



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2003135482/15, 08.12.2003

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.12.2003

(43) Дата публикации заявки: 20.05.2005

(45) Опубликовано: 10.09.2006 Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: Машковский М.Д. Лекарственные
средства. М.: Медицина, 1993, ч.1, с.375. RU
2106864, С1, 20.03.98. US 3718657, А, 27.02.73.

Адрес для переписки:

142432, Московская обл., Ногинский р-н, г.
Черноголовка, ул. Центральная, 4в, кв.47,
С.О. Бачурину

(72) Автор(ы):

Бачурин Сергей Олегович (RU),
Григорьев Владимир Викторович (RU)

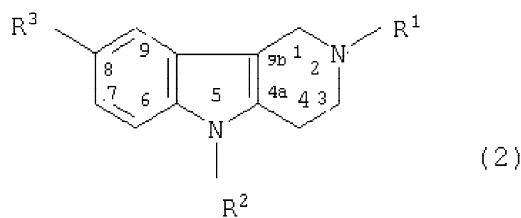
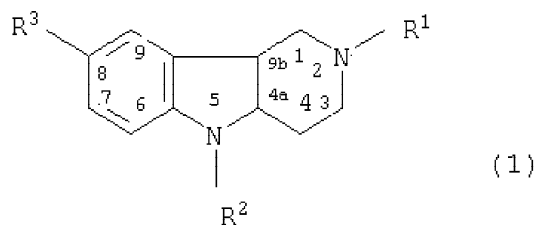
(73) Патентообладатель(и):

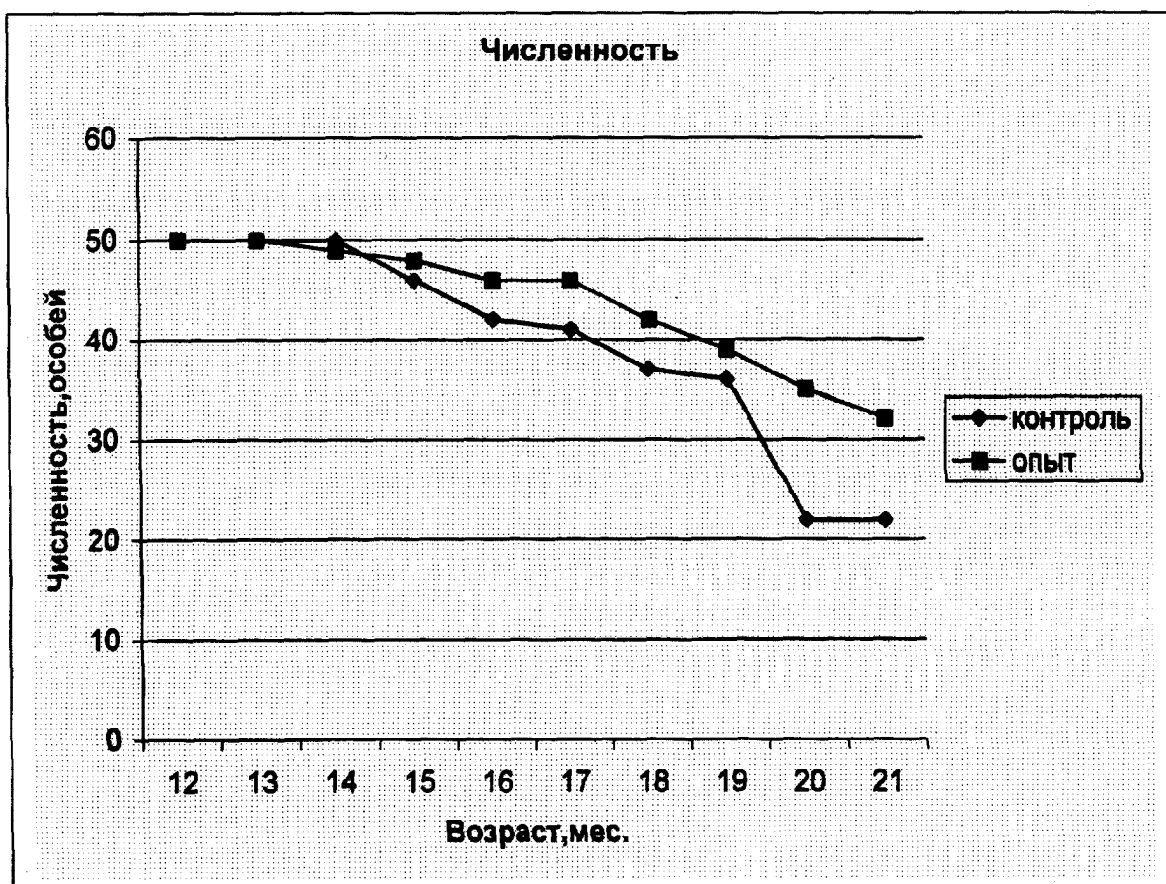
Бачурин Сергей Олегович (RU),
Григорьев Владимир Викторович (RU)

(54) ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ ПИРИДО(4,3-в) ИНДОЛОВ (ВАРИАНТЫ),
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины и
касается применения гидрированных пиридо(4,3-в)
индолов формулы (1) и формулы (2) в качестве
средства для профилактики преждевременного
старения, фармакологического средства на их
основе, обладающего геропротекторной
активностью, и способе профилактики
преждевременного старения. 4 н. и 16 з.п. ф-лы, 6
ил., 5 табл.





Фиг. 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61K 31/437 (2006.01)**A61K 31/407** (2006.01)**A61P 43/00** (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2003135482/15, 08.12.2003**(24) Effective date for property rights: **08.12.2003**(43) Application published: **20.05.2005**(45) Date of publication: **10.09.2006 Bull. 25**

Mail address:

**142432, Moskovskaja obl., Noginskij r-n, g.
Chernogolovka, ul. Tsentral'naja, 4v, kv.47,
S.O. Bachurin**

(72) Inventor(s):

**Bachurin Sergej Olegovich (RU),
Grigor'ev Vladimir Viktorovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

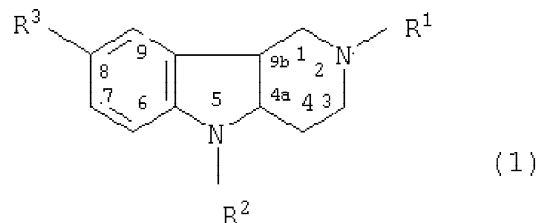
**Bachurin Sergej Olegovich (RU),
Grigor'ev Vladimir Viktorovich (RU)**

(54) **GEROPROTECTING AGENT BASED ON HYDROGENATED PYRIDO[4,3-b]INDOLES (VARIANTS), PHARMACOLOGICAL AGENT BASED ON THEREOF AND METHOD FOR ITS USING**

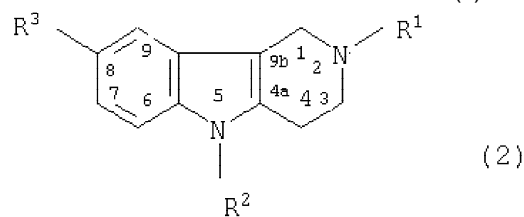
(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry, medicine, gerontology.

SUBSTANCE: invention relates to using hydrogenated pyrido[4,3-b]indoles of the formula (1)



and the formula (2)

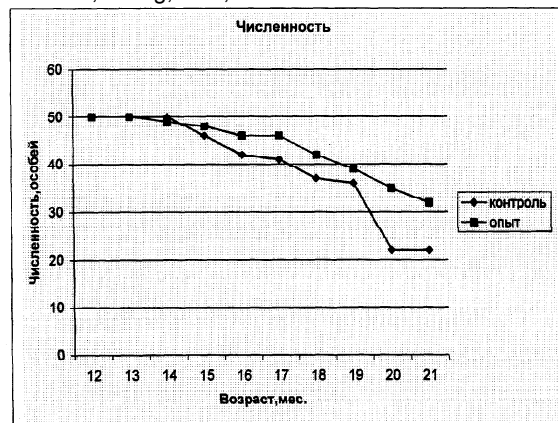


as an agent for prophylaxis of premature aging.

Also, invention relates to a pharmacological agent based on thereof possessing with the geroprotective activity and to a method for prophylaxis of premature aging.

EFFECT: valuable medicinal properties of agents.

20 cl, 6 dwg, 5 tbl, 2 ex



Фиг.1

Изобретение относится к использованию химических соединений в области медицины и может быть использовано как геропротекторное средство при изготовлении фармакологических препаратов для профилактики преждевременного старения организма, а именно продления жизни и улучшения ее качества путем снижения количества и степени интенсивности патологий, совместимых с жизнью, характерных для пожилого и старческого возраста.

Пожилой и старческий возраст характеризуется значительным увеличением вероятности наступления смерти. Кроме того, резко увеличивается вероятность проявлений различных патологий, совместимых с жизнью, понижающих ее качество. У млекопитающих к таким патологиям относятся, в частности, потеря зрения (катаракта), ухудшение кожно-волосного покрова (аллопеция), старческое снижение веса вследствие гибели мышечных и жировых клеток.

В последние годы в мире наблюдается значительный интерес к поиску новых препаратов и средств, направленных на решение этой проблемы.

Увеличивали продолжительность жизни в эксперименте витамины А, С, Е (Baker G.T. Effect of varios antioxidants on aging in Drosophila // Toxicol Ind. Health. - 1993 - Vol.9. - P.163-186). Однако перенасыщение организма этими витаминами может вызывать быстрое развитие гипervитаминоза и неблагоприятно влиять на функциональное состояние органов и систем.

Известны препараты, проявляющие геропротекторную и антиоксидантную активность на основе этоксихина (сантохин). Введение его в пищу увеличивало продолжительность жизни мышей линии C3H (Comfort A., Youhotsky-Gore J., Pathmanatchan K., Effect of ethoxyquin on the longevity of C3H mice // Nature. - 1971. - Vol.229. - P.254-255).

Продолжительность жизни лабораторных животных увеличивалась также при приеме малотоксичного водорастворимого антиоксиданта - хлоргидрат 2-этил-6-метил-3-оксипиридина, структурного аналога витамина В6 (Обухова Л.К. Химические геропротекторы, увеличение продолжительности жизни // Усп. Химии - 1975. - Т.44 - с.1914-1925.) Незначительное увеличение продолжительности жизни наблюдалось в экспериментах с 2-меркаптоэтанололамином, цистеином, центрофеноксином, бутилгидрокситолуолом, глутатионом, 3-гидроксипиридином, молочной и глюконовой кислотами (Фролькис В.В., Мурадян Х.К. Экспериментальные пути продления жизни. - Л., Наука, 1988; Обухова Л.К., Эммануэль Н.М. Молекулярные механизмы замедления старения антиоксидантами // Общие проблемы биологии. / ВИНТИ. - т.4, - с.44-80.)

Однако эти химические соединения не нашли свое применение в медицине в качестве лекарственных препаратов.

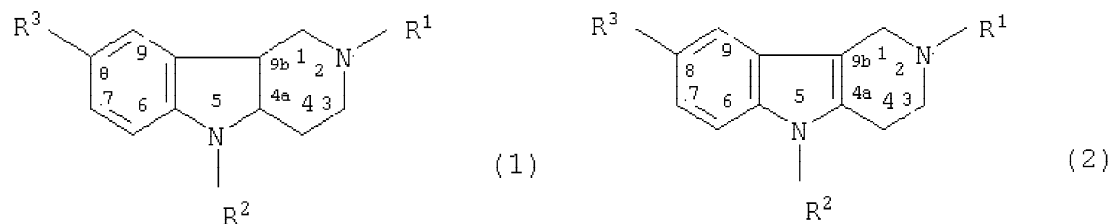
В качестве геропротекторного средства используется лекарственный препарат, содержащий новокаин, - геровитал (Машковский М.Д. Лекарственные средства - М.: Медицина, 1993, - ч.1, гл.3. - С.375). Однако иногда возможно проявление его отрицательного действия на функции сердечно-сосудистой системы, ухудшение сна, появление чувства беспокойства, боли в мышцах и суставах.

Соединениями с геропротекторными свойствами, открытыми в последние годы, являются эндогенные вещества мелатонин и N-ацетилсеротонин (НАС). Эти соединения обладают свойствами антиоксидантов и согласно одной из теорий механизма старения должны обладать геропротекторным действием (Heng-long Hu, Forsey R.J., Blades T.J., Barratt M.E.J., Parmar P., Powell J.R. Antioxidants may contribute in the fight against ageing: an in vitro model. Mechanisms of Ageing and Development 121 (2000) 217-230). И действительно, в опытах на мышах линии C57/B было показано, что мелатонин и его предшественник НАС способны увеличивать срок жизни самцов, если они его получали с возраста 2 месяцев. В то же время эти вещества были не эффективны в опытах на самках этой линии, если они получали их с возраста 12 месяцев (Oxenkrug G., Requintina P., Bachurin S. Antioxidant and Anti-Aging Activity of N-Acetylserotonin and Melatonin in the in vivo models. Ann.N.Y Acad. Sci. 2001, v.939, 190-199).

Задачей, на решение которой направлено предлагаемое изобретение, является

расширение арсенала средств, которые могут быть использованы в качестве новых эффективных геропротекторов - средств, продлевающих жизнь и улучшающих ее качество.

Поставленная задача решается применением гидрированных пиридо ([4,3-b]) индолов формулы (1) или формулы (2) в качестве средства для профилактики преждевременного старения - геропротектора млекопитающего



В случае применения соединений формулы (1) R^1 выбирают из группы, содержащей CH_3- , CH_3CH_2- или $PhCH_2-$;

R^2 выбирают из группы, содержащей H, $PhCH_2-$ или $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$;

R^3 выбирают из группы, содержащей H, CH_3- или Br- (такая формулировка означает, что комбинации этих радикалов могут быть любыми).

Указанные соединения могут представлять собой соли с фармацевтически приемлемыми кислотами.

Одним из соединений, которое можно применять в качестве геропротектора, может быть соединение формулы (1), в котором R^1 соответствует CH_3- , R^2 -H-, а R^3 - CH_3- .

Это соединение может находиться в форме ($\pm$) цис-изомера

В случае применения соединений формулы (2) R^1 выбирают из группы, содержащей CH_3- , CH_3CH_2- или $PhCH_2-$,

R^2 выбирают из группы, содержащей H-, $PhCH_2-$ или $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$, а

R^3 выбирают из группы, содержащей H-, CH_3- или Br-.

Указанные соединения представляют собой соли с фармацевтически приемлемыми кислотами.

Одним из соединений, которое можно применять в качестве геропротектора, может быть соединение формулы (2), в котором R^1 соответствует CH_3CH_2- или

$PhCH_2-$, R^2 соответствует H-, а R^3 - H-.

Или соединение, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует $PhCH_2-$, а R^3 - CH_3- .

Или соединение, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует $6-CH_3-3-Py-$.

Или соединение, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$, а R^3 - CH_3- .

Или соединение, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует H-, а R^3 - H- или CH_3- .

Или соединение, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует H-, а R^3 - Br-.

Любое из вышеуказанных соединений может применяться в качестве геропротектора для человека, в частности для предупреждения катаракты, а также, в частности, для предотвращения аллопеции.

Соединения формулы (1) и (2) являются известными соединениями, широко применяемыми в фармакологической практике. Были проведены обширные исследования ряда известных соединений, представляющих производные тетра- и гексагидро-1H-пиридо [4,3-b] индола и проявляющих широкий спектр биологической активности. В ряду 2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо [4,3-b] индолов были обнаружены следующие виды активности: антигистаминная (OS-DE № 1813229 от 6 декабря 1968, № 1952800 от 20 октября 1969), центрально депрессантная, противовоспалительная (USP № 3718657 от 13 декабря 1970), нейролептическая (Herbert C.A., Plattner S.S., Welch W.N., Mol. Pharm., 1980, v.17, № I, p.38-42) и другие. Производные 2,3,4,4a,5,9b-гексагидро-1H-пиридо[4,3-b] индола проявляют психотропную Welch W.N., Herbert C.A., Weissman A., Koe K.B., J.Med.Chem., 1986, vol.29, № 10, p.2093-2099), антиагрессивную, антиаритмическую и другие виды активности.

На основе производных тетра- и гексагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*] индола выпускается несколько лекарственных препаратов: диазолин (mehydroline), димебон, дорастин, карбидин (дикарбин), стобадин, гевотролин. Диазолин (2-метил-5-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол) дигидрохлорид (Клюев М.А. Лекарственные средства, применяемые в медицинской практике СССР. - М.: Медицина, 1991, стр.512) и димебон (дигидрохлорид 2,8-диметил-5-(2-(6-метил-пиридил-3)этил)-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индола) (Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2 ч., ч.1, 12-е изд. - М.: Медицина, 1993, с.383), а также его близкий аналог дорастин (2-метил-8-хлор-5-(2-(6-метил-3-пиридил)этил)-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол) дигидрохлорид (USAN and USP dictionary of drugs names (United States Adopted Names 1961-1988, current U.S. Pharmacopeia and National Formulary for Drugs, and other nonproprietary drug names), 1989, 26th Edition, p.196) известны как антигистаминные препараты. Карбидин (дикарбин) - дигидрохлорид цис(±)-2,8-диметил-2,3,4,4а,5,9b-гексагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*] индола является отечественным нейролептиком с антидепрессантным эффектом (Яхонтов Л.Н., Глушков Р.Г. Синтетические лекарственные средства. Под ред. А.Г.Натрадзе. - М.: Медицина, 1983, с.234 -237), а его (-)-изомер, стобадин, известен как антиаритмическое средство (Kitlova M., Gibela P., Drimal J., Bratisi. Lek. Listy, 1985, V.84, № 5, p.542-546); гевотролин (дигидрохлорид 8-фтор-2-(3-3-пиридил)пропил)-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индола) является антипсихотическим и анксиолитическим средством (Abou-Gharbi M., Patel U.R., Webb M.B., Moyer J.A., Ardnee T.H., J.Med.Chem., 1987, v.30, p.1818-1823).

В последние годы было найдено, что производные гидрированных пиридо[4,3-*b*] индолов формулы (1) или (2), в частности димебон, обладают также свойствами антагонистов NMDA-рецепторов, что делает их полезными для лечения нейродегенеративных заболеваний, особенно болезни Альцгеймера (патент РФ №2106864 С1, МКИ 6 А 61 К 31/475, 20.03.98, Бюл. №8).

Все указанные выше соединения являются известными из литературы и включают следующие конкретные соединения:

1. цис (±) 2,8-диметил-2,3,4,4а,5,9b-гексагидро-1Н-пиридо/4,3-*b*/индол и его дигидрохлорид;
2. 2-этил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол;
3. 2-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол;
4. 2,8-диметил-5-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол и его гидрохлорид;
5. 2-метил-5-[2-(6-метил-3-пиридил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол и его моногидрат сесквисульфата;
6. 2,8-диметил-5-[2-(6-метил-3-пиридил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*] индол и его дигидрохлорид (димебон);
7. 2-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол;
8. 2,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол и его метилиодид;
9. 2-метил-8-бром-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индол и его гидрохлорид.

О получении и нейролептических свойствах соединения 1 известно, например, из публикации: Яхонтов Л.Н. и Глушков Р.Г. Синтетические лекарственные средства. / Под ред. А.Г.Натрадзе. - М.: Медицина, 1983, стр.234-237. Получение соединений 2, 8 и 9, а также сведения о том, что они обладают свойствами антагонистов серотонина, описываются, например, С. J. Cattanch, A. Cohen & B/H/Brown in J. Chem.Soc. (ser.C), 1968, 1235-1243. Синтез соединения 3 описывается, в частности, в статье N.P.Vuu-Hoi, O.Roussel, P.Jacquignon, J.Chem.Soc., 1964, № 2, стр.708-711. Н.Ф.Кучерова и Н.К.Кочетков в "Общей химии", 1956, т.26, стр.3149-3154 описывают синтез соединения 4, а о получении соединений 5 и 6 известно, например, из статьи А.Н.Кост, М.А.Юровской, Т.В.Мельниковой в "Химии гетероциклических соединений", 1973, N 2, стр.207-212. В публикациях U.Horlein, Chem.Ber., 1954, Bd. 87, hft. 4, 463-472 описывается синтез соединения 7. М.А.Юровская, И.Л.Родионов в "Химии гетероциклических соединений", 1981, № 8, стр.1072-1078 описывают получение

метилиодида соединения 8.

Неожиданно было найдено, что соединения формулы (1) и формулы (2) проявляют анти-кальцевую активность. В частности, было обнаружено, что эти соединения способны ингибировать вход ионов кальция в нервные клетки, стимулированный активацией

5 глутаматных рецепторов. С другой стороны, известно, что гипернормальное увеличение концентрации ионов кальция в клетках инициирует каскад дегенеративных процессов, сопровождающих процесс старения организма и развитие сопутствующих дегенеративных заболеваний. Нарушение кальцевого гомеостаза лежит в основе т.н. кальцевой теории старения и деменций (Calcium Hypothesis of Aging and Dementia. Ann. N.Y.Acad.Sci.,
10 1994, v.747).

Таким образом, соединения формулы (1) и формулы (2) благодаря обнаружению у них новых неожиданных свойств, которые не вытекают из химической структуры этих соединений, могут быть использованы в качестве геропротекторов.

Согласно изобретению фармакологическое средство, обладающее геропротекторной активностью, содержащее активное начало и фармацевтически приемлемый носитель в качестве активного начала, содержит эффективное количество гидрированного пиридо (4,3-b) индола формулы (1) или формулы (2)

Понятие «геропротекторная активность», используемое в данной заявке, подразумевает биологически активное действие, замедляющее старение и продлевающее жизнь путем профилактики преждевременного старения и улучшения ее качества путем снижения количества и степени интенсивности патологий, совместимых с жизнью, характерных для пожилого и старческого возраста, таких как потеря зрения (катаракта), ухудшение кожно-волосного покрова (аллопеция), старческое снижение веса вследствие гибели мышечных и жировых клеток.

25 Понятие «фармакологическое средство» подразумевает использование любой лекарственной формы, содержащей соединение формулы (1) или формулы (2), которые могли бы найти профилактическое или лечебное применение в медицине в качестве средства с геропротекторной активностью для профилактики старения.

Понятие «эффективное количество», используемое в данной заявке, подразумевает использование того количества соединений формулы (1) или формулы (2), которое в соединении с его показателями активности и токсичности, а также на основании знаний специалиста должно быть эффективным в данной лекарственной форме.

Для получения фармакологического средства одно или несколько соединений формулы (1) или формулы (2) смешиваются как активный ингредиент с фармацевтически приемлемым носителем, известным в медицине согласно принятым в фармацевтике способам. В зависимости от лекарственной формы препарата носитель может иметь различные формы.

Согласно изобретению способ профилактики преждевременного старения заключается во введении пациенту фармакологического средства, содержащего эффективное количество гидрированного пиридо[4,3-b] индолов формулы (1) или формулы (2), в дозе 0,1-10 мг/кг массы тела по крайней мере один раз в день в течение периода, необходимого для достижения профилактического эффекта.

Соединения формулы (1) или формулы (2) могут вводиться млекопитающим в виде общепринятых оральных композиций, таких как таблетки, таблетки с покрытием, желатиновые капсулы с твердым и мягким покрытием, эмульсии или суспензии. Примерами носителей, которые могут использоваться для изготовления таких композиций, являются лактоза, кукурузный крахмал или его производные, тальк, стеариновая кислота или ее соли и т.п. Приемлемыми носителями для желатиновых капсул с мягким покрытием являются, например, растительные масла, воски, жиры, полутвердые и жидкие полиолы и т.п. Кроме того, фармацевтические препараты могут содержать консерванты, солюбилизаторы, стабилизаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, корригенты, соли для изменения осмотического давления, буферы, покрывающие агенты или антиоксиданты. Они могут также содержать и другие вещества,

обладающие ценными терапевтическими свойствами. Препаративные формы могут представлять собой обычную стандартную дозу и могут быть приготовлены известными в фармации способами.

Техническим результатом, который может быть получен при осуществлении изобретения, являются значительное продление жизни и улучшение ее качества путем снижения количества и степени интенсивности патологий, совместимых с жизнью, характерных для пожилого и старческого возраста, в частности, потери зрения (катаракта), ухудшения кожно-волосного покрова (аллопеция), старческого снижения веса вследствие гибели мышечных и жировых клеток.

Возможность осуществления изобретения с реализацией заявляемого назначения и получением технического результата подтверждается, но не исчерпывается следующими сведениями.

Пример 1. Определение кальций-блокирующих свойств соединений гидрированных пиридо ([4.3-b]) индолов формулы (1) или формулы (2).

Оценка кальций-блокирующих свойств соединений проводилась на P₂-фракции синапсом, выделенных из мозга новорожденных (8-11 дней) крыс по следующей методике [Bachurin S. и др: Neuroprotective and cognition enhancing properties of MK-801 flexible analogs. Structure-activity relationships. // Ann. N.Y Acad. Sci. 2001, v.939, P.219-235]. При этом определялась способность соединений ингибировать специфический захват ионов кальция через ионные каналы, связанные с глутаматными рецепторами.

Синапсомы помещались в инкубационный буфер А (132 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM HEPES) и выдерживались при температуре 0°C в течение всего эксперимента. Аликвоты синапсомы (50 µl) помещались в среду А, содержащую исследуемые вещества и препарат радиоизотопа ⁴⁵Ca. Захват Ca²⁺ стимулировался введением в смесь 20 мкл 10 mM раствора глутамата. После 5-минутной инкубации при 30°C процесс прерывали путем фильтрации через GF/B фильтры, трижды промывая холодным буферным раствором В (145 mM KCl, 10 mM трис, 5 mM трилон Б), после чего на сцинтилляционном счетчике "SL-4000 Intertech" проводилось детектирование радиоактивной метки. Первичное тестирование веществ проводили при концентрации вещества в 5 мкМ. Специфический захват Ca²⁺ измерялся по следующим формулам:

$$K(43/21) = [(Ca4 - Ca3) / (Ca2 - Ca1)] \cdot 100\%,$$

где Ca1 - захват Ca²⁺ - в контрольном эксперименте (без глутамата и тестируемого вещества);

Ca2 - захват Ca²⁺ - в присутствии глутамата только (глутамат-индуцированный захват Ca²⁺-ГИЗСа)

Ca3 - захват Ca²⁺ - в присутствии тестируемого вещества (без глутамата).

Ca4 - захват Ca²⁺ - в присутствии и глутамата, и тестируемого вещества.

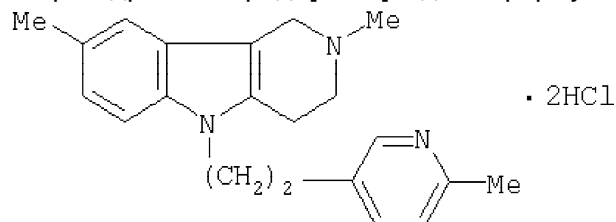
Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1 Влияние исследованных веществ на глутамат-стимулированный захват ⁴⁵ Ca ²⁺ в синапсомы мозга крыс		
№	Структура	% Ca от контроля
1	цис (±) 2,8-диметил-2,3,4,4а,5,9b-гексагидро-1H-пиридо[4,3-b]индол дигидрохлорид	40,5±1,0
2	2-этил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индол	36,5±0,5
3	2-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индол	28,5±2,5
4	2,8-диметил-5-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индолгидрохлорид	22,5±3,5
5	2-метил-5-[2-(6-метил-3-пиридил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индолмоногидрат сесквисульфата	33,5±1,5
6	2,8-диметил-5-[2-(6-метил-3-пиридил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индол дигидрохлорид (димебон)	48,5±2,5
7	2-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индол	35,5±2,5
8	2,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индолметилиодид	18,0±2,5
9	2-метил-8-бром-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индолгидрохлорид;	30,0±3,0

Как видно из представленной таблицы, все исследованные соединения обладают ярковыраженными кальций-блокирующими свойствами, что позволяет им претендовать, согласно указанной выше кальциевой теории старения и деменций (Calcium Hypothesis of Aging and Dementia. Ann. N.Y.Acad.Sci., 1994, v.747) на использование в качестве геропротекторов.

Пример 2. Данные о геропротекторной активности димебона.

В качестве представителя соединений общей формулы (1) и (2) был взят лекарственный препарат «Димебон», дигидрохлорид 2,8-диметил-5-[2-(6-метил-пиридил-3-)-этил]-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиrido[4,3-b]индола формулы



который был испытан нами в качестве соединения, удлиняющего жизнь и улучшающего качество жизни (что характеризовалось по изменению числа патологий, сопутствующих старению) экспериментальных животных.

Эксперименты проводили на самках линии C57/B, начиная с возраста 12 месяцев. Мыши находились в клетках по 10 штук в каждой. В контрольной и экспериментальной группах было по 50 животных. Животные имели свободный доступ к воде и пище. Цикл день - ночь состоял по 12 часов.

Предварительно было определено, какое количество воды выпивается животными в одной клетке за сутки, за 7 суток. Димебон растворяли в питьевой воде из расчета, чтобы животные получали его в среднем в дозе 3 мг/кг в сутки. Бутылки с порцией Димебона ставили в клетки каждые 7 дней. Животные в контрольной группе получали обычную питьевую воду.

Перед началом эксперимента все животные были взвешены, был определен средний вес в каждой группе, в каждой клетке, вес всех животных в каждой клетке. Было определено состояние их кожно-волосного покрова, наличие повреждения глаз. Все животные на начало эксперимента выглядели здоровыми и не имели видимых повреждений. Замеры всех этих параметров производились каждый месяц.

Статистическая обработка производилась с помощью Т-теста Стьюдента и критерия χ^2 («хи-квадрат»).

Результаты.

Длительность жизни.

Оценка параметра длительности жизни животных производилась методами, принятыми в демографии. Таким критерием является вероятность наступления смерти для каждой возрастной группы. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 Изменение численности животных (мышей С57В, самок), получающих Димебон в количестве 3 мг/кг в сутки (опыт) и получающих питьевую воду (контроль) в зависимости от их возраста														
Возраст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Опыт	50	50	49	48	47	47	42	39	35	32	28	25	18	11
Контроль	50	50	50	46	42	41	37	36	22	22	19	15	11	6
Верхний ряд - возраст животных в месяцах; нижние ряды - количество живых животных.														

Верхний ряд - возраст животных в месяцах; нижние ряды - количество живых животных.

Как видно из табл.2, гибель животных началась с возраста 14 месяцев, т.е. через 2 месяца после начала эксперимента. На протяжении всего времени эксперимента с 12 по 26 месяц жизни животных (кроме 14 месяца) численность животных в экспериментальной группе была больше, чем в контрольной. Другими словами, вероятность наступления смерти в случае применения Димебона была ниже практически во всех возрастных группах. В возрастных группах 20-23 месяца это различие было статистически достоверным ($p < 0.05$).

Изменение веса животных

На протяжении всего времени эксперимента происходит снижение веса тела в контрольной группе животных. Это явление носит естественный характер и называется старческое уменьшение веса. В группе животных, получающих Димебон, этого снижения веса не наблюдалось (табл.3). Снижение веса в экспериментальной группе началось только на 23 месяце жизни животных, но и в этом случае вес их был выше, чем в контрольной группе. Тем не менее эта разница в весе не имела характера достоверности ($p > 0.05$).

Таблица 3
Изменение веса мышей в зависимости от возраста и применения димебона.

Возраст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Опыт	24.7	24.7	24.7	26	25.5	24.7	25.5	26	26	25.6	25.1	24.7	24	23.7
Контроль	25.3	24.7	24.3	24.6	24.5	23.5	24.2	23.5	23.8	23.2	23.7	23	22.8	22.2

Верхний ряд - возраст мышей в месяцах, нижние ряды - вес животных в граммах

Нарушение зрения

Нарушение зрения в виде появления катаракты на одном или двух глазах наблюдалось в контрольной группе уже через месяц после начала эксперимента (фото 1). Количество таких животных в этой группе стремительно нарастало с каждым последующим месяцем. В группе животных, получающих Димебон (табл.4), таких животных было существенно меньше ($p < 0.05$ для 13-20 месяцев).

Таблица 4
Нарушение зрения (появление старческой катаракты) у мышей в зависимости от возраста и применения димебона.

Возраст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Опыт	0	0	0	4	6	6	10	13	17	25
Контроль	0	4	4	11	19	30	М.д.	М.д.	М.д.	М.д.

Верхний ряд - возраст мышей в месяцах, нижние ряды - % мышей с катарактой. М.д. - мало данных.

С 18-го месяца стало нарастать число животных с катарактой и в экспериментальной группе. Однако для последних 18-21 месяцев сравнение между контрольной и экспериментальной группами было сильно затруднено из-за того, что многие мыши с катарактой в контрольной группе умерли, а в экспериментальной оставались жить.

Состояние кожно-волосного покрова.

Также начиная с первого месяца проведения эксперимента в контрольной группе появились животные с нарушением кожно-волосного покрова в виде проплешин, так называемые аллопеции (фото 2). Размер этих проплешин колебался у этих животных от 1 до 25% поверхности тела. Разница в количестве животных с аллопециями в контрольной и экспериментальной группах была на протяжении с 13 по 21 месяц (табл.5). При этом разница была статистически достоверной ($p < 0.05$).

Таблица 5
Нарушение кожно-волосного покрова у мышей в зависимости от возраста и применения димебона.

Возраст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Опыт	0	0	2	6	10	20	12	14	34	35
Контроль	0	2	2	13	21	24	32	37	55	60

Верхний ряд - возраст мышей в месяцах, нижние ряды - % мышей с аллопециями.

В дальнейшем, как и в случае с катарактой, число животных с аллопециями в контрольной группе снизилось за счет массовой гибели этих животных, в то время как в экспериментальной группе такие животные оставались живы.

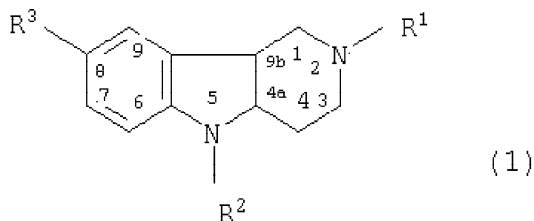
Данные, приведенные в таблицах 1-4, для наглядности представлены в виде графиков (фиг.1-4) и фото (1,2). На фиг.1. приведено изменение численности животных (мышей С57В, самок), получающих Димебон в количестве 3 мг/кг в сутки (опыт) и получающих питьевую воду (контроль) в зависимости от их возраста. На фиг.2. представлено изменение веса мышей в зависимости от возраста и применения димебона. На фиг.3. представлено нарушение зрения (появление старческой катаракты) у мышей в зависимости от возраста и применения димебона. На фиг.4. представлено нарушение кожно-волосного покрова у мышей в зависимости от возраста и применения димебона. На фото 1

представлен вид контрольного животного с нарушением зрения в виде появления катаракты на одном или двух глазах через 2 месяца после начала эксперимента. На фото 2 приведено сравнение внешнего вида (проплешин и волосяного покрова) у контрольной группы мышей (А) и мышей, получавших ежедневно Димебон в дозе 1 мг/кг (Б) через 18 месяцев после начала эксперимента.

Полученные результаты свидетельствуют, что Димебон статистически достоверно снижает вероятность наступления смерти у старых животных. В случае применения Димебона статистически достоверно у старых животных замедляется развитие (снижается уровень) патологий, не приводящих к смерти, - такие как потеря зрения и нарушение кожно-волосяного покрова. Снижение веса животных, являющееся характерной чертой старения, в группе животных, получавших Димебон, происходит значительно медленнее, чем в контрольной группе животных. Таким образом, Димебон увеличивает продолжительность жизни животных, снижает вероятность проявления несмертельных старческих патологий. Другими словами, улучшается качество жизни старых животных. Все это свидетельствует о том, что Димебон наряду с его способностью оказывать терапевтический эффект при болезни Альцгеймера является эффективным геропротектором.

Формула изобретения

1. Применение гидрированных пиридо(4,3-*b*) индолов формулы (1) в качестве средства для профилактики преждевременного старения - геропротектора млекопитающего



в которой R^1 выбран из группы, содержащей CH_3 -, CH_3CH_2 - или PhCH_2 ;

R^2 выбран из группы, содержащей H-, PhCH_2 - или $6\text{-CH}_3\text{-3-Py-(CH}_2)_2$;

R^3 выбран из группы, содержащей H-, CH_3 - или Br-.

2. Применение по п.1, где R^1 соответствует CH_3 -, R^2 -H-, а R^3 - CH_3 .

3. Применение по п.2, где соединение находится в форме ($\pm$) цис-изомера.

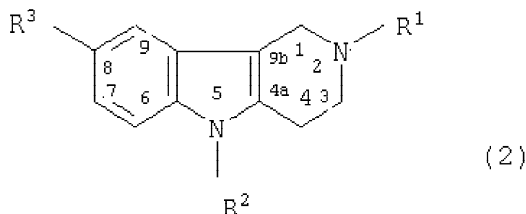
4. Применение по п.1, где указанные соединения представляют собой соли с фармацевтически приемлемыми кислотами.

5. Применение по любому из пп.1-4, где указанным млекопитающим является человек.

6. Применение по любому из пп.1-4, где соединение формулы (1) применяют, в частности, для предупреждения катаракты.

7. Применение по любому из пп.1-4, где соединение формулы (1) применяют, в частности, для предотвращения аллопеции.

8. Применение гидрированных пиридо (4,3-*b*) индолов формулы (2) в качестве средства для профилактики преждевременного старения - геропротектора млекопитающего



в которой R^1 выбран из группы, содержащей CH_3 -, CH_3CH_2 - или PhCH_2 ;

R^2 выбран из группы, содержащей H-, PhCH_2 - или $6\text{-CH}_3\text{-3-Py-(CH}_2)_2$ -, а

R^3 выбран из группы, содержащей H-, CH_3 - или Br-.

9. Применение по п.8, где R^1 соответствует CH_3CH_2 - или PhCH_2 -, R^2 соответствует H-, а R^3 -H-.

10. Применение по п.8, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует $PhCH_2-$, а R^3-CH_3- .

11. Применение по п.8, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует 6- CH_3 -3- $Py-$ (CH_2)₂-, а R^3-H- .

5 12. Применение по п.8, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует 6- CH_3 -3- $Py-$ (CH_2)₂-, а R^3-CH_3- .

13. Применение по п.8, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует $H-$, а R^3-H- или CH_3- .

14. Применение по п.8, где R^1 соответствует CH_3- , R^2 соответствует $H-$, а $R-Br-$.

15. Применение по п.8, где указанные соединения представляют собой соли с
10 фармацевтически приемлемыми кислотами,
16. Применение по любому из пп.8-14, где указанным млекопитающим является человек.
17. Применение по любому из пп.8-14, где соединение формулы (2) применяют, в частности, для предупреждения катаракты.

18. Применение по любому из пп.8-14, где соединение формулы (2) применяют, в
15 частности, для предотвращения аллопеции.

19. Фармакологическое средство, обладающее геропротекторной активностью, содержащее активное начало и фармацевтически приемлемый носитель, отличающееся тем, что в качестве активного начала содержит эффективное количество соединения формулы (1) или формулы (2).

20. Способ профилактики преждевременного старения, заключающийся во введении
20 пациенту фармакологического средства, содержащего эффективное количество соединения формулы (1) или соединения формулы (2) в дозе 0,1-10 мг/кг массы тела по крайней мере один раз в день в течение периода, необходимого для достижения профилактического эффекта.

25

30

35

40

45

50



Фиг.2



Фиг.3



Фиг.4

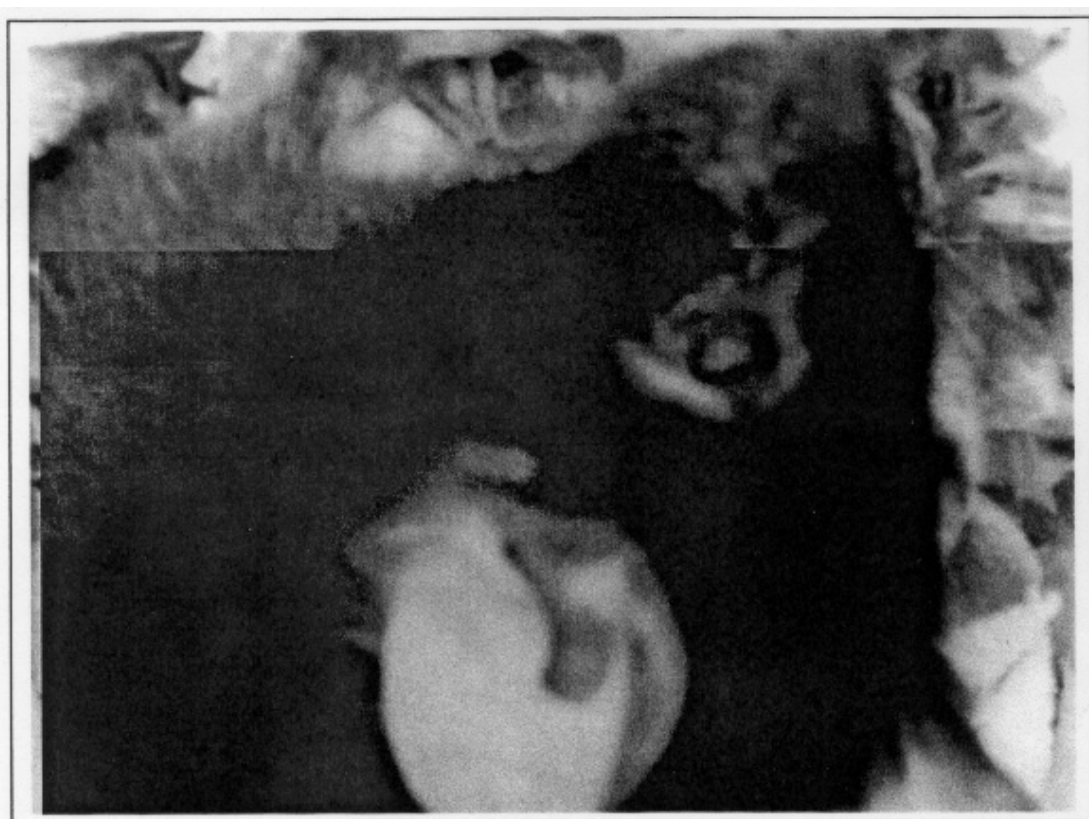


Фото 1

