;

2. Вивільнення H_2S більше в присутності тканини;

3. Вивільнення H_2S із сполуки XXVII відбувається незалежно від активності двох головних ензимів для ендогенного синтезу H_2S (цистатіонін β -синтетаза і цистатіонін- γ -ліаза). Це було продемонстроване шляхом відсутності ефекту інгібітора вказаних ензимів (PAG; DL-

пропаргілгліцин), на генерацію H_2S із сполуки XXVII. У протилежність цьому, вивільнення H_2S з L-цистеїну значно інгібується PAG;

4. Концентрація H_2S , отриманого із сполуки XXVII знаходиться в діапазоні 10-20 мкМ, якщо використовується 1 нМ сполуки. Концентрації до 5 нМ месаламіну можуть бути виміряні в просвіті товстої кишки після того, як пацієнти прийняли звичайні дози цієї лікарської речовини (Dig. Dis. Sci. 1989; 34: 573-578). Ендогенні концентрації H_2S можуть бути досить великі, близько 160 мкМ (Antioxid. Redox Signal. 2003; 5, 493-501). Сполука XXVII вивільняє H_2S з концентраціями в межах фізіологічного діапазону, таким чином мінімізуючи імовірність токсичності, зумовленої H_2S .

ПРИКЛАД 16. Порівняння дії тіокарбамоїлбензоату тримебутину з тримебутином окремо і з тіокарбамоїлбензоатом окремо на моделі сприйняття вісцерального болю на щурах

Експерименти проводили, як описано в Прикладі 13, за винятком того, що кожна група з 5 щурів отримувала носій, малеат тримебутину (10 мг/кг), або з еквімолярними дозами тіокарбамоїлбензоату тримебутину (сполука III), або окремо тіокарбамоїлбензоат.

Фігури 7(a) і 7(b) показують, що тіокарбамоїлбензоат тримебутину є більш ефективним, ніж або малеат тримебутину, або тіокарбамоїлбензоат, відносно зменшення вісцерального болю як відгук на колоректальне розтягнення.

Таким чином, тіокарбамоїлбензоат тримебутину може бути застосований для лікування абдомінального болю, асоційованого з різними запальними станами травного тракту, також як функціональними шлунково-кишковими розладами, такими як спастичний коліт, диспепсія, і т.д., які характеризуються підвищеною вісцеральною ноцицепцією (з або без супроводжуючого запалення).

ПРИКЛАД 17. Шлунково-кишкова безпека NSAID-сполук згідно з даним винаходом

Похідне диклофенаку згідно з даним винаходом, 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти, що також позначається тут як сполука XVII, досліджували на його шлунково-кишкову безпеку на щурах. Зокрема, вимірювали шлункове пошкодження, шлунковий синтез PGE_2 , покриття виразками тонкої кишки і гематокрит.

Самці щурів Вістар з масою 175-200 г не отримували їжу протягом 18 годин перед пероральним введенням 1% карбоксиметилцелюлози (носії; 0,2 мл) окремо, або одного з наступних розчинів в цьому носії: диклофенак (20 мг/кг), 4-тіокарбамоїлфеніловий ефір [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (сполука XVII) (27,3 мг/кг), 4-гідрокситіобензамід (TBZ) (7,3 мг/кг) або диклофенак спільно з TBZ. Доза сполуки XVII була еквімолярна дозі диклофенаку 20 мг/кг. Аналогічно, доза TBZ була еквімолярна дозі сполуки XVII.

У кожній групі було по 5 щурів. Через три години після введення сполук, що тестуються, щурів усипляли і величину шлункового геморагічного пошкодження вимірювали сліпим методом (в мм). "Коефіцієнт шлункового пошкодження" отримували шляхом підсумовування довжин всіх пошкоджень в шлунку. Як можна бачити з Фігури 8, не спостерігалось пошкодження шлунка в групах "носія" або "сполуки XVII". Сполука XVII викликає значно менше пошкодження шлунка, ніж диклофенак. Крім того, ефект непошкодження шлунка не спостерігається, якщо фрагмент NSAID (диклофенаку) і TBZ вводиться роздільно, але одночасно.

Ці спостереження були підтверджені подальшим гістологічним дослідженням сліпим методом. Зразки (100-200) шлункової тканини вирізали для вимірювання синтезу простагландину E_2 (PGE_2), як описано в деталях раніше (Wallace et al., Cyclooxygenase 1 contributes to inflammatory responses in rats and mice: implications for gastrointestinal toxicity. Gastroenterology 1998; 115; 101-109, яка включена в даний опис за допомогою посилання). Стисло, зразки тканини крошили за допомогою ножиць протягом 30 хв., потім вміщували в 1 мл буферу фосфату натрію (pH 7,4) і вміщували у водяну баню (37°C), що збовтується, на 20 хв. Потім зразки негайно центрифугували протягом 1 хв. при 9000g і супернатант негайно заморожували до -80°C протягом подальшого вимірювання концентрації PGE_2 із застосуванням специфічного тесту ELISA (Wallace et al., 1998).

Як можна бачити з Фігури 9, диклофенак (з, або без, супутним введенням TBZ) і сполука XVII значно зменшують величину синтезу PGE_2 в шлунку, що вказує на інгібування COX-1 і/або COX-2. TBZ окремо не зменшує синтезу PGE_2 в шлунку в порівнянні з носієм. Таким чином, відсутність шлункового пошкодження у щурів, оброблених сполукою XVII, як представлено на фігурі 1, не стосується зміни здатності цих лікарських речовин придушувати синтез простагландину в шлунку. Придушення синтезу PGE_2 в шлунку є практично рівним у випадку цих лікарських речовин і у випадку еквімолярної дози диклофенаку.

Фігура 10 показує, що похідне напроксену згідно з даним винаходом, 4-тіокарбамоїлфеніловий ефір 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XX), викликає значно менше пошкодження, ніж напроксен окремо. Цей експеримент проводили

точно таким же чином, як ті, що представлені на фігурі 8. Напроксен і сполуку XX, кожний, вводили перорально при дозі 60 мкмоль/кг, і 3 години через пошкодження шлунка досліджували сліпим методом. Пошкодження шлунка не піддавалося виявленню у будь-якого з щурів, оброблених сполукою XX. Кожна група складалася з 5 щурів. Ці спостереження були

5 підтверджені подальшим гістологічним дослідженням сліпим методом.

Інгібування COX-1 також вимірювали з використанням таких же щурів. Відразу після збору ексудатів з кишені, 1 мл крові відбирали з нижньої статевої вени кожного щура і вміщували в скляну пробірку і дозволяли згортатися протягом 45 хв., як описано раніше (Wallace et al., Gastroenterology 1998). Зразки потім центрифугували протягом 3 хв. при 9000g і супернатант

10 заморожували при -80°C протягом подальшого вимірювання концентрацій тромбоксану B₂ із застосуванням специфічного тесту ELISA. Як представлено на фігурі 11, напроксен і сполука XX, кожний, значно (*p<0,05) інгібують активність COX-1 в порівнянні з групою, обробленою носієм.

ПРИКЛАД 18. Інгібування циклооксигенази-2 (COX-2) і циклооксигенази-1 (COX-1) дією 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти.

Інгібування COX-2 in vivo вимірювали із застосуванням модифікованого варіанту раніше опублікованої моделі (Wallace et al., Limited anti-inflammatory efficacy of cyclo-oxygenase-2 inhibition in carrageenan-airpouch inflammation. Br. J. Pharmacol. 1999; 126:1200-1204, яка включена в даний опис за допомогою посилання). Стисло, підшкірну "кишеню" створювали шляхом ін'єкцій повітря, що повторюються протягом декількох днів. Один раз виникши, запалення в кишені може бути викликане шляхом ін'єкції 1 мл 1% зимосану. Це викликає великий приріст простагландину E₂ (PGE₂) в межах кишені, що, як було показано, досягається майже виключно дією COX-2. Кожну групу з 5 щурів перорально обробляли, за 30 хв. до ін'єкції каррагенану, носієм (1% карбоксиметилцелюлоза), диклофенаком (3 мг/кг) або 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти, сполукою XVII (4,1 мг/кг). Інша група з 5 щурів отримувала носій, але також ін'єкцію 0,9% стерильного фізіологічного розчину в кишеню, в кількості, яка надходить із зимосаном.

Як можна бачити з Фігури 12, попередня обробка або диклофенаком, або сполукою XVII значно зменшувала концентрації PGE₂ в межах кишені, які виникали як відгук на ін'єкцію зимосану. *p<0,05 по відношенню до групи, що отримувала носій + зимосан. Ці результати показують, що обидві сполуки значно інгібуються COX-2. У протилежність цьому, TBZ один не впливає значно на активність COX-2.

Інгібування COX-1 також вимірювали із застосуванням тих же щурів, із застосуванням того ж способу, як описано для Фігури 11. Як представлено на фігурі 13, диклофенак і сполука XVII, кожний, інгібують повний синтез тромбоксану в крові, який проходить під дією COX-1 більш ніж на 80%. У протилежність цьому, TBZ не впливає значно на активність COX-1.

ПРИКЛАД 19. Вплив похідних NSAID на пошкодження шлунка, активність COX-1 і COX-2 in vivo

Протизапальні ефекти (інгібування COX-2 і COX-1) і шлункову безпеку ряду сполук порівнювали із застосуванням досліджень, описаних вище. Результати узагальнені в таблиці 1. Все вихідні NSAID викликають значне шлункове пошкодження. Однак, похідні TBZ згідно з даним винаходом показують поліпшену шлункову безпеку в порівнянні з вихідними лікарськими речовинами. Також можна бачити з таблиці 1, що похідні TBZ або зберігають, або, як не дивно, збільшують їх здатність інгібувати COX-1 і/або COX-2 в порівнянні з вихідною лікарською речовиною.

Таблиця 1

Вплив похідних NSAID на пошкодження шлунка і активність COX-1 і COX-2 in vivo

Сполука	Фрагмент NSAID	Доза (мкмоль/кг)	Пошкодження шлунка	Інгібування COX-1	Інгібування COX-2
XVII	Диклофенак	30	↓	↔	↔
XX	Напроксен	60	↓	↔	↑
XIX	Індометацин	30	↓	↑	↔

Визначення:

↑: статистично значущий приріст по відношенню до вихідної лікарської речовини (p<0,05)

↓: статистично значуще зменшення по відношенню до вихідної лікарської речовини (p<0,05)

↔: немає значущої зміни по відношенню до вихідної лікарської речовини

ПРИКЛАД 20. Вплив похідних NSAID на запалення

Протизапальні ефекти 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти (сполука XVII) з тим же диклофенаком досліджували із застосуванням моделі карагенанового набряку задньої лапи, як раніше описано у Wallace et al., *Gastroenterology* 1998. Самці щурів Вістар з масою 175-200 г отримували сполуки, що тестуються, перорально за 30 хв. перед підподошвеною ін'єкцією 100 мкл 1% лямбда-карагенану. Об'єм лапи вимірювали із застосуванням гідроплетизмометра Ugo Basile перед ін'єкцією карагенану і потім через 1-годинні інтервали протягом 5 годин. Кожну групу, яка складалася з 5 щурів, обробляли диклофенаком при дозах 1, 3 або 10 мг/кг або із сполукою XVII при дозі, еквімолярній диклофенаку 3 мг/кг.

Як представлено на фігурі 14, диклофенак залежним від дози чином зменшував набряк лапи, зумовлений підподошвеною ін'єкцією карагенану. Сполука XVII, що вводиться при дозі, еквімолярній диклофенаку 3 мг/кг, зменшувало набряк лапи в більшій мірі. Дійсно, ефект сполуки XVII на набряк лапи був порівнянним з ефектом диклофенаку при дозі 10 мг/кг.

Оскільки сполука XVII придушує синтез простагландину в тій же мірі, як диклофенак, збільшена активність нових сполук за винаходом в моделі набряку лапи найбільш ймовірно стосується іншої властивості сполуки. Раніше було продемонстровано, що донори сірководня можуть значно зменшувати зумовлений карагенаном набряк лапи у щурів (Zanardo et al., *Hydrogen sulphide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. FASEB J* 2006; 20: 2118-2120, яка включена в даний опис за допомогою посилання), таким чином, без необхідності бути пов'язаним з будь-якою теорією, передбачається, що вивільнення H_2S із сполуки XVII є фактором, що посилює протизапальні характеристики в порівнянні з диклофенаком.

Без необхідності бути пов'язаним з будь-якою теорією, також передбачається, що деяка частина додаткової активності сполук за цим винаходом в моделях запалення може бути приписана посиленому інгібуванню активності COX-2. Ефекти носія, напроксену і 4-тіокарбамілфенілового ефіру 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XX) були порівняні з моделлю повітряної кишені на щурах (як описано для Фігури 12). Кожна група складалася з 5 щурів. Напроксен і сполука XX, кожний, вводилися при дозі 60 мкмоль/кг. Як представлено на фігурі 15, як напроксен, так і сполука XX значно придушують активність COX-2 в порівнянні з групою, що отримувала носій (* $p < 0,05$. ** $p < 0,01$).

Також, без необхідності бути пов'язаним з будь-якою теорією, може бути, що деяка частина додаткової активності похідних NSAID за цим винаходом в моделях запалення може бути приписана посиленому інгібуванню активності COX-1. Ефекти носія, індометацину і 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [1-(4-хлорбензоїл)5-метокси-2-метил-1-Н-індол-3-іл]оцтової кислоти (сполука XIX), були порівняні з їх ефектами на повну кількість тромбосану B_2 в крові людини *in vitro*. Аліквоти (0,5 мл) крові від здорових добровольців додавали в скляні пробірки, що містять 10 мкл метанолу окремо, або одну з лікарських речовин, що тестуються, приготованих так, що кінцева концентрація повинна становити 0,1, 0,3, 1 або 3 мкМ. Пробірки вміщували у водяну баню (37°C) з м'якими поштовхами на 45 хв., після чого їх центрифугували (1000g) протягом 10 хвилин. Концентрацію тромбосану B_2 в кожному зразку потім визначали із застосуванням специфічного тесту ELISA, як в дослідженнях, представлених на фігурі 11. Як представлено на фігурі 16, як індометацин, так і сполука XIX створювали залежне від концентрації інгібування активності COX-1 в порівнянні з групою, обробленою носієм. Однак, при концентраціях 1 і 3 мкМ, сполука XIX створювала значно більше (* $p < 0,05$) інгібування активності COX-1, ніж те, що отримували дією індометацину.

ПРИКЛАД 21. Адгезія лейкоцитів до судинного ендотелію; похідні NSAID згідно з даним винаходом

Адгезія лейкоцитів до ендотелію судин являє собою першу подію в запальних реакціях і вносить внесок в утворення тромбів. Донори сірководня, як було показано, зменшують адгезію лейкоцитів, зумовлену аспірином або прозапальним трипептидом, fMLP (Zanardo et al., *FASEB J* 2006; 20: 2118-2120). Ефекти декількох похідних NSAID згідно з даним винаходом на адгезію лейкоцитів досліджували із застосуванням прижиттєвої мікроскопії на щурах, як описано в деталях Zanardo et al. *FASEB J* 2006; 20: 2118-2120.

Стисло, посткапілярні брижівні венули в анестезованих щурах досліджували під оптичним мікроскопом. Після запису фонового рівня на відрізу в 5 хв. одну з тестових сполук, перерахованих в таблиці 2 нижче, вводили внутрішньошлунково при дозі 30 мкмоль/кг, за винятком напроксену і 4-тіокарбамілфенілового ефіру 2-(6-метоксинафталін-2-іл)пропіонової кислоти (сполука XX), які вводили при дозі 60 мкмоль/кг. Всі сполуки, що тестуються, готували в

- середовищі 1% карбоксиметилцелюлози. Зміни адгезії лейкоцитів в межах венули записували на відеокамеру, приєднану до мікроскопа, і кількісне визначення числа прикріплених лейкоцитів проводили сліпим методом шляхом оцінки записаних на відеоплівку зображень. Кожна група складалася з 5 самців щурів Вістар, з масою 150-175 г. Лейкоцит вважався "адгезованим", якщо він залишався нерухомим протягом 30 секунд або більше (результати нижче виражали як значення \pm SEM). У кінці експеримента шлунок відкривали і досліджували на присутність шлункового пошкодження під розтинаючим мікроскопом.

Таблиця 2

Адгезія лейкоцитів до ендотелію судин

Сполука, що тестується	Число прикріплених лейкоцитів (на 100 мкм довжини судини)	Процент шлункового пошкодження
Носій	2,0 \pm 0,2	0
Аспірин	7,1 \pm 0,4*	80
Сполука XVI	2,3 \pm 0,3	0
Диклофенак	8,6 \pm 0,6*	100
Сполука XVII	2,8 \pm 0,5	20
Луміракоксиб	9,3 \pm 1,0*	0
Сполука XVIII	2,3 \pm 0,4	0
Індометацин	14,4 \pm 0,7*	100
Сполука XIX	3,0 \pm 0,4	0
Напроксен	10,2 \pm 0,4*	100
Сполука XX	2,3 \pm 0,5	0

* $p < 0,05$ по відношенню до групи, обробленої носієм (Множинний тест порівняння за ANOVA і Dunnett)

- З таблиці 2 можна бачити, що TBZ-похідне аспірину згідно з даним винаходом, сполука XVI, значно зменшує число прикріплених лейкоцитів на 100 мкм довжини судини в порівнянні з аспірином окремо. На додаток, сполука XVI значно зменшує процент шлункового пошкодження в порівнянні з аспірином окремо. Аналогічно, далі таблиця 2 показує, що TBZ-похідне диклофенаку згідно з даним винаходом, сполука XVII, значно зменшує число прикріплених лейкоцитів на 100 мкм довжини судини і значно зменшує процент шлункового пошкодження в порівнянні з диклофенаком окремо. Аналогічним чином, далі таблиця 2 показує, що TBZ-похідне напроксену згідно з даним винаходом, сполука XX, значно зменшує число прикріплених лейкоцитів на 100 мкм довжини судини і значно зменшує процент шлункового пошкодження в порівнянні з напроксом окремо.
- Цікаво, що TBZ-похідне луміракоксибу, COX-2 селективний інгібітор, що має зменшений шлунковий побічний ефект, сполука XVIII, як і раніше не показує випадків шлункового пошкодження, але число прикріплених лейкоцитів на 100 мкм довжини судини значно зменшене в порівнянні з луміракоксибом окремо. Таким чином, ковалентне зв'язування TBZ з селективними у відношенні COX-2 NSAID також може зменшувати серцево-судинні побічні ефекти цих інгібіторів COX-2.
- Таким чином, похідні NSAID згідно з даним винаходом можуть призводити до зменшення серцево-судинних побічних ефектів NSAID шляхом зменшення адгезії лейкоцитів.
- ПРИКЛАД 22. Вплив похідних NSAID згідно з даним винаходом на лікування виразки шлунка NSAID, включаючи ті, що є селективними у відношенні COX-2, часто інгібують видужання шлункових виразок, що раніше виникли (Stadler et al., Diclofenac delays healing of gastroduodenal mucosal lesions. Double-blind, placebo-controlled endoscopic study in healthy volunteers. Digestive Diseases and Sciences 1991; 36: 594-600). Для визначення ефектів двох сполук згідно з даним винаходом на загоєння виразки (сполуки XVII і сполуки XX), в порівнянні з диклофенаком і напроксом, відповідно, щурів обробляли цими лікарськими речовинами після того, як виразки були створені в їх шлунках. Шлункові виразки створені шляхом серозного нанесення оцтової кислоти, як описано Elliott et al., A nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug accelerates gastric ulcer healing in rats. Gastroenterology 1995; 109: 524-530. Через три дні після початку, групами з 5 щурів, кожен групу обробляли двічі в день, перорально, носієм, диклофенаком, (30 мкмоль/кг), сполукою XVII (30 мкмоль/кг), напроксом (60 мкмоль/кг) або сполукою XX (60 мкмоль/кг). Через 4 дні такого лікування щурів усыпляли і шлунок вирізали і

фотографували. Розмір виразки (в мм²) визначали шляхом планіметричної індивідуальної обробки сліпим методом, використаної для щурів. У підгрупі з 5 щурів, приспаних через 3 дні після створення шлункових виразок (тобто, перед початком лікарського лікування), середня площа поверхні виразок становила 24±2 мм². Як показано на фігурі 17, щури, оброблені носієм, диклофенаком або напроксеном, виявляють аналогічні міри видужання. Однак, щури, оброблені сполукою XVII або сполукою XX, виявляють значно більше видужання (*p<0,05 в порівнянні з диклофенаком і напроксеном, відповідно). Обробка TBZ окремо не впливає значно на видужання шлункових виразок в порівнянні з групою, обробленою носієм.

ПРИКЛАД 23. Впливи похідних NSAID згідно з даним винаходом на тиск крові

NSAID, включаючи ті, що виявляють селективність у відношенні COX-2, можуть загострювати гіпертензію, що існувала до цього, і заважати ефективності деяких антигіпертензивних засобів (Whelton, A. Nephrotoxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications. Am. J. Med. 1999; 106 (5B): 13S-24S). Щури отримували ці лікарські речовини внутрішньочеревинно після створення гіпертензії, для визначення ефектів похідних напроксену згідно з даним винаходом сполука XX порівнювалася по тиску крові з напроксеном, взятим окремо. Щурам давали питну воду, що включає метиловий ефір Nω-нітро-L-аргініну (400 мг/л) протягом 7 днів перед експериментом, як описано раніше Ribeiro et al. (Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: A new model of arterial hypertension. Hypertension 1992; 20: 298-303). Щурів (від 5 до 8 на групу) анестезували галотаном і в сонну артерію вставляли катетер для вимірювання тиску крові, який вів запис постійно на діаграмний самописець. Після вимірювання тиску крові, стабільного протягом щонайменше 15 хвилин, або напроксен, або сполуку XX вводили внутрішньочеревинно у вигляді болюсної ін'єкції з концентрацією 60 ммоль/кг. Зміни в тиску крові реєстрували протягом 60 хвилин після ін'єкції. Середній рівень тиску крові становив 150±6 мм Hg. Фігура 18 показує, що напроксен викликає значущий приріст систолічного тиску крові. У протилежність цьому, сполука XX не збільшує систолічний тиск крові в порівнянні з групою, обробленою носієм, і зміна в тиску крові є значно меншою, ніж той тиск, що зумовлені диклофенаком і напроксеном, відповідно.

ПРИКЛАД 24. Вимірювання генерації H₂S з 4-тіокарбамоїлфенілового ефіру [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти

Для порівняння вивільнення H₂S in vitro, зумовленого 4-тіокарбамоїлфеніловим ефіром [2-(2,6-дихлорфеніламіно)феніл]оцтової кислоти, сполуку XVII, і TBZ, 100-150 мг виділених зразків печінки гомогенізували в 1-мл білковому екстракторі T-PER, що охолоджується льодом. 2-мл реакційну суміш для дослідження вводили в суміші з 250 мкл 0,1N NaOH, що охолоджується льодом, в запаяний 3-горлий реактор. Суміш, що містить 1 mM сполуки XVII, або 1 mM TBZ, розчиняли в PEG і 100 mM буферу з фосфатом калію (pH=7,4). Інкубації проводили в присутності, або без 10% (мас./об.) гомогенату печінки і 2 mM піридоксаль 5'-фосфату. Постійний потік азоту пропускали через суміш через капіляр, що підводить газ. Реактор втримували при 37°C і екстракцію H₂S починали введенням 1 мл 10% розчину трихлороцтової кислоти. Потік азоту переводив сірководневу кислоту в інший реактор через охолоджений конектор і барботуванням в 2 мл сульфідного неокислюючого буферного розчину (SAOB), що складається з 2 M KOH, 1 M саліцилової кислоти і 0,22 M аскорбінової кислоти при pH 12,8. Через 30 хвилин SAOB-розчин видаляли і концентрацію сульфідів вимірювали за допомогою сульфідчутливого електрода (Модель 9616 S²⁻/Ag⁺-електрод, Orion Research, Beverly, MA, USA) і виражали у вигляді концентрації H₂S (Ubuка, 2002; Khan et al., 1980). Реакції ініціювали перенесенням пробірки з крижаної бані у водну баню при 37°C. Потік азоту переводив сірководневу кислоту у другий реактор, що містить 2 мл SAOB, описаний раніше. Після інкубування при 37°C протягом 90 хвилин 1 мл 50% розчину трихлороцтової кислоти додавали до суміші для зупинки реакції. H₂S, що залишається в суміші, переводили з струмом азоту протягом ще 30 хвилин інкубації при 37°C. Концентрацію сульфідів в SAOB-розчині вимірювали сульфідчутливим електродом, як описано вище (Ubuка, 2002; Khan et al., 1980).

Як представлено на фігурі 19, інкубація сполуки XVII в буфері призводить до значно більшого вивільнення H₂S, ніж у випадку еквівалентної кількості TBZ. Аналогічно, є більше вивільнення H₂S із сполуки XVII, ніж з TBZ при інкубуванні з гомогенатом печінки.

ПРИКЛАД 25

Дія змішаного 4-тіокарбамоїлфенілового 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-ілового ефіру янтарної кислоти (сполука I) і симвастатину на агрегацію тромбоцитів людини (in vitro).

Збагачену тромбоцитами плазму (PRP) отримували, як описано в деталях раніше (Ma L, Elliott SN, Cirino G, Buret A, Ignarro LJ, Wallace JL. Platelets modulate gastric ulcer healing through

release of endostatin and VEGF. Proc Natl Acad Sci USA 98: 6470-6475, яка включена в даний опис за допомогою посилання). Концентрацію тромбоцитів в PRP приводили до 1×10^8 на мл шляхом розбавлення буфером Тірода (Tyrode) (pH 7,4). Аліквоти (400 мкл) тромбоцитів вміщували в скляну кювету і вміщували в агрегометр тромбоцитів ChronoLog. Агрегацію як відповідь на додання в кювету аденозиндифосфату (ADP) контролювали протягом періоду в 5 хв. Спочатку будували криву концентрація-відгук на ADP, потім концентрацію ADP, що створює 70-80% максимальної агрегації, застосовували для всіх подальших досліджень. Суспензії PRP заздалегідь інкубували протягом 10 хв. при 37°C з різними концентраціями (3-30 мкМ) симвастатину або сполуки I, або з носієм (метанол). Потім оцінювали агрегаційний відгук на ADP. Експерименти повторювали 4-6 разів для кожної концентрації кожної лікарської речовини.

На фігурі 20 показані ефекти симвастатину і сполуки I на ADP-зумовлену агрегацію тромбоцитів людини. Тільки симвастатин зменшує агрегацію тромбоцитів при концентрації 30 нМ, в той час як сполука I значно зменшує агрегацію тромбоцитів при концентраціях 3, 10 і 30 мкМ (зірочки показують значне зменшення агрегації тромбоцитів в порівнянні з відповідною групою, обробленою носієм; $p < 0,05$).

ПРИКЛАД 26. Дія сполуки I і симвастатину на cAMP тромбоцитів людини (in vitro)

Збагачену тромбоцитами плазму (PRP) отримували, як описано вище. Аліквоти 400 мкл PRP вміщували в скляні пробірки, які містили IBMX (ізобутил-1-метилксантин; 0,5 мМ), неселективний інгібітор фосфодієстерази. Через дві хвилини в пробірки додавали носій (метанол) або різні концентрації (3-100 мкМ) симвастатину або сполуки I. Як позитивний контроль деякі аліквоти тромбоцитів обробляли форсколіном (10 мкМ), відомим збудником аденілатциклази. Через десять хвилин зразки PRP центрифугували при 9000g протягом 2 хв. і супернатант відкидали. Гранули повторно суспендували в буфері, опромінювали ультразвуком протягом 2 хв., потім концентрації cAMP визначали із застосуванням специфічного ензимзв'язаного імуносорбентного дослідження (Cauman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA). Експерименти повторювали 4-6 разів для кожної концентрації кожної лікарської речовини.

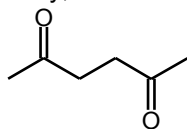
На фігурі 21 показані ефекти симвастатину і сполуки I на концентрації cAMP тромбоцитів людини. Пунктирна лінія показує рівні cAMP в тромбоцитах, оброблених форсколіном (10 мкМ). Тільки симвастатин значно збільшує cAMP тромбоцитів при найвищій концентрації (100 мкМ), в той час як сполука I викликає значний приріст в cAMP тромбоцитів при концентраціях 10, 30 і 100 мкМ). (Зірочки показують значне зменшення агрегації тромбоцитів в порівнянні з відповідною групою, обробленою носієм; $p < 0,05$).

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

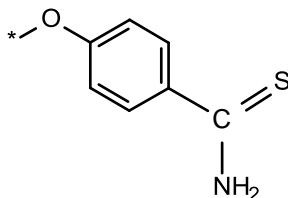
1. Сполука або її сіль загальної формули:

A – Y – X (Формула I),

де A являє собою залишок статину, вибраний з групи, що складається із залишку симвастатину, ловастатину і мевастатину,

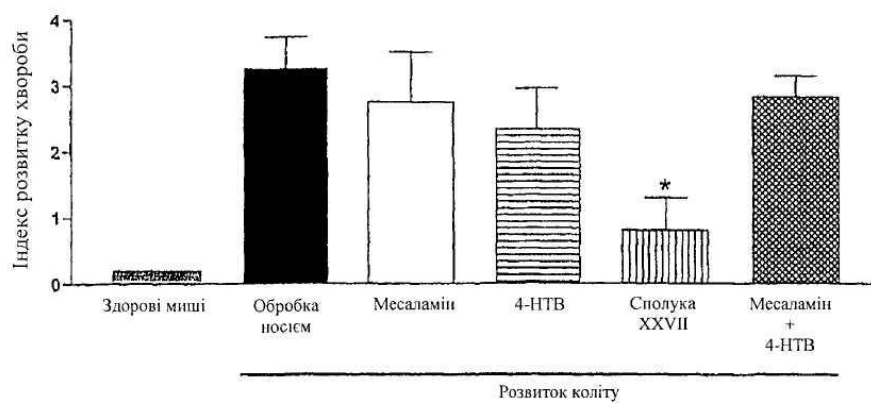


Y являє собою групу

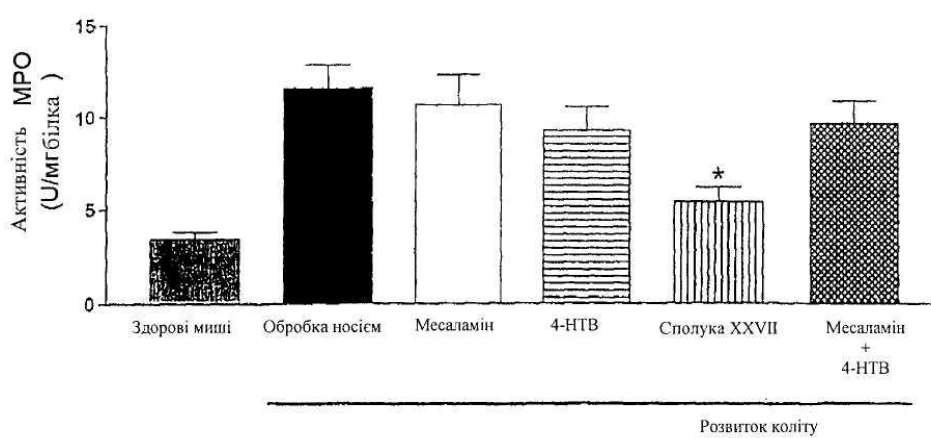


X являє собою групу, де * - місце приєднання до фрагмента Y.

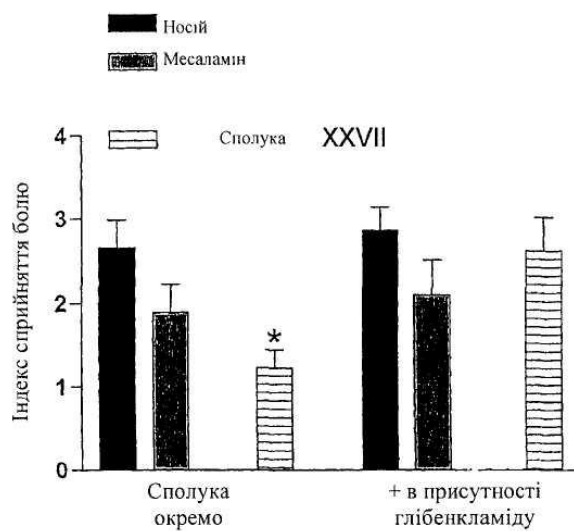
2. Сполука за п. 1, де сполука являє собою змішаний 4-тіокарбамоїлфеніловий ефір - 2-{2-[8-(2,2-диметилбутирилокси)-2,6-диметил-1,2,6,7,8,8а-гексагідронафталін-1-іл]етил}-6-оксотетрагідропіран-4-іловий ефір бурштинової кислоти.



Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3

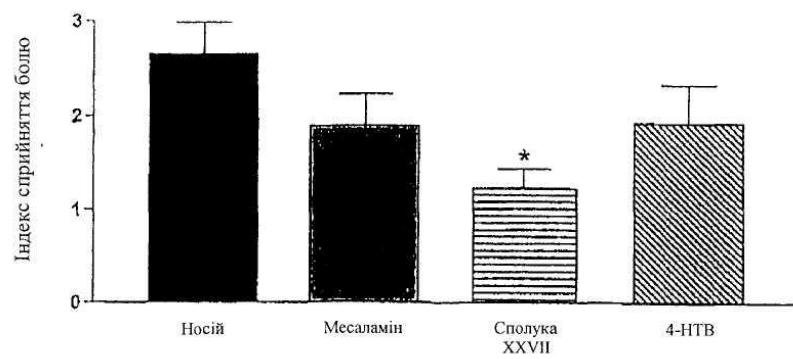


Fig. 4

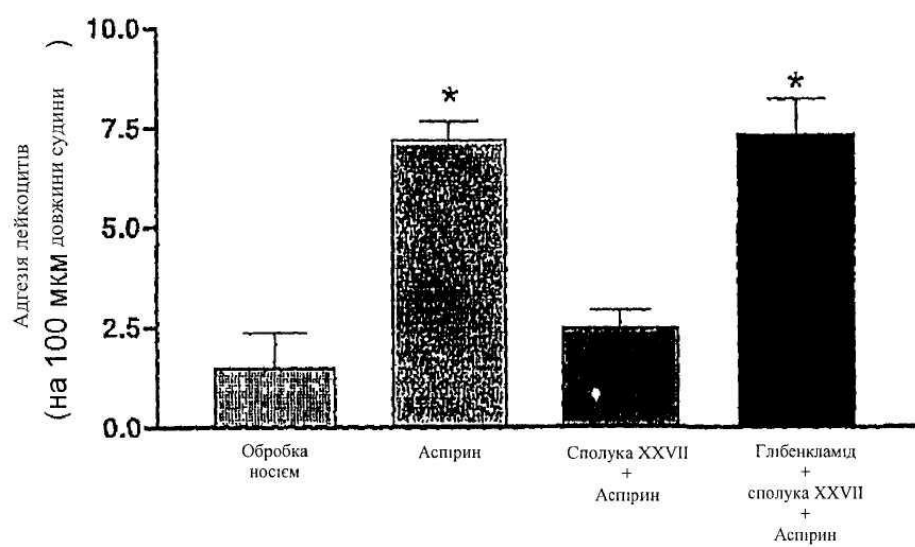
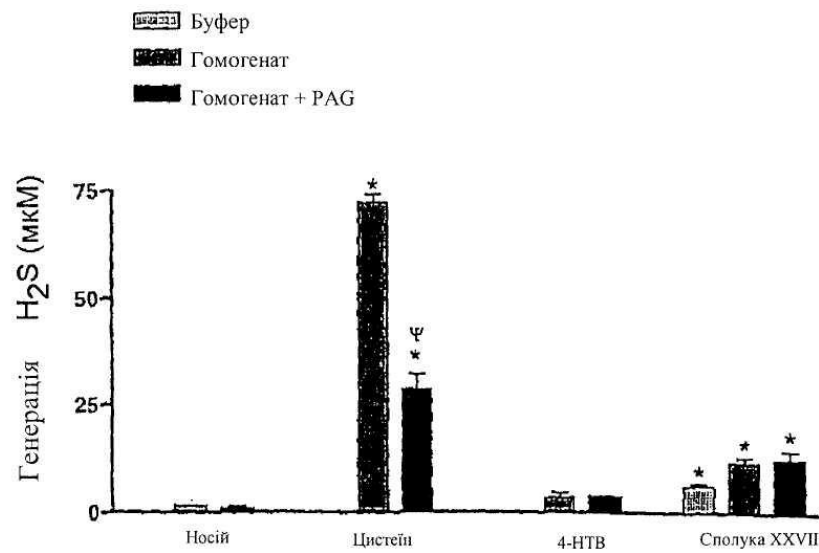
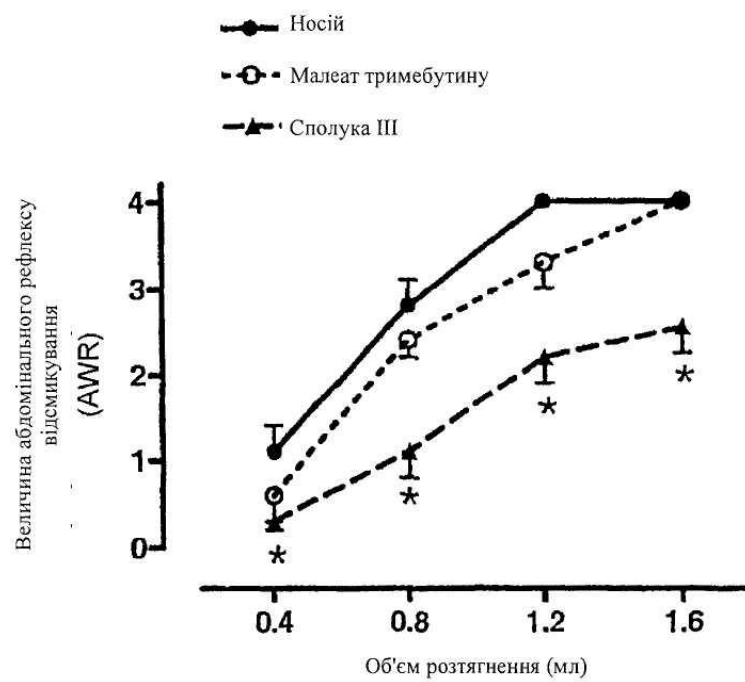


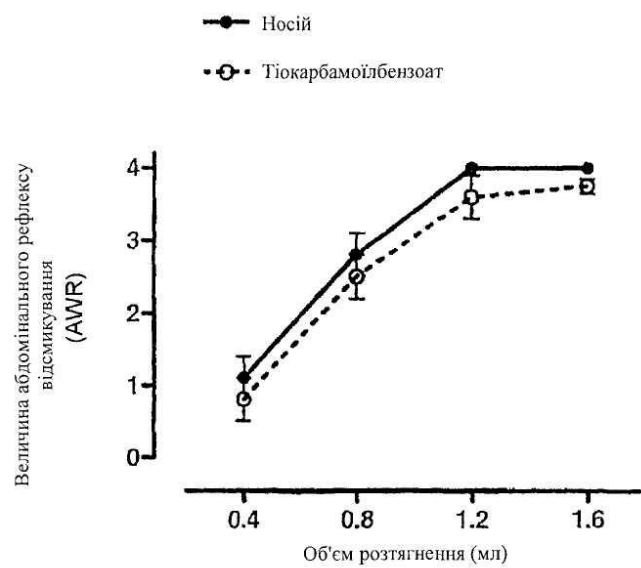
Fig. 5



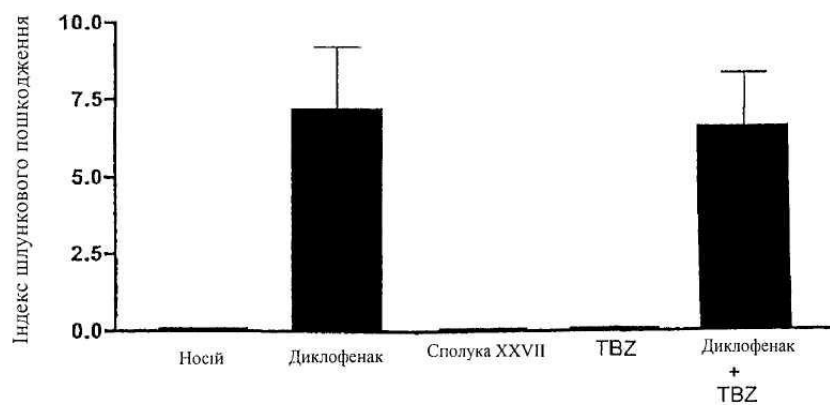
Фіг. 6



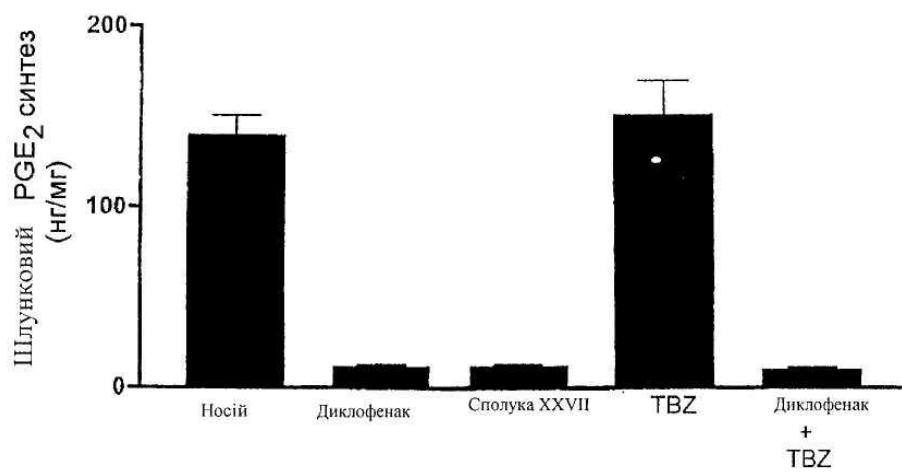
Фіг. 7a



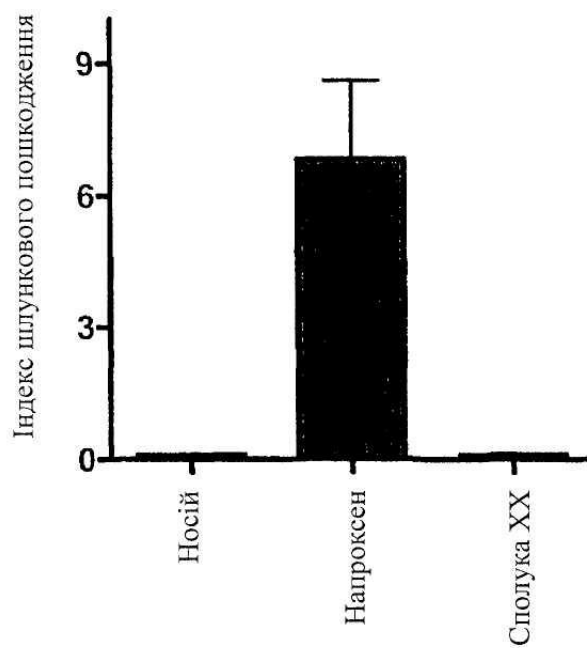
Фіг. 7b



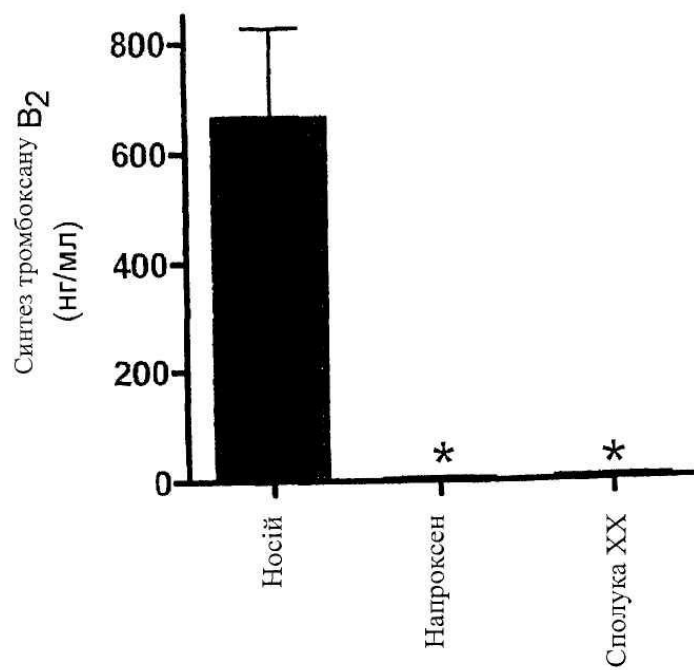
Фіг. 8



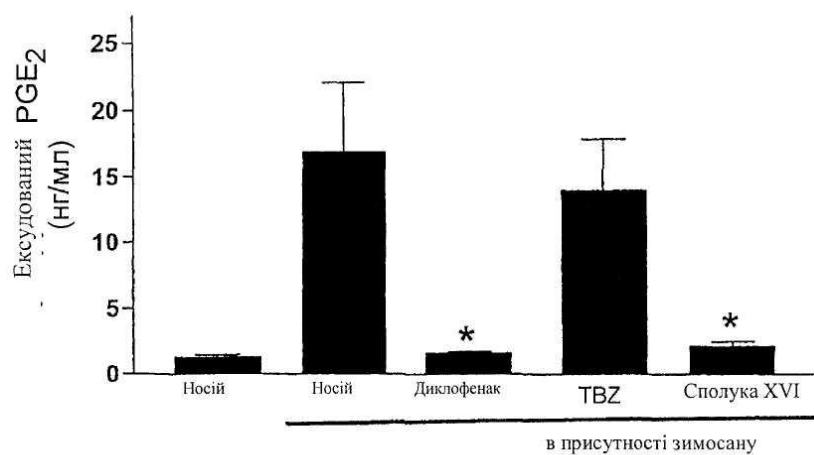
Фіг. 9



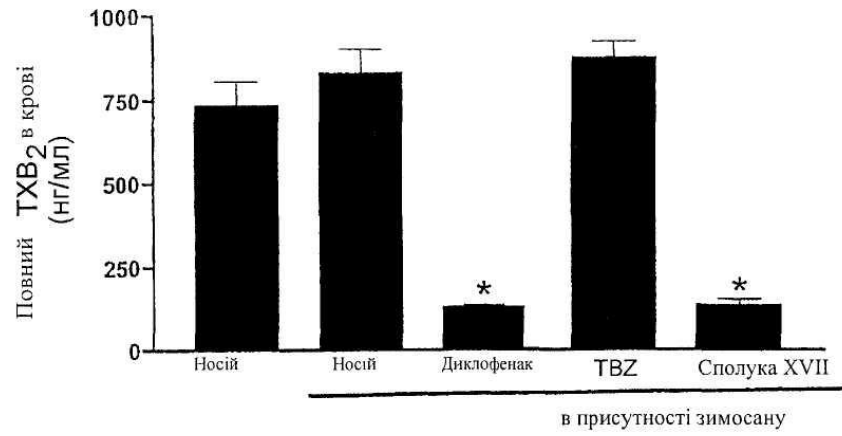
Фіг. 10



Фіг. 11

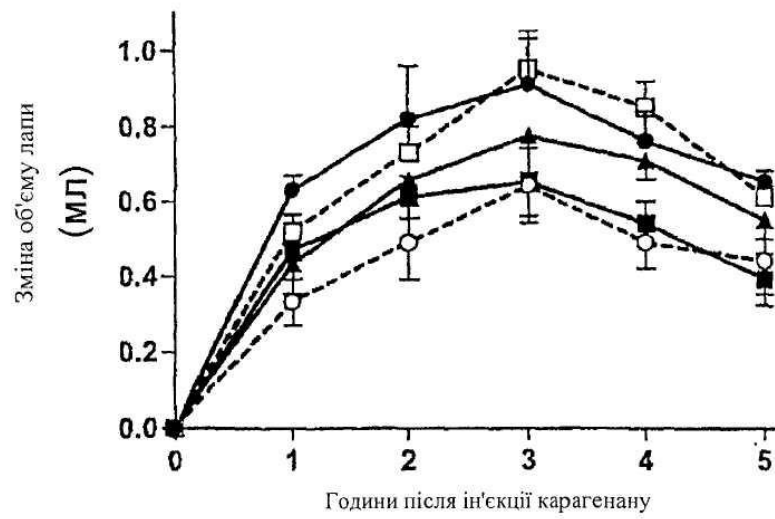


Фіг. 12

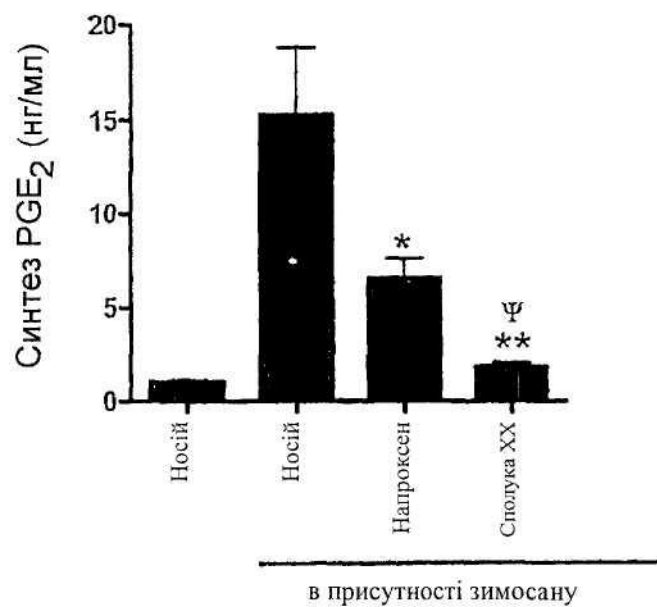


Фіг. 13

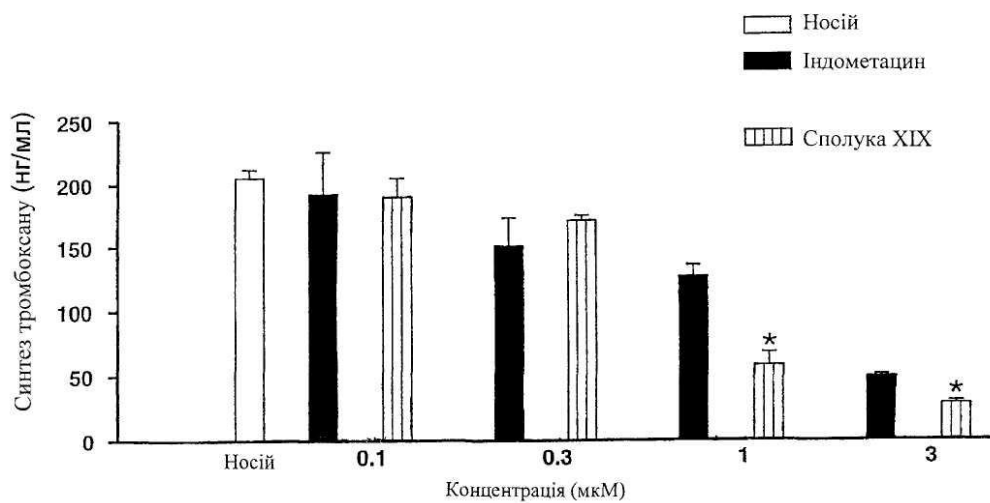
- Носій
- Диклофенак (1 мг/кг)
- ▲ Диклофенак (3 мг/кг)
- Диклофенак (10 мг/кг)
- Сполука XVII (4,1 мг/кг)



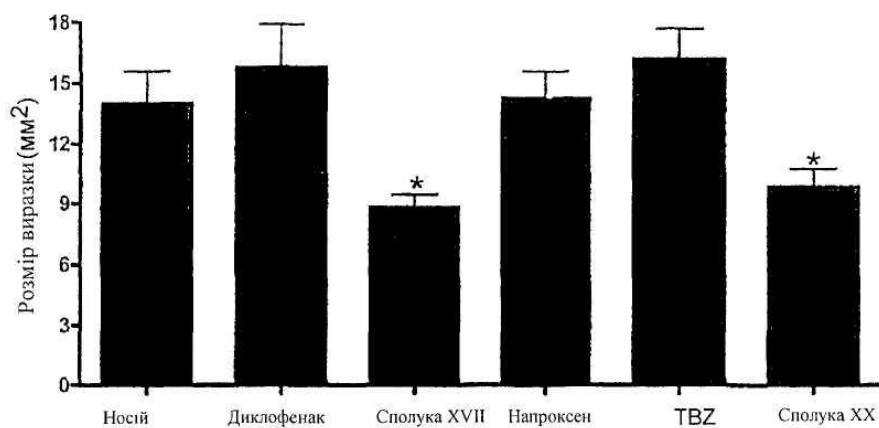
Фіг. 14



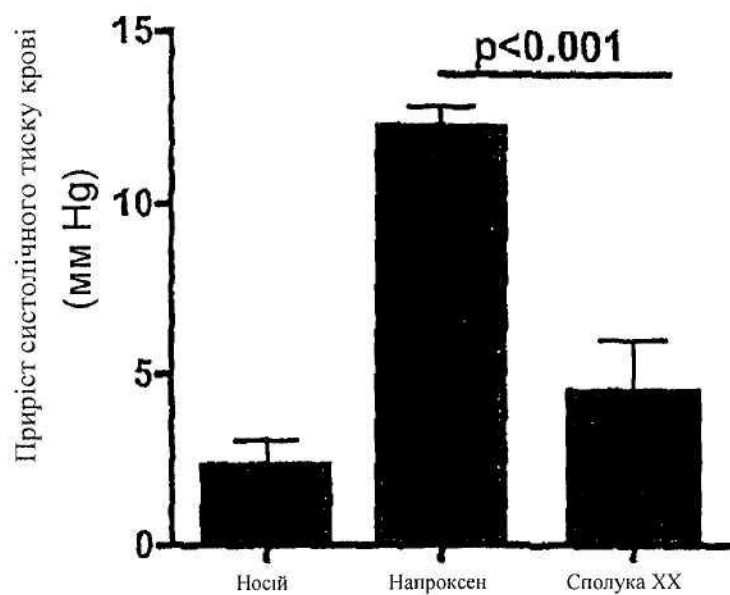
Фіг. 15



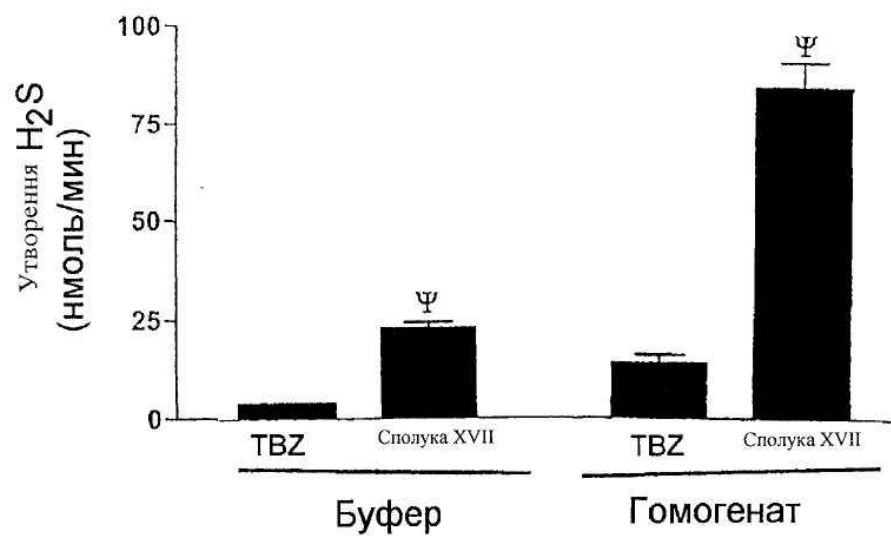
Фіг. 16



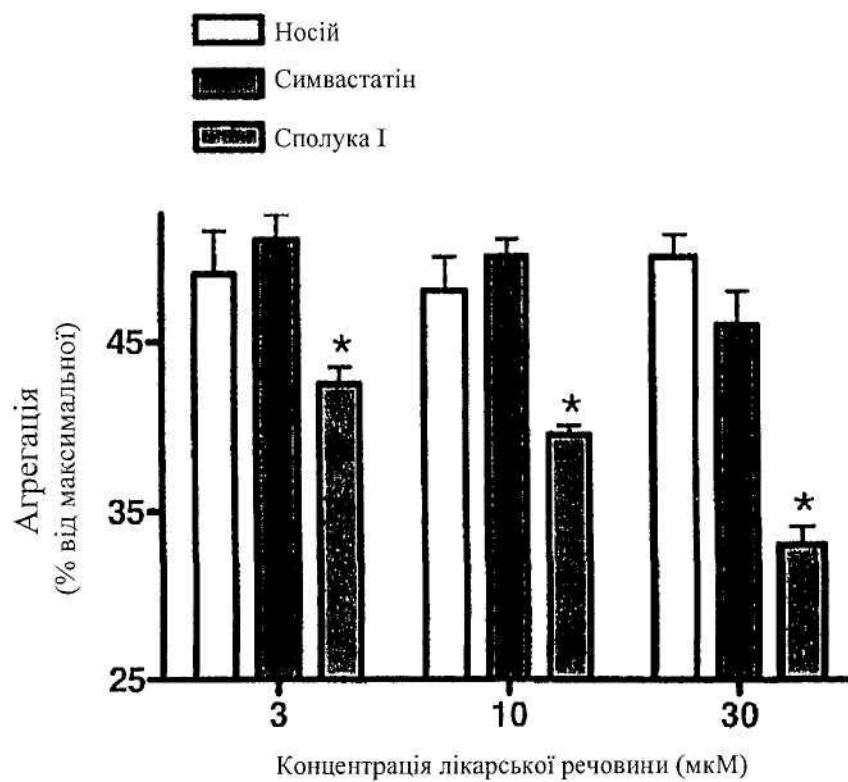
Фіг. 17



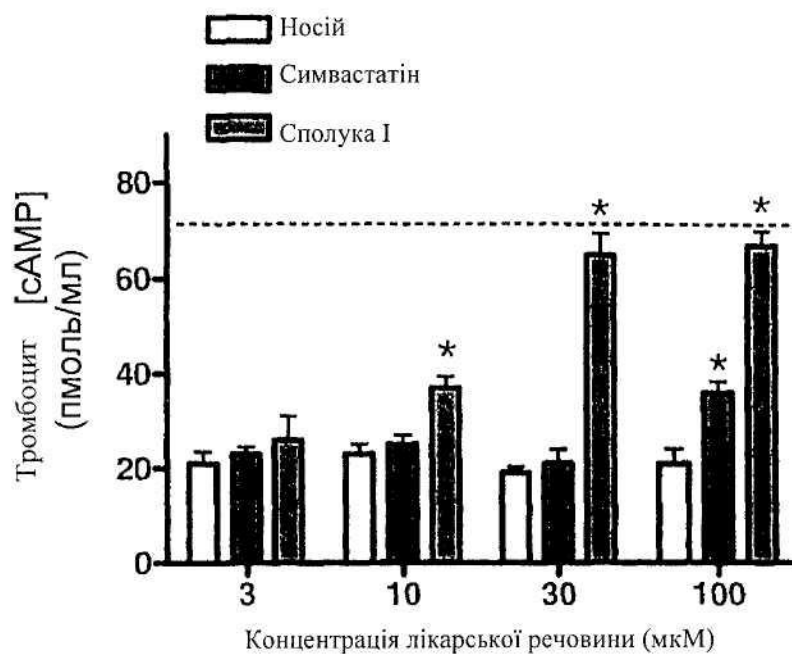
Фіг. 18



Фіг. 19



Фіг. 20



Фіг. 21

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601