

P0201280

1805 A2

Bejelentő: SANOFI-SYNTHELABO

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Kivonat

Piridazino[4,5-b]indol-1-acetamid-származékok alkalmazása a perifériás típusú benzodiazepin receptorok diszfunkciójával kapcsolatos betegségek kezelésére alkalmas gyógyszerek előállítására

A találmány (I) általános képletű vegyületek - a képletben X jelentése halogénatom,

Y jelentése a hidrogénatom, a halogénatomok, és a hidroxil-, a metil-, a metoxi- és a nitrocsoportok közül választott egy vagy több csoport,

R₁ jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport,

R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy más esetben R₂ és R₃ a nitrogénatommal, amelyhez kapcsolódnak, pirrolidinil-, piperidinil- vagy morfolinilcsoportot alkot - alkalmazására vonatkozik perifériás típusú benzodiazepin receptorok diszfunkciójával kapcsolatos betegségek és rendellenességek megelőzésére és kezelésére alkalmas gyógyszer előállítására.

9K

1805

A2

P0201280

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Piridazino[4,5-b]indol-1-acetamid-származékok alkalmazása a
perifériás típusú benzodiazepin receptorok diszfunkciójával
kapcsolatos betegségek kezelésére alkalmas gyógyszerek
előállítására

Bejelentő: SANOFI-SYNTHELABO
174, avenue de France
F-75013 Paris
France

Feltalálók:

FERZAZ, Badia, F-92160 Antony (FR)
BENAVIDES, Jésus, F-92290 Chatenay-Malabry (FR)
MARGUET, Frank, F-91370 Verrières le Buisson (FR)
FROISSANT, Jacques, F-41160 Morée (FR)
MARABOUT, Benoît, F-91380 Chilly Mazarin (FR)
EVANNO, Yannick, F-78830 Bullion (FR)
SEVRIN, Mireille, F-75014 Paris (FR)
JANIAK, Philip, F-91160 Gif-sur-Yvette (FR).

Unió elsőbbség: 1999. január 26. (1999.01.26.)
99/00806 (FR)

Nemzetközi	bejelentés:	PCT/FR00/00135	(2000.01.21.)
	közzététel:	WO/00/44384	(2000.08.03.)

Képviselő: Mármárosi Tamásné
CHINOIN Gyógyszer és Vegyészeti Termékek Gyára Rt.,
Budapest
(a Szabadalmi Ügyvivői törvény 12 § (1) bekezdése
alapján)

A perifériás idegsejtek axonjainak sérülést követő regenerálódását segítő vegyületek keresésére irányuló kutatások során a PCT/FR98/01667 számú nemzetközi szabadalmi bejelentés vegyületei között egy (I) általános képlettel jellemezhető vegyületcsoportot találtunk, a képletben

X jelentése halogénatom,

Y jelentése a hidrogénatom, a halogénatomok, és a hidroxil-, a metil-, a metoxi- és a nitrocsoporthoz közül választott egy vagy több csoport,

R₁ jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport,

R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy más esetben R₂ és R₃ a nitrogénatommal, amelyhez kapcsolódnak, pirrolidinil-, piperidinil- vagy morfolinilcsoportot alkot.

Ezek a vegyületek nagy affinitással rendelkeznek a perifériás típusú benzodiazepin receptorokkal szemben (p helyek vagy PBR), és közülük több csökkenti a faciális ideg elvágása után a faciális magban bekövetkező neuronvesztést. Ezek a vegyületek szív- és vesevédő hatást is mutatnak.

A találmány szerinti alkalmazásra egy különösen előnyös vegyület például a 7-klór-N,N,5-trimetil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-acetamid.

Ez utóbbi vegyületet például a következő eljárással lehet előállítani.

Példa (a következő táblázat 1. vegyülete)

1. Etil-(6-klór-1-metil-1H-indol-2-karboxilát)

1,8 g (45 mmol) 60%-os nátrium-hidrid (amelyet előzőleg petroléterrel mostunk) és 8,0 g (35,8 mmol) etil-(6-klór-1H-indol-2-karboxilát) 80 ml N,N-dimetilformamiddal készült szuszpenzióját 2 órán át szobahőmérsékleten keverjük; ezután 2,8 ml (45 mmol) jódotmetánt adunk hozzá, és a keverést szobahőmérsékleten 4 órán át folytatjuk.

Ezt követően 5 ml abszolút etanolt adunk az elegyhez, és az oldószert csökkentett nyomáson lepároljuk. A maradékot vízben felvesszük, és az elegyet diklórmétánnal extraháljuk. A szerves fázist szárítjuk, szűrjük, az oldószert csökkentett nyomáson lepároljuk, és a maradékot szilikagél oszlopon kromatográfiásan tisztítjuk. 8,5 g (35,7 mmol) fehér kristályos vegyületet különítünk el.

Olvadáspont: 75,5-76,5 °C.

2. Etil-[6-klór-2-(etoxikarbonil)-1-metil- α -oxo-1H-indol-3-acetát]

4 ml (36 mmol) etil-klóroxoacetát 100 ml 1,2-diklóretánnal készült oldatához 4 ml (36,4 mmol) titán-tetrakloridot adunk. A reakcióelegyet 30 percig szobahőmérsékleten keverjük, majd 7,8 g (32,8 mmol) etil-(6-klór-1-metil-1H-indol-2-karboxilát)-ot adunk hozzá, és a reakcióelegyet 4 órán át szobahőmérsékleten keverjük.

Ezután lehűtjük és 200 ml diklórmétánt és 100 ml vizet adunk hozzá. A szerves fázist elválasztjuk, vízzel mossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk, szűrjük, és a szűrletet csökkentett nyomáson bepároljuk. A maradékot szilikagél oszlopon kromatográfiásan

tisztítjuk, így 9,4 g (29,0 mmol) terméket különítünk el. Olvadáspont: 94-95 °C.

3. Etil-(7-klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-karboxilát)

4,6 g (13,6 mmol) etil-[6-klór-2-(etoxikarbonil)-1-metil- α -oxo-1H-indol-3-acetát] 120 ml ecetsavval készült oldatához szobahőmérsékleten 4 ml (40,6 mmol) fenilhidrazint adunk. A reakcióelegyet 30 percig szobahőmérsékleten keverjük, majd 4 órán át visszafolyatás közben forraljuk. Ezután lehűtjük, és 350 ml diklórmetánt és 100 ml vizet adunk hozzá. A szerves fázist elválasztjuk, telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd vízzel mossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk, szűrjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. A maradékot szilikagél oszlopon kromatografáljuk, és 4,1 g (10,7 mmol) terméket különítünk el. Olvadáspont: 216-218,5 °C.

4. 7-Klór-1-(hidroximetil)-5-metil-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-4-on

4,04 g (10,6 mmol) etil-(7-klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-karboxilát) 150 ml tetrahidrofuránnal készült oldatához 2,5 g (66,1 mmol) nátrium-bór-hidridet, majd fokozatosan keverés közben 2,25 ml metanolt adunk, és ezután az elegyet 5 órán át visszafolyatás közben forraljuk.

Ezt követően jéghideg 1 mólos sósavba öntjük, és az oldatlan anyagot zsugorított üvegszűrőn való szűréssel elkülönítjük, vízzel, majd dietil-éterrel mossuk és szárítjuk. 3,3 g (9,7 mmol) vegyületet különítünk el fehér szilárd anyag alakjában, amelyet

a következő lépésben ebben a formában használunk fel. Olvadáspont: 219-220,5 °C.

5. 7-Klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-karboxaldehid

3,3 g (9,7 mmol) 7-klór-1-(hidroximetil)-5-metil-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-4-on 300 ml diklórmétánnal készült oldatához 5,7 g (65,6 mmol) mangán-dioxidot adunk, és a reakcióelegyet 24 órán át keverés és visszafolyatás közben forraljuk.

Ezután lehűtjük, egy Teflon™ membránon át szűrjük, és a szilárd anyagot diklórmétánnal utánamossuk, majd a szűrletet csökkentett nyomáson bepároljuk. 2,88 g (8,53 mmol) vegyületet különítünk el fehér szilárd anyag alakjában, amelyet a következő lépésben ebben a formában használunk fel. Olvadáspont: 235-236 °C.

6. 7-Klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-acetonitril

2,14 g (10,96 mmol) 1-[(izocianometil)szulfonil]-4-metilbenzol 50 ml 1,2-dimetoxietánnal készült oldatához kis részletekben 1,27 g (10,96 mmol) kálium-1,1-dimetiletoxidot adunk, és a reakcióelegyet 30 percig -60 °C-on keverjük, majd 2,88 g (8,53 mmol) 7-klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-karboxaldehidet adunk hozzá, és a reakcióelegy keverését -60 °C-on további 3,5 órán át folytatjuk. Ezután 9 ml metanolt adunk a reakcióelegyhez, amelyet 30 percig szobahőmérsékleten keverünk, majd 1 órán át visszafolyatás és keverés közben forralunk.

Az elegyet lehűtjük, csökkentett nyomáson bepároljuk, a maradék-

SSY-22

hoz vizet, 5 ml ecetsavat és 200 ml diklórmétánt adunk. A szerves fázist elválasztjuk, és a vizes fázist diklórmétánnal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítjük, vízzel mossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk, szűrjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. A maradékot szilikagélen kromatográfiásan tisztítjuk, így 1,87 g (5,36 mmol) vegyületet különítünk el fehér szilárd anyag alakjában, amelyet ebben a formában használunk fel a következő lépésben. Olvadáspont: 305-315 °C.

7. Metil-(7-klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-acetát)

1,83 g (5,25 mmol) 7-klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-acetonitril 250 ml metanollal készült oldatába telítésig hidrogén-kloridot vezetünk, és az elegyet 4 órán át visszafolyatás közben forraljuk.

Ezután lehűtjük, csökkentett nyomáson bepároljuk, és a maradékhoz 25 ml vizet és 25 ml metanolt adunk. Keverés után az oldatlan anyagot szűrőssel összegyűjtjük, vízzel és dietil-éterrel mossuk, szárítjuk és szilikagél oszlopon kromatográfiásan tisztítjuk. 1,00 g (2,62 mmol) vegyületet különítünk el fehér szilárd anyag alakjában. Olvadáspont: 188,5-190 °C.

8. 7-Klór-N,N,5-trimetil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-acetamid

0,49 g (6 mmol) dimetil-amin-hidroklorid 80 ml toluollal készült oldatához 0°C-on, argon alatt 3 ml (6 mmol) 2 mólos toluolos trimetil-alumínium-oldatot adunk, és az elegyet 1,5 órán át szobahőmérsékleten keverjük.

Ezután 0,21 g (0,55 mmol) metil-(7-klór-5-metil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-acetátot adunk hozzá, és a reakcióelegyet 6 órán át keverés és visszafolyatás közben forraljuk.

Ezt követően 4 °C-ra lehűtjük, 10 ml vizet és 100 ml diklórmetánt adunk hozzá, az oldatot szűrjük, és a szűrletet csökkentett nyomáson bepároljuk.

A maradékhoz vizet, 1 mólos sósavat és 150 ml diklórmetánt adunk. A szerves fázist elválasztjuk, vízzel mossuk, nátrium-szulfáttal szárítjuk, szűrjük és csökkentett nyomáson bepároljuk. A maradékot szilikagél oszlopon kromatográfiásan tisztítjuk.

Diklórmetán és etil-acetát elegyéből végzett átkristályosítás után 0,2 g (0,51 mmol) vegyületet különítünk el fehér szilárd, gyapotszerű anyag alakjában. Olvadáspont: 229,5-230 °C

A következő táblázatban olyan vegyületeknek a kémiai szerkezetét és fizikai tulajdonságát adjuk meg, amelyek a találmánynak megfelelően alkalmazhatók.

Táblázat

Szám	X	Y	R ₁	NR ₂ R ₃	Olvadáspont (°C)
1	Cl	H	Me	NMe ₂	229,5-230
2	Cl	H	Me	NEt ₂	167-168
3	Cl	H	Me	pirrolid	260-263
4	Cl	H	Me	morf	273,5-274,5

Szám	X	Y	R ₁	NR ₂ R ₃	Olvadáspont (°C)
5	Cl	3-Me	Me	NMe ₂	204-205,5
6	Cl	3-Me	Me	NEt ₂	200,5-201
7	Cl	3-Me	Me	pirrolid	268-269,5
8	Cl	3-Cl	Me	NMe ₂	231-232
9	Cl	3-Cl	Me	NEt ₂	202,5-203
10	Cl	3-Cl	Me	pirrolid	257-258,5
11	Cl	3-Cl	Me	piperid	218-219
12	Cl	2-Cl	Me	NMe ₂	253-255
13	Cl	2-Cl	Me	NEt ₂	206-208
14	Cl	2-Cl	Me	pirrolid	295-297
15	Cl	4-Cl	Me	NMe ₂	235-237
16	Cl	4-Cl	Me	NEt ₂	223,5-224,5
17	Cl	4-Cl	Me	pirrolid	265-266
18	Cl	3-OMe	Me	NMe ₂	200,5-202,5
19	Cl	3-OMe	Me	NEt ₂	201-202
20	Cl	3-OMe	Me	pirrolid	240-242
21	Cl	3-NO ₂	Me	NMe ₂	275-277,5
22	Cl	3-NO ₂	Me	MEt ₂	228-228,5
23	Cl	3-NO ₂	Me	pirrolid	261-263
24	Cl	3-F	Me	NMe ₂	225-226,5
25	Cl	3-F	Me	NEt ₂	171-172
26	Cl	3-F	Me	pirrolid	270-271,5
27	Cl	3,5-Cl ₂	Me	NEt ₂	239-240,5
28	Cl	4-Cl	Me	NMeEt	216,5-217,5

Szám	X	Y	R ₁	NR ₂ R ₃	Olvadáspont (°C)
29	Cl	H	Me	NHMe	305-307
30	Cl	H	Me	NH ₂	292-293
31	Cl	4-OMe	Me	NMe ₂	233-234
32	Cl	4-OMe	Me	NEt ₂	172-174
33	Cl	4-OH	Me	NMe ₂	298-300
34	Cl	4-OH	Me	NEt ₂	271-272

Megjegyzések:

A táblázatban a "Me" és "Et" metil- illetve etilcsoportot jelent.

A "pirrolid", "piperid" és "morf" rövidítések a pirrolidinil-, piperidinil-, illetve a morfolinilcsoportra utalnak.

Az elvégzett vizsgálatok leírásait és eredményeit a következőkben ismertetjük.

[³H]Ro5-4864 perifériás típusú benzodiazepin receptorokhoz való kötődésének vizsgálata

A találmány szerinti vegyületek perifériás típusú benzodiazepin receptorokhoz (p-hely vagy PBR) való affinitását határoztuk meg.

A p-hely receptorok szelektíven jelezhetők patkány vese membránokban [³H]Ro5-4864 jelenlétében való inkubálással. A vegyületeket *in vitro* vizsgáltuk ezekhez a receptorokhoz való affinitásuk szempontjából. A kísérletekhez 180-300 mg testtömegű hím Sprague-Dawley patkányokat (Iffa Credo) használtunk. Lefejezés után a vesét eltávolítottuk, és a szövetet 4 °C-on Polytron™

homogenizálóval 2 percig a maximális sebesség 6/10-e mellett 35 térfogat 50 mM Na₂HPO₄ foszfát pufferben homogenizáltuk, amelynek a pH-ját NaH₂PO₄-tal 7,5-re állítottuk. A membrán-homogenizátumot gézen szűrtük és pufferrel 10-szeresre hígítottuk.

[³H]Ro5-4864 vegyületet (fajlagos aktivitás: 70-90 Ci/mmol; New England Nuclear) 0,5 nM koncentrációban 100 µl membrán-homogenizátum jelenlétében a vizsgálandó vegyületet tartalmazó pufferben, 1 ml végtérfogatban inkubáltunk.

3 órás 0 °C-on való inkubálás után a membránokat Whatman GF/B™ szűrőn szűréssel összegyűjtöttük és két alkalommal 4,5-4,5 ml hideg inkubáló pufferrel (0 °C) mostuk. A szűrőn maradt radioaktivitást folyadék szcintillációs módszerrel mértük.

A vizsgált vegyület minden koncentrációjára meghatároztuk a [³H]Ro5-4864 vegyület kötődésének százalékos gátlását, majd az IC₅₀ koncentrációt, amely a specifikus kötődést 50%-ban gátolja.

A leghatásosabb vegyületek IC₅₀-értéke a 0,6 nM és 20 nM közötti tartományban volt.

Azok a vegyületek, amelyek a találmány szerint alkalmazhatók, következésképpen olyan ligandumok, amelyek a perifériás-típusú benzodiazepin receptorokkal szemben nagy affinitást mutatnak.

A neurotrof aktivitás vizsgálata

A sérült faciális ideg regenerálódásának vizsgálatát a palpebrális (pislogó) reflex funkcionális visszanyerésének mérésével K. Kujawa és munkatársai által az *Experimental Neurology* (1989) **105**, 80-85 irodalmi helyen leírt módszer módosított változatával végeztük.

A faciális ideg helyi fagyasztással okozott sérülése a faciális ideg disztális részének degenerálódását és a szemhéj pislogó funkciójának az elvesztését okozza. A vizsgálandó termékeket intraperitoneálisan vagy orálisan adagoltuk naponta két alkalommal 6-8 órás időközönként 10 napon át, a kísérlet egész időtartama alatt. Az első kezelést 30 perccel a lézió előtt végeztük.

Az állatok állapotának követése: a szemhéjak működésének visszanyerését a sérült állatokban a 0-5. napon naponta egy alkalommal, és a 6-10. napon naponta két alkalommal követtük (reggel és este 6-8 órás időközzel) mindegyik kezelés előtt, a 0 ponttól 4 pontig terjedő elméleti skála alkalmazásával.

0 pont: a szem nyitva van, 1 pont: a szem félignél kevésbé van zárva; 2 pont: a szem $1/2$ és $3/4$ közötti mértékben van zárva; 3 pont: a szem $3/4$ -nél nagyobb mértékben van zárva; 4 pont: a szem teljesen zárva van.

Az eredményeket az AUC (are under the curve, a görbe alatti terület) értékek arányában fejeztük ki a kezelt és a kontroll csoportra. A legaktívabb vegyületek esetében az AUC arányok 1,12 és 1,20 között voltak.

Ezek a vegyületek tehát 12-20%-kal növelik a palpebrális reflex visszanyerését a faciális ideg sérülése után.

A motoneuronok túlélésének vizsgálata a faciális ideg átvágása után 4-napos patkányokban

Fejletlen patkányokban a faciális ideg sérülése után a faciális nukleus motoneuronjai apoptózis révén neuronális halált

szenvednek. Az idegsejtek túlélésének értékelését hisztológiai és idegsejt-számlálási módszerekkel értékeltük.

4-napos fejletlen patkányokat 3 mg/kg mennyiségű intraperitoneálisan beadott pentobarbitállal érzéstelenítettünk. A jobb faciális ideget kiemeltük és ott vágtuk el, ahol az elhagyja a stylomastoid nyílást. A fiatal patkányokat, miután magukhoz tértek, visszavittük az anyjukhoz és 7 napon át kezeltük napi egy vagy két adagolással orálisan vagy intraperitoneálisan beadva az 1-10 mg/kg dózist. Hét nappal a sérülés után az állatokat lefejeztük, és az agyakat izopentánban -40 °C-on megfagyasztottuk. A faciális nucleust kriosztát alkalmazásával 10 µm-es darabokra vágtuk. A motoneuronokat krezil-ibolyával megfestettük és Histo™ program (Biocom™) segítségével számoltuk.

Ebben a modellben a leghatásosabb vegyület az idegsejt túlélését kb. 10-30%-kal javította. Példaként említjük a Példában leírt (a táblázatban 1.) vegyületet, amely az idegsejt túlélését intraperitoneális adagolást követően 31%-kal növeli.

A fentebb leírt kísérletek eredményei azt mutatják, hogy az (I) általános képletű vegyületek elősegítik az ideg regenerálódását.

A szívvédőhatások vizsgálata

A szívvédő hatásokat regionális iszkémiának és reinfúciónak alávetett nyulakból elkülönített szíveken vizsgáltuk. Az infarktus méretét, valamint az összehúzódnási funkció visszanyerését mértük a reinfúzió során.

2,3-2,5 kg testtömegű új-zélandi nyulakat (ESD France) ketamin-xilazin eleggyel érzéstelenítettünk és heparinizáltunk.

A szívet eltávolítottuk, és gyorsan az aortás úton visszafelé 75 mmHg nyomásnál Krebs Henselheit-típusú oldatot vezettünk be. Egy ballont helyeztünk a bal kamrába, és 5 mmHg telediasztolés nyomást alkalmaztunk. Egy 20 perces stabilizálódási periódus után a vizsgálandó vegyületet (1 mM) vagy a vivőanyagot az infúziós oldathoz adtuk 15 perccel az iszkémia előtt és a kísérlet egész időtartama alatt. A bal koszorúér artéria 30 percre történő teljes elkötésével regionális iszkémiát hoztunk létre, ezt 2 órán át a szív reinfúziója követte.

A kamranyomás, a szívverés és a koszorúér-teljesítmény paramétereit az egész kísérlet alatt követtük.

A reinfúzió után a szívkoszorúér artériát ismét elzártuk, és China tinta infúziót adtunk a veszélyeztetett terület körbehatárolására. Ezután keresztirányú metszeteket készítettünk, és a metszeteket 1% trifeniltetrazólium-oldatban inkubáltuk az infarktus nagyságának mérésére. Az elhalt terület nagyságát, a veszélyeztetett terület %-ában kifejezve, egy leképező-analizáló program segítségével kaptuk.

Példaként említjük, hogy a Példában leírt (a táblázatban 1.) vegyület az infarktus méretének jelentős, 47%-os csökkenését okozza (kontroll: $41,7 \pm 5,3$ szemben a vizsgált vegyülettel: $22 \pm 3,3$; $p < 0,01$). A mintegy 50%-ban veszélyeztetett területek mindkét csoportban hasonlóak.

Az 1. számú vegyület a reinfúzió alatt csökkenti az összehúzódást és szignifikánsan helyreállítja a bal ventrikuláris nyomást (a preiszkémiás visszanyerés 36% 2 óra reinfúzió után a kontrollokban a kezelt állatok 65%-ával szemben), a maximum és

minimum dP/dt értékeket és a kétszeres frekvencia-nyomás szorzatot.

A vesevédő hatások vizsgálata

A kísérletet 270-330 g testtömegű Sprague-Dawley hím patkányokkal (Charles River France) végeztük. Az állatokat 60 mg/kg intraperitoneálisan beadott pentobarbitallal érzéstelenítettük, intubáltuk és mesterségesen lélegeztettük, a hőmérsékletüket 37 és 38 °C között tartottuk.

A hátonfekvő állat hasát 3 cm hosszan bemetszettük, a jobb és a bal veseartériákat kiemeltük és 30 percre elzártuk, és azután a veséket vizuális megfigyelés közben reinfúzióval feltöltöttük, majd a bemetszést lezártuk. A szérum kreatinin és karbamid nitrogén szintjét az orbitális szinuszból gyűjtött vérmin-tákból határoztuk meg a 0. napon (az érzéstelenítés előtt), és azután egy elzárás-reinfúzió után az 1., 2., 3., 4., és 8. napon.

A vizsgálandó vegyületeket vagy a vivőanyagot (Tween 80 , 2%) 3 mg/kg mennyiségben adagoltuk intraperitoneálisan 60 perccel az elzárás előtt.

Példaként az 1. számú vegyületet említjük, amely a kreatininémiát 56%-kal és az urémiát 49%-kal csökkentette a vivőanyaghoz képest a 3. napon. Az állatok mortalitását is csökkentette, ennek aránya 1/12 volt a kezelt csoportban, míg 4/9 a csak vivőanyagot kapott állatok körében.

Az előző két vizsgálat mutatja egyrészt, hogy a vegyületek, amelyek a találmány szerint alkalmazhatók, nyulakban csökkentik a szív-iszkémia-reinfúzióval kiváltott infarktus méretét, és a

reinfúzió alatt az összehúzódnási funkció jobb visszanyerését teszi lehetővé, másrészt korlátozzák a renális iszkémia-reinfúzió epizód által okozott akut veseelégtelenséget.

Az (I) általános képletű vegyületek ezért különböző típusú perifériás neuropátiák, így traumával kapcsolatos vagy iszkémiás neuropátiák, fertőzőes, alkohollal kapcsolatos, droggal kapcsolatos vagy genetikai neuropátiák, valamint motoneuron állapotok, így gerinc amiotrófiák és amiotrof laterális szklerózis megelőzésére vagy kezelésére alkalmas gyógyszerek előállítására használhatók. Ezek a gyógyszerek alkalmazhatók a központi idegrendszer neurodegeneratív kezelésében, vagy akut típusú, így cerebrovaszkuláris balesetek és agyi és velősérülések, vagy krónikus típusú, így autoimmun betegségek (sclerosis multiplex), Alzheimer-betegség, Parkinson-betegség és bármely más olyan betegség esetében, amelynél neurotrof faktorok adagolásától terápiás hatás várható.

A vegyületek, amelyek a találmány szerint alkalmazhatók, akut és krónikus veseelégtelenség, glomerulonephritis, diabéteszes nefropátia, szívizskémia és -elégtelenség, szívinfarktus, az alsó végtagok iszkémiája, koszorúérgörcs, angina pectoris, a szívbillentyűkkel kapcsolatos patológiás állapotok, gyulladásos szívbetegségek, kardiotoxikus gyógyszerek által okozott mellékhatások vagy szívműtét utóhatásai, ateroszklerózis és annak tromboembóliás komplikációi, resztenózis, implantátum-kilökődés, a símaizomsejtek nem korrekt proliferációjával vagy migrációjával kapcsolatos állapotok kezelésére is használhatók.

Az újabb irodalmi adatok emellett arra utalnak, hogy a perifériás típusú benzodiazepin receptor alapvető szerepet játszhat a sejtproliferációs és rákosodási folyamatok szabályzásában. Általában, és a normál szövetekkel összehasonlítva, a perifériás típusú benzodiazepin receptorok megnövekedett sűrűségét figyelték meg a daganat és rák különböző típusaiban.

Humán asztocitómákban a perifériás típusú benzodiazepin receptor kifejeződése a daganat rosszindulatúságának mértékével, a proliferációs indexszel és a beteg túlélésével összefüggésben van. Humán agytumorsejtben a perifériás típusú benzodiazepin receptorok számában bekövetkezett növekedést használják az orvosi leképezésben egy diagnosztikai indikációnak, és terápiás célként egy perifériás típusú benzodiazepin receptor ligandumából és egy citosztatikus hatóanyagból álló konjugátumok számára. A perifériás típusú benzodiazepin receptorok nagy sűrűségét figyelték meg a petefészek karcinómákban és a mellrákokban is. Az utóbbit illetően kimutatták, hogy a perifériás típusú benzodiazepin receptorok kifejeződési szintje kapcsolatban van a tumor agresszív potenciáljával; emellett a perifériás típusú benzodiazepin receptor egy agonistájának jelenléte stimulálja egy emlőrák vonal növekedését.

Mindezen eredmények, amelyek a perifériás típusú benzodiazepin receptor káros működését feltételezik a rákosodási folyamatokban, megfelelő alapot képeznek olyan szintetikus ligandumok kutatására, amelyek specifikusak a perifériás típusú benzodiazepin receptorral szemben és képesek annak hatásait blokkolni.

A vegyületek ezért daganatok és rákok kezelésére használhatók.

A perifériás típusú benzodiazepin receptorok a bőrben is jelen vannak, és ezek révén a vegyületek, amelyek a találmány szerint alkalmazhatók, kután stresszek megelőzésére vagy kezelésére használhatók.

A kután stressz kifejezés különféle szituációkat jelent, amelyek az epidermiszben károsodást képesek okozni, tekintet nélkül a stresszt kiváltó szerre. Ez a szer lehet a testen belül és/vagy kívül, például vegyszer vagy szabad gyökös szer, vagy más testen kívüli szer, például ultraibolya sugárzás.

Ily módon a találmány szerint alkalmazható vegyületek kután irritációk, sömör, bőrpírosság, tapintási túlérzékenység, hőérzet, a bőr és/vagy nyálkahártya viszketésének és az öregedésnek a megelőzésére és leküzdésére alkalmazhatók, és bőrrendellenességek, például pszoriázis, prurigót okozó betegségek, herpesz, fotodermatitisz, atópiás dermatitisz, kontakt dermatitisz, lichen, prurigó, viszketés, rovarcsípés esetében, fibrózisban és a kollagén öregedés más rendellenességeiben, immunológiai rendellenességekben vagy bőrgyógyászati állapotokban, például ekcéma esetében is használhatók.

A jelen találmány tárgya így az (I) általános képletű vegyületek alkalmazása gyógyászati készítmények előállítására, amelyek hatóanyagként legalább egy (I) általános képletű vegyület hatásos dózist tartalmaznak gyógyászatilag elfogadható bázis,

só vagy szolvát formájában, és ahol alkalmas, megfelelő segédanyagokkal alkotott keverékként.

A fenti segédanyagokat a gyógyászati dózis formától és az adagolás kívánt módjától függően választjuk.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények így orális, szublingvális, szubkután, intramuszkuláris, intravénás, topikális, intratracheális, intranazális, transzdermális, rektális vagy intraokuláris adagolásra készülhetnek.

Az adagolási egység formák például tabletták, zselatin kapszulák, szemcsék, porok, orális vagy injektálható oldatok vagy szuszpenziók, transzdermális tapaszok vagy kúpok lehetnek. Topikális adagolásra kenőcsök, tejek és szemcseppek jöhetnek szóba.

Az egység formák olyan dózisokban vannak, amelyek lehetővé teszik 0,001 - 20 mg hatóanyag/kg testtömeg napi adagolását, a galenikus formától függően.

Tabletták előállítására a mikronizált vagy más formájú hatóanyaghoz gyógyszerészeti vivőanyagot adunk, amely hígítószerkekből, például laktózból, mikrokristályos cellulózból, keményítőből és formálási adjuvánsokból, így kötőanyagokból (polivinilpirrolidon, hidroxipropilmetilcellulóz és hasonló), csúsztatóanyagokból, például szilícium-dioxidból, kenőanyagokból, így magnézium-sztearátból, sztearinsavból, gliceriltribehenátból és nátrium-sztearil-fumarátból állhatnak. A készítmény tartalmazhat nedvesítőszereket vagy felületaktív anyagokat, például nátrium-lauril-szulfátot is.

A hatóanyag készítménybe foglalásának módszere lehet közvetlen préselés, száraz granulálás, nedves granulálás vagy meleg olvasztás.

A tabletták bevonat nélküliek, cukorral, például szacharózzal, különféle polimerekkel vagy más megfelelő anyaggal bevontak lehetnek. A hatóanyag gyors, késleltetett vagy nyújtott leadását lehet tervezni polimer mátrixok vagy specifikus polimerek segítségével, amelyeket a bevonatban használunk.

Zselatin kapszulák előállítására a hatóanyagot száraz, folyékony vagy félszilárd gyógyszerészeti vivőanyagokkal keverjük (egyszerű keveréssel, száraz vagy nedves granulálással vagy meleg olvasztással).

A zselatin kapszulák kemények vagy lágyak, filmbevonatúak vagy másmilyenek lehetnek, hogy gyors, nyújtott vagy késleltetett aktivitással (például egy enterális forma) rendelkezzenek.

Egy szirup vagy elixir formájú vagy csepp formájában adagolandó készítmény a hatóanyagot édesítőszerrel, előnyösen kalóriaszegénnyel, metilparabén vagy propilparabén antiszeptikummal, ízmódosítóval és színezőanyaggal együtt tartalmazhatja.

A vízben diszpergálható porok és szemcsék a hatóanyagot diszpergáló szerekkel vagy nedvesítőszerekkel keverve tartalmazhatják, vagy olyan diszpergálószerekkel, mint a polivinilpirrolidon, valamint édesítőszerekkel és ízfokozószerekkel alkotott keverékként.

Rektális adagolásra olyan kúpokat használunk, amelyeket a rektális hőmérsékleten olvadó kötőanyagokkal, például kakaóvajjal vagy polietilén-glikollokkal készítünk.

Parenterális adagolásra vizes szuszpenziókat, izotóniás só-oldattal készült oldatokat vagy injektálható steril oldatokat használunk, amelyek gyógyászatiilag elfogadható diszpergálószereseket és/vagy nedvesítőszereket, például propilénglikolt vagy butilénglikolt tartalmaznak.

A hatóanyagokat mikrokapszulákként is formulálhatjuk, adott esetben egy vagy több hordozó- vagy adalékanyaggal, vagy polimer mátrixszal vagy ciklodextrinnel (transzdermális tapaszok, nyújtott hatóanyagleadású formák).

A találmány szerinti topikális készítmények a bőrrel kompatibilis közeget tartalmaznak. Ezek a készítmények vizes, alkoholos vagy vizes-alkoholos oldatok, gélek, víz-az-olajban vagy olaj-a-vízben emulziók alakjában bocsáthatók rendelkezésre, amelyek krém vagy gél formájúak, mikroemulziók, aeroszolok lehetnek, vagy vezikuláris diszperziók alakjában, amelyek ionos és/vagy nem-ionos lipideket tartalmaznak. Ezeket a galenikus formákat az adott szakterületen szokásos módszerekkel állítjuk elő.

Végül a találmány szerinti gyógyászati készítmények az (I) általános képletű vegyületeken kívül tartalmazhatnak más hatóanyagokat is, amelyek a fentebb említett rendellenességek és betegségek kezelésében használhatók.

Szabadalmi igénypontok

1. (I) általános képletű vegyületek - a képletben

X jelentése halogénatom,

Y jelentése a hidrogénatom, a halogénatomok, és a hidroxil-, a metil-, a metoxi- és a nitrocsoporthoz választott egy vagy több csoport,

R₁ jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport,

R₂ és R₃ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy más esetben R₂ és R₃ a nitrogénatommal, amelyhez kapcsolódnak, pirrolidinil-, piperidinil- vagy morfolinilcsoportot alkot -

alkalmazása perifériás típusú benzodiazepin receptorok diszfunkciójával kapcsolatos betegségek és rendellenességek megelőzésére és kezelésére alkalmas gyógyszer előállítására.

2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy az (I) általános képletű vegyület 7-klór-N,N,5-trimetil-4-oxo-3-fenil-3,5-dihidro-4H-piridazino[4,5-b]indol-1-acetamid.

3. Az 1. vagy a 2. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a betegség vagy rendellenesség a központi vagy perifériás idegrendszer degeneratív betegsége.

4. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a betegség vagy rendellenesség szívbetegség vagy -rendellenesség.

5. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a betegség vagy rendellenesség nefropátia.

6. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a betegség vagy rendellenesség egy után stressz.

7. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a betegség vagy rendellenesség daganat vagy rák.

A Bejelentő helyett a Meghatalmazott

Adatlap megadva
2002. 05. 08.
TK

Adatlap megadva

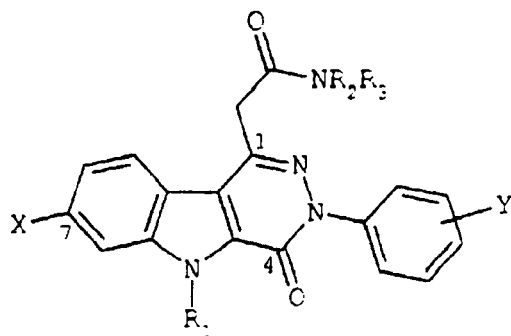
P0201280

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

1808

A2

Bejelentő: ~~SANOFI-SYNTHELABO~~



(I)