

Настоящее изобретение относится к производным 4-фенил-4-[1Н-имидазол-2-ил]пиперидина для снижения ишемического повреждения органа, а также к фармацевтическим композициям, включающим указанные производные пиперидина, и применению указанных производных пиперидина для профилактики и лечения ишемического повреждения органа, в особенности для снижения ишемического повреждения сердца и мозга.

В объеме данной заявки ишемия определяется как снижение или утрата притока крови к ткани и связанное с этим снижение или утрата, например, снабжения кислородом ткани.

В объеме данной заявки ишемическое повреждение определяется как неблагоприятные эффекты, связанные с возникновением ишемии, такие, как ишемический некроз или инфаркт. Предполагается, что метаболические события, лежащие в основе такой дегенерации клеток и гибели клеток, включают недостаточность энергии из-за снижения АТФ; ацидоз клеток; высвобождение глутамата; приток ионов кальция; стимуляцию дегградации мембранных фосфолипидов и последующую аккумуляцию свободных жирных кислот; и образование свободных радикалов.

Существует увеличивающаяся потребность в соединениях, которые могут обеспечивать защиту от ишемии и ее неблагоприятных побочных эффектов.

Недавно было обнаружено, что некоторые высокоспецифичные агонисты дельта-2 рецептора опиоидов могут обеспечивать существенную фармакологическую защиту от индуцированной ишемии миокарда путем, сходным с имеющим место при ишемической предподготовке (IPC) (Govindaswami et al., in Proceedings of the 11th International Hibernation Symposium 2000, pp. 377-384, Springer-Verlag, Berlin, Germany). Ишемическая предподготовка описывает феномен как короткий период предподготовки сердца к ишемии, в результате которой последующий период ишемии вызывает меньшее повреждение. В свою очередь, это ведет к меньшему инфаркту миокарда и меньшей аритмии. Механизм, как полагают, основывается на модификации функции (открытии) митохондриального чувствительного к АТФ К-канала (миток_{КАТФ}). Одним из известных дельта-2 агонистов является DADLE (D-Ala2-D-leu5-энкефалин), который, как было показано, вызывает тот же эффект, что и предподготовка ишемии органа. Таким образом, способ действия как предподготовки ишемии, так и химических соединений, следует рассматривать в качестве триггера активации более глубокого или защищающего клетку пути. Поскольку дельта-рецепторы опиоидов обнаруживаются в большинстве тканей, включая ткань сердца и мозга, можно ожидать, что соединения, проявляющие защитное действие в отношении ишемии, например ткани сердца, должны оказывать такое же действие в отношении ткани мозга и также, например, в отношении ткани легких, почек или печени.

В настоящее время существуют две основные области терапии, в которых ишемия играет важную роль: ишемия сердца и ишемия мозга или удар.

Ишемия сердца

Хирургия сердца всегда связана с контролируемым наложением одного или более случаев ишемии и реперфузии. При традиционной хирургии сердца сердце останавливают и охлаждают раствором для остановки сердца для снижения потребления кислорода миокардом, в результате чего возможно продлить период ишемии сердца без слишком сильного повреждения. Однако для этого требуется поддержание циркуляции крови с помощью системы экстракорпоральной циркуляции, которая имеет несколько существенных недостатков: она вызывает значительную воспалительную реакцию организма, она вызывает микроэмболию, и она серьезно нарушает систему свертывания и фибринолиза крови. Более того, микроэмболия и циркуляция без пульсации во время операции с экстракорпоральной циркуляцией являются причиной субоптимальной перфузии жизненно важных органов, таких как мозг, почки и кишечник. Это ведет, например, к повышенному анаэробному метаболизму (повышение лактата в послеоперационный период), нарушению функции почек и спутанности сознания.

Благодаря разработке в последние несколько лет местных (механических) стабилизаторов для предотвращения указанных выше недостатков была проведена хирургия коронарных сосудов без применения экстракорпоральной циркуляции. Недостатком, однако, является то, что сердце остается нормотермическим и должно выполнять механическую работу при наличии местной ишемии. В настоящее время во всем мире более 30% хирургии коронарных сосудов проводят без применения экстракорпоральной циркуляции. Для данного применения был бы чрезвычайно полезен кардиопротекторный агент. Такой агент должен быть способен оказывать защитное действие на ткань миокарда с использованием базового клеточного механизма, тем самым, продлевая период вынужденной ишемии.

Кроме того, существует область потенциального применения для сохранения донорского сердца, которая все еще является проблематичной, поскольку приемлемый период ишемии все еще ограничивается периодом от 4 до 6 ч. Кроме того, для хирургии сердца с необходимым комплексным восстановлением при длительных периодах сердечной ишемии между операциями может быть благоприятным кардиопротекторный агент в дополнение к применяемой в настоящее время остановке сердца.

В целом существует потенциальная область применения при всех хирургических и чрескожных процедурах вмешательства, при которых последствия ишемии-реперфузии, испытываемые любым органом, играют важную роль, как, например, при трансплантационной хирургии, хирургии аневризм, сосудистой хирургии, для обструктивного сосудистого заболевания, и чрескожных вмешательствах в сте-

нозные коронарные, сонные и периферические артерии.

В частности, существует область потенциального применения для больных перед их анестезией по любой причине, при которой возникают условия пониженного снабжения органов кровью, такой как, например, при устойчивой или неустойчивой стенокардии, или при условиях, которые могут быть вызваны гемодинамическими эффектами анестезии, такими как падение кровяного давления, а также для больных во время первых часов после возникновения сердечного приступа перед окончательным образованием сгустков крови.

Ишемия мозга

Выживание и правильное функционирование мозга более других органов организма зависит от относительно постоянного снабжения содержащей кислород кровью. Хотя мозг составляет лишь 2% от массы тела, мозг получает 15% сердечного выброса крови и потребляет 20% кислорода, используемого организмом. Кроме того, постоянное снабжение кровью необходимо для обеспечения мозга глюкозой, основным энергетическим субстратом, используемым мозгом для получения высокоэнергетических фосфатов, таких, как АТФ (см., например, WO 96/27380 (Interneuron Pharmaceuticals, Inc.)).

В объеме данной заявки ишемия мозга определяется как прекращение или снижение кровотока в артериях, питающих мозг, обычно в результате свертывания крови (тромба) или другой причины (эмболии), перекрывающих артерии, приводящих к ишемическому удару. Как здесь определяется, ишемический удар представляет собой синдром, вызванный различными причинами, такими, как атеросклеротическое цереброваскулярное заболевание, такое как, например, гипоперфузия и артериогенная эмболия; заболевание с повышенной проницаемостью артерий; кардиогенная эмболия, такая, как, но не ограничиваясь этим, фибрилляция предсердий, заболевание клапанов и тромбы желудочка; криптогенный удар; и другими более необычными причинами, такими как, например, протромбозные состояния, расслоения, артериит, мигрень или сосудистый спазм и злоупотребление лекарствами (см., например, Cardiovascular Thrombosis: Thrombocardiology and Thromboneurology, edited by M. Verstraete, V. Fuster and E.J. Topol, Second Edition, Lippincot-Raven Publishers, Philadelphia, 1998).

Удар занимает третье место в причинах смерти в США, и каждый год возникает приблизительно 500000 новых случаев. Во всем мире удар занимает первое место как причина смерти из-за особенно высокой частоты удара, наблюдаемого в Азии.

Ишемический удар является наиболее обычной формой удара и отвечает за приблизительно 85% всех ударов.

Существует потенциальная область применения при профилактике удара в определенных случаях, например, во время хирургической операции, когда имеется риск случая ишемии, для снижения ишемического повреждения в случае удара, для снижения степени инфаркта мозга вследствие ишемии мозга и для лечения ишемического удара, в частности, для немедленного лечения удара после возникновения удара.

Предшествующий уровень техники

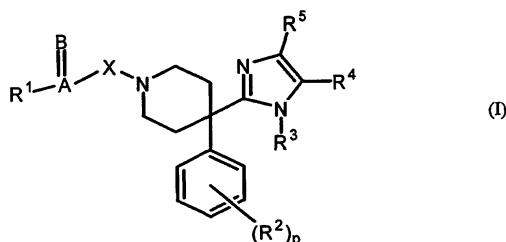
В патенте WO 99/04795 (Toqay Industries Inc.) раскрыты некоторые производные тетрациклического пиридина и пиперазина, обладающие фармакологическим профилем агониста дельта-рецептора опиоидов и их применение для снижения ишемического повреждения органа. Раскрытые в нем соединения структурно не связаны с соединениями настоящего изобретения.

В патенте WO 00/37470 (Janssen Pharmaceutica N.V.) раскрыт ряд производных 4-фенил-4-[1H-имидазол-2-ил]пиперидина, однако они не входят в объем данного изобретения и применяются в качестве промежуточных продуктов для синтеза антигистаминных соединений.

Описание изобретения

В данной заявке описывается новая группа соединений, основанных на замещенном производном 4-фенил-4-[1H-имидазол-2-ил]пиперидина, которая имеет важные клинические приложения в отношении снижения ишемического повреждения органа у млекопитающего, в особенности ткани сердца и мозга, в частности, для профилактики осложнений и последствий заболеваний коронарной артерии у млекопитающего путем индукции кардиопротекторного действия.

Задачей настоящего изобретения является создание агента для снижения ишемического повреждения органа у млекопитающего, который включает в качестве активного ингредиента замещенное производное 4-фенил-4-[1H-имидазол-2-ил]пиперидина общей формулы (I)



его фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты и основания, его стереохимически

изомерные формы, его таутомерные формы и его N-оксидные формы, где

A=B представляет C=O, C=N-R⁶, где R⁶ представляет собой водород или циано, C=S, SO₂ и C=CR⁷R⁸, где каждый R⁷ и R⁸ независимо представляет собой водород, нитро;

X представляет собой ковалентную связь или -CH₂-;

R¹ представляет собой водород, гидроксид, алкилокси, Ag-алкилокси, алкил, полигалогеналкил, алкилоксиалкил, Ag-алкил, Ag, пиперазинила, пирролила, тиазолила, пирролидинила или NR⁹R¹⁰, где каждый R⁹ и R¹⁰ независимо представляет водород, алкил, Ag, Ag-алкил, пиридинил или алкилоксикарбонилалкил, или A=B и R¹ вместе образуют бензоксазол, тиазол, бензотиазол, бензимидазол и пиримидинил;

R² представляет собой алкилокси или галоген;

R³ представляет собой алкил, Ag-алкил, Ag-карбонил, Ag-алкенил, пиридинилалкил или изоксазолалкил;

R⁴, R⁵ представляет собой водород;

r представляет собой целое число, равное 0 или 1; причем алкил представляет собой линейный или разветвленный насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 1 до 6 атомов углерода; или представляет собой циклический насыщенный углеводородный (циклоалкильный) радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода; или представляет собой циклический насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода, присоединенный к линейному или разветвленному насыщенному углеводородному радикалу, содержащему от 1 до 6 атомов углерода, в котором каждый атом углерода необязательно может быть замещен оксо;

алкенил представляет собой алкильный радикал, определенный выше, содержащий одну или более двойных связей;

Ag представляет собой гомоцикл, выбранный из группы фенила и нафтила, каждый необязательно замещенный одним или более заместителями, каждый заместитель независимо выбран из группы гидроксид, алкилокси, фенилокси, полигалогеналкилокси, галогена, алкила, гидроксикалкила, полигалогеналкила, карбокси, алкилоксикарбонила, диакиламинокарбонила, фенила, нитро, алкилтио или SO₂-CH₃;

галоген представляет собой заместитель, выбранный из группы фтора, хлора, брома;

полигалогеналкил представляет собой линейный или разветвленный насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, или циклический насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода, в котором один или более атомов углерода замещены одним или более атомами галогена; каждый моноциклический и бициклический гетероциклический радикал, необязательно, замещен по атому углерода и/или гетероатому алкилом или пиридинилом.

В объеме данной заявки алкил представляет собой линейный или разветвленный насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 1 до 6 атомов углерода; или представляет собой циклический насыщенный углеводородный (циклоалкильный) радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода; или представляет собой циклический насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода, присоединенный к линейному или разветвленному насыщенному углеводородному радикалу, содержащему от 1 до 6 атомов углерода; в котором каждый атом углерода необязательно может быть замещен амино, нитро, тии, гидроксид, оксо, циано, формилом или карбокси. Предпочтительно алкил представляет собой метил, этил, пропил, изопропил, бутил, трет-бутил, циклопропил, циклопентил, циклогексил, циклогексилметил и циклогексилэтил.

В объеме данной заявки алкенил представляет собой алкильный радикал, как определено выше, содержащий одну или более двойных связей. Предпочтительно алкенил представляет собой этенил и пропенил.

В объеме данной заявки Ag представляет собой гомоцикл, выбранный из группы фенила и нафтила, каждый необязательно замещенный одним или более заместителями, каждый заместитель независимо выбран из группы гидроксид, алкилокси, алкилкарбонилокси, фенилокси, фенилкарбонилокси, галогена, циано, алкила, полигалогеналкила, алкилоксиалкила, формила, галогенформила, карбокси, алкилкарбонила, алкилоксикарбонила, аминакарбонила, моно- или диалкиламинокарбонила, фенилалкила, фенила, нитро, амина, моно- или диалкиламино, тии, алкилтио или SO₂-CH₃. Предпочтительно Ag представляет собой нафтил или фенил, каждый необязательно замещенный гидроксид, метилокси, этилокси, фенилокси, тригалогенметилокси, галогеном, метилом, трифторметилом, хлорформилом, карбокси, метилоксикарбонилом, этилоксикарбонилом, диэтиламинокарбонилом, фенилом, нитро, метилтио, трифторметилокси или SO₂-C₁₋₃алкилом.

В объеме данной заявки галоген представляет собой заместитель, выбранный из группы фтора, хлора, брома и йода, а полигалогеналкил представляет собой линейный или разветвленный насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, или циклический насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода, где один или более атомов углерода замещены одним или более атомами галогена. Предпочтительно галоген представляет собой бром, фтор или хлор и предпочтительно полигалогеналкил представляет собой трифторметил.

В объеме данной заявки Нет представляет собой гетероциклический радикал, выбранный из группы Нет¹, Нет² и Нет³. Нет¹ представляет собой алифатический моноциклический гетероциклический радикал,

выбранный из группы пирролидинила, диоксолила, имидазолидинила, пирразолидинила, пиперидинила, диоксида, морфолинила, дитианила, тиоморфолинила, пиперазинила и тетрагидрофуранила. Het² представляет собой полуароматический моноциклический гетероциклический радикал, выбранный из группы 2Н-пирролила, пирролинила, имидазолинила и пирразолинила. Het³ представляет собой ароматический моноциклический гетероциклический радикал, выбранный из группы пирролила, пиразолила, имидазолила, фуранила, тиенила, оксазолила, изоксазолила, тиазолила, изотиазолила, пиридинила, пиримидинила, пиазинила, пиридазинила или триазинила; или ароматический бициклический гетероциклический радикал, выбранный из группы хинолинила, хиноксалинила, индолила, бензимидазолила, бензоксазолила, бензизоксазолила, бензотиазолила, бензизотиазолила, бензофуранила и бензотиенила; каждый моноциклический и бициклический гетероциклический радикал может быть необязательно замещен по атому углерода и/или гетероатому галогеном, гидроксильной группой, алкилокси, алкилом, Ag, Ag-алкилом или пиридинилом.

Предпочтительной группой соединений являются соединения согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы и их N-оксидные формы, в которых A=B выбран из группы C=O, C=N-R⁶, где R⁶ представляет собой водород или циано, C=S, S=O, SO₂ и C=R⁷R⁸, где каждый R⁷ и R⁸ независимо представляет собой водород, нитро или алкил.

Другой предпочтительной группой соединений являются соединения согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы и их N-оксидные формы, в которых R¹ выбран из группы алкилокси, Ag-алкилокси, алкила, полигалогеналкила, алкилоксиалкила, Ag-алкила, Het-алкила, Ag, пиперазинила, пирролила, тиазолила, пирролидинила и NR⁹R¹⁰, где каждый R⁹ и R¹⁰ независимо представляет собой водород, алкил, Ag, Ag-алкил, пиридинил или алкилоксикарбонилалкил.

Другой предпочтительной группой соединений являются соединения согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы и их N-оксидные формы, в которых A=B и R¹ вместе образуют радикал, выбранный из группы Het² и Het³. Более предпочтительно A=B и R¹ вместе образуют радикал, выбранный из группы бензоксазолила, тиазолила, бензотиазолила, бензимидазолила и пиримидинила.

Еще одной предпочтительной группой соединений являются соединения согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы и их N-оксидные формы, в которых X представляет собой ковалентную связь или -CH₂-часть. Предпочтительно X представляет собой ковалентную связь.

Еще одной предпочтительной группой соединений являются соединения согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы и их N-оксидные формы, в которых R² представляет собой алкилокси или галоген.

Еще одной предпочтительной группой соединений являются соединения согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы и их N-оксидные формы, в которых R³ выбран из группы фенилалкила и нафтаила, каждый независимо замещенный по меньшей мере одним заместителем, выбранным из группы галогена, алкилоксикарбонила, гидроксильной группой, алкилокси и диалкиламинокарбонила.

Когда R³ представляет собой алкил, то предпочтительно алкил представляет собой циклогексилметил.

Еще одной предпочтительной группой соединений являются соединения согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы и их N-оксидные формы, в которых A=B представляет собой C=O или SO₂, R¹ представляет собой алкилокси, алкилоксиалкил, Ag или NR⁹R¹⁰, где каждый R⁹ и R¹⁰ независимо представляет собой водород или Ag; или A=B и R¹ вместе образуют бензоксазолильный радикал; p равно нулю, R³ представляет собой бензил, необязательно замещенный гидроксильной группой, алкилом или алкилоксикарбониллом, и каждый R⁴ и R⁵ представляет собой водород.

Более конкретно следующие соединения являются наиболее предпочтительными соединениями:

- 1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-пропилоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-[(4-гидроксифенил)метил]-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-изопропилоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-[[4-(метоксикарбонил)фенил]метил]-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-бензоил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-(метоксиацетил)-4-фенил-4-[1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 4-[[2-(1-бензоил-4-фенил-4-пиперидинил)-1Н-имидазол-1-ил]метил]метилбензоат;
- 4-[[2-[1-(2-бензоксазолил)-4-фенил-4-пиперидинил]-1Н-имидазол-1-ил]метил]метилбензоат;
- 1-бензоил-4-фенил-4-[1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
- 1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-[1-[4-(этоксикарбонил)фенил]этил]-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин и

N,4-дифенил-4-[1-(фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]-1-пиперидинсульфоамид.

Фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты определяются как включающие терапевтически активные нетоксичные формы аддитивных солей кислоты, которые могут образовывать соединения согласно формуле (I). Указанные аддитивные соли кислоты могут быть получены обработкой основной формы соединений согласно формуле (I) подходящими кислотами, например, неорганическими кислотами, например, галогенводородной кислотой, в частности, хлористо-водородной кислотой, бромисто-водородной кислотой, серной кислотой, азотной кислотой и фосфорной кислотой; органическими кислотами, например, уксусной кислотой, гидроксиуксусной кислотой, пропановой кислотой, молочной кислотой, виноградной кислотой, щавелевой кислотой, малоновой кислотой, янтарной кислотой, малеиновой кислотой, фумаровой кислотой, яблочной кислотой, винной кислотой, лимонной кислотой, миндальной кислотой, метансульфоокислотой, этансульфоокислотой, бензолсульфоокислотой, п-толуолсульфоокислотой, цикламовой кислотой, салициловой кислотой, п-аминосалициловой кислотой и памоевой кислотой.

Соединения согласно формуле (I), содержащие протоны кислоты, могут быть также превращены в их терапевтически активные нетоксичные формы аддитивных солей основания обработкой подходящими органическими и неорганическими основаниями. Подходящие формы солей основания включают, например, соли аммония, соли щелочных и щелочно-земельных металлов, в частности, соли лития, натрия, калия, магния и кальция, соли органических оснований, например соли бензатина, N-метил-D-глюкамина, гибрамина, и соли аминокислот, например, аргинина и лизина.

Напротив, указанные формы аддитивных солей указанной кислоты или основания могут быть превращены в свободные формы обработкой подходящим основанием или кислотой.

Применяемый в объеме данной заявки термин "аддитивная соль" также включает сольваты, которые могут образовывать соединения согласно формуле (I), а также их соли. Такими сольватами являются, например, гидраты и алкоголяты.

Применяемый здесь термин "стереохимически изомерные формы" обозначает все возможные изомерные формы, которые могут иметь соединения формулы (I). Если это не отмечено или указано иначе, химическое обозначение соединений означает смесь всех возможных стереохимически изомерных форм, причем указанные смеси содержат все диастереомеры и энантиомеры базовой молекулярной структуры. Более конкретно стереогенные центры могут иметь R- или S-конфигурацию; заместители на двухвалентных циклических (частично) насыщенных радикалах могут иметь либо цис-, либо транс-конфигурацию. Стереохимически изомерные формы соединений формулы (I) также включены в объем данного изобретения.

В соответствии с конвенциями по CAS-номенклатуре, когда в молекуле имеется два стереогенных центра с известной абсолютной конфигурацией, обозначения R или S приписывают (на основе правила последовательности Кана-Ингольда-Прелога) к хиральному центру с наименьшим порядковым числом, референтному центру. Конфигурация второго стереогенного центра указывается с помощью относительных обозначений [R*,R*] или [R*,S*], где R* всегда указывается как референтный центр, и [R*,R*] указывает центры с той же хиральностью, а [R*,S*] указывает центры иной хиральности. Например, если хиральный центр в молекуле с наименьшим порядковым числом имеет S-конфигурацию, а второй центр является R, стерео обозначение должно быть обозначено как S-[R*,S*]. Если применяют "α" и "β": положение заместителя с наибольшим приоритетом на асимметричном атоме углерода в кольцевой системе, содержащей наименьший номер кольца, условно всегда находится в "α" положении по отношению к средней плоскости, определяемой кольцевой системой. Положение заместителя с наибольшим приоритетом на другом асимметричном атоме углерода в кольцевой системе относительно положения заместителя с наибольшим приоритетом на референтном атоме обозначают как "α", если он находится на той же стороне от средней плоскости, определяемой кольцевой системой, или "β", если он находится на другой стороне от средней плоскости, определяемой кольцевой системой.

Заявители обращают внимание на то, что замещенный атом углерода в 4-м положении пиперидинильной части является ахиральным атомом; следовательно, соединения формулы (I) могут лишь содержать, по меньшей мере, один стереогенный центр в своей структуре за счет хирального заместителя R¹, R², R³, R⁴ или R⁵.

Таутомерные формы соединений формулы (I) предназначены для включения тех соединений формулы (I), в которых, например, енольная группа превращена в кетогруппу (кетоенольная таутомеризация).

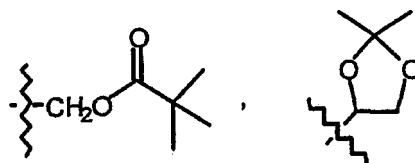
N-оксидные формы соединений согласно формуле (I) предназначены для включения тех соединений формулы (I), в которых один или несколько атомов азота до так называемого N-оксида, в частности, те N-оксиды, в которых азот пиперидинильной части и/или имидазолильной части окислен.

Соединения формулы (I), получаемые в способах, описанных ниже, могут быть синтезированы в форме рацемических смесей энантиомеров, которые могут быть отделены один от другого с помощью способов, известных в данной области техники. Рацемические соединения формулы (I) могут быть превращены в соответствующие диастереомерные солевые формы с помощью реакции с подходящей хи-

ральной кислотой. Затем указанные диастереомерные солевые формы разделяют, например, с помощью селективной или фракционной кристаллизации и из них высвобождают энантимеры с помощью щелочей. Альтернативный способ разделения энантиомерных форм соединений формулы (I) включает жидкостную хроматографию с применением хиральной стационарной фазы. Указанные чистые стереохимически изомерные формы могут быть также получены из соответствующих чистых стереохимически изомерных форм подходящих исходных веществ, предлагаемых так, что реакция происходит стереоспецифично. Предпочтительно, чтобы, если желателен конкретный стереоизомер, указанное соединение синтезировалось бы с помощью стереоспецифичных способов получения. В данных способах должны успешно применяться энантиомерно чистые исходные вещества.

Изобретение также включает производные соединения (обычно называемые "пролекарствами") фармакологически активных соединений согласно изобретению, которые разрушаются *in vivo* с образованием соединений согласно изобретению. Пролекарства обычно (но не всегда) обладают более низкой эффективностью в отношении рецептора-мишени по сравнению с соединениями, до которых они деградируют. Пролекарства особенно пригодны, когда желаемое соединение обладает химическими или физическими свойствами, которые делают его введение затрудненным или неэффективным. Например, желаемое соединение может быть лишь слабо растворимым, оно может плохо транспортироваться через эпителий слизистых, или оно может обладать нежелательно коротким полупериодом жизни в плазме. Дополнительное обсуждение пролекарств можно найти в Stella V. J. et al., "Prodrugs", Drug Delivery Systems, 1985, pp. 112-176, and Drugs, 1985, 29, pp. 455-473.

Пролекарственные формы фармакологически активных соединений согласно изобретению должны быть обычно соединениями согласно формуле (I), их фармацевтически приемлемыми аддитивными солями кислоты или основания, их стереохимически изомерными формами, их таутомерными формами и их N-оксидными формами, содержащими кислотную группу, которая этерифицирована или амидирована, включаемыми в такие этерифицированные кислотные группы являются группы формулы $-COOR^x$, где R^x представляет собой C_{1-6} алкил, фенил, бензил или одну из следующих групп:



Амидированные группы включают группы формулы $-CONR^yR^z$, где R^y представляет собой H, C_{1-6} алкил, фенил или бензил, а R^z представляет собой $-OH$, H, C_{1-6} алкил, фенил или бензил.

Соединения согласно изобретению, содержащие аминогруппу, могут быть дериватизированы кетонном или альдегидом, таким как формальдегид, с образованием основания Манниха. Данное основание обычно гидролизуется в водном растворе с кинетикой первого порядка.

Предпочтительно, чтобы органом было сердце, мозг, печень, легкое или почка, а млекопитающим был человек.

Более конкретно, предпочтительное осуществление настоящего изобретения относится к агенту для снижения ишемического повреждения сердца млекопитающего, который включает в качестве эффективного ингредиента соединение согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, его стереохимически изомерные формы, его таутомерные формы и его N-оксидные формы. Предпочтительно, чтобы млекопитающим был человек.

Состояниями, имеющими отношение к ишемическому повреждению сердца, являются, например, синдром коронарной ишемии, стенокардия, нестабильная стенокардия, стенокардия после инфаркта миокарда, инфаркт миокарда, острый инфаркт миокарда, кардиозащита при традиционной хирургии с кардиопульмонарным шунтированием (СРВ), а также сердечная хирургия без шунтирования, не относящаяся к сердцу хирургия у человека с известной болезнью коронарных артерий (CAD) или с наличием ее риска и коронарным рестенозом после РТСА. В объеме данной заявки ишемическое повреждение должно интерпретироваться как любое повреждение любой части сердца, включая коронары, и включающее прямое повреждение клеток из-за, например, отсутствия кислорода, а также как косвенные повреждения.

Более конкретно, предпочтительное осуществление настоящего изобретения относится к агенту для снижения ишемического повреждения мозга млекопитающего, который включает в качестве эффективного ингредиента соединение согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, его стереохимически изомерные формы, его таутомерные формы и его N-оксидные формы. Предпочтительно, чтобы млекопитающим был человек.

Состояниями, имеющими отношение к удару, являются, например, атеросклеротическое цереброваскулярное заболевание, такое как, например, гипоперфузия и артериогенные эмболии; заболевание с повышенной проницаемостью артерий; кардиогенная эмболия, такая, как, но не ограничиваясь этим, фибрилляция предсердий, заболевание клапанов и тромбы желудочка; криптогенный удар; и другие более необычные причины, такие как, например, протромбозные состояния, расслоения, артериит, мигрень или сосудистый спазм и злоупотребление лекарствами. Ишемическое повреждение интерпретируется как

любое повреждение любой части мозга, включая прямое повреждение клеток из-за, например, отсутствия кислорода, и косвенные повреждения, например, увеличение внутричерепного давления.

Более конкретно, предпочтительное осуществление настоящего изобретения относится к агенту для индукции кардиопротекторного действия у млекопитающего, который включает в качестве эффективно-ингредиента соединение согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, его стереохимически изомерные формы, его таутомерные формы, его N-оксидные формы и их пролекарства. Под кардиопротекторным действием понимается действие, при котором ткань сердца более защищена от ишемии по сравнению с незащищенной тканью сердца.

В других предпочтительных осуществлениях органом является легкое, печень или почка.

Изобретение также относится к фармацевтической композиции для снижения ишемического повреждения органа млекопитающего, включающей фармацевтически приемлемый носитель и в качестве активного ингредиента терапевтически эффективное количество соединения согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и их пролекарств.

Предпочтительно, чтобы органом было сердце, мозг, печень, легкое или почка, а млекопитающим был человек.

Более конкретно, предпочтительное осуществление настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции для снижения ишемического повреждения сердца млекопитающего, к фармацевтически приемлемому носителю и в качестве активного ингредиента к терапевтически эффективному количеству соединения согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемым аддитивным солям кислоты или основания, его стереохимически изомерным формам, его таутомерным формам, его N-оксидным формам и их пролекарствам. Предпочтительно, чтобы млекопитающим был человек.

Более конкретно, предпочтительное осуществление настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции для снижения ишемического повреждения мозга млекопитающего, включающей фармацевтически приемлемый носитель и в качестве активного ингредиента соединение согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, его стереохимически изомерные формы, его таутомерные формы, его N-оксидные формы и их пролекарства. Предпочтительно, чтобы млекопитающим был человек.

Другое предпочтительное осуществление данного изобретения относится к фармацевтической композиции для индукции кардиопротекторного действия у млекопитающего, включающей фармацевтически приемлемый носитель и в качестве активного ингредиента соединение согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, его стереохимически изомерные формы, его таутомерные формы, его N-оксидные формы и их пролекарства. Предпочтительно, чтобы млекопитающим был человек.

Другое предпочтительное осуществление данного изобретения относится к фармацевтической композиции в форме кардиоплегического раствора, содержащего эффективное количество соединения согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм, их пролекарств и подходящий носитель.

В другом предпочтительном осуществлении соединения согласно изобретению могут быть введены в сочетании, либо одновременно, либо последовательно, с антитромбозным агентом и/или ангиогенным фактором роста. В качестве антитромбозного агента может быть выбран любой агент, для которого известен такой эффект, например, но не ограничиваясь этим, антагонист гликопротеина IIb/IIIa, ингибитор тромбина, ингибитор фактора Ха, ингибитор пути тканевого фактора, антагонист рецептора тромбина или низкомолекулярный гепарин. В качестве ангиогенного ростового фактора может быть выбран ростовой фактор эндотелия сосудов (VEGF), такой, как описанные в патенте GB-2332 373 A (Merck & Co, Inc.), содержание которого включено в настоящую заявку в качестве ссылки, или, например, как раскрыто в патенте WO 98/07832 (Ludwig Institute for Cancer research) или патенте WO 98/49300 (Collateral Therapeutics). Преимуществом указанного выше осуществления является то, что снижается риск острого коронарного ишемического синдрома у больных с риском указанного синдрома. Больные с риском включают тех, кто страдает начальными симптомами коронарного ишемического синдрома и кто в связи с этим более вероятно по сравнению с другими, кто не страдает такими симптомами, подвержен последующему тромбозу и ишемическому повреждению ткани. Особенно рассматриваются больные, которые страдают коронарным инфарктом и которым вводят фармацевтическую композицию согласно указанному выше осуществлению в первые 6 ч после наступления инфаркта и перед наступлением у них окончательного образования сгустков крови. Указанное выше осуществление далее обеспечивает больному снижение вероятности последующего образования сгустка при сниженном повреждении ткани и при повышенном восстановлении ткани. Рассматриваются также больные, подвергающиеся тромболитическому лечению при периферической артериальной окклюзии или в целом для лечения тромбоза, вызванного отрывом тромба и обструкцией черепного кровеносного сосуда.

Изобретение, следовательно, также относится к фармацевтической композиции для лечения млекопитающего, которое перенесло случай ишемии, включающей эффективное количество соединения со-

гласно изобретению и, по меньшей мере, второй терапевтический агент, включающий антитромбозный агент и/или ангиогенный фактор роста или их соответствующие фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы, их N-оксидные формы и их пролекарства и подходящий носитель, а также к применению соединения согласно изобретению для получения лекарства для снижения ишемического повреждения сердца, включающего соединение согласно изобретению и второй терапевтический агент, включающий антитромбозный агент и/или ангиогенный фактор роста.

В частности, соединение согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, его стереохимически изомерные формы, его таутомерные формы, его N-оксидные формы и его пролекарства и их композиции могут также иметь высокий потенциал для консервации донорского органа.

Агент для снижения ишемического повреждения органа у млекопитающего согласно настоящему изобретению можно вводить как таковой. Однако он обычно может вводиться в различных фармацевтических формах введения. В качестве подходящих композиций могут быть приведены все композиции, обычно применяемые для системно вводимых лекарств. Для получения фармацевтических композиций данного изобретения эффективно количество конкретного соединения, необязательно в форме аддитивной соли, в качестве активного ингредиента соединяют в однородной смеси с фармацевтически приемлемым носителем, причем данный носитель может принимать множество форм в зависимости от формы препарата, желаемой для введения. Данные фармацевтические композиции желательны в подходящих единицах лекарственной формы, в частности, для введения путем парентеральной инъекции или инфузии. Например, при получении композиций может быть применена любая обычная фармацевтическая среда. Для парентеральных композиций носитель обычно должен включать стерильную воду, по меньшей мере, в большей части, хотя могут быть включены другие ингредиенты, например, для обеспечения растворимости. Могут быть получены, например, растворы для инъекций, в которых носитель включает физиологический раствор, раствор глюкозы или смесь физиологического раствора и раствора глюкозы. Могут быть также получены суспензии для инъекций, в случае которых могут быть применены подходящие жидкие носители, суспендирующие агенты и т.п. Включаются также препараты в твердой форме, которые предназначены для превращения непосредственно перед применением в жидкую форму препаратов.

В зависимости от способа введения фармацевтическая композиция должна предпочтительно включать от 0,05 до 99 мас.%, более предпочтительно от 0,1 до 70 мас.% активного ингредиента и от 1 до 99,95 мас.%, более предпочтительно от 30 до 99,9 мас.% фармацевтически приемлемого носителя, от общего веса композиции.

Дозы выбирают подходящим образом в зависимости от таких факторов, как симптомы, возраст, масса тела и способы введения, но в случае парентерального введения, такого как инъекции взрослым, может вводиться от 0,01 мг до 1,0 г соединения согласно изобретению в день, либо за один раз, либо при распределении на несколько введений. В случае перорального введения взрослым может быть введено от 0,1 мг до 3 г соединения согласно изобретению в день либо за один раз, либо при распределении на несколько введений.

Фармацевтическая композиция может дополнительно содержать различные другие ингредиенты, известные в данной области техники, например, стабилизирующий агент, буферизирующий агент, эмульгирующий агент, регулирующий вязкость агент, поверхностно-активное вещество или консервант.

Предпочтительно, фармацевтическую композицию вводят внутривенно, например, путем инфузии (продолжительное внутривенное введение) или болюсным введением.

Кроме того, настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и его пролекарств, а также к любым их фармацевтическим композициям, упоминавшимся выше, для получения лекарства для снижения ишемического повреждения органа у млекопитающего.

Предпочтительно, чтобы органом было сердце, мозг, печень, легкое или почка, а млекопитающим был человек.

Более конкретно предпочтительное осуществление настоящего изобретения относится к применению соединения формулы (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и его пролекарств, а также любых его фармацевтических композиций, упоминавшихся выше, для получения лекарства для снижения ишемического повреждения сердца у млекопитающего, предпочтительно человека.

Более конкретно предпочтительное осуществление настоящего изобретения относится к применению соединения формулы (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и его пролекарств, а также любых его фармацевтических композиций, упоминавшихся выше, для получения лекарства для снижения ишемического повреждения мозга у млекопитающего, предпочтительно человека.

Более того, настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (I), его

фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и его пролекарств, а также любых его фармацевтических композиций, упоминавшихся выше, для получения лекарства для индукции кардиопротекторного действия у млекопитающего, предпочтительно человека.

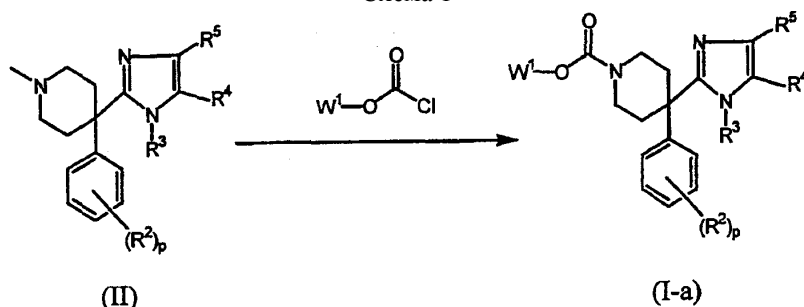
Более того, настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и его пролекарств, а также любых его фармацевтических композиций, упоминавшихся выше, для получения лекарства для лечения млекопитающего, которое испытало случай ишемии, включающему введение эффективного количества соединения согласно изобретению и по меньшей мере второго терапевтического агента, включающего антитромбозный агент и/или ангиогенный фактор роста или их соответствующие фармацевтически приемлемые аддитивные соли кислоты или основания, их стереохимически изомерные формы, их таутомерные формы, их N-оксидные формы и их пролекарства и подходящий носитель.

Изобретение также относится к способу снижения ишемического повреждения органа, в частности, сердца и/или мозга, у млекопитающего, в частности, человека, или к способу индукции кардиопротекторного действия у млекопитающего, включающему стадию введения указанному млекопитающему, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения согласно формуле (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и его пролекарств, а также любых его фармацевтических композиций, упоминавшихся выше.

Кроме того, настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (I), его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм, его N-оксидных форм и его пролекарств, а также любых его фармацевтических композиций, упоминавшихся выше, для получения лекарства для профилактики и/или лечения случая ишемии сердца или мозга у млекопитающего.

Соединения согласно изобретению обычно могут быть получены с помощью последовательных стадий, каждая из которых известна специалистам. В частности, соединения согласно формуле (I-a) могут быть получены путем взаимодействия промежуточного соединения формулы (II) в соответствии со схемой (1) реакции, реакцию, которую проводят в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком как толуол, в присутствии подходящего основания, такого как триэтиламин. В схеме (1) реакции все переменные определены как в формуле (I), а W^1 вместе с частью, к которой он присоединен, эквивалентен R^1 ; примерами W^1 являются алкил, Ag или Het. Примером $W^1OC(=O)Cl$ является хлорформат.

Схема 1



Соединения согласно формулам (I-a), (I-b), (I-c), (I-d), (I-e), (I-f), (I-g) и (I-h) могут быть также получены путем взаимодействия промежуточного продукта формулы (III) согласно любой из реакций, показанных на схеме реакции (2). В указанных реакциях все переменные определены как в формуле (I), а W^1 вместе с частью, к которой он присоединен, эквивалентен R^1 ; примерами W^1 являются алкил, Ag или Het.

Реакцию (a) проводят в подходящем растворителе, таком как дихлорметан, и с применением CO_2 . Реакцию традиционно проводят в течение нескольких часов при кипячении с обратным холодильником.

Реакцию (b) проводят в подходящем растворителе, таком как ТГФ. Реакцию обычно проводят в течение от одного до нескольких часов при комнатной температуре.

Реакцию (c) проводят в подходящем растворителе, таком как дихлорметан, в присутствии подходящего основания, такого как Et_3N , при комнатной температуре в течение 1 ч.

Реакцию (d) проводят в подходящем растворителе, таком как ТГФ или ДМФА при комнатной температуре в течение нескольких часов без необходимости в основании.

Реакцию (e) проводят либо в ацетоне при кипячении с обратным холодильником, либо в ДМФА в присутствии подходящего основания, такого как карбонат калия, и она может обычно проводиться при $80^\circ C$.

Реакцию (f) проводят в подходящем растворителе, таком как дихлорметан, в присутствии подходящего основания, такого как триэтиламин, и при комнатной температуре в течение от приблизительно 30

до 120 мин.

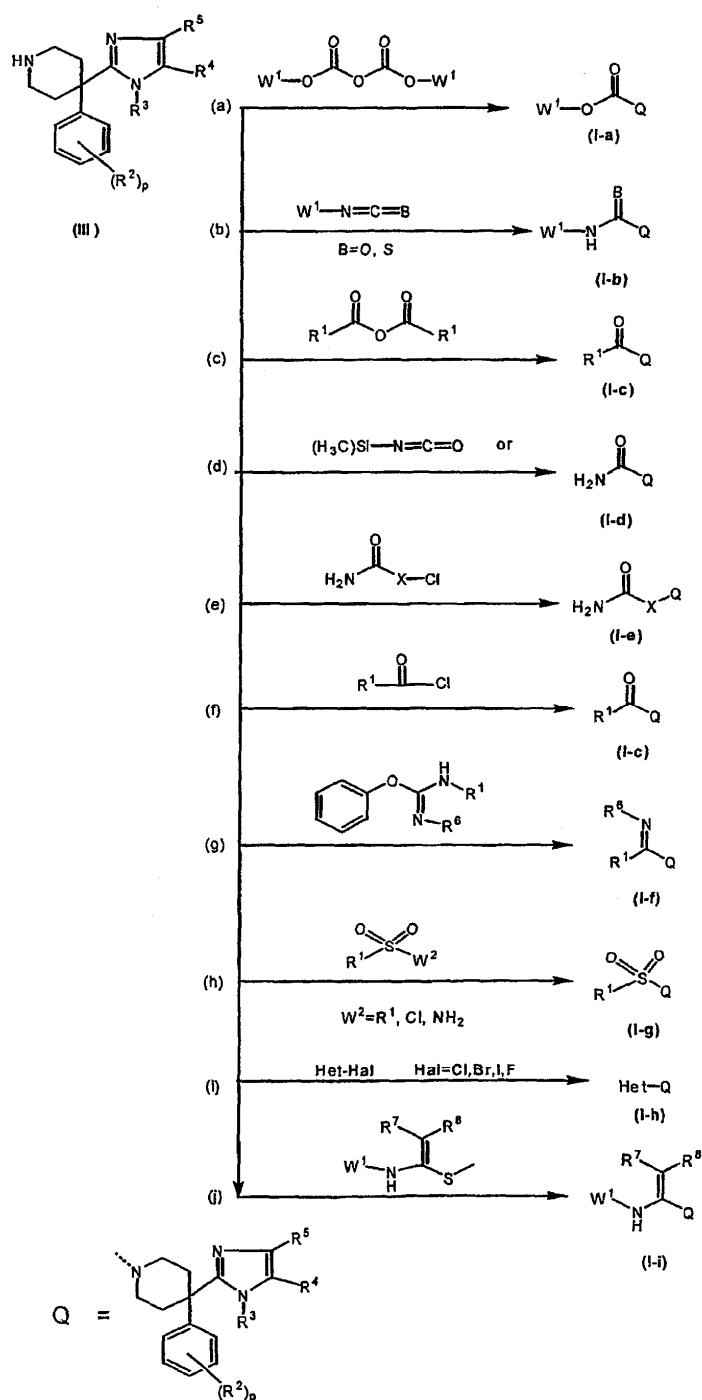
Реакцию (g) проводят в подходящем растворителе, таком как ацетонитрил при кипячении с обратным холодильником в течение 24 ч.

Реакцию (h) проводят при различных условиях в зависимости от R^1 ; например, когда $R^1=CF_3$, реакцию проводят в присутствии триэтиламина в дихлорметане при $-78^\circ C$ в течение 1 ч. Для $R^1=NH_2$ реакцию проводят в диоксане в течение 12 ч при температуре кипения с обратным холодильником. Для $R^1=CH_3$ реакцию проводят в дихлорметане при комнатной температуре в течение 3 ч в присутствии триэтиламина.

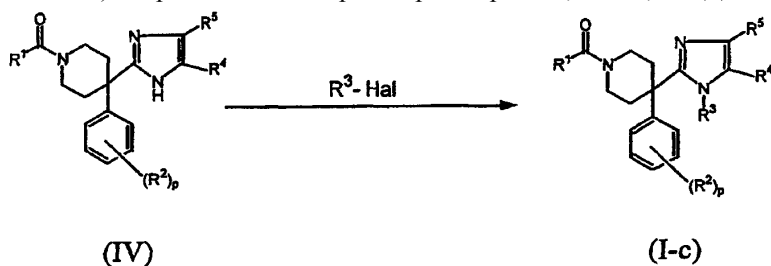
Реакцию (i) проводят в подходящем растворителе, таком как изопропанол, при температуре кипения с обратным холодильником в течение 12-36 ч.

Реакцию (j) проводят в подходящем растворителе, таком как ацетонитрил при температуре кипения с обратным холодильником в течение 24 ч.

Схема 2



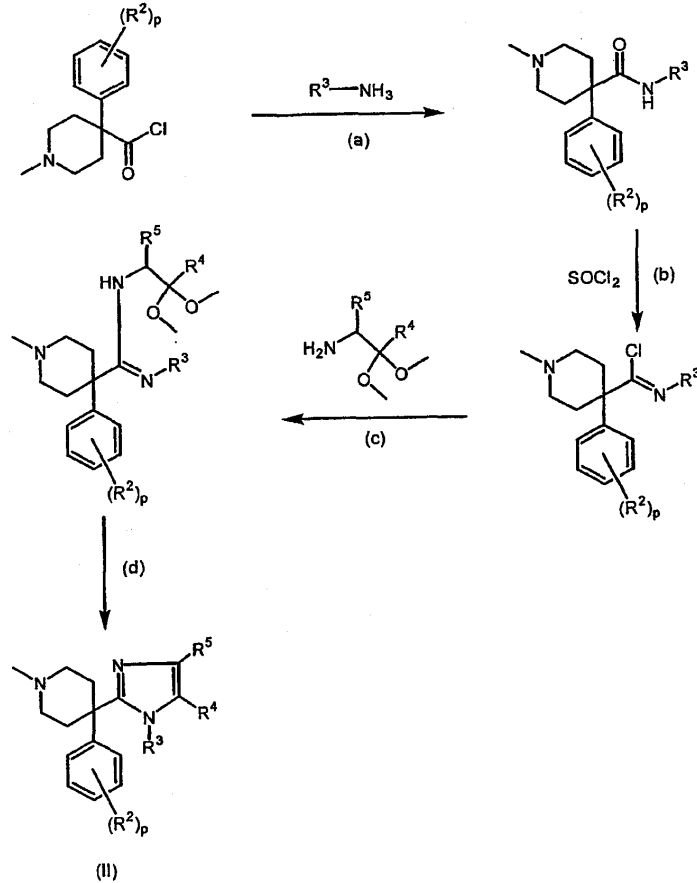
Соединения согласно формуле (I-c) могут быть также получены путем взаимодействия промежуточного соединения формулы (IV) с галогенидом (соль галоидводородной кислоты). В указанной реакции все переменные определяются как в формуле (I). Реакцию проводят с основанием, таким как NaH (60% в минеральном масле) и в реакционно-инертном растворителе, таком, как ДМФА или ТГФ.



Исходное вещество и промежуточные соединения согласно формулам (II), (III) и (IV) являются соединениями, которые либо имеются в продаже, либо могут быть получены в соответствии с общепринятыми процедурами реакций, широко известных в данной области техники.

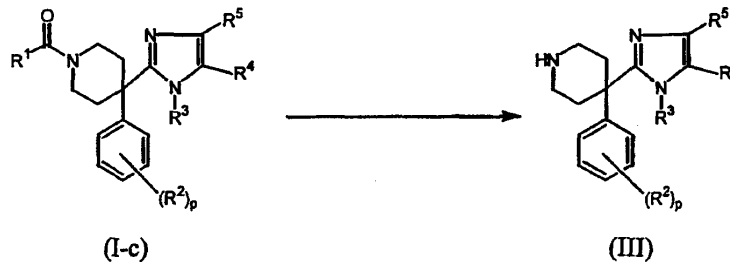
Промежуточные соединения формулы (II) могут быть получены в соответствии со следующей схемой (4) реакций, где все переменные определены как в формуле (I):

Схема 4



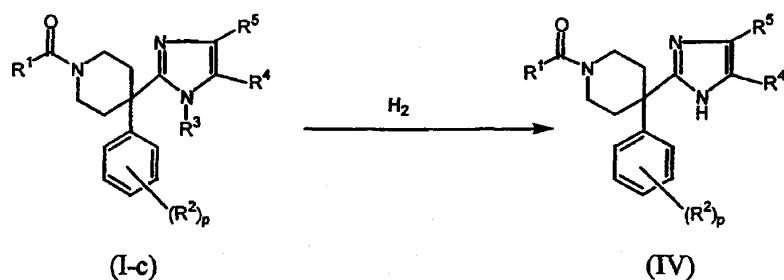
Реакционная схема 4 включает стадию (а), на которой ацетилхлорид показанного типа взаимодействует с замещенным первичным амином, например, бензиламином, в присутствии подходящего основания, такого, как Et_3N , и в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком, как дихлорметан. Реакцию можно удобно проводить при комнатной температуре. На следующей стадии (b) аддукт, полученный на стадии (а), кипятят с обратным холодильником с SOCl_2 , после чего полученный продукт вводят в реакцию с подходящим образом замещенным 2,2-диметоксиэтиламином в реакционно-инертном растворителе, таком как ДМФА, например, при комнатной температуре (стадия с). На стадии (d) аддукт, полученный на стадии (с), циклизуют в HCl с получением замещенной имидазольной части.

Промежуточные соединения формулы (III) могут быть получены из соединений согласно формуле (I-с) путем избирательного восстановления алкилоксикарбонильной части пиперидинильной части в соответствии со следующей реакцией:



Реакцию проводят в присутствии подходящего основания, такого как KOH , в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком как 2-пропанол, и при температуре кипячения с обратным холодильником.

Промежуточные соединения согласно формуле (IV) могут быть получены гидрированием соединений согласно формуле (I-с) в соответствии со следующей реакцией:



где все переменные определены как в формуле (I). Реакцию проводят в присутствии катализатора, такого как Pd/C (10%), в метаноле при умеренно повышенной температуре.

Очевидно, что в предшествующих и последующих реакциях продукты реакции могут быть выделены из реакционной среды и, если это необходимо, дополнительно очищены в соответствии со способами, широко известными в данной области техники, такими как экстракция, кристаллизация и хроматография. Очевидно далее, что продукты реакции, которые существуют в более чем одной энантиомерной форме, могут быть выделены из их смеси с помощью известных способов, в частности, препаративной хроматографией, такой, как препаративная ВЭЖХ.

Следующие примеры иллюстрируют настоящее изобретение без его ограничения.

Экспериментальная часть

Абсолютная стереохимическая конфигурация стереоцентричного(ых) атома(ов) углерода в некоторых соединениях не была экспериментально определена. В данных случаях стереохимически изомерная форма, которая была выделена первой, обозначается как "А", а вторая как "В" без дополнительной ссылки на действительную стереохимическую конфигурацию. Однако указанные "А" и "В" изомерные формы могут быть однозначно охарактеризованы специалистом в данной области техники с применением известных в технике способов, таких как, например, дифракция рентгеновских лучей. Способ выделения подробно описан ниже.

Здесь далее «ДМФА» обозначает N,N-диметилформамид, «ТГФ» обозначает тетрагидрофуран и "DIPE" обозначает диизопропиловый эфир.

А. Получение промежуточных соединений

Пример А1.

1-Метил-4-фенил-4-пиперидинкарбонилхлорид (0,49 моль) добавляли порциями при комнатной температуре к перемешиваемой смеси бензолметанамина (0,49 моль) и N,N-диэтилэтанамина (1,223 моль) в CH₂Cl₂ (2500 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли K₂CO₃ (150 г) и H₂O. Смесь перемешивали и разделяли на слои. Водный слой экстрагировали CH₂Cl₂. Объединенный органический слой сушили (MgSO₄), фильтровали и растворитель выпаривали. Выход: 144 г (95%) 1-метил-4-фенил-N-(фенилметил)-4-пиперидинкарбоксамида (промежуточное соединение 1).

Пример А2.

Смесь промежуточного соединения 1 (0,47 моль) в SOCl₂ (750 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Растворитель выпаривали. Дважды добавляли толуол и вновь выпаривали. Выход: 190 г (100%) N-[хлор-(1-метил-4-фенил-4-пиперидинил)метил]бензолметанамина моногидрохлорида (промежуточное соединение 2).

Пример А3.

Смесь промежуточного соединения 2 (0,47 моль) в ДМФА (750 мл) охлаждали на бане со льдом. По каплям добавляли 2,2-диметоксиэтанамин (0,54 моль), растворенный в ДМФА. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Растворитель выпаривали. Выход: 210 г (100%) N-(2,2-диметоксиэтил)-1-метил-4-фенил-N'-(фенилметил)-4-пиперидинкарбоксимида дигидрохлорида (промежуточное соединение 3).

Пример А4.

Смесь промежуточного соединения 3 (0,47 моль) в бн. HCl (1500 мл) перемешивали до образования мутного раствора, затем промывали CH₂Cl₂ (900 мл), перемешивали при 80°C в течение 1 ч, охлаждали, подщелачивали 50% раствором NaOH и экстрагировали CH₂Cl₂. Органический слой отделяли, сушили (MgSO₄), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток кристаллизовали из CH₃CN. Осадок отфильтровывали и сушили. Выход: 38,3 г (25%) 1-метил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]пиперидина (промежуточное соединение 4).

Пример А5.

Смесь соединения 1 (0,089 моль) в метаноле (250 мл) гидрировали при 50°C с Pd/C 10% (3 г) в качестве катализатора. После поглощения водорода (1 экв.) катализатор отфильтровывали, и фильтрат упаривали. Остаток кристаллизовали из CH₃CN. Осадок отфильтровывали и сушили. Выход: 23,89 г (90%) этил 4-фенил-4-(1H-имидазол-2-ил)-1-пиперидинкарбоксилата (промежуточное соединение 5).

Пример А6.

Смесь промежуточного соединения 5 (0,026 моль) и KOH (0,26 моль) в 2-пропанол (150 мл) пере-

мешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 10 ч. Растворитель выпаривали. Остаток собирали в H_2O , и смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Органический слой отделяли, сушили, фильтровали, и растворитель выпаривали. Выход: 9,4 г 4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]пиперидина (промежуточное соединение 6).

Пример А7.

Реакцию проводили в атмосфере N_2 . Смесь промежуточного продукта 5 (0,0033 моль) в ДМФА (5 мл) и ТГФ (5 мл) добавляли по каплям к раствору NaN , 60% в минеральном масле (0,004 моль) в ТГФ (10 мл), перемешиваемому при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем по каплям добавляли раствор 4-(ацетилокси)бензолметанола (0,004 моль) в ТГФ и полученную реакционную смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Отделенный органический слой сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток очищали быстрой открытой колоночной хроматографией на силикагеле (элюент: $CH_2Cl_2/(CH_3OH/NH_3)$ 95/5). Чистые фракции собирали, и растворитель выпаривали. Выход: 1,33 г этил 4-фенил-4-[1-((4-метилкарбоксо)фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]-1-пиперидинкарбоксилата (промежуточное соединение 7).

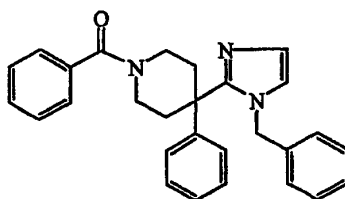
В. Получение целевых соединений

Пример В1.

Смесь промежуточного соединения 4 (0,05 моль) и N,N -диэтилэтанамин (0,15 моль) в толуоле (750 мл) перемешивали при $100^\circ C$. По каплям добавляли этилхлорформиат (0,25 моль), и реакционную смесь перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч и затем охлаждали. Смесь выливали в водный раствор K_2CO_3 (35 г K_2CO_3). Слои разделяли. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 . Отделенный органический слой сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток очищали на силикагеле на стеклянном фильтре (элюент: $CH_2Cl_2/C_2H_5OH/NH_3$ 98/2). Желаемые фракции собирали и растворитель выпаривали. Остаток кристаллизовали из CH_3CN , отфильтровывали и сушили. Выход: 16,7 г (86%) этил 4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]-1-пиперидинкарбоксилата (соединение 1).

Пример В2.

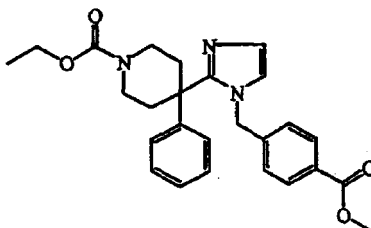
Получение соединения 2



Бензоилхлорид (0,0023 моль) добавляли к смеси промежуточного соединения 6 (0,0019 моль) и N,N -диэтилэтанамин (0,0024 моль) в CH_2Cl_2 (15 мл), перемешиваемой при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Добавляли воду. Слои разделяли. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 . Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток очищали быстрой открытой колоночной хроматографией на силикагеле (элюент: $CH_2Cl_2/(CH_3OH/NH_3)$ 98/2). Чистые фракции собирали, и растворитель выпаривали. Остаток перекристаллизовали из n -гексана, отфильтровывали и сушили. Выход: 0,42 г (52%) соединения 2; т.пл. $122,7^\circ C$.

Пример В3.

Получение соединения 3

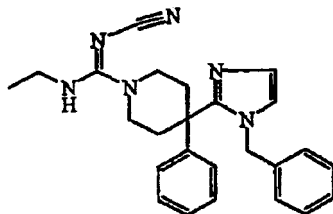


Реакцию проводили в атмосфере N_2 . Раствор промежуточного продукта 5 (0,0054 моль) в ДМФА (10 мл) и ТГФ (10 мл) добавляли по каплям к NaN (0,00624 моль) в ТГФ (30 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем по каплям добавляли метил 4-(бромметил)бензоат (0,00624 моль) в ТГФ (5 мл), и реакционную смесь перемешивали при $60^\circ C$ в течение 3 ч. Добавляли во-

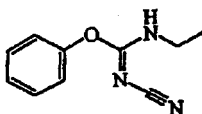
ду, и смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток очищали быстрой открытой колоночной хроматографией на силикагеле (элюент: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/(\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3)$ 98/2). Желаемые фракции собирали, и растворитель выпаривали. Остаток кристаллизовали из DIPE, отфильтровывали и сушили. Выход: 1,7 г (70%) соединения 3; т.пл. $149,1^\circ\text{C}$

Пример В4.

Получение соединения 4



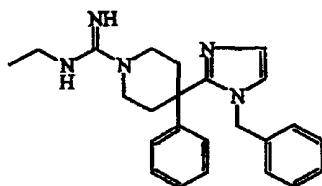
Смесь промежуточного соединения 6 (0,0059 моль) и



(0,0059 моль) в CH_3CN (70 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 24 ч. Растворитель выпаривали. Добавляли воду. Смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Отделенный органический слой сушили (Na_2SO_4 , безводный), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток кристаллизовали из DIPE, отфильтровывали и перекристаллизовывали из CH_3CN , отфильтровывали и сушили. Выход: 0,33 г соединения 4; т.пл. $84,2^\circ\text{C}$.

Пример В5.

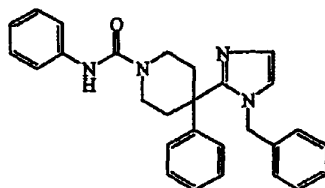
Получение соединения 5



Смесь соединения 4 (0,0001 моль) в HCl 6 н. (22,8 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 4 ч. Реакционную смесь подщелачивали и затем экстрагировали CH_2Cl_2 . Отделенный органический слой сушили (Na_2SO_4 , безводный), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток перекристаллизовывали из DIPE, отфильтровывали и сушили. Выход: 0,24 г (62%) соединения 5.

Пример В6.

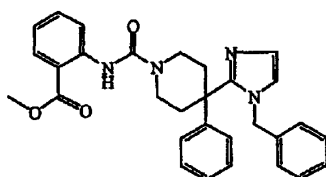
Получение соединения 6



Изоцианатбензол (0,0094 моль) добавляли по каплям к промежуточному соединению 6 (0,0094 моль) в ТГФ (50 мл), и реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Добавляли воду, и данную смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Отделенный органический слой сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Твердый остаток промывали 2-пропанолом, отфильтровывали и сушили. Выход: 2,7 г (68%) соединения 6.

Пример В7.

Получение соединения 7

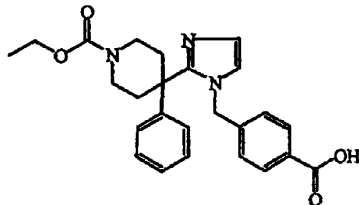


Метил 2-изоцианатбензоат (0,0007 моль) добавляли к промежуточному соединению 6 (0,0007 моль)

в ТГФ (10 мл), и реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре. Добавляли воду, и данную смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Отделенный органический слой сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток (0,4 г) очищали с помощью ВЭЖХ на силикагеле (элюент: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98/2). Желаемые фракции собирали, и растворитель выпаривали. Выход: 0,2 г (66%) соединения 7.

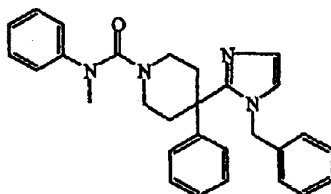
Пример В8.

а) Получение соединения 8



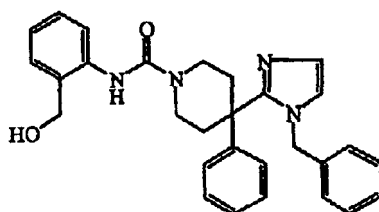
Смесь соединения 3 (0,002 моль) и LiOH (0,02 моль) в ТГФ (11 мл) и H_2O (11 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Добавляли воду. pH смеси довели до 6, и затем смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Органический слой отделяли, сушили, фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток промывали CH_2Cl_2 . Выход: 0,72 г (83%) соединения 8; т.пл. 251,6°C.

б) Получение соединения 9.



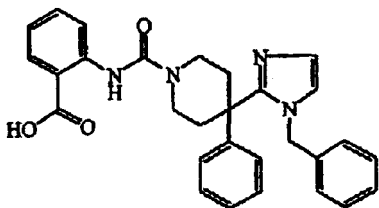
Реакцию проводили в атмосфере N_2 . Раствор NaN 60% (0,000642 моль) в ДМФА (2 мл) перемешивали при комнатной температуре. По каплям добавляли раствор соединения 6 (0,000642 моль) в ДМФА (8 мл), и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Добавляли CH_3I (0,001284 моль) и реакционную смесь перемешивали при 60°C в сосуде Парра под давлением в течение 2 ч. Растворитель выпаривали. Остаток очищали высокоэффективной жидкостной хроматографией на силикагеле (элюент: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98/2). Желаемые фракции собирали и растворитель выпаривали. Выход: 0,14 г (49%) соединения 9.

с) Получение соединения 10



К раствору соединения 7 (0,000404 моль) в ТГФ (5 мл), перемешиваемому при 0°C, по каплям добавляли LiAlH_4 1M в ТГФ (0,000444 моль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°C. Смесь обрабатывали 10% водным раствором NH_4Cl и экстрагировали EtOAc . Отделенный органический слой сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток очищали с помощью СС-ТСХ на хроматотроне (элюент: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 96/4). Желаемые фракции собирали, и растворитель выпаривали. Остаток кристаллизовали из $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$, отфильтровывали и сушили. Выход: 0,020 г (10%) соединения 10.

д) Получение соединения 11



К раствору соединения 7 (0,0006469 моль) в диоксане/ H_2O 1/1 (6 мл) порциями добавляли LiOH (0,001423 моль). Полученную суспензию перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре. Растворитель выпаривали. Остаток собирали водой и экстрагировали смесью EtOAc и 1-бутанола. Органи-

ческий слой отделяли, сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток собирали 1н. HCl и затем экстрагировали EtOAc . Органический слой отделяли, промывали насыщенным раствором соли, сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Остаток кристаллизовали из $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, отфильтровывали и сушили. Выход: 0,16 г (51%) соединения 11.

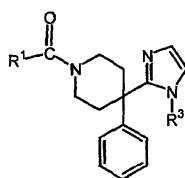
Пример В9.

К смеси промежуточного соединения 7 (0,0018 моль) в ТГФ (10 мл) и H_2O (10 мл) добавляли LiOH (0,018 моль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре. Добавляли воду. Добавляли CH_2Cl_2 . Реакционную смесь экстрагировали. Органический слой отделяли, сушили (Na_2SO_4), фильтровали, и растворитель выпаривали. Белый твердый остаток промывали метанолом и CH_2Cl_2 , затем сушили. Выход: 0,54 г этил 4-фенил-4-[1-(4-гидроксибензил)-1Н-имидазол-2-ил]-1-пиперидинкарбоксилата (соединение 12).

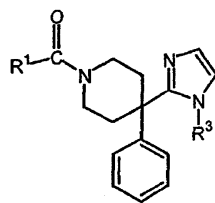
Были получены следующие перечисленные в табл. 1-5 соединения:

(Все точки плавления (т. пл.) - в $^{\circ}\text{C}$)

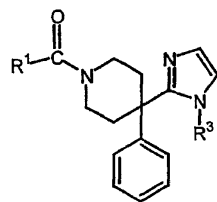
Таблица 1



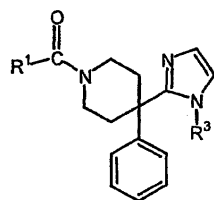
Соед. №	Эксп. №	R ¹ ---	R ² ---	Физич. св-ва
110	В2	---H		
13	В1			
14	В3			т.пл =137
1	В1			
12	В9			



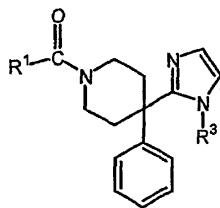
Соед. №	Эксп. №	R ¹	R ³	Физич. св-ва
15	B3			
16	B3			т.пл = 117
17	B3			т.пл = 127
18	B3			т.пл = 125
8	B6			т.пл = 252
3	B3			т.пл = 149
19	B3			
20	B3			
21	B3			



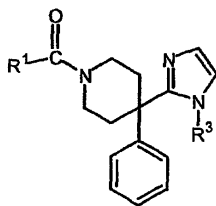
Соед. №	Эксп. №	R ¹ ---	R ³ ---	Физич. св-ва
22	B3			
23	B3			т.пл =199
112	B3			т.пл =128
24	B1			т.пл =130
25	B1			т.пл =160
26	B2			т.пл =133
27	B1			т.пл =80
28	B1			т.пл =215
29	B2			т.пл =111
30	B3			
31	B3			



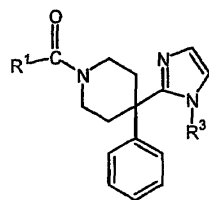
Соед. №	Эксп. №	R ¹ ---	R ³ ---	Физич. св-ва
32	B1			
33	B2	CH ₃ ---		т.пл =183
34	B2	CH ₃ CH ₂ ---		т.пл =133
35	B2	изопропил---		т.пл =107
36	B2			т.пл =111
37	B2	трет-бутил---		т.пл =165
2	B2			т.пл =123
38	B3			
39	B3			
40	B3			



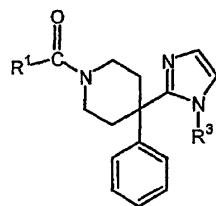
Соед. №	Эксп. №	R ¹	R ³	Физич. св-ва
41	B3			
42	B2			т.пл=151
43	B2			т.пл=79
44	B2			т.пл=149
45	B2			
46	B2	NH ₂		т.пл=208
47	B2			т.пл=144
48	B2			
49	B2			
50	B2			



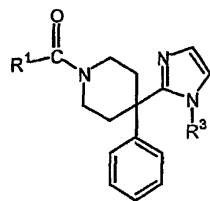
Соед. №	Эксп. №	R ¹	R ³	Физич. св-ва
51	B2			
6	B6			
52	B3			
53	B3			
54	B3			
55	B3			
56	B3			
57	B3			
58	B3			
59	B3			



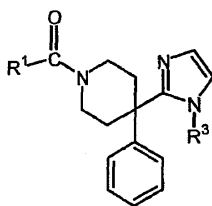
Соед. №	Эксп. №	R¹	R²	Физич. св-ва
60	B3			
61	B3			
62	B3			
63	B3			
64	B2			
65	B2			
66	B2			
67	B2			
68	B2			
7	B7			



Соед. №	Эксп. №	R ¹ ---	R ³ ---	Физич. св-ва
69	B2			
7	B2			
70	B2			
71	B2			
72	B2			
73	B2			
74	B2			
10	B6			
75	B2			

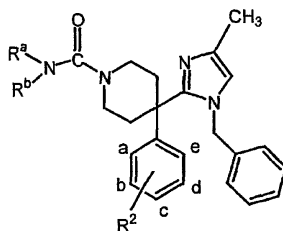


Соед. №	Эксп. №	R ¹ ---	R ³ ---	Физич. св-ва
76	B2			
77	B2			
11	B6			
78	B2			
79	B2			
9	B6			
80	B2			
81	B2			
113	B2			



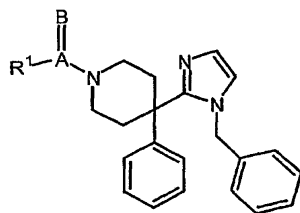
Соед. №	Эксп. №	R¹---	R³---	Физич. св-ва
82	B2			
83	B2			т.пл =74
84	B2			
85	B2			т.пл =165
86	B2			
87	B2			

Таблица 2



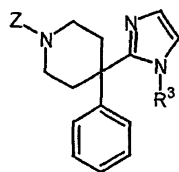
Соед. №	Эксп. №	Rᵃ---	Rᵇ---	R²---	Положение R²	Физич. св-ва
88	B3		H		с	
89	B3		H	-F	с	
90	B3		H	-F	а	
114	B3			-	-	
115	B3		H	-	-	

Таблица 3



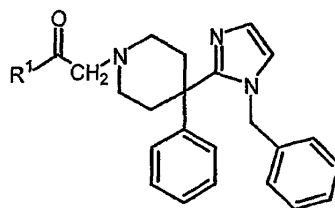
Соед. №	Эксп. №	A=B	R ¹	Физические свойства
5	B5	C=NH		
91	B5	C=N-H		
4	B4	C=N-CN		т.пл =84
92	B4	C=N-CN		
93	B4	C-C-NO ₂		
95	B2	C=S		т.пл =172
96	B2	C=S		
94	B2	SO ₂	---CH ₃	т.пл =167
97	B2	SO ₂	---NH ₂	т.пл =212
111	B2	SO ₂	---CF ₃	т.пл =104
98	B2	SO ₂		

Таблица 4



Соед. №	Эксп. №	Z (A=B и R ¹ вместе)	R ³	Физич. св-ва
99	B3			
100	B3			
101	B3			
102	B3			
103	B2			т.пл=204
104	B2			т.пл=181
105	B2			т.пл=190
106	B2			т.пл=107

Таблица 5



Соед. №	Эксп. №	R ¹	Физич. св-ва
107	B3	---ОН	
108	B2		т.пл =105
109	B2	---NH ₂	т.пл=136

С. Фармакологические примеры

Фармакологические свойства оценивали по связыванию радиолиганда, а также анализом связывания ГТФγS для отдельных соединений на клонированных δ, κ и μ опиоидных рецепторах человека, экс-

прессированных в линии клеток млекопитающего. Сигнализацию второго посредника измеряли на мембранных препаратах посредством стимуляции связывания [³⁵S]ГТФγS. В данном функциональном тесте исследовали агонистические и антагонистические свойства соединений.

В качестве референтного агониста применяли DPDPE ((D-Pen^{2,5})энкефалин), а в качестве референтного антагониста δ опиоидного рецептора применяли налтриндол (Malatynska E., Wang Y., Knapp R.J., Santoro G., Li X., Waite S., Roeske W.R., Yamamura H.I.: Human δ opioid receptor: a stable cell line for functional studies of opioids. *NeuroReport* 6, 613-616, 1995) и (Portoghese P.S., Sultana M., Takemori A.E.: Naltrindole, a highly selective and potent non-peptide δ opioid receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* 146, 185-186, 1988), а U69593 и нор-биналторфимин (nor-BNI) применяли для κ опиоидного рецептора в качестве референтного агониста и антагониста соответственно. Для μ опиоидного рецептора в качестве референтного агониста применяли морфин, а в качестве референтного антагониста использовали налоксон (Alt A., Mansour A., Akil H., Medzihradsky F., Traynor J.R., Woods J.H.: Stimulation of guanosine-5'-O-(3-[³⁵S]thio)triphosphate binding by endogenous opioids acting at a cloned Mu receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 282-288, 1998) и (Smart D., Hirst R.A., Hirota K., Grandy D.K., Lambert D.G.: The effects of recombinant rat μ-opioid receptor activation in CHO cells on phospholipase C, [Ca²⁺]i and adenylyl cyclase. *Br. J. Pharmacol.* 120, 1165-1171, 1997).

С1. Материалы и методы

Клеточная культура

Клетки CHO, стабильно трансфицированные κ или μ опиоидным рецептором, культивировали в среде Игла, модифицированной по Дульбекко (DMEM)/питательной среде Хама F12 (в соотношении 1:1) с добавкой 10% инактивированной нагреванием плодной сыворотки телят и раствора антибиотиков, содержащего 100 МЕ/мл пенициллина G, 100 мкг/мл стрептомицина сульфата, 110 мкг/мл пировиноградной кислоты и 300 мкг/мл L-глутамин. Для С6 глиомных клеток, стабильно трансфицированных δ опиоидным рецептором, требовалась среда DMEM, обогащенная 10% инактивированной нагреванием плодной сывороткой телят и раствором антибиотиков, описанным выше.

Получение мембран

Мембраны получали в виде суммарных фракций частиц. Все линии клеток культивировали до 90% конфлуентности на 145-мм чашках Петри и обрабатывали 5 мМ бутиратом натрия за 24 ч до сбора. Культуральную среду удаляли и клетки промывали холодным забуференным фосфатом физиологическим раствором (ЗФР без Ca²⁺ и Mg²⁺), соскребали с чашек в 50 мМ Трис-НСl буфере, pH 7,4 и собирали центрифугированием (10 мин при 16000 об/мин при 4°C). Осадок клеток ресуспендировали в гипотоническом 5 мМ Трис-НСl буфере, pH 7,4 и повторно гомогенизировали с помощью гомогенизатора Ultra Turrax. Гомогенат центрифугировали при 18000 об/мин в течение 20 мин при 4°C. Конечный осадок ресуспендировали в 50 мМ Трис-НСl буфере, pH 7,4 и хранили в виде аликвот при -70°C. Определение белка проводили с помощью набора Biorad для анализа белка (Bradford) с применением бычьего сывороточного альбумина (BSA) в качестве стандарта (Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem.* 72: 248-254, 1976).

С2. Связывание радиолиганда

Для выявления оптимальных условий анализа для данных подтипов рецепторов опиоидов в их соответствующих клеточных мембранах млекопитающих были проведены предварительные эксперименты по связыванию радиолиганда.

Конкурентное ингибирование [³H]DPDPE соединениями проводили при концентрации радиолиганда 2 нМ (K_d=1,7 нМ) и варьирующих концентрациях синглета соединений, охватывающих, по меньшей мере, величину в 3 порядка вокруг величины pIC₅₀. Для конкурентного связывания с рецепторами κ и μ применяли, соответственно, [³H]U69593 (K_d=0,4 нМ) и [³H] DAMGO (K_d=0,6 нМ) в концентрации 1 нМ. Мембраны оттаивали на льду и разводили 50 мМ Трис-НСl буфером, pH 7,4. Для δ опиоидного рецептора в данный буфер инкубации добавляли 2 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭДТА и 0,1% БСА. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 1 мкМ налтриндола, спирадолина и декстроморамида для δ, κ и μ опиоидных рецепторов, соответственно. Было обнаружено, что инкубация в течение 1 ч при 25°C является оптимальной для анализа конкурентного связывания для всех трех подтипов рецепторов. Анализ проводили в конечном объеме 500 мкл. Реакцию останавливали быстрой фильтрацией через UniFilter™-96, GF/B™ при пониженном давлении с применением Filtermate 196 (Packard).

Количество радиоактивности, связанной на ячейке фильтра, определяли после высушивания фильтра и добавления сцинтиллятора (Microscint-O; Packard) с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика.

С3. Связывание [³⁵S]ГТФγS

Определение связывания [³⁵S]ГТФγS с G-белками проводили модифицированным способом Lazareno (Lazareno S.: Measurement of agonist-stimulated [³⁵S]GTPγS binding to cell membranes. *Meth. Molec. Biol.* 106, 231-243, 1999).

В предварительных экспериментах по связыванию [³⁵S]ГТФγS условия анализа были оптимизиро-

ваны, что привело к выбору следующих буферов: 20 мМ Hepes с 100 мМ NaCl, содержащего 3 мкМ ГДФ и 1 мМ MgCl₂ для μ опиоидного рецептора мембран CHO, содержащего 10 мкМ ГДФ и 1 мМ MgCl₂ для δ опиоидного рецептора клеточных мембран глиомы C6 и 10 мкМ ГДФ и 0,3 мМ MgCl₂ для κ опиоидного рецептора мембран CHO. Смеси для тестирования содержали 10 мкг мембранного белка. К разведенным мембранам дополнительно добавляли 10 мкг/мл сапонина в качестве поверхностно-активного вещества для обеспечения максимального проникновения [³⁵S]ГТФ γ S в мембраны.

Для тестирования агонистической активности 175 мкл разведенных мембран предварительно инкубировали в описанном выше буфере с 25 мкл буфера и 25 мкл соединения в различных концентрациях в суммарном объеме 225 мкл. Для антагонистической активности 25 мкл добавляемого буфера заменяли референтным агонистом для стимуляции базального уровня. Для всех трех линий клеток применяли концентрацию 300 нМ DPDPE, U69593 и морфина для их соответствующих подтипов рецепторов. После 20-минутного периода предварительной инкубации при 37°C добавляли 25 мкл [³⁵S]ГТФ γ S до конечной концентрации 0,25 нМ, и тестируемые смеси дополнительно инкубировали в течение 20 мин при 37°C.

Связанный и свободный [³⁵S]ГТФ γ S разделяли быстрой фильтрацией через UniFilter™-96, GF/B™ при пониженном давлении с применением Filtermate 196 (Packard). Количество радиоактивности, связанной на ячейке фильтра, определяли после высушивания фильтра и добавления сцинтиллятора (Microscint-O; Packard) с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика.

Базальное связывание [³⁵S]ГТФ γ S измеряли в отсутствие соединений. Стимуляцию агонистом рассчитывали в виде процентного увеличения над базальным уровнем. Сигмоидные кривые зависимости ответа от концентрации агониста в отношении связывания [³⁵S]ГТФ γ S и кривые ингибирования антагонистом стимулированного агонистом связывания [³⁵S]ГТФ γ S анализировали с помощью нелинейной регрессии с применением программы GraphPad Prism. Данные получали из независимых экспериментов, и точки с различными концентрациями оценивали по двум параллельным определениям.

С4. Результаты

Все соединения согласно изобретению показали величину pIC₅₀, равную, по меньшей мере, 6 для дельта опиоидного рецептора и величину pIC₅₀, равную 6 или ниже для обоих мю и каппа рецепторов.

Перечисленные в табл. 6 соединения показали величину pIC₅₀ от 7 до 8 для дельта опиоидного рецептора и величину pIC₅₀, равную 6 или ниже для обоих мю и каппа рецепторов.

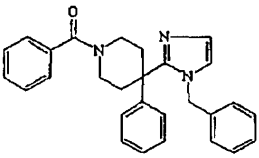
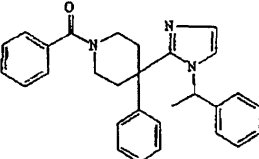
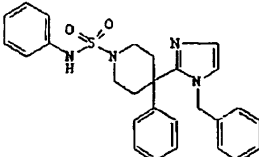
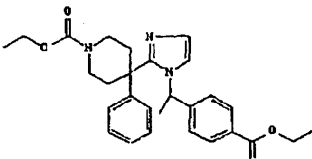
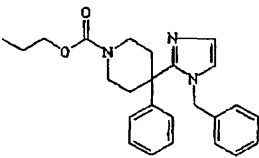
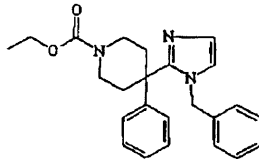
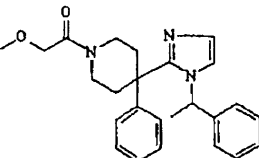
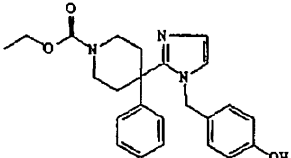
Перечисленные в табл. 7 соединения показали величину pIC₅₀ выше 8 для дельта опиоидного рецептора и величину pIC₅₀, равную 6 или ниже для обоих мю и каппа рецепторов. Избирательность в отношении дельта опиоидного рецептора по сравнению с мю опиоидным рецептором составляет 600.

Таблица 6. Величины pIC_{50} в тесте агонистов дельта опиоидного рецептора

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

Таблица 7. Результаты тестирования рецепторного связывания агонистов (pIC₅₀) и связывания переносчика сигнала (pIC₅₀) н.о.: не определяли

Соед. №	Формула	Рецепторное связывание агониста (pIC ₅₀)			Связывание переносчика сигнала (pIC ₅₀)	
		дельта	мю	каппа	дельта агонист	дельта антаг.
3		8,8	6	н.о	7,3	5
38		8,7	6	н.о	н.о	н.о
20		8,6	6	н.о	7	5
102		8,5	6	н.о	н.о	н.о
25		8,4	6	н.о	6,9	5

2		8,3	6	н.о	6,8	5
41		8,3	6	н.о	н.о	н.о
98		8,2	5,6	5,8	6,1	5
19		8,2	6	н.о	6,5	5
24		8,2	6	н.о	6,9	5
1		8,1	5	6,3	н.о	5
31		8,1	6	н.о	н.о	н.о
12		8,0	6	н.о	7	5

D. Клинические эксперименты: ишемия сердца

D1. Крысиная модель Лангендорффа

Тестируемые соединения

Тестировали соединения 1, 24 и 25.

Модель

Сердце крысы быстро выделяют, соединяют через аорту с канюлей и перфузируют физиологическим буферным раствором (модифицированный буфер Кребса-Хенселейта: NaCl 118 ммоль/л, KCl 4,7

ммоль/л, $MgSO_4$ 1,2 ммоль/л, KH_2PO_4 1,2 ммоль/л, $CaCl_2$ 1,8 ммоль/л, $NaHCO_3$ 23 ммоль/л, глюкоза 11 ммоль/л) без крови при перфузионном давлении 80 мм Hg. Кислород растворяют в физиологическом буферном растворе. Предсердный ритм сокращений сердца составляет 350 ударов в минуту. В левый желудочек вставляют баллон, который может быть необязательно заполненным (регулируемая предварительная нагрузка). Измеряют диастолическое давление и развивающееся давление, а также максимальную скорость развития давления в качестве меры сократимости (инотропный эффект) и минимальную скорость снижения давления как меру релаксации. Преимущества данной модели состоят в том, что: сердце изолируется и изучается в контролируемых условиях без взаимодействия с другими органами и способ является достаточно быстрым и дешевым. Недостатки заключаются в том, что: не происходит перфузии кровью, перфузия только с растворенным кислородом, следовательно, скорости тока в коронарах более высокие с существенной вазодилатацией коронарной системы; система является закрытой без метаболизма и без взаимодействия с другими органами и модель на маленьком животном, далекая от клинической практики.

Протокол

Период исследования ишемии составляет 20 мин. Измерения после периода исследования ишемии (фаза реперфузии) всегда продолжаются 40 мин. Измерения перед периодом исследования ишемии продолжаются 30 мин и выполняются после стабилизации. В группе предподготовки ишемии в течение данных 30 мин измеряется следующее: 10 мин исходный уровень, 5 мин ишемия, 5 мин реперфузия, 5 мин ишемия и 5 мин реперфузия. В группе соединений согласно изобретению (4 мкг/500 мл буферного раствора) первые 15 мин измеряется исходный уровень, за которым следует 15 мин обработки. Следовательно, все подогнано по времени.

Результаты

Восстановление сократительной функции изолированных сердец, обработанных соединениями согласно изобретению, является, по меньшей мере, таким же хорошим, как и в группе с предподготовкой ишемии. Следует отметить, однако, что введение соединений согласно изобретению оказывает на сердце отрицательные инотропные эффекты, что определяется по увеличению конечного диастолического давления в левом желудочке и снижению в развивающемся давлении и dP/dt_{max} . Это может быть связано с растворителем циклодекстрином, так как тот же самый эффект наблюдался в 2 экспериментах, в которых вводили ту же самую концентрацию циклодекстрина. Однако функциональное восстановление после периода исследования ишемии не было лучшим по сравнению с контрольной группой. Это свидетельствует о том, что отрицательный инотропный эффект перед ишемией не отвечает за кардиопротекторное действие.

Статистический анализ показывает значительное различие между контрольной группой и группой с обработкой соединениями согласно изобретению как в отношении развивающегося давления, конечного диастолического давления, dP/dt_{max} и dP/dt_{min} с $p < 0,000001$ (см. фиг. 1 и 2).

Фибрилляция желудочков возникала при реперфузии у значительно меньшего числа крыс в группе с обработкой соединениями согласно изобретению, по сравнению с контрольной группой и также по сравнению с группой предподготовки ишемии. Более того, количество эпизодов фибрилляции желудочков было меньшим в группе с обработкой соединениями согласно изобретению по сравнению с другими группами (табл. 8).

Таблица 8. Результаты экспериментов на крысиной модели Лангендорфа

- IC: Ишемическая контрактура (мм Hg),
- V_{fib} : Количество фибрилляций желудочков при реперфузии,
- EDP: Степень нормализации EDP при реперфузии:
O=восстановление EDP до исходного уровня; +...мм Hg=количество мм Hg выше исходного уровня EDP,
- Восстановление: % восстановления развивающегося давления к концу реперфузии.

№ соединения	№ крысы	IC	V _{fib}	EDP	Восстановление
24	X1	10	0	0	91%
	X2	5	1 (короткая)	+5	85%
	X3	7	0	+7	87%
25	Y1	7	2 (короткие)	+10	75%
	Y2	5	0	+6	79%
	Y3	7	1 (короткая)	+6	85%
1	Z1	4	0	0	92%
	Z2	6	0	+7	85%
	Z3	8	1 (короткая)	+8	82%
Контроль		21	4	+26	48%

D2 Модель на овцах

Для преодоления недостатков предшествующей модели применяли комплексную модель *in vivo* на овцах, в которой, тем не менее, был хороший контроль в отношении эффектов на сердце.

Тестируемые соединения

Тестировали соединение 1.

Модель

Модель представляет собой овцу, анестезированную кетамин и изофлураном. Экстракорпоральная циркуляция достигается венозным канюлированием обеих полых вен и артериальным канюлированием через сонную артерию. Дополнительная канюля с измерителем тока в правом желудочке определяет скорость тока через коронарные артерии. В дополнение к измерениям частоты сердечных сокращений и артериального давления крови измеряют немедленное давление в левом желудочке, а также объемы левого желудочка через проводниковый катетер. На артериальной канюле искусственного сердца существует также боковое ответвление, ведущее к легочной артерии. Через данный путь можно модулировать предварительную нагрузку на левый желудочек в полностью контролируемых условиях, для того чтобы получить независимые от нагрузки показатели сократимости левого желудочка перед и после периода исследования ишемии. Измеряли также потребление кислорода сердцем, а также местную перфузию с помощью окрашенных микросфер.

Преимущество данной модели состоит в том, что это модель на большом животном, с применением экстракорпоральной циркуляции на метаболически активной модели, с возможным присутствием других, не относящихся к сердцу эффектов, в хорошо контролируемых условиях сердечной деятельности, при которых сердце перфузируют кровью. Технически сложная природа модели рассматривается как ее недостаток.

Протокол

Исследуемый период ишемии составлял 30 мин, в то время как сердце оставалось нормотермическим и было полностью ненагруженным благодаря экстракорпоральной циркуляции и вентиляции желудочков. Контрольная группа была подогнана по времени с другими группами. Группу с подготовкой ишемии подвергали предподготовочной ишемии 3 раза по 5 мин с 5-минутными интервалами реперфузии. В трех группах экстракорпоральную циркуляцию начинали проводить за 30 мин перед началом периода исследования налагаемой ишемии. Экстракорпоральную циркуляцию прекращали через 40 мин после окончания периода исследования ишемии. Соединение 1 (78 мг/20 мл) вводили за 15 мин перед началом периода исследования ишемии в пяти технически успешно выполненных экспериментах, в соответствии с чем 10 мл раствора вводили в одном эксперименте и 100 мл в четырех других. Здесь будут рассмотрены только данные четыре эксперимента. В других группах всегда рассматриваются 7 экспериментов. Перед каждым измерением отношений давления к объему левого желудочка систему переключали на модель шунтирования правой половины сердца, в которой венозный ток отводится в экстракорпоральную циркуляцию через полые вены и кровь возвращается к овце через легочную артерию. Это всегда осуществлялось при исходном уровне, сразу после подготовки ишемии или введения соединения 1, сразу перед периодом исследования налагаемой ишемии и через 40, 70 и 100 мин после окончания периода исследования ишемии.

Результаты

Общепринятые параметры

Не выявлено значительных различий между группами в среднем давлении крови. Введение соединения 1 также не вызывало значительного изменения в давлении крови. Следует отметить, что соединение 1 вводили в период экстракорпоральной циркуляции, которая, как очевидно, влияет на давление крови.

Не наблюдалось значительных различий давления в левом предсердии, хотя выявлялась тенденция к несколько более высокому давлению в левом предсердии в контрольной группе по сравнению с двумя другими.

То же самое применимо к сердечному току после реперфузии с тенденцией к более высокому сердечному току в группе с подготовкой ишемии и в группе с обработкой соединением 1.

Отношения между давлением и объемом

Отношения между давлением и объемом в левом желудочке исследовали в контрольной группе, группе с подготовкой ишемии и в группе с обработкой соединением 1.

Поскольку затрагиваются независимые от нагрузки параметры, исследовали задействованную при цикле сердечного сокращения работу перед нагрузкой (PRSW, M_{sw}), результаты представлены на фиг. 3. PRSW указывает на отношение между «затраченной на цикл сокращения работой» и конечным диастолическим объемом.

Затраченная на цикл сокращения работа представляет собой эффективную механическую работу, производимую сердцем для выброса крови. PRSW более высока, когда такая же внешняя механическая работа осуществляется при более низком конечном диастолическом объеме (следовательно, при более короткой длине саркомера), что является определением состояния контрактильности.

PRSW выполняется значительно лучше в группе с подготовкой ишемии и в группе с обработкой соединением 1 по сравнению с контрольной группой после 70 и 100 мин реперфузии и приближается к величине исходного уровня. Следовательно, подготовка ишемии и введение соединения 1 ведет к лучшему восстановлению состояния сократимости сердца через 30 мин после ишемии при нормотермических условиях, в течение которых нет нагрузки на желудочек.

Тау представляет собой величину релаксации желудочка. Чем ниже величина тау, тем скорее наступает релаксация желудочка. Данная величина важна, потому что известно, что диастолическая функция желудочка является даже более чувствительной к ишемии, чем систолическая функция. Тау является значительно более низкой в группе с обработкой соединением 1 по сравнению с контрольной группой через 70 и 100 мин после окончания периода исследования ишемии и также значительно более низкой в группе с подготовкой ишемии по сравнению с контрольной группой через 100 мин после реперфузии (фиг. 4).

Параметр SW/PVA представляет собой меру эффективности, с которой используется механическая работа сердца. Работа по циклу сокращения представляет собой внешнюю механическую работу, и PVA представляет собой механическую энергию, продуцируемую сердцем в виде работы в цикле сокращения, но также в виде потенциальной энергии, требуемой для достижения увеличения давления при конкретном объеме. До настоящего времени данная PVA (зона давления-объема) является механическим параметром с наилучшей корреляцией с потреблением кислорода. Чем выше отношение SW/PVA, тем больше работы затрачивает желудочек в качестве внешней работы для выталкивания крови.

Контрольная группа имеет значительно более низкое отношение SW/PVA по сравнению как с группой с подготовкой ишемии, так и с группой с обработкой соединением 1, через 40, 70 и 100 мин после окончания периода исследования ишемии (фиг. 5).

Эффективность контрактильности, которая является мерой эффективности, с которой потребление O_2 превращается в PVA или механическую энергию, значительно выше в группе с подготовкой ишемии (44,5%) и в группе с обработкой соединением 1 (46,7%) по сравнению с контрольной группой (32,8%, $p < 0,001$).

Как дополнительное преимущество соединений согласно изобретению должно быть отмечено то, что сердце менее напряжено в группе с обработкой соединением 1 по сравнению, как с контрольной группой, так и с группой с подготовкой ишемии.

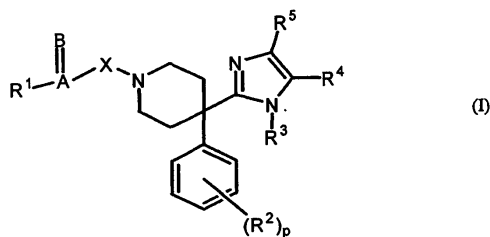
В итоге соединения согласно изобретению являются, по меньшей мере, такими же эффективными, как и общепринятая подготовка к ишемии, в отношении кардиопротекторного механизма в течение 30-минутной нормотермической ишемии миокарда при экстракорпоральной циркуляции. Это увеличивает контрактильность и диастолическую функцию сердца. Эффективность использования энергии сердцем, как в отношении потребления O_2 для развития PVA, так и для превращения PVA во внешнюю работу SW, также является более высокой. Фармакологическая защита с помощью соединений согласно изобретению является предпочтительной по сравнению с подготовкой ишемии, так как они обладают той же эффективностью, что и подготовка ишемии, связаны с меньшим объемом рисков (перезатяжение аорты, легкая потеря сознания) и требует меньших затрат времени. Также по сравнению с концентрациями DADLE, применяемыми в сходных экспериментах, соединения согласно изобретению вводят в концентрациях, по меньшей мере, в 10 раз более низких.

D. Клинические эксперименты: ишемия мозга

Снижение ишемии мозга или защищающее мозг действие соединений согласно изобретению может быть определено при применении модели временной ишемии переднего мозга у крысы, у которой размер инфаркта определяется после окклюзии средней мозговой артерии (MCA), например, с помощью лигатуры. Такая модель описана в патенте WO 96/27380. Также для оценки функциональных последствий ишемии может быть выполнено большое число поведенческих тестов, как описано в патенте WO 96/27380.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения общей формулы (I)



его фармацевтически приемлемых аддитивных солей кислоты или основания, его стереохимически изомерных форм, его таутомерных форм и его N-оксидных форм, где

A=B представляет C=O, C=N-R⁶, где R⁶ представляет собой водород или циано, C=S, SO₂ и C=CR⁷R⁸, где каждый R⁷ и R⁸ независимо представляет собой водород, нитро;

X представляет собой ковалентную связь или -CH₂-;

R¹ представляет собой водород, гидроксильный, алкилокси, Ar-алкилокси, алкил, полигалогеналкил, алкилоксиалкил, Ar-алкил, Ar, пиперазинил, пирролил, тиазолил, пирролидинил или NR⁹R¹⁰, где каждый R⁹ и R¹⁰ независимо представляет водород, алкил, Ar, Ar-алкил, пиридинил или алкилоксикарбонилалкил, или A=B и R¹ вместе образуют бензоксазолил, тиазолил, бензотиазолил, бензимидазолил и пиримидинил;

R² представляет алкилокси или галоген;

R³ представляет собой алкил, Ar-алкил, Ar-карбонил, Ar-алкенил, пиридинилалкил или изоксазолалкил;

R⁴, R⁵ представляет собой водород;

p представляет собой целое число, равное 0 или 1; причем

алкил представляет собой линейный или разветвленный насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 1 до 6 атомов углерода; или представляет собой циклический насыщенный углеводородный (циклоалкильный) радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода; или представляет собой циклический насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода, присоединенный к линейному или разветвленному насыщенному углеводородному радикалу, содержащему от 1 до 6 атомов углерода; в котором каждый атом углерода необязательно может быть замещен оксо;

алкенил представляет собой алкильный радикал, определенный выше, содержащий одну или более двойных связей;

Ar представляет собой гомоцикл, выбранный из группы фенила и нафтила, каждый необязательно замещенный одним или более заместителями, каждый заместитель независимо выбран из группы гидрокси, алкилокси, фенилокси, полигалогеналкилокси, галогена, алкила, гидроксильного алкила, полигалогеналкила, карбоксы, алкилоксикарбонила, диалкиламинокарбонила, фенила, нитро, алкилтио или SO₂-CH₃;

галоген представляет собой заместитель, выбранный из группы фтора, хлора, брома;

полигалогеналкил представляет собой линейный или разветвленный насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, или циклический насыщенный углеводородный радикал, содержащий от 3 до 7 атомов углерода, в котором один или более атомов углерода замещены одним или более атомами галогена;

каждый моноциклический и бициклический гетероциклический радикал, необязательно, замещен по атому углерода и/или гетероатому алкилом или пиридинилом;

для получения лекарственного средства для снижения ишемического повреждения сердца у млекопитающего.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что X представляет собой ковалентную связь.

3. Применение по пп.1 и 2, отличающееся тем, что R³ выбран из группы фенилалкила и нафтила, каждый независимо замещенный по меньшей мере одним заместителем, выбранным из группы галогена, алкилоксикарбонила, гидрокси, алкилокси и диалкиламинокарбонила.

4. Применение по п.1, в котором A=B представляет собой C=O или SO₂, R¹ представляет собой алкилокси, алкилоксиалкил, Ar или NR⁹R¹⁰, где каждый R⁹ и R¹⁰ независимо представляет собой водород или Ar; или A=B и R¹ вместе образуют бензоксазолильный радикал; p равно нулю, R³ представляет собой бензил, необязательно замещенный гидроксильным, алкилом или алкилоксикарбонилем, и каждый R⁴ и R⁵ представляет собой водород.

5. Применение по п.1, отличающееся тем, что соединение выбрано из группы

1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]пиперидин;

1-пропилоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]пиперидин;

1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-[(4-гидроксифенил)метил]-1H-имидазол-2-ил]пиперидин;

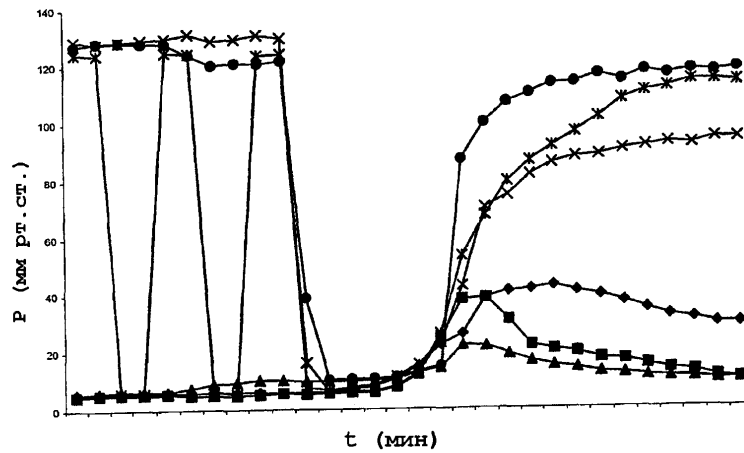
1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(1-фенилэтил)-1H-имидазол-2-ил]пиперидин;

1-изопропилоксикарбонил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1H-имидазол-2-ил]пиперидин;

1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-[[4-(метоксикарбонил)фенил]метил]-1H-имидазол-2-ил]пиперидин;

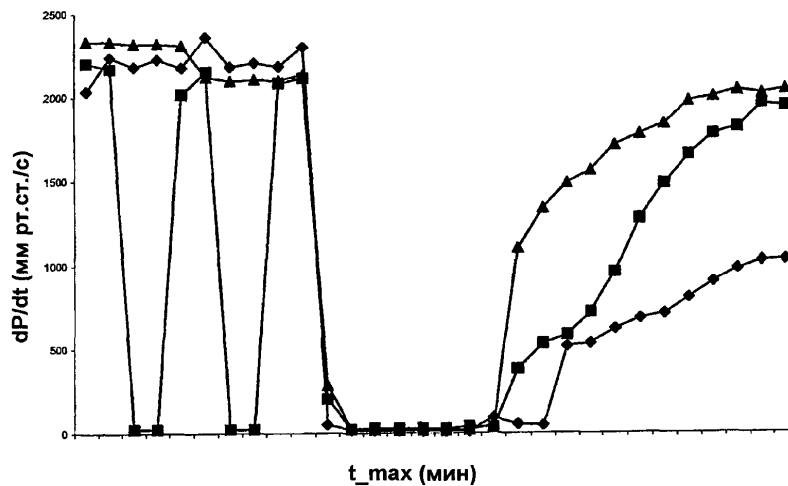
- 1-бензоил-4-фенил-4-[1-(фенилметил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
 1-(метоксиацетил)-4-фенил-4-[1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
 4-[[2-(1-бензоил-4-фенил-4-пиперидинил)-1Н-имидазол-1-ил]метил]метилбензоат;
 4-[[2-[1-(2-бензоксазолил)-4-фенил-4-пиперидинил]-1Н-имидазол-1-ил]метил]метилбензоат;
 1-бензоил-4-фенил-4-[1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин;
 1-этоксикарбонил-4-фенил-4-[1-[1-[4-(этоксикарбонил)фенил]этил]-1Н-имидазол-2-ил]пиперидин и
 N,4-дифенил-4-[1-(фенилметил)-1Н-имидазол-2-ил]-1-пиперидинсульфонамид и
 [4-(1-бензил-1Н-имидазол-2-ил)-4-фенилпиперидин-1-ил]уксусная кислота.
6. Применение соединения по любому из пп.1-5 для получения лекарственного средства для индукции кардиопротекторного действия у млекопитающего.
7. Применение по п.6, отличающееся тем, что млекопитающим является человек.

- ◆: EDP контрольной группы;
 ■: EDP ишемической группы с подготовкой;
 ▲: EDP группы, обработанной соединением 1;
 ×: PSP контрольной группы;
 * : PSP ишемической группы с подготовкой;
 ●: PSP группы, обработанной соединением 1

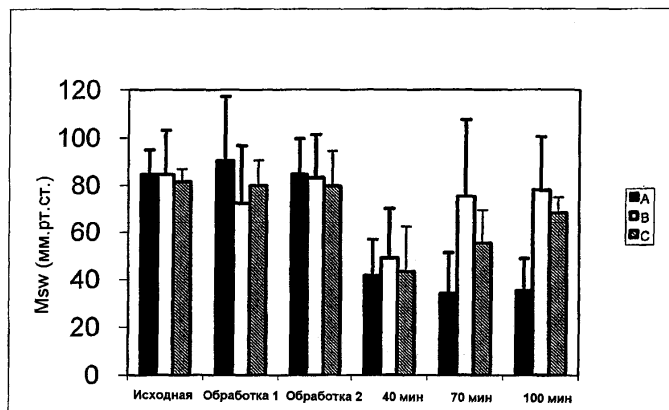


Фиг. 1

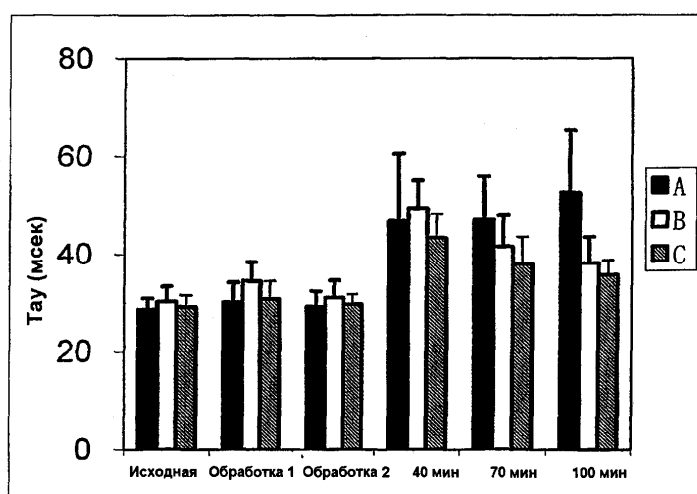
- ◆: контрольная группа;
 ■: ишемическая группа с подготовкой;
 ▲: группа, обработанная соединением 1



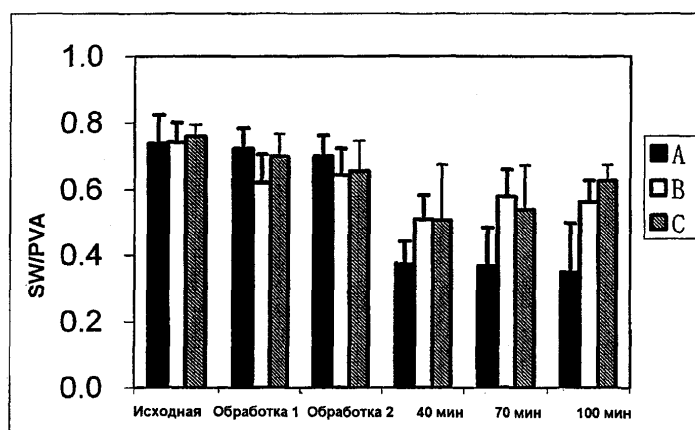
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

