

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

## 3880-97

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **04. 06. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **07.06.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/485317**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17. 06. 98**  
(Věstník č. 6/98)

(86) PCT číslo: **PCT/US96/09161**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 96/39833**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

**A 61 K 31/38**

(71) Přihlášovatel:

ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN,  
US;

(72) Původce:

Bowling Nancy Louise, Greenfield, IN, US;

(74) Zástupce:

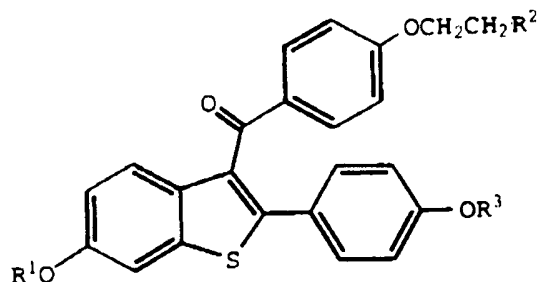
Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2,  
12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití sloučenin 2-aryl-3-arylbenezothiofenu pro přípravu léčiva určeného k způsobu modulace kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni**

(57) Anotace:

Řešení se týká sloučenin obecného vzorce /I/ pro způsob modulace kalciových kanálů. Tento způsob modulace, zvyšující hustotu kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni bez změny v inotropní nebo tlakové odezvě, zahrnuje podávání farmaceuticky účinných množství sloučenin obecného vzorce /I/ ve kterém skupiny R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> představují nezávisle na sobě atom vodíku, alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku. -CO-Alk je alkylová skupina s jedním až šesti atomy uhlíku, -CH<sub>2</sub>Ar nebo -CO-Ar, kde Ar je fenyl nebo substituovaný fenyl; skupina R<sup>2</sup> je zvolena ze souboru zahrnujícího pyrrolidin, hexamethylenimino a piperidino; nebo jejich farmaceuticky přijatelné sole.



CZ 3880-97 A3

**Použití sloučenin 2-aryl-3-arylbenzo[b]thiofenu pro přípravu léčiva určeného k způsobu modulace kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni.**

### Oblast techniky

Vynález se týká použití sloučenin 2-aryl-3-arylbenzo[b]thiofenu pro přípravu léčiva určeného k způsobu modulace kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni.

Týká se objevu, že skupina 2-aryl-3-arylbenzo[b]thiofenů je účinná pro modulaci kalciových kanálů tím, že zvyšuje hustotu kalciových kanálů ve vaskulární (cévní) a kardiální (srdeční) tkáni beze změn v inotropní nebo tlakové odezvě.

### Dosavadní stav techniky

Je obecně známo, že náhradní terapie estrogenem má příznivé účinky na kardiovaskulární systém u žen v menopauze. Viz Knopt, *OBSTET. Gynecol.*, **72**, str. 23s-30s (1988). U žen v menopauze, které přijímají estrogen, je poměr kardiovaskulární mortality redukován o asi 30 % až asi 50 % a poměr cerebrovaskulární mortality je redukován o asi 50 %. Viz Stampfer a kol., *N. Engl. J. Med.*, **325**, 756-762 (1991). I když tyto příznivé kardiovaskulární účinky mohou zahrnovat změny lipidového profilu, nová data nabízí domněnku, že estrogen může mít také příznivý účinek na vaskulární odezvu atherosklerotických věnčitých tepen. Viz Gisclard a kol., *J. Pharmacol. and Experimental*

*Therapeutics*, **244**, 19-22 (1988); Williams a kol., *Circulation*, **81**, 1680-1687 (1990), Gangar a kol., *Lancet*, **388**, 839-842 (1991); a Williams a kol., *JACC*, **20**, 452-457 (1992). Byly popsány jak endotheliálně nezávislé tak i endotheliálně závislé účinky estrogeneru na vaskulární tkáň. Viz Jiang a kol., *Br. J. Pharmacol.*, **104**, 1033-1037 (1991); Jiang a kol., *American Journal of Physiology*, **32**, H271-H275 (1992); Cheng a Gruetter, *European Journal of Pharmacol.*, **215**, 171-176 (1992); Mügge a kol., *Cardiovas. Res.*, **27**, 1939-1942 (1993); Salas a kol., *European Journal of Pharmacol.*, **258**, 47-55 (1994); Williams a kol., *Circulation*, **81**, 1680-1687 (1990); Cheng a kol., *Life Sciences*, **10**, 187-191 (1994); Gilligan a kol., *Circulation*, **89**, 2545-2551 (1994); a Reisa kol., *Circulation*, **89**, 52-60 (1994). Několik zpráv také neznalo, že vasodilatační účinky estradiolu a/nebo jeho schopnost zeslabit kontraktlní odezvy může být zprostředkována inhibicí kalciového prítoku prostřednictvím napětově závislých kalciových kanálů. Viz Jiang a kol., *Br. J. Pharmacol.*, **104**, 1033-1037 (1991); Jiang a kol., *American Journal of Physiology*, **32**, H271-H275 (1992); Collins a kol., *Lancet*, **341**, 1264 (1993); Muck a kol., *Med. Sci. Res.*, **22**, 19 (1994); a Salas a kol., *European Journal of Pharmacol.*, **258**, 47-55 (1994). Další autoři postulovali, že estradiol může zvýšit obsah cyklického AMP nebo cyklického GMP, nebo zvýšit ATP-senzitivní draslíkové kanály. Viz Mügge a kol., *Cardiovas. Res.*, **27**, 1939-1942 (1993); Sudhir a kol., *Am. Heart J.*, **129**, 726-732.

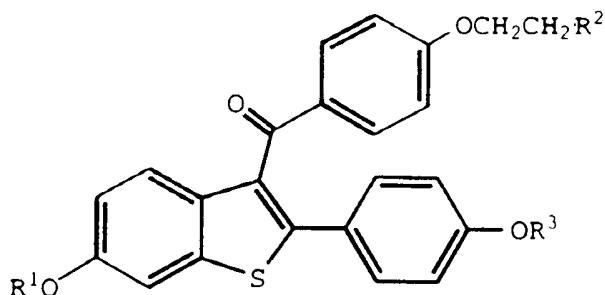
#### Podstata vynálezu

2-aryl-3-aryloxybenzo[b]thiofenové sloučeniny, které jsou užívány způsobem podle předkládaného vynálezu, byly poprvé vyvinuty Jonesem a Suarezem jako anti-fertilitní látky. Viz

U.S. Patent č. 4,133,814 (vydán 9. ledna 1979). Tyto sloučeniny jsou obecně užívány pro potlačení růstu nádorů prsních žláz. Janos později objevil, že skupina těchto sloučenin je obzvláště užitečná pro antiestrogenní a antiandrogenní terapii, obzvláště při léčení nádorů prsních žláz a prostaty. Viz U.S. Patent č. 4,418,068 (vydán 29. listopadu 1983). Jedna z těchto sloučenin, 6-hydroxy-2-(4-(2-piperidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen, byl klinicky zkoumán jako lék pro rakovinu prsu. Tato sloučenina se nazývá raloxifen, dříve keoxifen.

Podstatou předloženého vynálezu je použití sloučenin 2-aryl-3-arylbzeno[b]thiofenu pro přípravu léčiva určeného k způsobu modulace kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni.

Tento způsob modulace kalciových kanálů, zvyšuje hustotu kalciových kanálů v cévní (vaskulární) a srdeční (kardiální) tkáni bez změny v inotropní nebo tlakové odezvě (změně tlaku), zahrnuje podávání účinného množství látky následujícího obecného vzorce(I) teplokrevným živočichům, kteří vykazují její potřebu:



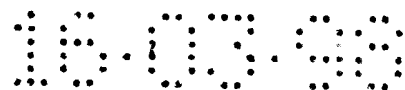
(I)

kde skupiny  $R^1$  a  $R^3$  představují nezávisle na sobě atom vodíku, alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku, skupinu CO-Alk, kde Alk je alkylová skupina obsahující jeden až šest atomů uhlíku, skupinu  $-CH_2Ar$  nebo skupinu  $-CO-Ar$ , kde Ar představuje fenyl nebo substituovaný fenyl;

skupina  $R^2$  je zvolena ze souboru zahrnujícího pyrrolidino, hexamethylenimino a piperidino;

nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí. Předkládaný vynález se také týká použití sloučenin obecného vzorce I a nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí k výrobě léků pro modulaci kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni.

Předložený vynález se týká objevu, že vybraná skupina 2-aryl-3-aryloxybenzo[b]thiofenů (benzo[b]thiofenů), sloučenin obecného vzorce I, je účinná při modulaci kalciových kanálů a zvyšuje hustotu kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni beze změn v inotropní a tlakové odezvě. Předkládaný vynález proto poskytuje způsob modulace kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni. Jedním z předmětů vynálezu je léčba kardiálních poruch, zahrnujících, ale neomezuje se pouze na varianty anginy, exertionální anginy, nestabilní anginy, ischemia-reperfusionního zranění myokardu a arytmií. Jiný předmět vynálezu je způsob léčby cerebrovaskulárních onemocnění, zahrnujících, ale neomezuje se na cerebrální (mozkový) vasospasmus, způsobený prasknutím artérie, mrtvicí a migrénové bolesti hlavy. Jiný předmět vynálezu je způsob léčby ledvinových onemocnění zvýšením ledvinové průchodnosti způsobené zvýšením průtoku krve ledvinami, použitelný pro zpomalení poruchy ledvin. Další předmět vynálezu je způsob léčby gastrointestinálních onemocnění, zahrnujících, ale neomezuje se na onemocnění související s průjemem, jako



jsou IBS a IBD, převažujícíně průjmové. Terapeutické působení podle předloženého vynálezu, je dosahováno podáváním terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I a nebo její farmaceuticky přijatelné soli teplokrevným živočichům, kteří ji potřebují.

Ve výše uvedeném vzorci výraz „alkylová skupina s jedním až šesti atomy uhlíku“ představuje přímý, cyklický nebo rozvětvený alkylový řetězec s jedním až šesti atomy uhlíku. Typické alkylové skupiny s jedním až šesti atomy uhlíku zahrnují methyl, ethyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, sec.-butyl, *t*-butyl, *n*-pentyl, isopentyl, *n*-hexyl, cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl a podobně. Výraz „alkylová skupina s jedním až čtyřmi atomy uhlíku“ představuje přímý nebo rozvětvený alkylový řetězec, obsahující jeden až čtyři atomy uhlíku. Alkylová skupina s jedním až čtyřmi atomy uhlíku zahrnuje methyl, ethyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, sec.-butyl, isobutyl a *t*-butyl.

Výraz „Ar“ v obecném vzorci I zahrnuje skupiny jako jsou fenyl a substituovaný fenyl. Výraz „substituovaný fenyl“, jak je zde používán, představuje fenylovou skupinu, substituovanou jedním nebo více substituenty, zvolenými ze souboru, sestávajícího z atomu halogenu, hydroxy skupiny, kyano skupiny, nitro skupiny, alkylové skupiny obsahující jeden až čtyři atomy uhlíku, alkoxylové skupiny obsahující jeden až čtyři atomy uhlíku, acetylu, formylu, trichlormethylu nebo trifluoromethylu. Příklady substituované fenylové skupiny zahrnují 4-chlorofenyl, 2,6-dichlorofenyl, 2,5-dichlorofenyl, 3,4-dichlorofenyl, 3-chlorofenyl, 3-bromofenyl, 4-bromofenyl, 3,4-dibromofenyl, 3-chloro-4-fluorofenyl, 2-fluorofenyl, 4-hydroxyfenyl, 3-hydroxyfenyl, 2,4-dihydroxyfenyl, 3-nitrofenyl, 4-nitrofenyl, 4-kyanofenyl, 4-methylfenyl, 4-ethylfenyl, 4-methoxyfenyl, 4-propylfenyl, 4-*n*-butylfenyl, 4-*t*-butylfenyl,

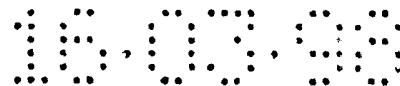
3-fluoro-2-methylfenyl, 2,3-difluorofenyl, 2,6-difluorofenyl, 2,6-dimethylfenyl, 2-fluoro-5-methylfenyl, 2,4,6-trifluorofenyl, 2-trifluoromethylfenyl, 2-chloro-5-trifluoromethylfenyl, 3,5-bis(trifluoromethyl)fenyl, 2-methoxyfenyl, 3-methoxyfenyl, 3,5-dimethoxyfenyl, 4-hydroxy-3-methylfenyl, 3,5-dimethyl-4-hydroxyfenyl, 2-methyl-4-nitrofenyl, 4-methoxy-2-nitrofenyl, 2,4-dinitrofenyl a podobně. Výraz „alkoxyskupina s jedním až čtyřmi atomy uhlíku“ představuje skupiny jako jsou methoxy, ethoxy, *n*-propoxy, isopropoxy, *n*-butoxy, *t*-butoxy a podobně. Výraz „halogen“ představuje skupiny fluoro, chloro, bromo a jodo.

Výraz „farmaceuticky účinné množství“ je zde používán, aby představoval množství sloučeniny obecného vzorce I, které je schopné zvýšení hustoty kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni. Konkrétní dávky sloučeniny obecného vzorce I budou pochopitelně určeny konkrétními okolnostmi daného případu, které zahrnují podávanou sloučeninu, způsob podávání sloučeniny, konkrétní léčený stav a podobné další podmínky.

Výraz „modulace“, tak jak je používán v tomto popisu, představuje zvýšení hustoty kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni beze změn v inotropní a tlakové odezvě.

Výraz „teplokrevný živočich“, jak je používán v tomto popisu, zahrnuje člověka; doprovázející zvířata jako jsou psi a kočky; a domácí zvířata, jako jsou koně, hovězí dobytek, ovce, prasata, kozy a drůbež. Výhodně je teplokrevným živočichem člověk a doprovázející zvířata. Nejvýhodněji je teplokrevným živočichem člověk.

I když jsou všechny sloučeniny obecného vzorce I užitečné pro modulaci kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni, jisté sloučeniny jsou výhodné. Skupiny  $R^1$  a  $R^2$  jsou



výhodně nezávisle atom vodíku, alkylová skupina s jedním až čtyřmi atomy uhlíku, -CO-Alk, kde Alk je alkylová skupina s jedním až šesti atomy uhlíku nebo benzyl a skupina R<sup>2</sup> představuje výhodně skupinu piperidino nebo pyrrolidino. Představitelé výhodných sloučenin z této skupiny jsou 6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-3-[4-(2-pyrrolidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen, 6-methoxy-2-(4-methoxyfenyl)-3-[4-(2-piperidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen, 6-acetoxy-2-(4-acetoxyfenyl)-3-[4-(2-pyrrolidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen a 6-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-[4-(2-piperidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen.

Ještě výhodněji skupiny R<sup>1</sup> a R<sup>3</sup> představují nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku a skupina R<sup>2</sup> je skupina piperidino nebo pyrrolidino. Představiteli této ještě výhodnější skupiny jsou 6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-3-[4-(2-pyrrolidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen, 6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-3-[4-(2-piperidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen, 6-methoxy-2-(4-methoxyfenyl)-3-[4-(2-pyrrolidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen a 6-methoxy-2-(4-methoxyfenyl)-3-[4-(2-piperidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen. Nejvýhodněji jsou skupiny R<sup>1</sup> a R<sup>3</sup> představovány atomem vodíku a skupina R<sup>2</sup> je skupina piperidino. Nejvýhodnější sloučenina je 6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-3-[4-(2-piperidinoethoxy)benzoyl]benzo[b]thiofen.

Sloučeniny obecného vzorce I, použité ve způsobu podle předloženého vynálezu, mohou být vyrobeny použitím známých procedur, jako jsou způsoby popsané v U.S. patentech č. 4,133,814, 4,418,068 a 4,380,635, které jsou všechny zde

citovány jako reference. Obecně způsob výroby vychází z 6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)benzo[b]thiofenu. Tato výchozí sloučenina je chráněna, acylována v poloze C-3 skupinou 4-(2-aminoethoxy)benzoyl a popřípadě zbavena ochrany, čímž se získá sloučenina obecného vzorce I. Příklady výroby takových sloučenin jsou podány v U.S. patentech uvedených výše.

Sloučeniny, použité ve způsobu podle předloženého vynálezu tvoří farmaceuticky přijatelné sole a v případě, že skupina  $R^1$  a/nebo skupina  $R^3$  je atom vodíku, základní adiční sole, s množstvím organických a anorganických kyselin a bází, v to počítaje fyziologicky přijatelné sole, které jsou často používány ve farmaceutickém průmyslu. Typické příklady anorganických kyselin, užívaných k vytvoření takovýchto solí jsou kyselina chlorovodíková, bromovodíková, jodovodíková, dusičná, sírová, fosforečná, fosforičitá a podobně. Mohou být používány i sole odvozené od organických kyselin, jako jsou alifatické mono- a dikarboxylové kyseliny, fenylem substituované alkanové kyseliny, hydroxyalkanové kyseliny, aromatické kyseliny, alifatické a aromatické sulfonové kyseliny. Takovéto farmaceuticky přijatelné sole tedy zahrnují acetáty (octany), fenylacetáty, trifluoroacetáty, akryláty, askorbáty, benzoáty, chlorobenzoáty, dinitrobenzoáty, hydroxybenzoáty, methoxybenzoáty, methylbenzoáty, o-acetoxybenzoáty, naftalen-2-benzoáty, bromidy, isobutyryáty, fenylbutyryáty a  $\beta$ -hydroxybutyryáty, butin-1,4-dioáty, hexin-1,6-dioáty, kapriany, kaprylany, chloridy, cinnamáty (skořicany), citronany, formiáty (mravenčany), fumarany, glykoáty, heptanoáty, dekanoáty, hippurany, laktáty (mléčnany), maláty (jablečnany), maleinany, hydroxymaleinany, malonany, mandlany, mesylany, nikotinany, isonikotinany, dusičnany, oxaláty (šťavelany), ftalany, tereftalany, fosforečnany, monohydrogenfosforečnany, dihydrogenfosforečnany, metafosforečnany, pyrofosforečnany (dvojfosforečnany),



propiolany, propionany, fenylpropionany, salicylany, sebakany, jantarany, korkany, sírany, kyselá sírany, pyrosírany, siřičitany, kyselá siřičitany, sulfonáty, benzensulfonáty, *p*-bromofenylsulfonáty, chlorobenzensulfonáty, ethansulfonáty, 2-hydroxyethansulfonáty, methansulfonáty, naftalen-1-sulfonáty, naftalen-2-sulfonáty, *p*-toluensulfonáty, xylensulfonáty, vínany a podobně. Nejvýhodnější sole jsou sole kyseliny chlorovodíkové.

Farmaceuticky přijatelné kyselá adiční sole jsou tpicky vytvářeny reakcí sloučeniny obecného vzorce I s ekvimolárním nebo přebytečným množstvím kyseliny. Reakční složky jsou obecně spojovány v organickém rozpouštědle, jako je methanol, diethylether nebo benzen. Sůl normálně precipituje z roztoku v průběhu doby od asi jedné hodiny do deseti dní a může být izolována filtrací a nebo může být rozpouštědlo odstraněno obvyklými prostředky.

Báze obvykle používané pro tvorbu solí zahrnují hydroxid amonný, karbonáty a hydroxidy alkalických kovů, prvků alkalických zemin, uhličitany, stejně tak jako alifatické primární, sekundární a terciální aminy a alifatické diaminy. Báze obzvláště užitečné pro přípravu adičních solí zahrnují hydroxid amonný, uhličitán draselný, methylamin, diethylamin, ethylendiamin a cyklohexylamin. Tyto sole jsou obecně připraveny reakcí sloučeniny obecného vzorce I, ve které skupina  $R^1$  a/nebo skupina  $R^3$  představují atom vodíku, s jednou z výše jmenovaných bází v organickém rozpouštědle jako je methanol, diethylether nebo benzen. Soli se izolují způsoby popsány v předchozím odstavci.

Tyto farmaceuticky přijatelné sole mají obecně zvýšenou rozpustnost ve srovnání se sloučeninou, ze které byly odvozeny a jsou tedy často vhodnější pro přípravu ve formě

jako jsou tekutiny nebo emulze.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou před podáváním výhodně zpracovány do farmaceutické formy obsahující sloučeninu obecného vzorce I a farmaceuticky přijatelný nosič, ředidlo nebo excipient. Tyto farmaceuticky přijatelné formy se připraví známými způsoby z dobře známých a dostupných složek. Při vytváření těchto kompozic se aktivní složka obvykle smíchá s nosičem, zředí se ředidlem a nebo se obklopí nosičem, který může být ve formě kapsle, sáčku, papíru nebo nosič jiného druhu. Pokud nosič slouží jako ředidlo, může být představován pevným, polopevným a nebo tekutým materiálem, který slouží jako vehikulum, excipient nebo médium pro aktivní složku. Kompozice mohou být ve tvaru tablet, pilulek, prášků, pastilek, sáčků, oplatkek, elixírů, suspensí, emulsí, roztoků, syrupů, aerosolů, olejových přípravků obsahujících například až do 10 % hmotnostních aktivní látky, měkkých nebo tvrdých želatinových kapslí, kožních náplastí, čípků, sterilních injektovatelných roztoků a sterilně balených pudrů.

Příklady vhodných nosičů, excipientů a ředidel zahrnují laktózu, dextrózu, sacharózu, sorbit, mannit, škroby, gumu, klovatinu, fosforečnan vápenný, algináty, tragakanthu, želatinu, křemičitan vápenný, mikrokrytalickou celulózu, polyvinylpyrrolidon, zesíťovaný polyvinylpyrrolidon, celulózu nebo jejich deriváty, vodní sirup, methylcelulózu, methyl a propyl hydroxybenzoáty, talek, stearát hořečnatý a minerální oleje. Tyto formy mohou navíc obsahovat lubrifikační činidla, smáčecí činidla (například povrchově aktivní činidla), emulsifikační a suspensní činidla, desintegrační činidla, ochranná činidla, sladidla a ochucovací činidla. Kompozice podle vynálezu mohou být formulovány tak, aby poskytovaly rychlé, trvalé nebo zpožděné uvolňování aktivní složky po podání pacientovi,

užívající při tom způsobu známé ze stavu techniky.

Konkretní dávkování sloučeniny obecného vzorce I, potřebné pro dosažení modulace kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni podle předloženého vynálezu bude záviset na naléhavosti podmínek, způsobu podávání a souvisejících faktorech, které budou určeny ošetřujícím lékařem. Obecně jsou účinné dávky v rozmezí od asi 0,1 do asi 1000 mg/den a obvykleji od asi 10 do asi 100 mg/den. Takovéto dávky budou subjektu, majícímu jejich potřebu, podávány od jednou do asi třikrát za den nebo častěji, jak je tomu třeba k účinnému ošetření stavu nebo symptomu.

Obvykle je výhodné podávat látku obecného vzorce I v podobě její kyselá adiční sole, jak je obvyklé při podávání farmaceutických látek nesoucích bázičnou skupinu, jako je piperidino skupina. Pro takové účely jsou použitelné níže uvedené orální dávky popsané v příkladové části.

### Příklady provedení vynálezu

V dávkování popsaném níže výraz „účinná složka“ znamená sloučeninu obecného vzorce I.

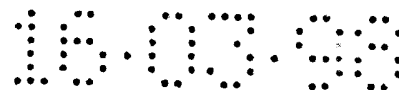
#### *Dávkování 1: Želatinové kapsle*

Byly připraveny tvrdé želatinové kapsle následujícího složení:

---

Složka	Množství (mg/kapsle)
--------	----------------------

---



Účinná složka	0,1 - 1000
Škrob, NF	0 - 650
Škrobový tekutý prášek	0 - 650
Silikonová tekutina 350 centistokes	0 - 15

---

Ingredienty byly smíchány, protlačeny sítem s mřížkou č. 45 U.S. a plněny do želatinových kapslí.

Příklady specifických kapslových dávkování raloxifenu, které byly provedeny zahrnují následující příklady:

*Dávkování 2: Raloxifenové kapsle*

Složka	Množství (mg/kapsle)
Raloxifen	1
Škrob, NF	112
Škrobový tekutý prášek	225,3
Silikonová tekutina 350 centistokes	1,7

---

*Dávkování 3: Raloxifenové kapsle*

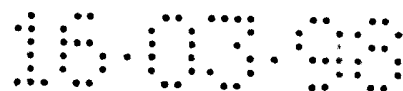
Složka	Množství (mg/kapsle)
Raloxifen	5
Škrob, NF	108
Škrobový tekutý prášek	225,3
Silikonová tekutina 350 centistokes	1,7

---

*Dávkování 4: Raloxifenové kapsle*

Složka	Množství (mg/kapsle)
Raloxifen	10
Škrob, NF	103
Škrobový tekutý prášek	225,3
Silikonová tekutina 350 centistokes	1,7

---



*Dávkování 5: Raloxifenové kapsle*

Složka	Množství (mg/kapsle)
Raloxifen	50
Škrob, NF	150
Škrobový tekutý prášek	397
Silikonová tekutina 350 centistokes	3,0

Specifické formy dávkování popsané výše mohou být změněny v souladu s nutností úměrných změn.

Byly připraveny tablety následujícího složení:

*Dávkování 6: Tablety*

Složka	Množství (mg/kapsle)
Účinná složka	0,1 - 1000
Mikrokrystalická celulóza	0 - 650
kysličník křemičitý, („fumed“)	0 - 650
kyselý stearan	0 - 15

Složky byly smíchány a lisovány do tvaru tablet.

Alternativně byly připraveny tablety obsahující každá 0,1 - 1000 mg účinné složky následujícím způsobem:

*Dávkování 7: Tablety*

Složka	Množství (mg/kapsle)
Účinná složka	0,1 - 1000
Škrob	45
Mikrokrystalická celulóza	35
Polyvinylpyrrolidon (10% roztok ve vodě)	4

Sodná karboxymethyl celulóza	4,5
Stearan hořečnatý	0,5
Talek	1

---

Účinná složka, škrob a celulóza byly protlačeny sítem s mřížkou č. 45 U.S. a pečlivě míchány. Roztok polyvinylpyrrolidonu se míchal s výsledným práškem a protlačoval se sítem s mřížkou č. 14 U.S. Výsledné granule byly sušeny při 50 - 60°C a protlačeny sítem s mřížkou č. 18 U.S. Sodný karboxymethyl škrob, stearan hořečnatý a talek, které byly předtím protlačeny sítem s mřížkou č. 60 U.S. byly přidány ke granulím, které byly po mísení lisovány na tabletovacím stroji, čímž byly získány tablety.

Suspence obsahující každá 0,1 - 100 mg účinné složky na 5 ml dávky byly připraveny následujícím způsobem:

*Dávkování 8: Suspense*

---







Složka	Množství (mg/5 ml)
Účinná složka	0,1 - 1000 mg
Sodná karboxymethyl celulóza	50 mg
Sirup	1,25 mg
Roztok kyseliny benzoové	0,10 ml
Chuťové činidlo	q.v.
Kolorant	q.v.
Purifikovaná voda do	5 ml

---

Účinná složka byla protlačena sítem s mřížkou č. 45 U.S. a smíchána se sodnou karboxymethyl cellulózou a sirupem, čímž se vytvořila jemná pasta. Roztok kyseliny benzoové, chuťové činidlo a kolorant byly zředěny trochou vody a za míchání přidány ke směsi. Poté bylo přidáno množství vody dostatečné k získání požadovaného objemu.

Následující tabulka 1 pro ilustraci podává sloučeniny, které mohou být použity ve způsobu podle vynálezu:

**Tabulka 1**

Sloučenina č.	R <sup>1</sup> a R <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>	Druh
1	-C(O)-  -F	piperidino	báze
2	-C(O)-  -F	piperidino	HCl
3	-C(O)- 	piperidino	báze
4	-C(O)- 	piperidino	HCl
5	-C(O)CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	piperidino	báze
6	-C(O)CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	piperidino	HCl
7	-C(O)C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	piperidino	báze
8	-C(O)C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	piperidino	HCl
9	-C(O)CH <sub>2</sub> C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	piperidino	báze
10	-C(O)CH <sub>2</sub> C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	piperidino	HCl
11	-C(O)-  -CH <sub>3</sub>	piperidino	HCl
12	-C(O)- 	piperidino	báze
13	H	piperidino	báze
14	H	piperidino	HCl
15	H	piperidino	báze
16	H	piperidino	HCl
17	H	hexamethylen- imino	HCl
18	CH <sub>3</sub>	piperidino	HCl

Užitečnost sloučenin obecného vzorce I je ilustrována pozitivním působením, které vykazují v alespoň jednom z níže popsaných experimentů.

#### *Materiály a metody*

Selekce krys a podávané dávky jsou v zásadě takové, jaké jsou popsali Sato a kol. Sato a kol., *J. Bone and Mineral Research*, **9**, 715-724 (1994). Stručně shrnuto, ovariektomované (s vyjmutým vaječником) (ovex) panenské krysí samičky (6 měsíců staré) byly rozděleny do 3 skupin po 6, rozdělených takto: ovex, ethinyl estradiol (EE2, 0,1 mg/kg/den p.o.) a raloxifene (sloučenina **14**, 1,0 mg/kg/den p.o.). Čtvrtá skupina předstíraně operovaných samic („sham“) sloužila jako kontrolní skupina. Dávky EE2 a sloučeniny **14** byly zvoleny tak, aby bylo dosaženo srovnatelných účinků na hustotu kostí (Sato a kol.); shodou okolností dávaly stejně významné (P.O. 05 vs ovex) účinky na snižování celkového cholesterolu (36±2 a 38±4 mg/dl, EE2 a sloučenina **14**, ve srovnání s 85±7 a 87±7 mg/dl pro ovex a kontrolní skupinu). Kontrolní skupině a ovex krysám bylo podáváno vehikulum (100 µg/g tělesné hmotnosti 20 % hydroxypropyl-S-cyklodextrinu). Zvířata byla dávkována po 35 dní a zabita přebytkem CO<sub>2</sub>.

Byla provedena pečlivá disekce srdcí a aort, které byly rychle zmrazeny a uchovávány při teplotě -70°C, pokud membrány nebyly preparovány okamžitě. Z 3-4 g rozsekaných srdcí a aort z každé skupiny byly izolovány mikrosomální membránové vesikuly, způsobem, který popsal Jones a kol., *J. Biol. Chem.*, **254**, 530-535 (1979). Preparace byly uchovávány v 0,25 M sacharose/ 30 mM histidinu při -70°C. Byly provedeny studie vazeb, používající rostoucích koncentrací ligandu kalciových kanálů [<sup>3</sup>H] PN200-110 (0,01 - 4,0 nM) ve

skleněných trubicích 12×75 mm (celkový objem 500  $\mu$ l) při 23°C po dobu 2 hodin s použitím 100 (srdce) nebo 200 (aorty)  $\mu$ g proteinu na jednu trubicí. Pokusy byly ukončeny rychlou filtrací na filtračním papíru Whatman GF/C. Pufř použitý při pokusech a při promývání 50 mM Tris/HCl (pH 7,3), 1 mM EDTA a 12 mM MgCl<sub>2</sub>.

Nespecifická vazba byla definována jako vazba přetrvávající v přítomnosti 1  $\mu$ M nifedipinu.

Radioligační vazebná afinita a receptorová hustota byly určeny ze saturačních isothermických dat použitím nelineární regresní analýzy programem LUNDON-1. Lundeen a Gordon, v **Receptor Binding in Drug Research**, 31-49, 1986.

Kardiovaskulární hemodynamické parametry v závislosti na BAY k 8644 byly určeny pro krysy zabitě propíchnutím míchy z každé ze čtyř skupin (kontrolní, ovex, EE2 a sloučenina **14**), jak bylo posáno Hayesem a Bowlingem s následujícími modifikacemi: Látka byla podávána femorální (stehenní) žílou; a přímé měření levého ventrikulárního (komorového) systolického krevního tlaku bylo dosaženo vsunutím malé sekce trubice PE 90, připojené k tlakovému převaděči, přímo do levé komory. Hayes a Bowling, *J. Pharmacol. and. Exp. Ther.*, **241**, 861-869 (1987). Byla získána měření středního, systolického a diastolického krevního tlaku, tepu, levého ventrikulárního systolického tlaku a levého ventrikulárního dP/dt.

### Výsledky

Působení EE2 a sloučeniny **14** na Ca<sup>2+</sup> kanálové vazby ([<sup>3</sup>H] PN-200-110) v srdeční a aortové tkáni a na *in vivo* hemodynamické odezvy k BAY k 8644 byly určeny a porovnány se skupinou ovex a kontrolní skupinou. Zatímco velká afinita

dihydropyridinových vazebných míst ( $B_{max}$ ) v srdeční a aortové tkáni byla významně zesílena u kryš ošetřených EE2 a sloučeninou **14** ve srovnání s ovex kryšami, vazebná afinita ( $K_d$ ) nebyla významně odlišná mezi skupinami vzhledem k srdeční a aortové tkáni.

Skupina	chol	srdeční	[ <sup>3</sup> H]	aortové	*p<0,05
ošetření	mg/dl	$B_{max}$	PN200-100	$B_{max}$	proti ovex
		(fmol/mg)	$K_d$ (pM)	(fmol/mg)	$K_d$ (nM)
ovex	(n=5-7) 85±7	296±51	200±19	61±15	1,0±0,3
kontrolní	(n=4-6) 87±7	385±76	188±32	46±14	2,5±0,6
EE2	(n=5-7) 36±2*	525±65*	204±21	133±26*	2,5±0,6
Ralox	(n=4-5) 38±4*	535±80*	171±18	124±18*	2,3±0,6

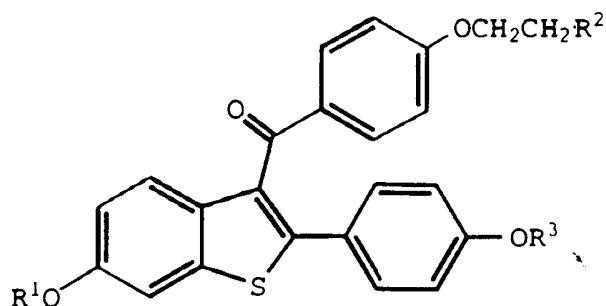
I přes vzrůst  $Ca^{2+}$  kanálového  $B_{max}$  nebyly *in vivo* kontraktální odezvy srdečního tepu a změny tlaku k BAZ k 8644 u kryš ošetřených EE2 zvýšeny ve srovnání s hodnotami u ovex nebo kontrolních kryš. Vzrůst  $Ca^{2+}$  kanálové hustoty tedy nevede k citlivější odezvě agonistů kalciových kanálů.

Zastupuje:

Dr. Otakar Švorčík v.r.

P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Použití sloučenin obecného vzorce (I)



(I)

ve kterém skupiny R<sup>1</sup> a R<sup>3</sup> představují nezávisle na sobě atom vodíku, alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku, -CO-Alk, kde Alk je alkylová skupina obsahující jeden až šest atomů uhlíku, -CH<sub>2</sub>Ar nebo -CO-Ar, kde Ar představuje fenyl nebo substituovaný fenyl;

skupina R<sup>2</sup> je zvolena ze souboru zahrnujícího pyrrolidin, hexamethylenimino a piperidino;

nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí pro přípravu léčiva určeného k způsobu modulace kalciových kanálů ve vaskulární a kardiální tkáni.

2. Použití podle nároku 1, ve kterém skupiny R<sup>1</sup> a R<sup>3</sup> představují nezávisle na sobě atom vodíku, alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku, skupinu -CO-Alk, kde Alk představuje alkylovou skupinu s jedním až šesti atomy uhlíku

nebo benzyl a skupina  $R^2$  představuje skupiny piperidino nebo pyrrolidino.

3. Použití podle nároku 2 ve kterém skupiny  $R^1$  a  $R^3$  představují nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku a skupina  $R^2$  představuje skupiny piperidino nebo pyrrolidino.

4. Použití podle nároku 3 ve kterém skupiny  $R^1$  a  $R^3$  představují vodík a skupina  $R^2$  představuje skupiny piperidino nebo pyrrolidino.

5. Použití podle nároku 4 ve kterém skupina  $R^2$  představuje skupinu piperidino.

6. Použití podle nároku 5 ve kterém farmaceuticky přijatelná sůl je sůl hydrochloridu.

7. Použití podle nároku 4 ve kterém skupina  $R^2$  představuje skupinu pyrrolidino.

8. Použití podle nároku 7 ve kterém farmaceuticky přijatelná sůl je sůl hydrochloridu.

Zastupuje:

Dr. Otakar Švorčík v.r.