

### Область техники, к которой относится изобретение

Это изобретение относится к этаноламидам жирных кислот, их гомологам и их аналогам, а также к их использованию в качестве фармакологически активных средств для борьбы с ожирением (для снижения степени ожирения), уменьшения потребления пищи и регулирования метаболизма липидов.

### Уровень техники

Ожирение является широко распространенным во всем мире нарушением здоровья, которое достигло угрожающего уровня в Соединенных Штатах, характерно для населения других развитых стран. Около 97 млн человек в Соединенных Штатах отличаются чрезмерным весом. Из них 40 млн человек считаются тучными. Тучность и чрезмерный вес сильно повышают риск многих заболеваний. Гипертония, диабет 2 типа, дислипидемия, коронарные заболевания сердца, инфаркта, болезни желчного пузыря, остеоартрит, приступы апноэ во сне и другие проблемы с органами дыхания, а также рак матки, молочной железы, простаты и прямой кишки связывают с повышенным весом. Для лиц с повышенным весом характерна повышенная смертность независимо от причины смерти. Согласно данным Национальных Институтов Здоровья причиной смерти для около 280000 человек, ежегодно умирающих взрослых людей в Соединенных Штатах, так или иначе становится тучность.

При повышенном весе или тучности весьма желательной является потеря веса. Снижение веса может помочь предотвратить многие из пагубных последствий, в частности, диабеты и сердечно-сосудистые заболевания (CVD). Снижение веса может также способствовать понижению давления крови как у гипертоников с повышенным весом, так и у лиц, не относящихся к гипертоникам, снижению уровня триглицеридов в сыворотке и увеличивает содержание благоприятной формы холестерина, содержащей липопротеины высокой плотности (HDL). Снижение веса также в целом влияет на снижение до некоторой степени уровня общего сывороточного холестерина и (LDL)-холестерина с липопротеинами низкой плотности. Снижение веса может также понижать содержание глюкозы в крови у тучных людей и людей с повышенным весом.

Несмотря на то, что потеря веса желательна, ее трудно достичь. Существует много методик регулирования веса и контроля степени ожирения и прибавки в весе. Однако, возвращение к первоначальному уровню веса все равно периодически происходит. Приблизительно 40% женщин и 24% мужчин активно пытаются сбросить вес в какой-то данный момент. Эти попытки включают низкокалорийные диеты и диеты с пониженным содержанием жира; интенсивные физические упражнения; терапию, меняющую поведение и направленную на снижение потребления пищи, фармакотерапия, хирургическое вмешательство и их сочетания.

Фармакопия, направленная на снижение веса, весьма скудна. Такие лекарства как сибутрамин, дексфенфлурамин, орлистат, фенилпропаноламин, фентерамин или фенфлурамин могут способствовать снижению веса у тучных людей, если применяются в течение продолжительного времени. Вообще, однако, о безопасности длительного применения фармако-терапевтических снижающих вес средств еще не все известно. Например, как было недавно установлено, фенфлурамин и дексфенфлурамин вызывают заболевание клапанов сердца, и поэтому они были изъяты из свободной продажи. В связи с неразработанной фармакопией и широкой распространенностью среди населения ожирения и повышенного веса существует необходимость в новых фармацевтических способах и композициях для того, чтобы стимулировать потерю веса и поддерживать ее.

Этаноламиды жирных кислот (FAE) - это необычные компоненты животных и растительных липидов, и их концентрации в нестимулированных клетках, как правило, низкие (Bachur et al., J. Biol. Chem., 240:1019 - 1024 (1965); Schmid et al., Chem. Phys. Lipids, 80:133-142 (1996); Chapman, K.D., Chem. Phys. Lipids, 108:221-229 (2000)). Однако, биосинтез FAE может быть усилен в ответ на целый ряд физиологических и патологических стимулов, включая действие грибковых патогенов на клетки табака (Chapman et al., Plant Physiol., 116: 1163-1168 (1998)), активацию рецепторов нейротрансмиттеров в нейронах мозга крысы (Di Marzo et al., Nature, 372: 686-691 (1994); Giuffrida et al., Nat. Neurosci., 2: 358-363 (1999)) и влияние метаболических стрессов на эпидермальные клетки мыши (Berdyshev et al., Biochem. J., 346: 369-374 (2000)). Полагают, что механизм, лежащий в основе стимулзависимого биосинтеза FAE в тканях млекопитающих, включает две связанные между собой биохимические реакции: расщепление мембранного фосфолипида, N-ацилфосфатидилэтанолamina (NAPE), катализируемое неизвестной фосфолипазой D; и синтез NAPE, катализируемый ионом кальция и регулируемый цикло-AMP N-ацилтрансферазой (NAT) (Di Marzo et al., Nature, 372: 686-691 (1994); Cadas et al., J. NeuroSci., 6: 3934-3942 (1996); Cadas et al., H., J. Neurosci., 17: 1226-1242 (1997)).

Тот факт, что и растительные, и животные клетки выделяют FAE в зависимости от стимулов, дает возможность предположить, что эти соединения могут играть важные роли в передаче сигнала от клетки к клетке. Подтверждением этой идеи служит открытие, что полиненасыщенный FAE, анандамид (арахидонилэтаноламид) представляет собой эндогенный лиганд для каннабиноидных рецепторов (Devane et al., Science, 258 : 1946-1949 (1992))-G-протеин-связанные рецепторы, экспрессируемые в нейронах и иммунных клетках, которые распознают компонент марихуаны  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол ( $\Delta^9$ -THC) (для ознакомления - см. ссылку (Pertwee, R.G., Exp. Opin. Invest. Drugs, 9 : 1553-1571 (2000))).

Два наблюдения свидетельствуют о маловероятности того, что другие FAE также принимают уча-

ствие в нейротрансмиссии каннабиноидов. Семейство FAE охватывает наибольшую часть насыщенных и мононенасыщенных ее представителей, таких как например, пальмитилэтаноламид и олеилэтаноламид, которые существенно не взаимодействуют с каннабиноидными рецепторами (Devane et al., Science, 258 : 1946 -1949 (1992)); Griffin et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 292 : 886-894 (2000)). Во-вторых, когда фармакологические свойства FAE изучили детально, было установлено, что в случае с пальмитилэтаноламидом эти свойства отличаются от свойств  $\Delta^9$ -THC и не зависят от активации подвидов известных каннабиноидных рецепторов (Calignano et al., Nature, 394 : 277-281 (1998)). Таким образом, биологическая значимость FAE остается четко не обозначенной.

Олеилэтаноламид (ОЕА) является природным аналогом эндогенного каннабиноидного анандамида. Подобно анандамиду, ОЕА вырабатывается клетками в ответ на получаемые стимулы и быстро удаляется из организма путем энзиматического гидролиза, при этом предполагается его роль в передаче сигнала между клетками. Однако, в отличие от анандамида, ОЕА не активирует каннабиноидные рецепторы и его биологические функции были прежде практически неизвестны.

Существует необходимость изыскания дополнительных способов и агентов для лечения ожирения, снижения веса, а также сохранения потери веса. Настоящее изобретение соответствует этой потребности, предлагая новые способы и фармацевтические композиции, имеющие отношение к неожиданному открытию авторов, что олеилэтаноламид (ОЕА) и другие производные этаноламида жирных кислот (например, пальмитилэтаноламид, эландилэтаноламид) могут уменьшить аппетит, прием пищи, вес и степень ожирения или изменить метаболизм жиров.

### Сущность изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает соединения, композиции и способы для снижения степени ожирения, лечения или профилактики ожирения и чрезмерного веса (тучности) у млекопитающих, а также связанных с ними заболеваний. С одной стороны, изобретение обеспечивает способы снижения степени ожирения или снижения веса или массы, лечения или профилактики ожирения или тучности, а также снижения потребления пищи путем введения фармацевтических композиций, включающих алканоламид жирной кислоты (его) гомолог или аналог в количестве, эффективном для снижения массы жира в организме, массы тела или профилактики увеличения массы жира или массы тела. С другой стороны, изобретение раскрывает этаноламиды жирных кислот, их гомологи и аналоги, а также фармацевтические композиции на их основе и способы лечения.

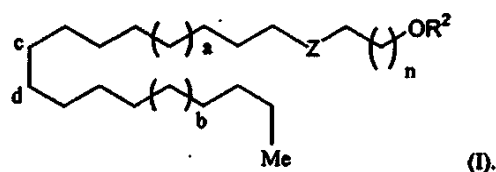
В других вариантах изобретения остаток жирной кислоты алканоламидного или этаноламидного производного жирной кислоты или их гомолога или аналога может быть насыщенным или ненасыщенным, и если он ненасыщенный, то может быть мононенасыщенным или полиненасыщенным.

В некоторых вариантах остаток жирной кислоты в алканоламидном производном жирной кислоты, гомологе или аналоге представляет собой остаток жирной кислоты, выбранной из группы, состоящей из олеиновой кислоты, пальмитиновой кислоты, эладиновой кислоты, пальмитолеиновой кислоты, линолевой кислоты, альфа-линоленовой кислоты и гамма-линоленовой кислоты. В некоторых вариантах остатки жирной кислоты содержат от двенадцати до 20 атомов углерода.

Другие варианты воплощения обеспечивают варьирование гидроксилалкиламидного остатка амида производного жирной кислоты, его гомолога или аналога. Эти варианты включают введение группы замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_3$ )алкила в гидроксильную группу алканоламидного или этаноламидного остатка так, чтобы образовался соответствующий низший алкильный эфир. В другом варианте гидроксигруппу алканоламидного или этаноламидного остатка связывают с карбоксильной группой - незамещенной или замещенной  $C_2$ - $C_6$ -алкилом карбоновой кислоты с образованием соответствующего эфира этаноламида жирной кислоты. Такие варианты включают алканоламид жирной кислоты и этаноламиды жирной кислоты, связанные эфирной связью с органическими карбоновыми кислотами, например, уксусной кислотой, пропионовой кислотой и бутеновой кислотой. В одном варианте алканоламид жирной кислоты представляет собой олеилалканоламид. Еще в одном варианте алканоламид жирной кислоты представляет собой олеилэтаноламид.

Еще в одном варианте этаноламид жирной кислоты, гомолог или аналог включает также замещенную или незамещенную низшую алкильную ( $C_1$ - $C_3$ )группу, ковалентно связанную с атомом азота этаноламида жирной кислоты.

С другой стороны, изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, включающую фармацевтически приемлемый носитель и соединение или его фармацевтически приемлемую соль формулы



В этой формуле  $n$  равно от 0 до 5, а сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4.  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из  $-C(O)N-(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $Nr^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  независимо

выбраны из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$ алкила, замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_6$ )ацила, гомоалкила или арила. Вплоть до четырех атомов водорода в каждой или в обеих частях, относящихся к жирной кислоте и этаноламидной части соединения могут также быть замещены метилом или двойной связью. Кроме того, связь в молекуле между атомами углерода в положениях с и d может быть ненасыщенной или насыщенной. В некоторых вариантах этаноламид жирной кислоты вышеприведенной формулы представляет собой вещество природного происхождения.

Согласно другим аспектам изобретения, для снижения веса в способах и композициях использованы этаноламидные и алканолламидные производные жирных кислот, их гомологи и аналоги, причем указанные соединения, гомологи и аналоги вызывают снижение веса при испытании их на животных (например, крысах, мышах, кроликах, хомяках, морских свинках).

Согласно другим аспектам изобретения касается и способов применения арилтиазолидиндионов и производных арилоксиуксусной кислоты с целью снижения массы жира, снижения веса и уменьшения аппетита.

Другие аспекты изобретения направлены на способы применения и введения пациентам соединений и композиций для снижения веса или уменьшения аппетита или снижения потребления пищи или путем вызывания гипофагии у млекопитающих (например, людей, кошек, собак). Композиции можно вводить пациенту различными путями, в том числе орально.

### Краткое описание фигур

Фиг. 1. Голодание повышает уровни циркулирующего олеилэтаноламида у крыс: (a) продолжительность периода времени, в течение которого наблюдали за тем, как сказывается лишение пищи на уровне содержания в плазме олеилэтаноламида (олеилэтаноламид, ОЕА); (b) влияние лишения воды (18 ч) на уровень олеилэтаноламида в плазме; (c) влияние лишения пищи (18 ч) на уровень олеилэтаноламида в цереброспинальной жидкости (CSF); (d) продолжительность времени, в течение которого наблюдали за тем, как сказывается лишение пищи на уровне анандамида (арахидонилэтаноламид АЕА) в плазме; (e) влияние лишения воды (18 ч) на уровень анандамида в плазме; (f) влияние лишения пищи (18 ч) на уровень анандамида в CSF. Результаты выражены в виде среднего значения  $\pm$  s.e.m. звездочка,  $P < 0,05$ ; две звездочки,  $P < 0,01$ ,  $n = 10$  (в группе).

Фиг. 2. Жировая ткань является первичным источником циркулирующего олеилэтаноламида: вызванные голоданием изменения активностей N-ацилтрансферазы (NAT) и гидролазы амидов жирных кислот (FAAH) в различных тканях крысы, (a) жир; (b) головной мозг; (c) печень; (d) желудок; (e) тонкая кишка. Свободные столбики, обычно питающиеся животные, зачерненные столбики, животные, голодающие 18 ч. Активности указаны в пмоль/мг протеина/мин. Звездочка,  $P < 0,05$ ,  $n = 3$ .

Фиг. 3. Жировая ткань является первичным источником циркулирующего олеилэтаноламида: вызванные голоданием, изменения содержания NAPE и олеилэтаноламида (олеилэтаноламид, ОЕА) в тканях жира и печени, (a) структуры предшественников олеилэтаноламида алк-1-пальмитоенил-2-арахидонил-sn-глицерофосфоэтаноламин-N-олеила (левая сторона, NAPE1) и алк-1-пальмитил-2-арахидонил-sn-глицерофосфоэтаноламин-N-олеила (правая панель, NAPE2); наглядные записи данных ВЭЖХ/МС для отдельных ионных характеристик NAPE1 (левая сторона,  $m/z = 987$ , депротонированная молекула,  $[M-H]^-$ ) и NAPE2 (правая сторона,  $m/z = 1003$ ,  $[M-H]^-$ ) для свободно питающихся крыс (вверху) и 18 ч голодающих крыс (внизу); (b) лишение пищи (18 ч) повышает содержание разных видов NAPE в жире и уменьшает в печени. Все образцы NAPE, которые можно было идентифицировать, были количественно определены, включая предшественники NAPE1 и NAPE2 и РЕА предшественник NAPE3; (d) лишение еды (18 ч) повышает содержание олеилэтаноламида в жире и печени. Пустые столбики, свободно питающиеся животные; зачерненные столбики, голодающие 18 ч животные. Звездочка,  $P < 0,05$ , тест Student's  $t$ ;  $n = 3$ .

Фиг. 4. Олеилэтаноламид/пранамид селективно подавляют прием пищи: (a) зависящие от дозы эффекты олеилэтаноламида (олеилэтаноламид/ОЕА/пранамид) (нач. точка, пустые квадратики), элаидилэтаноламид (пустые кружки), РЕА (треугольники), олеиновая кислота (зачерненные квадраты) и анандамид (зачерненные кружки) на прием пищи крысами, голодавшими 24 ч. Один разбавитель (70% DMSO в физрастворе, 1 мл/кг, нач. точка) не показал существенного влияния на сиюминутный прием пищи; (b) продолжительность проявления гипофагии, обусловленной олеилэтаноламидом (20 мг/кг нач. точка) (квадраты) или носителем (лепешечки) на прием пищи, (c) влияние носителя (V), хлорида лития ( $LiCl$ , 0,4M 7,5 мл/кг) или олеилэтаноламида (20 мг/кг) в исследовании отвращения к пище. Пустые столбики, прием воды; зачерненные столбики, прием сахара. Влияние разбавителя (V) или олеилэтаноламида (5 или 20 мг на кг) на: (d) прием воды (выражаемый в мл, через 4 ч); (e) температура тела; (f) анализ обезболивания при прыжках в горячую тарелку; (g) часть времени, проведенная свободно в поднимающемся лабиринте при определении тревожности; (h) количество пересечений в открытом пространстве при определении активности, (c) количество реакций на еду. Звездочка,  $P < 0,05$ ,  $n = 8-12$  (на группу).

Фиг. 5. Влияние постоянного введения олеилэтаноламида на прием пищи и вес тела: (a) влияние олеилэтаноламида (олеилэтаноламид, ОЕА) (5 мг/кг, нач. точка раз в день) (пустые столбики) или разба-

вителя (5% Твин 80/5% пропиленгликоля в стерильном физрастворе; зачерненные столбики) на кумулятивный прием пищи; (b) продолжительность наблюдения за воздействием олеилэтаноламида (треугольники) или разбавителя (квадраты) на изменение веса тела; (c) влияние олеилэтаноламида или разбавителя на общее изменение веса тела; (d) влияние олеилэтаноламида (5 мг/кг) или разбавителя на общее потребление воды. Звездочка;  $P < 0,05$ ; две звездочки,  $P < 0,01$ ,  $n = 10$  (на группу).

Фиг. 6. Роль периферических чувствительных волокон в олеилэтаноламид-индуцированной анорексии. Эффекты разбавителя (V), олеилэтаноламида (олеилэтаноламид/пранамид/OEA (5 мг/кг, нач. точка), ССК-8 (10 мкг/кг) и СР-93129 (1 мг/кг), агониста активного 5-HT<sub>1B</sub> рецептора, на прием пищи у контрольных крыс и крыс, обработанных капсаицином. Потребление воды у (b) контрольных крыс и (d) капсаицин-обработанных крыс.

Фиг. 7. Олеилэтаноламид/пранамид увеличивают c-fos экспрессию мРНК в отдельных зонах головного мозга, связанную с энергетическим гомеостазом и поведением в отношении питания: (a) псевдоцветные изображения пленочной ауторадиографии демонстрируют, что олеилэтаноламид (правая сторона) увеличивает неожиданное и селективное повышение выявления c-fos мРНК в паравентрикулярных (PVN) и супраоптических (SO) гипоталамусных центрах, что оценивали *in situ* гибридизацией. Характерное сечение из крысы, которой введен разбавитель, показано слева. Определенные плотности обозначены цветом: голубой < зеленый < желтый < красный. (b) количественное определение c-fos мРНК, замеченной в предлагаемых участках головного мозга [PVN, SO, аркоподобное (Arc), слой пириформной коры головного мозга (pir), вентролатеральный таламус (VL) и S1 задняя оконечность коры головного мозга (S1FL)] крыс, обработанных разбавителем, олеилэтаноламидом и олеиновой кислотой; (c) пленочные ауторадиограммы показали повышенную экспрессию <sup>35</sup>S c-fos мРНК в ядрах солитарного тракта, где NST у крыс, получивших олеилэтаноламид; кроме того, c-fos к РНК, замеченная в NST (показано красным), была идентифицирована по ее локализации относительно смежных эфферентных центров (гипоглоссального и дорсального двигательных центров вагуса), которые экспрессируют холинацетилтрансферазу (ChAT) мРНК (показано пурпурным); (d) олеилэтаноламид увеличивает экспрессию c-fos мРНК в NST, но не в гипоглоссальном центре (HgN). Две звездочки,  $P < 0,0001$ ,  $n = 5$  (на группу).

Фиг. 8. Воздействие OEA, олеиновой кислоты (OA), AEA, PEA и метил-OEA на окисление жирных кислот в скелетной мышце.

### Подробное описание изобретения

Это изобретение касается неожиданного установления того факта, что OEA и другие алканоламиды жирных кислот оказывают влияние на уменьшение потребления пищи, снижение веса и снижение степени ожирения и регулируют окисление жирных кислот. Неожиданно было обнаружено, что олеилэтаноламид (OEA), липид природного происхождения с прежде неизвестным биологическим свойством в отношении млекопитающих является мощным средством для снижения массы жира и контроля за весом при введении его испытуемым животным.

В заявке на US патент 60/279542, поданной 27 марта 2001 г. тем же заявителем и указанной здесь в качестве ссылки во всем объеме, описываются OEA и OEA - подобные соединения как средства, которые могут уменьшать массу жира и снижать аппетит у млекопитающих.

После того, как был описан предшествующий (как прототип) OEA, было установлено, что и другие алканоламиды жирных кислот и их гомологи проявляют это свойство.

OEA может служить образцом (моделью) при разработке или изыскании других уменьшающих массу жира соединений типа алканоламидных производных жирных кислот с целью лечения ожирения, вызывающих снижение веса, уменьшение аппетита или потребления пищи. Как описано ниже, данное изобретение обеспечивает и другие подобные соединения.

Неожиданный факт, что введение OEA влияет на уменьшение аппетита, потребление пищи и снижение веса, может использоваться для отнесения других производных этаноламидов жирных кислот, гомологов и аналогов к средствам, регулирующим вес и аппетит. Данное изобретение раскрывает такие средства.

### Определения

Используемые здесь обозначения подразумевают обычно применяемые в области химии и биологии значения.

Когда замещающие структурные фрагменты обозначены с помощью обычных применяемых химических формул, написанных слева направо, это в равной мере подразумевает и химически идентичные аналоги-заместители, которые будут получаться путем написания структуры справа налево, например, -CH<sub>2</sub>O- подразумевается также и «перевернутый» -OCH<sub>2</sub>-.

Под термином «композиция» (в смысле «фармацевтическая композиция») подразумевается продукт, включающий активный ингредиент(ы) и инертный ингредиент(ы), выполняющий роль носителя, а также любой продукт, который получен, непосредственно или косвенно путем сочетания, комплексобразования или агрегирования любых двух или более вышеуказанных ингредиентов или диссоциацией одного или нескольких указанных ингредиентов или путем взаимодействий или иных реакций других типов одного или нескольких указанных ингредиентов. Соответственно фармацевтические композиции

настоящего изобретения включают любую композицию, полученную смешиванием соединения данного изобретения и фармацевтически пригодного носителя. Термин «фармацевтическая композиция» говорит о том, что композиция пригодна для фармацевтического использования пациентом, включая животных и людей. Фармацевтическая композиция, как правило, включает эффективное количество активного ингредиента и фармацевтически приемлемый носитель.

Соединения настоящего изобретения могут содержать один или несколько асимметрических центров и могут вследствие этого представлять собой рацематы или рацемические смеси, простые энантиомеры, смеси диастереоизомеров и отдельные диастереоизомеры. Имеется в виду, что настоящее изобретение охватывает все такие изомерные формы заявленных соединений.

Некоторые из этих соединений, описываемых здесь, содержат олефиновые двойные связи и, если не указано иное, то подразумевается, что они могут быть и в виде E и Z геометрических изомеров.

Некоторые из соединений, описываемых здесь, могут существовать в формах с различными точками присоединения водорода, называемых таутомерными. Примером может служить кетон и его енольная форма, которые называют кетоенольные таутомеры.

Отдельные конкретные таутомеры, так же как и их смесь, относятся к заявляемым здесь соединениям.

Соединения данного изобретения включают диастереоизомеры пар энантиомеров. Диастереоизомеры могут быть получены, например, фракционной кристаллизацией из подходящего растворителя, например, метанола или этилацетата или их смеси. Пара энантиомеров, полученных таким образом, может быть разделена на индивидуальные стереоизомеры обычными путями, например, при использовании оптически активной кислоты в качестве перерастворяющего агента.

Или же любой энантиомер заявленного соединения может быть получен стереоспецифическим синтезом с использованием оптически чистых исходных веществ или реагентов известной конфигурации.

Термин «гетероатом» в используемом здесь смысле означает кислород (O), азот (N), серу (S) и кремний (Si).

«Алканол» в используемом здесь смысле означает насыщенную или ненасыщенную, замещенную или незамещенную, разветвленную или неразветвленную алкильную группу, содержащую гидроксильный заместитель или заместитель, который можно получить на основе гидроксильного остатка, например, группу простого эфира или группу сложного эфира. Алканол предпочтительно также замещают азот-, серо- или водороднесущим заместителем, который включается в связь Z (формула I), между «жирной кислотой» и алканолом.

В используемом здесь смысле «жирная кислота» означает насыщенную или ненасыщенную, замещенную или незамещенную алкильную группу с разветвленной или прямой цепью, имеющую карбоксильный заместитель. Предпочтительными жирными кислотами являются  $C_4$ - $C_{22}$  кислоты. «Жирная кислота» относится к тем соединениям, у которых карбоксильный заместитель замещен  $-CH_2$ -остатком.

Термин «алкил» сам по себе или как часть другого заместителя означает, если иное не оговорено, углеводородный радикал с прямой или разветвленной цепочкой или циклический или их комбинацию, который может быть полностью насыщенным, моно- или полиненасыщенным и может включать ди- и мультивалентные радикалы, и который имеет обозначенное число атомов углерода (т.к.  $C_1$ - $C_{10}$  означает от одного до 10 атомов углерода). Примеры насыщенных углеводородных радикалов включают, без ограничения, группы, такие как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, т-бутил, изобутил, вторбутил, циклогексил, (циклогексил)метил, циклопропилметил, их гомологи и изомеры, например, н-пентил, н-гексил, н-гептил, н-октил и другие. Ненасыщенная алкильная группа может содержать одну или несколько двойных или тройных связей. Примеры ненасыщенных алкильных групп включают, без ограничения ими: винил, 2-пропенил, кротил, 2-изопентенил, 2-(бутадиенил), 2,4-пентадиенил, 3-(1,4-пентадиенил), этинил, 1- и 3-пропинил, 3-бутинил и их более высокие гомологи и изомеры. Подразумевается, что термин «алкил», если не указано иное, охватывает и те алкильные производные, которые более детально будут охарактеризованы ниже, как например «гетероалкил». Алкильные группы, которые включают только углеводородные фрагменты, называют «гомоалкильными».

Термин «алкилен» сам по себе или как часть другого заместителя означает двухвалентный радикал, полученный из алкана, как например (но не только)  $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ , а также включает те группы, которые описаны ниже как «гетероалкилен». Как правило, алкильная (или алкиленовая группа) включает от 1 до 24 атомов углерода, группы с 10 или меньшим количеством атомов углерода предпочтительны в данном изобретении. «Низший алкил» или «низший алкилен» представляет собой алкил или алкилен с более короткой цепочкой, как правило, с восемью атомами углерода или менее.

Термин «алкокси», «алкиламино» и «алкилтио» (или тиалкокси) используются в их общеизвестном смысле и относятся к алкильным группам, присоединенным к остатку молекулы через атом кислорода, аминогруппу или атом серы соответственно.

Термин «гетероалкил» сам по себе или в сочетании с другим термином означает, если иное не оговорено, стабильный углеводородный радикал с прямой или разветвленной цепью или циклический углеводородный радикал или их сочетания, состоящие из определенного числа атомов углерода и по меньшей мере одного гетероатома, выбранного из группы, состоящей из O, N, Si и S, в которых атомы азота и

серы необязательно могут быть окисленными, а азотный гетероатом необязательно может быть кватернизирован. Гетероатом(ы) O, N, S и Si могут занимать любое положение внутри гетероалкильной группы или в положении, в котором алкильная группа присоединена к остатку молекулы. Примерами могут быть (без ограничения ими):  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ , и  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ .

До двух гетероатомов может быть соединено последовательно, например:  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$  и  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ . Аналогично термин «гетероалкилен» сам по себе или как часть другого заместителя означает двухвалентный радикал, полученный на основе гетероалкила, например (но не только):  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  и  $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ . В гетероалкиленовых группах гетероатомы могут также присутствовать на одном или обоих концах цепочки (например, алкиленокси, алкилендиокси, алкиленамино, алкилендиамино и т.п.). Далее, для алкиленовых и гетероалкиленовых фрагментов, играющих связывающую роль, при написании структуры этих связывающих фрагментов не учитывается ориентация этого связывающего фрагмента. Например, структурная формула  $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$  - представляет собой как  $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ , так и  $-\text{R}'\text{C}(\text{O})_2-$ .

Термин «циклоалкил» и «гетероциклоалкил», сами по себе или в сочетании с другими терминами, означают, если не указано иное, циклические аналоги «алкила» и «гетероалкила» соответственно. Кроме того, в гетероциклоалкиле гетероатом может занимать положение, с помощью которого гетероцикл присоединен к остатку молекулы. Примерами циклоалкилов могут быть (но не только): циклопентил, циклогексил, 1-циклогексенил, 3-циклогексенил, циклопентил и т.п. Примерами гетероциклоалкилов могут быть (но не только): 1-(1,2,5,6-тетрагидропиридил), 1-пиперидинил, 2-пиперидинил, 3-пиперидинил, 4-морфолинил, 3-морфолинил, тетрагидрофуран-2-ил, тетрагидрофуран-3-ил, тетрагидротиаен-2-ил, тетрагидротиаен-3-ил, 1-пиперазинил, 2-пиперазинил и т.п.

Термины «галo» или «галоген», сами по себе или как часть другого заместителя, означают, если иное не оговорено, фтор, хлор, бром или йод. К тому же подразумевается, что такой термин как «галoалкил» означает моногалoалкил и полигалoалкил. Например подразумевается, что термин «галo-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-алкил» включает (но не только): трифторметил, 2,2,2-трифторэтил, 4-хлорбутил, 3-бромпропил и т.п.

Термин «арил» означает, если иное не оговорено, полиненасыщенный ароматический углеводородный заместитель, который может представлять собой циклическую структуру (кольцо) или несколько циклических структур (предпочтительно от 1 до 3 колец), конденсированных друг с другом или соединенных ковалентно. Термин «гетероарил» относится к арильным группам (или кольцам), которые включают от одного до четырех гетероатомов, выбранных из N, O и S, где атомы кислорода и серы необязательно окислены, а атом(ы) азота необязательно кватернизированы. Гетероарильная группа может быть присоединена к остатку молекулы через гетероатом. Неограничивающие примеры арильных и гетероарильных групп включают фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, 4-бифенил, 1-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил, 3-пиразолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, пиразинил, 2-оксазолил, 4-оксазолил, 2-фенил-4-оксазолил, 5-оксазолил, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил, 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, 2-фурил, 3-фурил, 2-тиенил, 3-тиенил, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 2-пиримидил, 4-пиримидил, 5-бензотиазолил, пуринил, 2-бензимидазолил, 5-индолил, 1-изохинолил, 5-изохинолил, 2-хиноксалинил, 5-хиноксалинил, 3-хинолил и 6-хинолил. Заместители для каждой из вышеперечисленных арильных и гетероарильных циклических структур выбраны из группы подходящих заместителей, описанной ниже.

Для краткости термин «арил» подразумевает и арильные и гетероарильные циклы, как указано выше. Так что подразумевается, что термин «арилалкил» означает те радикалы, в которых арильная группа присоединена к алкильной группе (например, бензил, фенилэтил, пиридилметил и т.п.), включая такие алкильные группы, где атом углерода (например, метиленовая группа) замещен, например, атомом кислорода (например, феноксиметил, 2-пиридилоксиметил, 3-(1-нафтилокси)пропил и т.п.).

Подразумевается, что вышеперечисленные термины (например, «алкил», «гетероалкил», «арил» и «гетероарил») означают как замещенные, так и незамещенные формы указанных радикалов. Предпочтительные заместители для каждого типа радикалов показаны ниже.

Заместителями для алкильных и гетероалкильных радикалов (включая те группы, которые часто именуются как алкилен, алкенил, гетероалкилен, гетероалкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, циклоалкенил и гетероциклоалкенил) могут быть один или несколько из множества групп, выбранных из (но не только):  $-\text{OR}'$ ,  $=\text{O}$ ,  $=\text{NR}'$ ,  $=\text{N}-\text{OR}'$ ,  $-\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{SR}'$ , -галоген,  $-\text{SiR}'\text{R}''\text{R}'''$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}'$ ,  $-\text{CONR}'\text{R}''$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ ,  $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ ,  $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}'''$ ,  $-\text{NR}-\text{C}(\text{NR}'\text{R}''\text{R}''')=\text{NR}'''$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{NRSO}_2\text{R}'$ ,  $-\text{CN}$  и  $-\text{NO}_2$  в количестве от нуля до  $(2m'+1)$ , где  $m'$  - общее число атомов углерода в таком радикале.  $\text{R}'$ ,  $\text{R}''$ ,  $\text{R}'''$  и  $\text{R}''''$  каждый независимо предпочтительно представляет собой водород, замещенные или незамещенные гетероалкильные группы, замещенные или незамещенные арильные группы, например, арил, замещенный 1-3 атомами галогена, замещенный или незамещенные алкильные, алкокси или тиоалкоксигруппы или арилалкильные группы.

Если в заявленном соединении несколько R групп, то каждая R группа выбирается так же независимо, как и каждая из  $\text{R}'$ ,  $\text{R}''$ ,  $\text{R}'''$  и  $\text{R}''''$  групп, в случае когда их имеется несколько (значений радикалов). Когда  $\text{R}'$  и  $\text{R}''$  присоединены к одному и тому же атому азота, они могут образовывать с атомом азота 5-,

6- или 7-членное кольцо. Например, подразумевается, что  $-NR'R''$  включает (но не только) 1-пирролидинил и 4-морфолинил. Исходя из вышеприведенного обзора заместителей, специалисту в данной области будет понятно, что термин «алкил» означает группы, включающие атомы углерода, связанные с группами, отличными от водородных групп, например, галоалкил (например,  $-CF_3$  и  $-CH_2CF_3$ ) и ацил (например,  $-C(O)CH_3$ ,  $-C(O)CF_3$ ,  $-C(O)CH_2OCH_3$  и т.п.).

Аналогично тем заместителям, что описаны применительно к алкильным радикалам, заместители для арильных и гетероарильных групп варьируются и выбраны из, к примеру: галоген  $-OR'$ ,  $=O$ ,  $=NR'$ ,  $=N-OR'$ ,  $-NR'R''$ ,  $-SR'$ , -галоген,  $-SiR'R''R'''$ ,  $-OC(O)R'$ ,  $-C(O)R'$ ,  $-CO_2R'$ ,  $-CONR'R''$ ,  $-OC(O)NR'R''$ ,  $-NR''C(O)R'$ ,  $-NR''C(O)NR''R'''$ ,  $-NR''C(O)_2R'$ ,  $-NR-C(NR'R''R''')=NR''$ ,  $-NR-C(NR'R'')=NR''$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-S(O)_2R'$ ,  $-S(O)_2NR'R''$ ,  $-NRSO_2R'$ ,  $-CN$  and  $-NO_2$ ,  $-R'$ ,  $-N_3$ ,  $-CH(Ph)_2$ , фтор( $C_1$ - $C_4$ )алкокси и фтор( $C_1$ - $C_4$ )алкил в количестве, варьирующем от нуля до общего числа свободных валентностей в ароматической циклической системе, и где  $R'$ ,  $R''$ ,  $R'''$  и  $R''''$  каждый независимо предпочтительно выбирается из водорода, ( $C_1$ - $C_8$ )алкила и гетероалкила, незамещенного арила и гетероарила, (незамещенный арил)-( $C_1$ - $C_4$ )алкила и (незамещенный арил)окси-( $C_1$ - $C_4$ )алкила. Если в заявленном соединении несколько  $R$  групп, то каждая из этих  $R$  групп выбирается так же независимо, как и каждая из  $R'$ ,  $R''$ ,  $R'''$  и  $R''''$  групп в случае, если их несколько.

Термин «снижение степени ожирения» означает потерю организмом части массы жира организма.

Формула Индекса Массы Тела (BMI) представляет собой  $[Вес \text{ в фунтах} \div Рост \text{ в дюймах} \div Рост \text{ в дюймах}] \times 703$ . Показатели BMI для взрослых имеют некое фиксированное значение безотносительно возраста или пола, полученные на основе следующих положений: взрослые люди с повышенным весом имеют BMI от 25,0 до 29,9. Тучные взрослые люди имеют индекс BMI 30,0 и выше. Люди с пониженным весом имеют индекс BMI ниже 18,5. Интервал для людей с нормальным весом соответствует показателям BMI между 18,5 и 25. Показатели BMI для детей младше 16 лет определяют с процентилями: чрезмерный вес определяется по показателю BMI для этой взрослой группы, если он равен или выше 85<sup>ому</sup> процентилю, а тучность определяют по BMI данной возрастной группы  $\geq 95$ -ому процентилю. Нормальным считается вес ребенка, если его показатель BMI выше 5-ого процентиля и ниже 85-ого процентиля.

Термин «окисление жирной кислоты» относится к превращению жирных кислот (например, олеата) в кетоны.

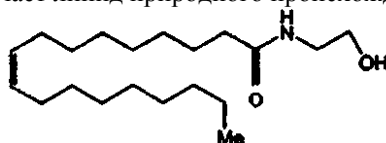
Термин «гепатоциты» означает клетки, полученные естественным путем из ткани печени. Гепатоциты могут представлять собой свежeweделенные клетки печени или полученные в виде клеточных линий.

Термин «модулировать» означает вызывать некое изменение, включая увеличение или уменьшение (например, модулятор окисления жирных кислот повышает или понижает скорость окисления жирных кислот).

Термин «клетки мышцы» означает клетки, полученные из клеток предшественников мышечной ткани. Клетки мышечной ткани могут быть как свежeweделенными из этой ткани, так и получены в виде клеточных линий.

Термин «тучный, полный» означает превышение веса тела на 20% по сравнению с идеальным весом, вычисленным по индексу массы тела.

Олеилэтаноламид (OEA) означает липид природного происхождения следующей структуры:



В приведенных здесь формулах «Me» означает метильную группу.

Термин «потеря веса» означает потерю части общего веса тела.

Термин «фармацевтически пригодный носитель» охватывает все стандартные фармацевтические носители, буферы и наполнители, включая фосфатно-солевой буферный раствор, воду и эмульсии (такие как масло-в-воде и вода-в-масле), а также различные типы увлажняющих агентов и/или адъювантов. Подходящие фармацевтические носители и их составы описаны в REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (Mack Publishing Co., Easton, 19th ed. 1955). Предпочтительные фармацевтические носители подбираются в зависимости от предполагаемого типа введения активного агента. Типичные способы введения описаны ниже.

Термин «эффективное количество» подразумевает единичную дозу, достаточную для достижения желаемого эффекта. Желаемый эффект может заключаться в субъективном или объективном улучшении у получающего дозу. Субъективное улучшение может заключаться в снижении аппетита или стремления к еде. Объективным улучшением может быть понижение веса, снижение массы жира или уменьшение потребления еды или незаинтересованность в еде.

«Профилактика» - это процедуры, назначаемые лицу, у которого нет признаков заболевания или есть только самые ранние его признаки, причем эти процедуры назначают с целью уменьшения риска развития патологического состояния, обусловленного повышенным весом тела или ожирением. Соединения настоящего изобретения могут назначаться для профилактики для предотвращения нежелательной

прибавки в весе.

«Терапевтическое лечение» - это лечение, назначаемое лицу, у которого есть признаки патологии, причем лечение назначается с целью сведения к минимуму или устранения этих патологических признаков.

Термин «контролировать вес» означает снижение массы тела или уменьшение прибавления веса в течение периода времени.

Способы, соединения и композиции настоящего изобретения полезны в целом для понижения или контроля массы жира и веса тела у млекопитающих. Например, способы, композиции и соединения настоящего изобретения полезны для снижения аппетита или индуцирования гипофагии у млекопитающих. Способы, соединения и композиции полезны также для предотвращения или лечения заболеваний, связанных с избыточным весом или ожирением, путем стимулирования потери жира и снижения веса тела.

Способы, композиции и соединения данного изобретения включают модуляторы липидного метаболизма и, конкретно - катаболизма жира и жирных кислот.

#### Соединения изобретения

Некоторые соединения данного изобретения могут иметь асимметрические атомы углерода (оптические центры) или двойные связи; в объем настоящего изобретения включаются рацематы, диастереоизомеры, геометрические изомеры и отдельно взятые изомеры. Такие соединения изобретения могут выделяться как диастереоизомерные пары энантиомеров, например, путем фракционной кристаллизации из подходящего растворителя, например, метанола или этилацетата или их смеси. Полученная таким образом пара энантиомеров может быть разделена на отдельные стереоизомеры обычным путем, например, в результате использования оптически активной кислоты как перерастворяющего агента.

Альтернативно любой энантиомер такого соединения, заявленного в изобретении, может быть получен стереоспецифическим синтезом с использованием оптически чистых исходных материалов известной конфигурации.

Соединения настоящего изобретения могут иметь отличные от природных показатели атомных изотопов одного или нескольких атомов. Например, эти соединения могут быть мечены с помощью изотопов, таких как тритий или углерод-14. Все вариации изотопов соединений данного изобретения, радиоактивны они или нет, подпадают под объем настоящего изобретения.

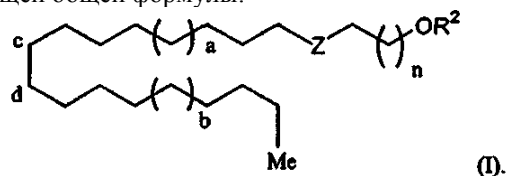
Отдельные соединения можно выделить в форме их фармацевтически приемлемых солей с кислотами, например солей, полученных на основе неорганических и органических кислот. Такие кислоты могут включать соляную, азотную, серную, фосфорную, муравьиную, уксусную, трифторуксусную, пропионовую, малеиновую, янтарную, малоновую кислоту и т.п. Кроме того, некоторые соединения с кислотной функцией могут быть получены в виде их неорганических солей, в которых противоион может быть выбран из натрия, калия, лития, кальция, магния и т.д., а также на основе органических оснований. Термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к солям, полученным на основе фармацевтически приемлемых нетоксичных оснований или кислот, включая неорганические основания или кислоты и органические основания или кислоты.

Изобретение также включает и пролекарства из заявленных соединений, которые при введении подвергаются химическому превращению в ходе метаболических процессов перед тем, как превратиться в активные фармакологические агенты. Вообще такие пролекарства будут производными заявленных соединений, которые можно легко превращать *in vivo* в функциональное соединение изобретения. Общепринятые методы отбора и приготовления подходящих пролекарственных производных описаны, например, в «Design of Prodrugs», ed. H.Bundgaard, Elsevier, 1985. Изобретение также охватывает активные метаболиты заявленных соединений.

#### А. Алканоламиды жирных кислот, их гомологи и аналоги

Соединения настоящего изобретения включают уменьшающие массу жира алканоламидные производные жирных кислот, включая этаноламидные производные жирных кислот, и их гомологи и некоторые аналоги алканоламидов жирных кислот. Такие соединения могут быть идентифицированы или терминологически определены по способности вызывать снижение аппетита, приема пищи и/или веса тела или жира при введении их опытным животным *in vivo*.

Целый ряд таких алканоламидов жирных кислот поэтому был рассмотрен. Заявляемые соединения включают соединения следующей общей формулы:

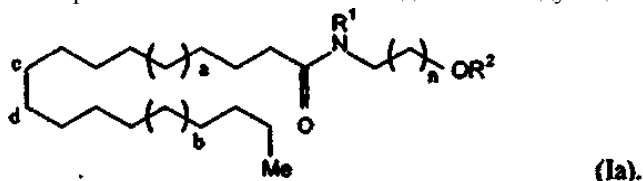


В этой формуле n равно от 0 до 5, а сумма a и b может быть равна от 0 до 4. Z представляет собой фрагмент, выбранный из  $-C(O)N(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ; O; N;  $R^0$  и S, где  $R^0$  и  $R^2$  независимо выбраны из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода, замещенного



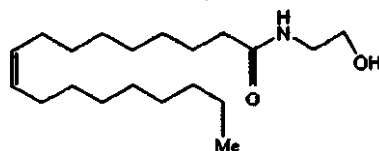
или незамещенного  $C_1$ - $C_6$ алкила, замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_6$ )ацила, гомоалкила и арила. До четырех атомов водорода либо в жирнокислотной части, либо в части алканоламина (например, этаноламина) соединения могут также быть замещены метилом или двойной связью. Кроме того, связь в молекуле между с и d может быть ненасыщенной или насыщенной. В некоторых вариантах этаноламид жирных кислот вышеприведенной формулы является соединением природного происхождения.

Соединения данного изобретения включают также соединения следующей формулы:



В одном варианте соединения формулы Ia имеют n, равное от 0 до 5, сумма a и b равна от 0 до 4, а радикалы  $R^1$  и  $R^2$  независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$ алкила, низшего замещенного или незамещенного ( $C_1$ - $C_6$ )ацила, гомоалкила и замещенного или незамещенного арила. В этом варианте до 4-х атомов водорода в жирнокислотной части и части алканоламина (например, этаноламина) соединений вышеприведенной формулы могут также быть замещены метилом или двойной связью. Кроме того, связь в молекуле между атомами углерода в положениях с и d может быть ненасыщенной или насыщенной. В тех вариантах, где есть ацильные группы, ацильные группы могут быть на основе пропионовой, уксусной или масляной кислот и могут быть присоединены через эфирную связь как  $R^2$  или амидной связью как  $R^1$ .

В другом варианте вышеописанные соединения включают, в частности, такие, где остаток жирной кислоты представляет собой остаток олеиновой кислоты, элаидиновой кислоты или пальмитиновой кислоты. Такие соединения включают олеилэтаноламид, элаидилэтаноламид и пальмитилэтаноламид.

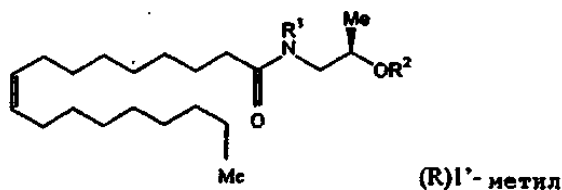


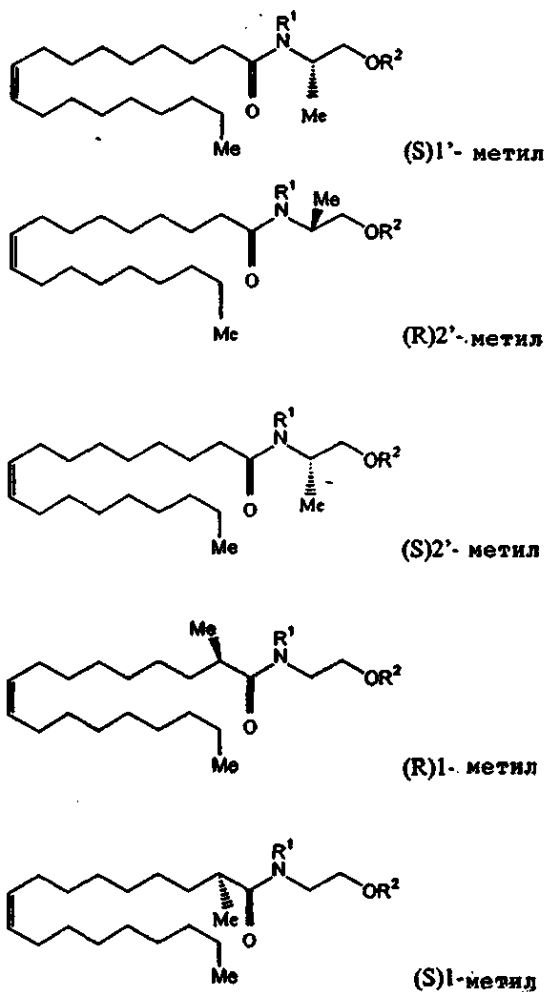
Олеилэтаноламид (Ia)

В другом варианте в соединениях формулы Ia n равно от 1 до 3, а сумма a и b равна от 1 до 3, радикалы  $R^1$  и  $R^2$  независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$ алкила и низшего замещенного или незамещенного ( $C_1$ - $C_6$ )ацила. В этом варианте до 4-х атомов водорода как жирнокислотной части, так и алканоламинной (например, от этаноламина) части соединений вышеприведенной формулы могут быть также замещены метилом или двойной связью. Кроме того, связь в молекуле между атомами углерода в положениях с и d может быть ненасыщенной или насыщенной.

Еще в одном варианте связь в молекуле между атомами углерода в положениях с и d является ненасыщенной и другие атомы водорода не замещены. Еще в одном варианте радикалы  $R^1$  и  $R^2$  независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_3$ алкила и замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_3$ )ацила.

Конкретные соединения представлены монометильными замещенными соединениями, включая этаноламиды формулы Ia. К таким соединениям относятся

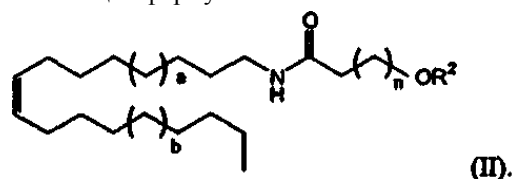




Замещенные метилом вышеприведенные соединения включают, в частности, такие соединения, где  $R^1$  и  $R^2$  являются оба водородами: (R)1'-метилолеилэтаноламид, (S)1'-метилолеилэтаноламид, (R)2'-метилолеилэтаноламид, (S)2'-метилолеилэтаноламид, (R)1-метилолеилэтаноламид и (S)1-метилолеилэтаноламид.

Обратные ОЕА - подобные соединения.

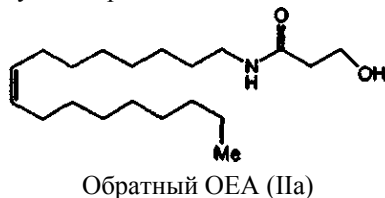
Соединения данного изобретения также включают целый ряд аналогов ОЕА. Эти соединения охватывают обратные ОЕА соединения общей формулы:



В некоторых вариантах изобретение предусматривает соединения формулы II. В конкретных соединениях формулы II  $n$  равно от 1 до 5, а сумма  $a$  и  $b$  равна от 0 до 4. В этом варианте фрагмент  $R^2$  выбран из группы, состоящей из водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$ алкила, замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_6$ )ацила, гомоалкила и арила. Кроме того, до четырех атомов углерода либо в жирнокислотной части, либо в части алканолamina (например, этанолamina) соединений выше указанной формулы могут быть также замещены метилом или двойной связью.

Конкретные соединения формулы II включают такие соединения, в которых алканолaмин - это этанолaмин, соединения, в которых  $R^2$  является водородом, а соединения, где  $a$  и  $b$  каждый равен 1, и соединения, где  $n = 1$ .

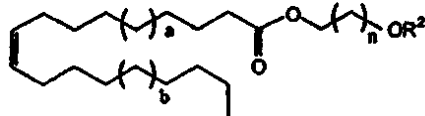
Один вариант соединения формулы II представляет собой:



В другом варианте у соединений формулы II  $n$  равно от 1 до 5, а сумма  $a$  и  $b$  равна от 1 до 3. В этом варианте фрагмент  $R^2$  выбирают из группы, состоящей из водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$  алкила и замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_6$ ) ацила. Кроме того, до четырех атомов углерода либо в жирнокислотной части, либо в части алканолamina (например, этаноламина) соединения вышеприведенной формулы могут также быть замещены либо метилом, либо двойной связью.

#### Сложные эфиры олеилалканолов

Соединения данного изобретения включают также олеилоалканольные эфиры общей формулы:



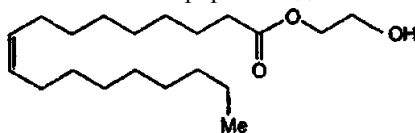
(III).

В некоторых вариантах в соединениях формулы III  $n$  равно от 1 до 5, сумма  $a$  и  $b$  равна от 0 до 4. Фрагмент  $R^2$  выбирают из группы, включающей водород, замещенный или незамещенный  $C_1$ - $C_6$  алкил, замещенный или незамещенный низший ( $C_1$ - $C_6$ ) ацил, гомоалкил и арил. До четырех атомов водорода и в жирнокислотной части, и в алканольной части (этанольной) части соединений вышеприведенной формулы могут быть замещены метилом или двойной связью.

В других вариантах в соединениях формулы III  $n$  равно от 1 до 3, сумма  $a$  и  $b$  может быть от 1 до 3. Фрагмент  $R^2$  выбран из группы, состоящей из водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$  алкила, и замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_6$ ) ацила. До четырех атомов водорода и в жирнокислотной части, и в алканольной (напр., этанольной) части соединений вышеприведенной формулы могут также быть замещены метилом или двойной связью.

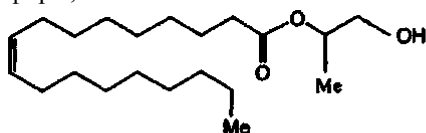
Соединения формулы III включают соединения, в которых  $R^2$  является водородом, соединения, в которых  $a$  и  $b$  каждое равно 1, и соединения, в которых  $n$  равно 1.

К соединениям формулы III относится эфир олеилдиэтанола:

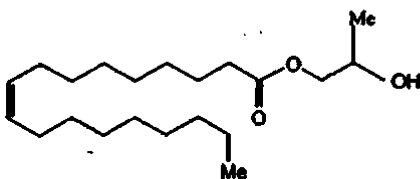


(IIIa)

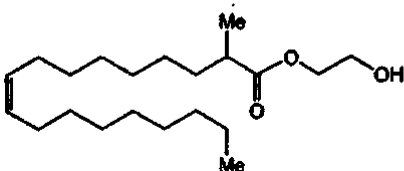
Соединения формулы III также включают монометилзамещенные олеильные эфиры алканолa, например, (R или S)-2'-метилолеилэтанольные эфиры; (R или S)-1'-метилолеилэтанольные эфиры и (R или S)-1'-метилолеилэтанольные эфиры, соответственно



(IIIb)



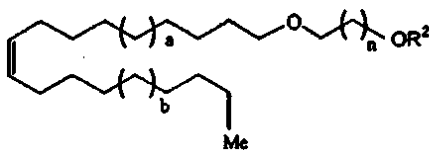
(IIIc)



(IIId)

#### Простые эфиры олеилалканолов

Соединения согласно изобретению включают также простые эфиры олеилалканолов согласно общей формуле:



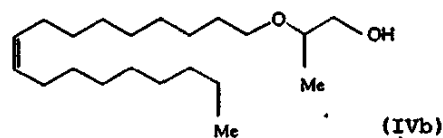
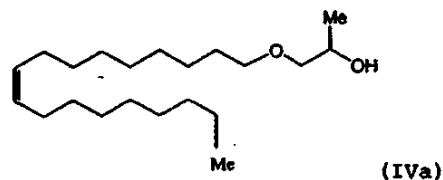
(IV).

В некоторых вариантах в соединениях формулы IV  $n$  равно от 1 до 5, а сумма  $a$  и  $b$  может составлять от 0 до 4. Фрагмент  $R^2$  выбран из группы, включающей водород, замещенный или незамещенный

$C_1$ - $C_6$ алкил, замещенный или незамещенный низший ( $C_1$ - $C_6$ )ацил, алкил и замещенный или незамещенный арил. До четырех атомов водорода и в жирнокислотной части, и в алканольной части (этанольной) части соединений вышеприведенной формулы могут быть замещены метилом или двойной связью.

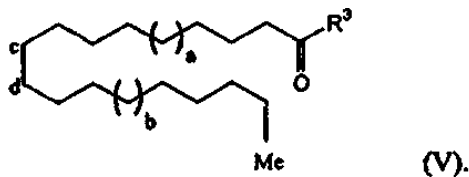
В других вариантах в соединениях формулы IV  $n$  равно от 1 до 3, сумма  $a$  и  $b$  может быть от 1 до 3. Фрагмент  $R^2$  выбран из группы, состоящей из водорода, замещенного или незамещенного  $C_1$ - $C_6$ алкила, и замещенного или незамещенного низшего ( $C_1$ - $C_6$ )ацила. До четырех атомов водорода и в жирнокислотной части, и в алканольной (напр., этанольной) части соединений вышеприведенной формулы могут также быть замещены метилом или двойной связью.

Соединения формулы IV включают соединения, в которых  $R^2$  является водородом, соединения, в которых  $a$  и  $b$  каждое равно 1, соединения, в которых  $n$  равно 1. Примеры таких соединений согласно формуле IV включают следующие (R или S)-1'-олеилэтанольные простые эфиры и (R или S)-2'-олеилэтанольные простые эфиры:

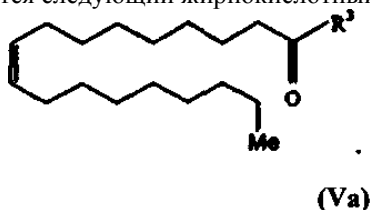


**Аналоги алканоламидов жирных кислот, имеющие модификации, обусловленные полярностью «головы»**

Соединения согласно изобретению включают также целый ряд аналогов ОЕА, обусловленных полярностью «головы». К этим соединениям относятся соединения, имеющие остаток жирной кислоты, общей формулы



В некоторых вариантах у соединений формулы V сумма  $a$  и  $b$  составляет от 0 до 4. В других вариантах сумма  $a$  и  $b$  составляет от 1 до 3. В этих вариантах до четырех атомов водорода в соединениях вышеприведенной формулы могут быть замещены метилом или двойной связью. Кроме того, двойная связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной. Особенно предпочтительным вариантом является следующий жирнокислотный остаток олеиновой кислоты:



$R^3$  в вышеприведенных структурных формулах может быть следующим:  $HO-(CH_2)_z-NH-$ , где  $z$  равен от 1 до 5, а алкильный фрагмент - неразветвленная метиленовая цепь. Например:



$H_2N-(CH_2)_z-NH-$ , где  $z$  равен от 1 до 5, а алкильный фрагмент - неразветвленная метиленовая цепь.



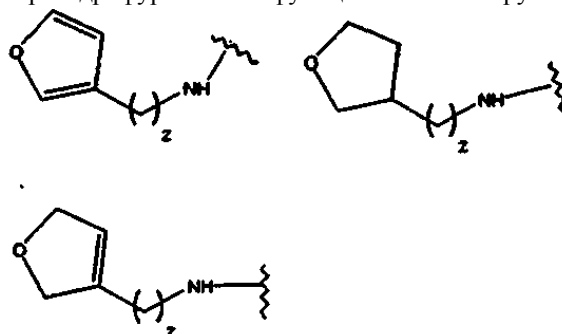
Vc

$HO-(CH_2)_x-NH-$ , где  $x$  равен от 1 до 8, а алкильный фрагмент - разветвленный или циклический. Например,



(Vd)

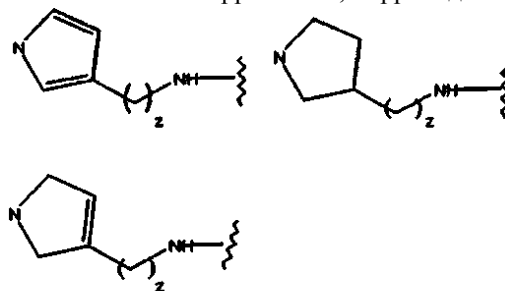
Кроме того, полярными «головными» группами  $R^3$  могут быть, например соединения с фурановыми, дигидрофурановыми и тетрагидрофурановыми функциональными группами.



(Ve)

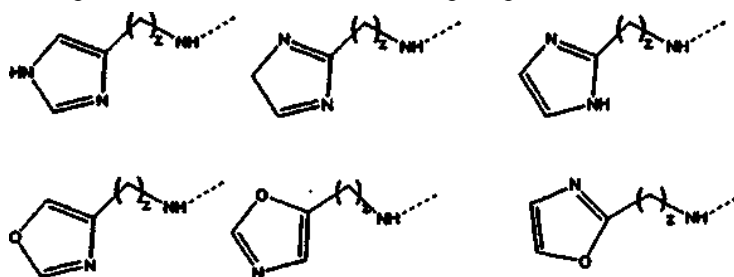
В вышеуказанных структурах  $Z$  может быть от 1 до 5.

Соединения изобретения включают также, например, такие, в которых полярными «головными» группами  $R^3$  могут быть соединения на основе пиррольного, пирролидинового и пирролинового колец:



(Vf)

В соединениях вышеприведенных структур  $Z$  может быть от 1 до 5. Другими полярными «головными» группами является ряд имидазолов и оксазолов, например:

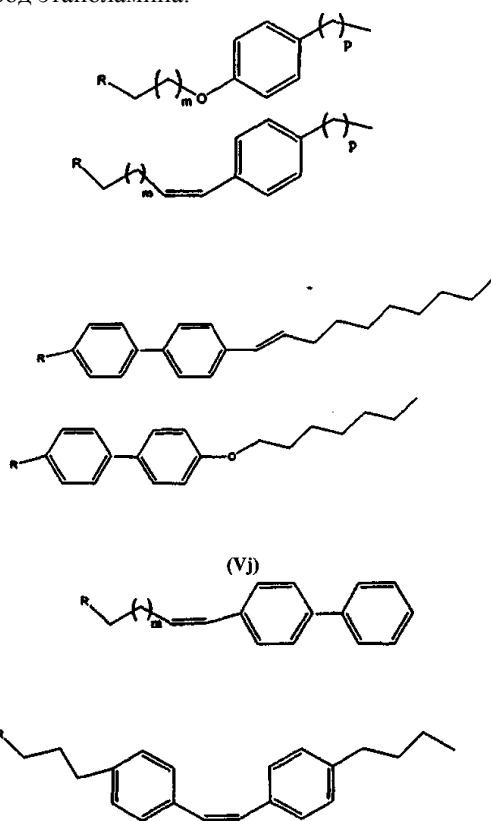


(Vg)

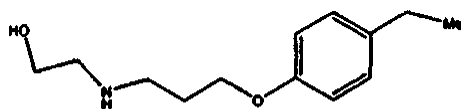
В соединениях вышеуказанных структур  $Z$  может быть от 1 до 5.

Примерами являются также и оксазолпиридиновые полярные «головные» группы:

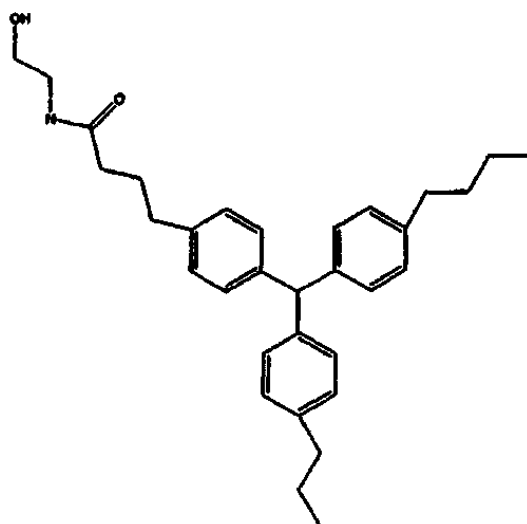
Соединения данного изобретения включают ряд производных алканоламида и этаноламида с самыми различными не полярными гибкими «хвостами». К таким соединениям относятся соединения ниже-следующих формул, в которых R представляет собой остаток этаноламина, остаток алканоламина или их стабильный аналог. В случае этаноламина его остаток предпочтительно присоединен через азот этаноламина, нежели чем через кислород этаноламина.



В приведенных структурах  $m$  равно от 1 до 9, а  $p$  независимо равно от 1 до 5. Примером соединения является

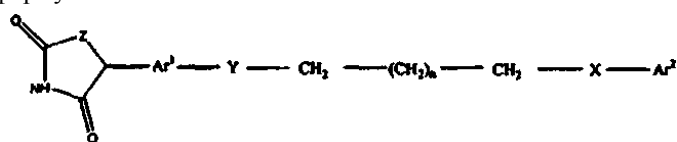


Другим примером соединения является аналог этаноламина с неполярным «хвостом» следующей структурной формулы:



(Vn)

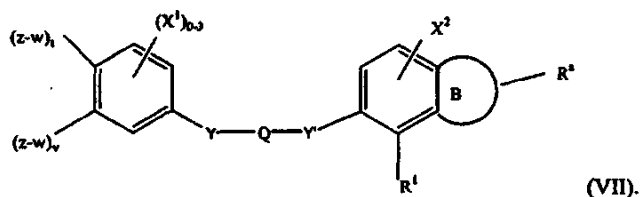
Примеры соединений включают аналоги алканоламидов жирных кислот. Такие аналоги включают соединения, описанные в US патенте № 6200998 (упомянутом здесь в качестве ссылки). В нем описаны соединения общей формулы.



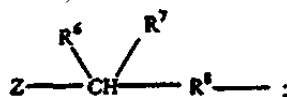
(Vn).

В вышеприведенной формуле, как это определено в US патенте в 200998,  $Ar^1$  представляет собой (1) арилен или (2) гетероарил, причем арилен и гетероарил не обязательно замещены 1-4 группами из  $R^a$ ;  $Ar^2$  представляет собой (1) орто-замещенный арил или (2) орто-замещенный гетероарил, в которых указанный орто-заместитель выбран из  $R$ ; а арил и гетероарил не обязательно, кроме того, замещены 1-4 группами, независимо выбранными из  $R^a$ ; X и Y независимо являются O, S, N- $R^b$  или  $CH_2$ ; Z представляет собой O или S; n = 1-3; R представляет собой (1)  $C_{3-10}$  алкил, не обязательно замещенный 1-4 группами, выбранными из галогена и  $C_3-C_6$  циклоалкила, (2)  $C_{3-10}$  алкенил или (3)  $C_{3-8}$ -циклоалкил;  $R^a$  представляет собой (1)  $C_{1-15}$  алканойл, (2)  $C_{1-15}$  - алкил, (3)  $C_{2-15}$  алкенил, (4)  $C_{2-15}$  алкинил, (5) галоген, (6)  $OR^b$ , (7) арил, (8) гетероарил, причем указанные алкил, алкенил, алкинил и алканойл не обязательно замещены 1-5 группами, выбранными из  $R^c$ , а указанные арил и гетероарил не обязательно замещены 1-5 группами, выбранными из  $R^d$ ;  $R^b$  представляет собой (1) водород, (2)  $C_{1-10}$  алкил, (3)  $C_{2-10}$  алкенил, (4)  $C_{2-10}$  алкинил, (5) арил, (6) гетероарил, (7) арил  $C_{1-15}$  алкил, (8) гетероарил  $C_{1-15}$  алкил, (9)  $C_{1-15}$  алканойл, (10)  $C_{3-8}$  циклоалкил, где алкил, алкенил, алкинил не обязательно замещены заместителями в количестве от одного до четырех, независимо выбранными из  $R^c$ , а циклоалкил, арил и гетероарил не обязательно замещены 1-4 заместителями, независимо выбранными из  $R^d$ ; или  $R^c$  представляет собой (1) галоген, (2) арил, (3) гетероарил, (4) CN, (5)  $NO_2$ , (6)  $OR^f$ , (7)  $S(O)_m R^f$ , m=0,1 или 2, при условии, что  $R^f$  не H, когда m=1 или 2; (8)  $NR^f R^f$  (9)  $NR^f COR^f$ , (10)  $NR^f CO_2 R^f$ , (11)  $NR^f CON(R^f)_2$ , (12)  $NR^f SO_2 R^f$ , при условии, что  $R^f$  не H, (13)  $COR^f$ , (14)  $CO_2 R^f$ , (15)  $CON(R^f)_2$ , (16)  $SO_2 N(R^f)_2$ , (17)  $OCN(R^f)_2$ , или (18)  $C_{3-8}$  циклоалкил, где указанные циклоалкил, арил и гетероарил не обязательно замещены 1-3 группами, выбранными из галогена и  $C_{1-6}$ -алкила;  $R^d$  представляет собой (1) группу, выбранную из  $R^c$ , (2)  $C_{1-10}$  алкил, (3)  $C_{2-10}$  алкенил, (4)  $C_{2-10}$  алкинил, (5) арил  $C_{1-10}$  алкил, или (6) гетероарил  $C_{1-10}$  алкил, где алкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил не обязательно замещены группой, независимо выбранной из  $R^c$ ;  $R^e$  представляет собой (1) галоген, (2) amino, (3) карбокси, (4)  $C_{1-4}$  алкил, (5)  $C_{1-4}$  алкокси, (6) гидроксид, (7) арил, (8) арил  $C_{1-4}$  алкил или (9) арилокси;  $R^f$  представляет собой (1) водород, (2)  $C_{1-10}$  алкил, (3)  $C_{2-10}$  алкенил, (4)  $C_{2-10}$  алкинил, (5) арил, (6) гетероарил, (7) арил  $C_{1-15}$  алкил, (8) гетероарил-  $C_{1-15}$  алкил, (9)  $C_{1-15}$  алканойл, (10)  $C_{3-8}$  циклоалкил; где алкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил, алканойл и циклоалкил не обязательно замещены 1-4 группами, выбранными из  $R^c$ .

Предпочтительными являются также аналоги, раскрытые в US патенте 5859051. Эти аналоги имеют следующую общую формулу:



В вариантах соединений формулы VII, как это определено в US патенте 5859051,  $R^1$  выбран из группы, включающей H,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{5-10}$  арил и  $C_{5-10}$  гетероарил, указанные алкил, арил и гетероарил необязательно замещены 1-3 группами  $R^a$ ;  $R^1$  выбран из группы, включающей: H,  $C_{2-15}$  алкил,  $C_{2-15}$  алкенил,  $C_{2-15}$  алкинил и  $C_{3-10}$  циклоалкил, указанные алкил, алкенил, алкинил и циклоалкил необязательно замещены 1-3 группами  $R^a$ ;  $R^3$  выбран из группы, включающей: H,  $NHR^1$ , NH ацил,  $C_{1-15}$  алкил,  $C_{3-10}$  циклоалкил,  $C_{2-15}$  алкенил,  $C_{1-15}$  алкокси,  $CO_2$  алкил, OH,  $C_{2-15}$  алкинил,  $C_{5-10}$  арил,  $C_{5-10}$  гетероарил, указанные алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил и гетероарил необязательно замещены 1-3 группами  $R^a$ ; (Z-W-) представляет собой  $Z-CR^6R^7$ -,  $Z-CH=CH$ - или:



$R^8$  выбран из группы, включающей  $CR^6R^7$ , O,  $NR^6$  и  $S(O)$ ;  $R^6$  и  $R^7$  независимо выбраны из группы, включающей H,  $C_{1-6}$  алкил; B выбран из группы, включающей 1) 5- или 6-членный цикл, содержащий 0-2 двойные связи и 1 гетероатом, выбранный из группы: O, S и N, причем гетероатом замещен в одном положении 5- или 6-членного цикла, гетероцикл может быть незамещен или необязательно замещен 1-3 группами  $R^a$ ; 2) 5- или 6-членную карбоциклическую структуру с 0-2 двойными связями, карбоцикл может быть незамещенным или необязательно замещен 1-3 группами  $R^a$  в каком-либо положении 5- или 6-членного карбоцикла; и 3) 5- или 6-членную гетероциклическую структуру с 0-2 двойными связями и 3 гетероатомами, выбранными из: O, N и S, замещенными в одном положении 5- или 6-членного гетероцикла, гетероцикл незамещен или необязательно замещен 1-3 группами  $R^a$ ;  $X^1$  и  $X^2$  независимо выбраны из группы, включающей: H, OH,  $C_{1-15}$  алкил,  $C_{2-15}$  алкенил,  $C_{2-15}$  алкинил, галоид,  $OR^3$ ,  $ORCF_3$ ,  $C_{5-10}$  арил,  $C_{5-10}$  аралкил,  $C_{5-10}$  гетероарил и  $C_{1-10}$  ацил, причем указанные алкил, алкенил, алкинил, арил и гетероарил необязательно замещены 1-3 группами  $R^a$ ;  $R^a$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из галогена, ацила, арила, гетероарила,  $CF_3$ ,  $OCF_3$ , -O-, CN,  $NO_2$ ,  $R^3$ ,  $OR^3$ ;  $SR^3$ ,  $=N(OR)$ ,  $S(O)R^3$ ,  $SO_2R^3$ ,  $NR^3R^3$ ,  $NR^3$ ,  $COR^3$ ,  $NR^3CO_2R^3$ ,  $NR^3CON(R^3)_2$ ,  $NR^3SO_2R^3$ ,  $COR^3$ ,  $CO_2R^3$ ,  $CON(R^3)_2$ ,  $SO_2N(R^3)_2$ ,  $OCON(R^3)_2$ , причем указанные арил и гетероарил необязательно замещены 1-3 группами галогена или  $C_{1-6}$  алкила; Y выбран из группы, состоящей из:  $S(O)_p$ ,  $-CH_2-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-C(O)NH-$ ,  $-NR-$ ,  $-O-$ ,  $-SO_2NH-$ ,  $-NHSO_2$ ;  $Y^1$  выбран из группы, состоящей из O и C; Z выбран из группы, состоящей из:  $CO_2R^3$ ,  $R^3CO_2R^3$ ,  $CONHSO_2Me$ ,  $CONHSO_2$ ,  $CONH_2$  и 5-(1H-тетразол); t и v независимо являются 0 или 1, так что  $t + v = 1$ , Q - насыщенный или ненасыщенный углеводород с неразветвленной цепью, содержащий 2-4 атома углерода и  $p = 0-2$  при условии, что когда Z представляет собой  $CO_2R^3$ , а B - 5-членный гетероцикл, содержащий O,  $R^3$  не является метилом.

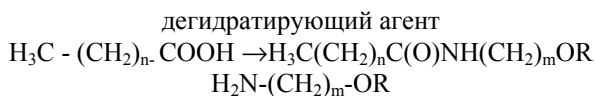
Другие аналоги, подходящие для осуществления способов и композиций данного изобретения, включают аналоги, указанные в US патенте 5847008, и US патенте 6090836 и US патенте 6090839, каждый из которых упомянут здесь как ссылка во всей ее полноте и в степени, которая не противоречит данному изобретению.

Кроме того, ряд подходящих аналогов приведен в US патенте 6274608. Аналоги арил и гетероарил уксусной и оксиуксусной кислот описаны, например, в US патенте 6160000; замещенные 5-арил-2,4-тиазолидиндионы описаны в US патенте 6200998, другие приемлемые аналоги, такие как полиненасыщенные жирные кислоты и эйкозаноиды являются известными (см. например, Forman, BM, Chem, J, Evans, RM, PNAS 94:4312-4317). Соединения из этих публикаций, каждая из которых указана здесь как ссылка во всей ее полноте до степени, не противоречащей настоящему изобретению, могут быть скринированы способами, приведенными ниже для того, чтобы найти соединения, которые могут применяться, например, для снижения степени ожирения и массы тела, регулирования катаболизма жиров и уменьшения аппетита в соответствии с данным изобретением.

#### Синтез алканоламидов жирных кислот

Соединения, используемые в данном изобретении, легко синтезируются и очищаются с помощью известных в данной области способов. На примерной схеме синтеза (Схема 1) показано, что карбоновая кислота взаимодействует с аминоспиртом (или его O-замещенным производным) в присутствии дегидратирующего агента, например, дициклогексилкарбодиимид в среде подходящего растворителя. Алканоламид жирных кислот выделяют такими методами как экстракция, кристаллизация, осаждение, хроматография и т.п. Если конечный продукт является O-защищенным аддуктом, он депротектируется (обычно известным методом) для обеспечения возможности выявления в жирнокислотном аддукте свободной гидроксильной группы.





## Схема 1.

Специалисту в данной области будет понятно, что многие варианты вышеприведенной схемы можно применять. Например, активированное производное, например, могут использоваться ацил, галид, активный сложный эфир кислоты. Аналогично, гликоль (предпочтительно моно-О-замещенный) может быть использован вместо аминспирта, приводя к возникновению сложноэфирной связи между двумя составляющими частями молекулы.

Обратные сложные эфиры и обратные амиды также легко синтезируются известными способами. Например, гидроксикарбоновая кислота взаимодействует с амином или гидроксипроизводным длинноцепочечного алкила (т.е. C<sub>4</sub>-C<sub>22</sub>) в присутствии дегидратирующего агента. В определенных реакционных схемах желательно защищать гидроксильные остатки гидроксикарбоновой кислоты.

Простые эфиры и меркаптаны получают хорошо известными методами, например, синтезом Williamson'a. Например, длинноцепочечный алкильный спирт или тиол депротонируется основанием, например NaNH, и реакционноспособное производное спирта, например галоид, тозилловый, мезиловый спирт или его защищенное производное взаимодействует с получившимся в результате анионом с получением сложного эфира или меркаптона.

Вышеупомянутые способы и их модификации могут быть найдены, например, в RECENT DEVELOPMENTS IN THE Synthesis OF FATTY ACID DERIVATIVES, Knothe G, ed., Amer. Oil Chemists Society 1999; COMPREHENSIVE NATURAL PRODUCTS CHEMISTRY AND OTHER SECONDARY METABOLITES INCLUDING FATTY ACIDS AND THEIR DERIVATIVES, Nakanishi K., ed., Pergamon Press, 1999; ORGANIC SYNTHESIS COLLECTED VOLUMES I-V, John Wiley and Sons; COMPENDIUM OF ORGANIC SYNTHETIC METHODS, Volumes 1-6, Wiley Interscience 1984; ORGANIC FUNCTIONAL GROUP PREPARATION, Volumes I-III, Academic Press Ltd. 1983; Green T, PROTECTING GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, 2d ed., Wiley Interscience 1991.

### Методы использования, фармацевтические композиции и их введение

#### Методы использования

Соединения, композиции и способы данного изобретения (например, производные алканоламидов жирных кислот, производные этаноламида жирных кислот, их аналоги и гомологи) используются для снижения степени ожирения и/или массы тела у млекопитающего, включая собак, кошек и особенно человека. Снижение веса может быть задано эстетическими или терапевтическими целями. Эти соединения могут также использоваться для снижения аппетита или для того, чтобы вызывать гипофагию.

Соединения, композиции и способы данного изобретения используются для профилактики прибавления в весе или ожирения пациентов, имеющих вес в пределах нормального диапазона. Соединения могут использоваться и по-другому, для лечения лиц, которые по иным причинам нуждаются в фармацевтических препаратах из-за заболеваний, относящихся, например, к диабету или гиперлипидемии или раку.

В некоторых случаях лица, которым требуется лечение, не имеют заболеваний, связанных с искажением уровня содержания сахара или липидов или их метаболизма, или не являются зависимыми от факторов риска по сердечно-сосудистым и церебрососудистым заболеваниям. Такие лица могут быть не больны диабетом и иметь уровни содержания сахара в крови в пределах нормы. Такие лица могут также иметь в крови нормальные уровни содержания липидов (например, холестерина) или триглицеридов. Они также могут не болеть атеросклерозом. Такие лица могут быть свободны и от других болезненных состояний, таких как рак или иные опухоли, или заболевания, включающие сопротивляемость инсулину, синдром X и панкреатит.

В других вариантах лица, страдающие от чрезмерного веса или тучности, нуждаются в лечении ожирения и/или снижении веса. В этих вариантах способы, соединения и композиции данного изобретения могут вводиться для стимулирования снижения веса и для профилактики повышения веса для лица данного пола, возраста и роста, уже имеющего вес в пределах нормы. Соединения могут использоваться по-другому, для оздоровления лиц, которые не нуждаются в фармацевтических препаратах для лечения заболеваний, относящихся к диабету, гиперлипидемии или раку. Эти лица могут также по иной причине быть свободными от факторов риска в отношении сердечно-сосудистых и церебрососудистых заболеваний. В этих вариантах лица, которые нуждаются в лечении, не больны заболеваниями, связанными с метаболизмом сахара (например, глюкозы) или липидов. Эти лица могут не быть диабетиками и иметь нормальный уровень содержания сахара в крови. Эти лица могут также иметь нормальный уровень содержания липидов (например, холестерина, HDL, LDL, общий холестерин) или триглицеридов в крови. Эти лица могут не нуждаться в лечении атеросклероза.

Соединения, способы и композиции данного изобретения могут также использоваться для подавления аппетита у млекопитающих, включая кошек, собак и людей. В некоторых вариантах соединения могут использоваться и по-другому, для лиц, которые не нуждаются в применении фармацевтических препаратов из-за какого-либо заболевания. В некоторых вариантах этим лицам не требуется профилактиче-

ская или улучшающая терапия заболеваний, таких как рак, диабет или гиперлипидемия. В некоторых вариантах пациенты, нуждающиеся в лечении, не имеют заболеваний, обусловленных аномальным уровнем содержания сахара или липидов. В других вариантах пациенты свободны от факторов риска в отношении сердечно-сосудистых или церебрососудистых заболеваний. Эти лица могут не быть диабетиками и иметь нормальный уровень содержания сахара в крови. Эти лица могут также иметь нормальные уровни содержания липидов (например, холестерина) или триглицеридов в крови. Пациенты могут также быть не больны атеросклерозом.

Соединения, способы и композиции данного изобретения могут также назначаться для модулирования метаболизма жиров (например, повышения катаболизма жиров) у млекопитающих, включая кошек, собак и людей. В некоторых вариантах эти соединения могут использоваться для снижения аппетита у здоровых (в ином отношении) пациентов. В некоторых вариантах лица, которые нуждаются в лечении, не больны заболеваниями, связанными с метаболизмом сахара или жиров (например, диабет, гиперхолестеринемия, низкие уровни HDL или высокие уровни LDL). Эти лица могут не быть диабетиками или иметь нормальный уровень содержания сахара в крови. Эти лица могут также иметь нормальные уровни липидов (например, холестерина) или триглицеридов в крови. Эти лица могут также быть не больными атеросклерозом.

Лечение с помощью соединений и композиций данного изобретения может продолжаться в течение периода, необходимого для достижения определенной степени потери веса, или когда пациент достигнет нормального уровня BMI. Лечение с помощью соединений и композиций данного изобретения может быть сокращено во времени, если заранее определенная степень потери веса уже достигнута или пациент достиг нормального уровня BMI.

Соединения и композиции изобретения могут назначаться сами по себе (т.е. без добавок) с целью снижения степени ожирения или снижения аппетита.

#### **Фармацевтические композиции**

Другой аспект настоящего изобретения касается фармацевтических композиций, которые включают заявленные соединения и фармацевтически пригодный носитель.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения включают в качестве активного ингредиента соединения данного изобретения или их фармацевтически приемлемую соль, а также могут содержать фармацевтически приемлемый носитель и необязательно другие терапевтические ингредиенты.

Композиции настоящего изобретения включают композиции для орального, ректального, местного, парентерального (включая подкожное, внутримышечное и внутривенное), окулярного (офтальмологического), пульмонарного (назальная или интрабуккальная ингаляция) или назального введения, хотя самый подходящий способ введения лекарства в любом конкретном случае будет зависеть отчасти от природы и тяжести подвергающихся лечению состояний и природы активного начала. Например, способ введения может быть оральным. Композиции обычно могут быть в форме однократных доз и готовятся хорошо известными в фармации способами.

Для практического использования соединения данного изобретения как активный ингредиент могут быть скомбинированы известными в данной области способами с фармацевтически пригодным носителем до получения однородной смеси. Носитель может быть выбран из широкого ряда носителей в зависимости от желаемой формы препарата, обусловленной типом введения, например, орального или парентерального (включая внутривенное). При приготовлении композиций для вводимой орально дозированной формы может применяться любая обычная фармацевтическая среда, например вода, гликоли, масла, спирты, ароматизаторы, консерванты, красители и т.п. для жидких орально применяемых препаратов, таких как, например, суспензии, эликсиры и растворы; или носители, такие как крахмалы, сахара, микрокристаллическая целлюлоза, разбавители, гранулообразующие агенты, смазки, связующее, дезинтегрирующие агенты и т.п. для твердых орально применяемых препаратов, таких как, например, порошки, твердые и мягкие капсулы и таблетки, притом, что твердые препараты для орального применения предпочтительнее жидких препаратов.

Благодаря легкости введения таблетки и капсулы представляют собой самую благоприятную форму индивидуальных дозировок для орального введения, в которой, как правило, используются твердые носители фармацевтического назначения. При желании на таблетки может быть нанесено покрытие с помощью водных или неводных технологий. Такие композиции и препараты могут содержать по крайней мере 0,1% активного соединения. Доля активного соединения в этих композициях может, конечно, колебаться и обычно она составляет от 2 до 60% по весу однократной дозы. Количество активного компонента в таких терапевтически полезных композициях таково, чтобы можно было получить терапевтически эффективную дозу. Активные соединения могут также вводиться интраназально, например, в виде жидких капель или спрея.

Таблетки, пилюли, капсулы и т.п. могут также содержать связующее, такое как камедь трагаканта, акациевую камедь, кукурузный крахмал или желатин; наполнители, такие как дикальцийфосфат, дезинтегрирующий агент, например кукурузный крахмал, картофельный крахмал, альгинатную кислоту; смазку, например, стеарат магния и подсластитель, такой как сахароза, лактоза или сахарин. Если дозированная форма представляет собой капсулу, она может содержать помимо вышеуказанных материалов

жидкий носитель, такой как нелетучее жидкое масло.

Различные другие вещества могут присутствовать как покрытия или для модификации физической формы дозированной единицы. Например, таблетки могут быть покрыты шеллаком, сахаром или ими обоими. Сироп и эликсир может содержать, помимо активного ингредиента, сахарозу в качестве подсластителя, метил- и пропилпарабены в качестве консервантов, краситель и ароматизатор, например, с вишневым или апельсиновым привкусом. Для предотвращения разрушения в процессе прохождения через верхний отдел желудочно-кишечного тракта композиция может иметь энтеросолюбильное покрытие.

#### Введение

Соединения данного изобретения могут быть также введены парентерально. Растворы и суспензии этих активных соединений могут быть получены на основе воды, подходящим образом смешанной с сурфактантом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Дисперсии могут также готовиться на глицерине, жидких полиэтиленгликолях и их смесях в масле. При хранении и использовании в обычных условиях такие препараты содержат консервирующее средство для предотвращения роста микроорганизмов.

Фармацевтические формы, пригодные для инъекций, включают стерильные водные растворы или дисперсии или стерильные порошки для сиюминутного приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Во всех случаях лекарственная форма должна быть стерильной и должна быть жидкой в такой степени, чтобы было возможно впрыскивание.

Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и в ней должна быть предотвращена контаминация (загрязнение) микроорганизмами, такими как бактерии и грибки. Носитель может представлять собой растворитель или содержать дисперсионную среду, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль или жидкий полиэтиленгликоль), их подходящие смеси и растительные масла.

Соединения данного изобретения могут быть эффективными в широком диапазоне доз. Например, при лечении взрослых людей могут употребляться дозировки от приблизительно 10 до приблизительно 1000 мг, от приблизительно 100 до приблизительно 500 мг или от приблизительно 1 до приблизительно 100 мг. Могут использоваться дозы от 0,05 до приблизительно 100 мг и более предпочтительно от около 0,1 до около 100 мг в день. Наиболее предпочтительная доза составляет от около 0,1 мг до приблизительно 70 мг в день. При подборе схемы для пациентов часто может быть необходимо начинать с дозы от около 2 до около 70 мг в день и, когда состояние станет контролируемым, можно уменьшить дозу, например, от около 0,1 до около 10 мг в день. Например, при лечении взрослых может применяться дозировка от около 0,05 до около 100 мг, предпочтительно, от около 0,1 до 100 мг в день. Точная дозировка будет зависеть от способа введения, целей терапии, формы введения, пациента, которого лечат, и его веса, а также предпочтений и опыта врача или ветеринара.

Вообще соединения настоящего изобретения могут быть расфасованы в одноразовые дозированные формы, включающие приблизительно от около 0,1 до около 100 мг активного ингредиента вместе с фармацевтически пригодным носителем на каждую единичную дозу. Обычно дозированные формы, пригодные для назального, внутрилегочного или трансдермального введения, включают от около 0,001 мг до около 100 мг, предпочтительно от около 0,01 мг до около 50 мг соединений, смешанных с фармацевтически пригодным носителем или разбавителем. Эти препараты предпочтительно содержат консервирующий агент для предотвращения роста микроорганизмов во время хранения или использования.

Введение соответствующего количества предлагаемого соединения может быть осуществлено любым известным в данной области путем, например, орально или ректально, парентерально, внутрибрюшинно, внутривенно, подкожно, субдермально, интраназально или внутримышечно. В некоторых вариантах введение осуществляют трансдермально. Соответствующее количество или дозу предлагаемого соединения можно определить эмпирически на основе известных закономерностей. Соответствующее или терапевтическое количество представляет собой количество, обуславливающее снижение ожирения или потерю веса у животного в течение времени. Предлагаемое соединение может вводиться так часто, как это требуется для обеспечения снижения ожирения или потери веса, например, каждый час, каждые шесть, восемь, двенадцать или восемнадцать часов, ежедневно или еженедельно.

К составам, предназначенным для орального введения относятся (a) жидкие растворы, такие как эффективное количество упакованной нуклеиновой кислоты, суспендированной в разбавителях, таких как вода, физраствор или ПЭГ 400; (b) капсулы, саше и таблетки, каждая из которых содержит активный ингредиент в predetermined количестве в виде жидких, твердых веществ, гранул или желатина; (c) суспензии в соответствующей жидкости и (d) подходящие эмульсии. Таблетированные формы могут включать один или несколько компонентов, выбранных из лактозы, сахарозы, маннитола, сорбитола, фосфатов кальция, кукурузного крахмала, картофельного крахмала, микрокристаллической целлюлозы, желатина, коллоидного диоксида кремния, талька, стеарата магния, стеариновой кислоты и других наполнителей, красителей, носителей, связующих, разбавителей, буферных растворов, увлажняющих агентов, консервантов, ароматизаторов, красок, дезинтегрирующих агентов и фармацевтически приемлемых носителей. Лепешечки могут включать активный ингредиент на инертной основе, такой как желатин и глицерин или сахарозная или акациевая эмульсии, гели и т.п., содержащие кроме активного ингредиента известные в данной области носители.

Суспензии и растворы для инъекций могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул и таблеток уже описанных ранее типов. Составы для парентерального введения, такие как, например, для внутрисуставного введения, внутривенного, внутримышечного, интрадермального, внутрибрюшинного или подкожного введения включают водные и неводные, изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферные растворы, бактериостатики и растворенные вещества, которые обеспечивают составу изотонические свойства по отношению к крови конкретного реципиента, и водные или неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, агенты для повышения плотности, стабилизаторы и консерванты.

Что касается трансдермальных путей введения, то методы трансдермального введения лекарств описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17 th Edition, (Gennaro et al. Eds. Mack Publishing Co., 1985). Дermalные пластыри (или пластыри для кожи) являются предпочтительными средствами для трансдермальной подачи заявленных соединений. Пластыри предпочтительно предусматривают наличие улучшителя абсорбции, такого как DMSO, для увеличения поглощения соединений. Другие методы подачи лекарственных средств описаны в US патенте № 5962012, 6261595 и 6261595. Каждый из них упомянут здесь в качестве ссылки во всей полноте.

Предпочтительными являются такие пластыри, с помощью которых возможен контроль за скоростью подачи лекарства к коже. Пластыри могут представлять собой ряд дозированных систем, включая резервуарную систему или монолитную, целостную систему соответственно. Резервуарное (емкостное) устройство может, например, иметь четыре слоя: адгезивный слой, который непосредственно контактирует с кожей, регулируемую мембрану, которая контролирует диффузию молекул лекарства, емкость (резервуар) для лекарства и водонепроницаемую основу. Такое устройство обеспечивает подачу одинаковых количеств лекарства через определенные промежутки времени, скорость выделения лекарства должна быть меньше, чем предел насыщения у различных типов кожи.

Например, монолитное устройство, как правило, имеет только три слоя: адгезивный слой, полимерную матрицу, содержащую соединение и водонепроницаемую основу. Такое устройство обеспечивает подачу насыщающего количества лекарства к коже. Таким образом, подача лекарства контролируется кожей. При снижении количества лекарства в пластыре ниже уровня насыщения скорость выделения лекарства падает.

Соединения данного изобретения могут использоваться в сочетании с другими соединениями изобретения или другими лекарствами, которые могут также оказаться полезными с точки зрения диетического подхода к питанию или лечения, профилактики, подавления ожирения или улучшения жирового обмена. Вышеупомянутые другие лекарства могут вводиться способом и в количестве, обычно используемых для этого, одновременно или последовательно по отношению к соединению данного изобретения. Когда соединение изобретения используется одновременно с одним или несколькими лекарствами, фармацевтическая композиция в форме одноразовой дозы, содержащей эти другие лекарства и соединение является предпочтительной. При использовании в комбинации с одним или несколькими другими активными ингредиентами соединение данного изобретения и другие активные ингредиенты могут быть использованы в более низких дозах, чем та, в которой используется каждое из них по отдельности. Соответственно фармацевтические композиции настоящего изобретения включают такие композиции, которые содержат один или несколько других активных ингредиентов помимо вышеописанных соединений.

#### **Идентификация заявленных соединений**

Испытуемые соединения, такие как описанные выше, могут быть подвергнуты скринингу с помощью целого ряда известных для этой цели средств. Соединения для снижения веса тела, например могут быть идентифицированы *in vivo*, с помощью биологических способов исследования на животных, хорошо известных специалистам в данной области. Испытуемые соединения вместе с соответствующим носителем (растворителем) или средство контроля калорий (тепловой контроль) могут вводиться любым из ряда известных способов (например, оральным путем, парентеральным путем) испытуемым лицам (или субъектом), и в течение всего периода терапии вес этих лиц может регистрироваться.

Субъектами эксперимента могут быть люди или подопытные животные (например, крысы, мыши).

Эффект воздействия соединения на аппетит или в плане индуцирования гипофагии или снижения приема пищи можно оценить, если регистрировать потребление пищи испытуемыми субъектами (например, измеряя количество съеденной или несъеденной субъектом порции пищи с точки зрения ее веса или калорийности). Влияние соединений на аппетит может быть также оценено субъективно путем опросов по поводу аппетита или степени испытываемой потребности в еде у людей. Влияние исследуемых соединений на метаболизм липидов может быть оценено путем мониторинга липидов в крови и окисления жирных кислот. Методы этих определений и оценок хорошо известны специалистам в данной области. Эти исследования могут проводиться в срочном порядке или постоянно во время лечения или после него для исследования последствий лечения.

Снижение степени ожирения можно определять, например, путем непосредственного измерения изменения степени ожирения животного или путем измерения веса животного. Животное выбирают из мышей, крыс, морских свинок или кроликов. Это животное может быть также *ob/ob* мышью, *db/db* мышью, или крысой Zuckier'a или иным подопытным животным для изучения заболеваний, связанных с

изменением веса. Клинические испытания на людях также могут проводиться.

### **Комбинаторные химические библиотеки**

В последние годы особый интерес вызывает использование комбинаторных химических библиотек, способствующих созданию новых химических соединений, превосходящих по свойствам остальных. Комбинаторная химическая библиотека представляет собой совокупность самых различных химических соединений, полученных либо химическим синтезом, либо биологическим синтезом путем комбинирования ряда химических «строительных блоков», таких как реагенты. Например, комбинаторная библиотека для линейных химических соединений, например, библиотека полипептидов образована комбинированием множества химических строительных блоков, называемых аминокислотами, в самых разных сочетаниях для получения соединения данной длины и протяженности (например, ряда аминокислот в полипептидном соединении).

Миллионы химических соединений можно синтезировать с помощью такого комбинаторного смешивания химических строительных блоков. Например, было сделано сообщение о том, что систематическое комбинаторное смешивание 100 подгоняемых друг к другу химических строительных блоков приводит к теоретическому синтезу 100 миллионов тетрамерных соединений или 10 биллионов пентамерных соединений (Gallop et al., J. Med., Chem. 37(9) : 1233 (1994)).

Создание и скрининг комбинаторных химических библиотек хорошо известны специалистам. Такие комбинаторные библиотеки включают (но не ограничиваются) *n*-бензодиазепины (US патент 5 288 514), диверсомеры, такие как гидантоины, бензодиазепины и дипептиды (Hobbs et al., PNAS USA 90: 6909(1993)), аналогичные библиотеки для органического синтеза небольших химических соединений (Chen et al) J. Amer. Soc. 116 : 2661 (1994)), олигокарбаматы (Cho, et al., Science 261 : 1303 (1993)), и/или пептидилфосфонаты (Campell et al., J. Org. Chem. 59 : 658 (1994)), и небольшие библиотеки для органических веществ (см. например, бензодиазепины (Baum C& EN, Jan 18, page 33 (1993)), тиазолидиноны и метатиазаноны (US патент 5 549 974), пирролидинов (US патент 3 525 735 и 5 519 134), бензодиазепины (US патент 5 288 514) и других.

Устройство для получения комбинаторных библиотек есть в продаже (см., например, 357 MPS, 390 MPS, Advanced Chem Tech, Louisville KY, Symphony, Kainin, Woburn, MA, 433A Applied Biosystems: Foster City, CA, 9050 Plus, Millipore, Bedford, MA).

Для жидкофазной химии разработан целый ряд автоматизированных систем управления. Такие системы включают автоматизированные установки, подобные установкам автоматизированного синтеза, разработанным Takeda Chemical Industries, LTD (Osaka, Japan) и ряд систем-роботов с автоматическими приспособлениями, имитирующими руки человека (Zymate II, Zymark Corporation, Hopkinton, Mass.; Orca, HewlettPackard, Palo Alto, CA), в которых управление манипуляциями по синтезу осуществляется химиком. Любое из вышеперечисленных средств пригодно для использования в настоящем изобретении.

Специалисту в данной области будет понятна сущность этих средств и как ими воспользоваться. Кроме того, целый ряд комбинаторных библиотек сами по себе известны и имеются в продаже (см., например, Com Genex, Princeton, N.J., Asinex, Moscow, Ru, Tripos, Inc, St. Louis, MO, ChemStar, Ltd., Moscow, RU, 3D Pharmaceuticals, Exton, PA, Mortek Biosciences, Columbia, MD, etc.).

### **Высокозатратное исследование химических библиотек**

Испытания описываемых здесь соединений предусматривают дорогое скринирование. К предпочтительным испытаниям поэтому относятся активация транскрипции (например, активация продукта мРНК) с помощью исследуемых соединений, активация экспрессии протеина с помощью исследуемых соединений или связывание исследуемых соединений с продуктом гена (например, экспрессируемым белком) или влияние на модуляцию жирных кислот, как описано ниже.

Высокозатратные анализы на присутствие, отсутствие или количественное определение конкретных продуктов белковой природы или анализы на связывание хорошо известны специалистам в данной области. Например, в US патенте 5559410 описаны способы высокозатратного скринирования на белки, а в US патентах 5576220 и 5541061 описаны способы высокозатратного скринирования на связывания лиганд-антитело.

Кроме того, системы для высокозатратного скрининга имеются в продаже (см. например Zymark Corp., Hopkinton, MA; Air Technical Industries, Mentor, OH; Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA; Precision Systems, Inc., Natick, MA, etc.).

Эти системы обычно автоматически управляют всем процессом, включая закапывание всех проб и реагентов, разливание жидкостей по емкостям, отслеживание предназначенных периодов времени и заключительное считывание результатов с микропланшетов детектора (-ов), соответствующего (их) данному типу анализа. Эти объемные системы предусматривают высокие затраты и быстрый запуск (в продажу), а также и высокую степень гибкости и востребованности в плане сбыта. Производители таких систем выпускают подробные рекомендации для различных высокопроизводительных систем.

Так, например, Zymark Corp. выпускает технические бюллетени с описанием скринирующих систем для определения модуляции транскрипции генов, связывания лигандов и т.п.

Определение возможности влияния соединений на потребление пищи, вес, степень ожирения, аппетит, отношение к еде и возможности регулирования жирных кислот.

Соединения данного изобретения могут вводиться животному для определения, влияют ли они на потребление пищи и вес тела, степень ожирения, аппетит, отношение к пище или оказывают ли влияние на регуляцию окисления жирных кислот.

Животными могут быть, например, морские свинки, крысы, мыши, кролики с нормальным или избыточным весом. Подходящими крысами являются крысы Zucker. Подходящие мыши, включают, например, обычных мышей, ALS/LtJ, C3, SW-H<sup>2b</sup>/SnJ, (NOH/LtJ x NZO/HIJ)F1, NZO/HIJ, ALR/LtJ, NON/LtJ, KK.Cg-AALR/LtJ, NON/LtJ, KK.cg-A<sup>y</sup>/J, B6.HRC(BKS)-Cpe<sup>fat</sup>+, B6.129P2-Gck<sup>tm/Efr</sup>, B6.V-Lep<sup>ob</sup>, BKS.Cg-m+/+Lep<sup>rd</sup>b, и C57BL/6J с ожирением, спровоцированным рационом.

Введение соответствующего количества исследуемого соединения может быть осуществлено любым известным в данной области способом, например, орально, ректально, парентерально, как например: внутривенно, внутримышечно, подкожно, субдермально, интраназально или интритимически.

Предпочтительным может быть внутривенное или оральное введение. Соответствующее эффективное количество испытуемого соединения может быть определено эмпирически так, как это обычно делают. Соответствующее эффективное количество может быть определено как количество, достаточное, чтобы обеспечить снижение степени ожирения или снижение веса или уменьшение потребления пищи животным спустя какое-то время. Испытуемое соединение может вводиться так часто, как это требуется для того, чтобы повлиять на снижение степени ожирения или снижение веса, например, ежедневно, каждые шесть, восемь, двенадцать или восемнадцать часов, ежедневно или раз в неделю.

Составы, пригодные для орального введения, включают (а) жидкие растворы, такие как эффективное количество испытуемого соединения, суспендированное в разбавителях, таких как вода, физраствор или ПЭГ 400; (b) капсулы, саше и таблетки, каждая из которых содержит определенное количество активного ингредиента в виде жидкостей, твердых тел, гранул или желатина; (c) суспензии в соответствующих жидкостях и (d) подходящие эмульсии. Таблетированные формы содержат один или несколько компонентов, выбранных из лактозы, сахарозы, маннитола, сорбитола, фосфатов кальция, кукурузного крахмала, картофельного крахмала, микрокристаллической целлюлозы, желатина, коллоидного диоксида кремния, талька, стеарата магния, стеариновой кислоты и других носителей, красители, наполнители, связующие, разбавители, буферные растворы, увлажняющие вещества, консерванты, ароматизирующие добавки, краски, дезинтегрирующие средства и фармацевтически приемлемые носители. Лекарственные средства в виде лепешек (таблеток) могут включать активный ингредиент в улучшителе вкуса, например в сахарозе, также как и пастилки, включающие активный ингредиент в инертной подложке, такой как желатин и глицерин или сахарозные и акациевые эмульсии, гели и т.п., включающие помимо активного ингредиента известные носители.

Инъекционные растворы и суспензии могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул и таблеток уже описанного типа. Составы, предназначенные для парентерального введения, включают, например, водные или неводные изотонические стерильные инъекционные растворы, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, которые обеспечивают изотоничность состава с кровью реципиента, которому предназначается введение, и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загущающие агенты, стабилизаторы и консерванты.

Доза, вводимая животному, должна быть достаточной, чтобы вызвать изменение веса, степени ожирения и/или окисление жирных кислот в течение какого-то времени. Такая доза может быть определена, исходя из эффективности конкретного применяемого испытуемого соединения и состояния животного, а также веса и площади поверхности тела животного. Величина дозы может быть также определена в связи с наличием, природой и распространенностью какого-либо вредного побочного эффекта, который сопровождает введение испытуемого соединения; LD<sub>50</sub> исследуемого соединения и побочных эффектов при разных концентрациях исследуемого соединения. Вообще величина дозы будет колебаться от 0,1 до 50 мг/кг, предпочтительно 1-25 мг/кг, самое предпочтительное - 1-20 мг/кг веса. Определение пропорциональных величин доз хорошо известно специалистам в данной области.

#### **Снижение степени ожирения**

Снижение веса, как правило, определяют, непосредственно регистрируя изменение степени ожирения или снижение веса тела. Степень ожирения и вес тела животного определяют до, в течение и после введения исследуемого соединения. Изменение степени ожирения измеряют с помощью известных средств, таких как например измерения жира по обхвату с помощью кронциркуля, биоэлектрического сопротивления, гидростатического взвешивания или двойной абсорбиометрии в рентгеновских лучах. Предпочтительно у животных бывает по меньшей мере 2, 5, 8 или 10% исчезновения жира. Изменения веса могут быть измерены с помощью любых известных средств, таких как переносные весы, весы с цифровым табло, весы с противовесом, настольные весы, настольные весы. Предпочтительно у животных бывает по меньшей мере 2, 5, 10 или 15% потери веса. Снижение веса определяют перед введением исследуемого соединения и через равные промежутки в течение и после введения. Предпочтительно вес тела измеряют каждые 5 дней, более предпочтительно каждые 4 дня, еще более предпочтительно каждые 3 дня, еще более предпочтительно каждые 2 дня и самое предпочтительное - каждый день.

### Изменение метаболизма жирных кислот

Изменения метаболизма жирных кислот может быть определено, например, наблюдением за окислением жирных кислот в клетках на примере основных сжигающих жиры тканей, таких как, например, печень (Beynen, et al. *Diabetes* 28:828 (1979)), мышца (Chiasson Lab. *Anat. of Rat*, (1980)), сердце (Flink, et al. *J. Biol. Chem.* 267:9917 (1992)), и адипоциты (Rodbell *J. Biol. Chem.* 239:375 (1964)).

Клетки могут быть взяты из первичных культур или из клеточных линий. Из первичных культур клетки могут быть получены любыми известными в данной области способами, в частности, энзиматическим расщеплением и разделением. Существуют и хорошо известные линии клеток. Подходящими линиями гепатоцитов являются, например, Fao, MH1C1, H-4-II-E, H4TG, P4-II-E-C3, McA-RH7777, McA-RH8994, NI-SI Fudr, NI-SI, ARL-6, Hepa 1-6, Hepa-1c1c7, BpRc1, tao BpRc1, NCTC clone 1469, PLC/PRF/5, Hep 3B2.1-7 [Hep 3B], Hep G2 [HepG2], SK-HEP-1, WCH-17. Подходящими линиями клеток скелетной мышцы являются, например, L6, L8, C8, NOR-10, BLO-11, BC3H1, G-7, G-8, C2C12, P19, So18, SJRH30 [RMS 13], QM7. Подходящими линиями клеток сердца, являются, например, H9c2(2-1), P19, CCD-32Lu, CCD-32Sk, Girardi, FBHE. Подходящими линиями адипоцитов являются: NCTC клон 929 [производное от штамма L; L-929; L клетки], NCTC 2071, L-M, L-M(TK-) [LMTK-; LM(tk-)], A9 (APRT и HPRT негативное производное штамма (L), NCTC клон 2472, NCTC клон 2555, 3T3-L1, J26, J27-neo, J27-B7, MTKP 97-12 pMrp97b [TKMP97-12], L-NGC-5HT2, Ltk-11, L-альфа-lb, L-альфа-2A, L-альфа-2C, B82.

Скорость окисления жирных кислот может быть определена по окислению  $^{14}\text{C}$ -олеата в кетонные структуры (Guzman and Geelen *Biochem.J.* 287:487 (1982)) и/или окислению  $^{14}\text{C}$ -олеата в  $\text{CO}_2$  (Fruebis *PNAS* 98:2005 (2001); Blazquez et al. *J. Neurochem* 71:1597 (1998)). Липолиз может быть определен по выделению жирной кислоты или глицерина с помощью использования соответствующих меченых предшественников или путем спектрофотометрических анализов (Serradeil-Le Gal *FEBS Lett* 475 : 150 (2000)).

Для определения окисления  $^{14}\text{C}$ -олеата в кетонные структуры свежевыделенные клетки или культивируемые линии клеток можно инкубировать с  $^{14}\text{C}$ -олеиновой кислотой в течение соответствующего времени, например, 30, 60, 90, 120 или 180 мин. Количество радиоактивности  $^{14}\text{C}$  в инкубационной среде может быть измерено для определения скорости окисления олеата. Окисление олеата может быть выражено в нмоль получившегося олеата x минуты, деленное на грамм клеток. Для определения липолиза и выделения глицерина свежевыделенные клетки или культивируемые линии клеток можно промыть, а затем инкубировать в течение соответствующего времени. Количество глицерина, выделившегося в инкубационную среду, может показать степень липолиза.

### Примеры

Нижеследующие примеры предложены для иллюстрации, но не носят ограничивающего характера. Специалисту несложно будет определить ряд некритических (не самых главных) параметров, которые могут быть изменены или модифицированы для получения практически аналогичных результатов.

Пример 1. Синтез этаноламидов жирных кислот, их гомологов и аналогов.

Способы получения этаноламинов жирных кислот из этаноламинов и соответствующих ацилов жирных кислот лежат почти прямо на поверхности и известны специалистам в данной области. Например, этаноламиды жирных кислот могут быть синтезированы при взаимодействии жирной кислоты или хлорида жирной кислоты с аминокислотом, как описано Abadji et al (Abadji, V., Lin., S.J., Taha, G., Griffin., G., Stevenson, L.A., Pertwee, R.C. & Makriyannis, A. *J. Med.Chem.* 37, 189-1893 (1994)). Жирные кислоты могут быть получены аналогично способу Serdarevich'a и Carroll'a (Serdarevich, B. & Carroll, K.K. *J. Lipid Res.* 7, 277-284 (1966)). Радиоактивно меченые этаноламиды жирных кислот могут быть получены реакцией с ацилхлоридами (Nu - Check Prep, Elysian, MN) с  $^3\text{H}$ этаноломином (10-30 Ci/ммоль; American Radiolabeled Chemicals, St. Louis), как описано Desarnaud, F., Cadas, H. & Pionelli, D. (1995) *J.Biol. Chem.* 270, 6030-6035. Соединения могут быть очищены колоночной флеш-хроматографией или ВЭЖХ.

Идентичность соединений устанавливается с помощью ЯМР и/или газовой хроматографии - масс-спектрометрии и тонкослойной хроматографии.

Исходные реагенты и материалы могут быть закреплены у Avanti Polar Lipids, Cayman Chemicals (Ann Arbor, MI), Nu-Check Prep, Research Biochemicals, или Sigma. То есть в соответствии со способами, раскрытыми Giuffrida, A. et al. (см. Giuffrida, A. и Piomelli, D. in *Lipid Second Messengers* (Laycock, S.G. и Pubin, R.P. Eds. pp. 113-133 CRC Press LLC, Boca Raton, Florida и Devane et al. (Devane W., Hanuc, L. et al *Science* 258, 1946-1949 (1992))), немеченные или меченые этаноламины ацилов жирных кислот могут быть синтезированы реакцией соответствующих хлоридов ацилов жирных кислот с немеченым или меченым этаноломином. Хлориды жирных кислот можно растворить в дихлорметане (10 мг/мл) и дать прореагировать с этаноломином при  $-0,4^\circ\text{C}$  в течение 15 мин. Реакция может быть остановлена добавлением очищенной воды. После тщательного размешивания фазам следует дать отстояться для разделения. Верхняя водная часть удаляется. Органическую фазу дважды промывают водой. Эти промывки удаляют непрореагировавший этаноламин. Этот способ обеспечивает количественное образование этаноламинов ацилов жирных кислот. Этанолламины концентрируют до сухого состояния под струей азота и восстанавливают в органическом растворителе, таком как дихлорметан с концентрацией 20 мМ. Получившийся раствор этаноламидов жирной кислоты может храниться при  $-20^\circ\text{C}$ , пока не понадобится.

Химия карбоксильных групп жирных кислот, первичных и вторичных аминов и первичных спирто-

вых групп хорошо известна специалистам. Этаноламиды жирных кислот с различными заместителями в этаноламинной части могут быть получены различными путями, но самый предпочтительный - взаимодействием соответствующих замещенных остатков этаноламина и жирной кислоты. Такие замещенные этаноламины будут включать алкиламиноэтанольные простые эфиры и ациламиноэтанольные сложные эфиры, а также и вторичные алкилэтанол амины. Или же конкретный этаноламид жирной кислоты может быть синтезирован из соответствующего этаноламида жирной кислоты добавлением соответствующих замещающих групп.

Пример 2. Методы скрининга этаноламида жирной кислоты (FAE) *in vivo* и других соединений избрания.

Животные. Использовали самцов крыс Wistar (200-350 г). Процедуры должны соответствовать NIH руководству, детально изложенному в Guide for the Care and Use of Laboratory, и Директива Европейского Содружества 86/609/EEC, регламентирующим исследованием на животных.

Химические реагенты. FAE'ы и [ $^2\text{H}_4$ ]FAE'ы были синтезированы в лаборатории (Giuffrida et al., «Lipid Second Messengers» (ed. Laychock, S.G. & Rubin, R.P.) 113-133 (CRC Press LLC, Boca Raton, 1998)); 1,2-диолеил-sn-глицеро-фосфоэтанол амин-N-олеил был закуплен у Avanti Polar Lipids (Alabaster, AL); SR141716A предоставил RBI (Natick, MA) как часть Chemical Synthesis Program of the NIMH (N01MH30003); SR144528 был предоставлен Sanofi Recherche; все другие лекарства получены от Tocris Ballwin, MO или Sigma (Saint Louis, MO). FAE растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) и вводили в 70% DMSO в стерильном физрастворе (экстренное лечение) или в 5% Твин 80/5% пропиленгликоля в стерильном физрастворе (длительное лечение) (1 мл на кг, начальная точка). Капсаицин вводили в 10% твин/80/10% этанол /80% /физраствор; SR 141716 A, SR 144528, CCK-8 и CP-93129 в 5% Твин/80/5% пропиленгликоль/90% физраствор (1 мл на кг, начальная точка).

Определения ферментов. Во всех биологических экспериментах крыс забивали и собирали ткани между 1400 и 1600 ч, после различных по продолжительности периодов времени лишения пищи. Фракции микросом обрабатывали, как описано (De'sarnaud et al., J.Biod. Chem., 270:6030-6035 (1995)).

Анализы NAT выполнялись с использованием 1,2-ди [ $^{14}\text{C}$ ] пальмитил-Sn-глицерофосфохолина как субстрата (180 mCi/mmol, Amersham, Piscataway, NJ) (Cadas et al., H., J. Neurosci., 17,1226-1242 (1997)). FААН анализы выполняли согласно (Desarnaud et al., J.Biod. Chem., 270:6030-6035 (1995)), за исключением того, что [ $^3\text{H}$ ] анандамид-(арахидонил-[1- $^3\text{H}$ ]этанол амид; 60 Ci/ммоль; ARC, St.Louis, MO) был включен как субстрат, а радиоактивность измеряли в водной фазе после экстракции хлороформом.

ВЭЖХ/МС анализы. Плазму готовили из крови, полученной кардиальной пункцией (Giuffrida et al., Anal. Biochem., 280:87-93 (2000)), а CSF собирали из cisterna magna с помощью 27 1/2 G иглы (Precisionglide, USA). FAE'ы и NAPE экстрагировали из тканей смесью метанол/хлороформ и фракционировали хроматографией на колонке (Giuffrida et al., «Lipid Second Messengers» (ed. Laychock, S.G. & Rubin, R.P.) 113-133 (CRC Press LLC, Boca Raton, FL, 1998)). FAE'ы количественно определяли с помощью ВЭЖХ/МС с помощью метода изотопного разбавления (Giuffrida et al., Anal. Biochem., 280: 87-93 (2000)). Отдельные пробы NAPE были идентифицированы и количественно оценены путем ВЭЖХ/МС с помощью метода внешнего стандарта (Calignano et al., Nature, 408:96-101 (2000)).

Химия крови.  $\beta$ -гидроксibuтират и глицерин в плазме определяли с помощью коммерческих наборов (Sigma, St. Louis, MO). Пролактин, кортикостерон и лютеинизирующий гормон в плазме количественно определяли с помощью РИА (Navarro et al., Neuroreport, 8: 491-496 (1997)).

Опыты по питанию. Экстренные эксперименты. Прием пищи определяли для крыс, на 24 ч лишенных пищи (Navarro et al., J. Neurochem., 67,1982-1991 (1996)), вводя лекарства за 15 мин перед подачей корма. Полупериодические эксперименты. Ad libitum ручные крысы получали инъекции разбавителя в течение 3 дней. На четвертый день животных разделили на две равные группы и давали им ежедневные инъекции разбавителя или ОЕА (5 мг на кг при 1900 часах) в течение 7 последующих дней при измерении веса, количества потребляемой пищи и потребления воды.

Обусловленное вкусовое отвращение. Крысы были лишены воды на 24 ч и затем приучены пить из мерной бутылки в течение 30 мин продолжительности теста в течение четырех дней. На пятый день воду заменили 0,1% раствором сахараина, затем через 30 мин животные получили инъекцию разбавителя, ОЕА (20 мг на кг) или хлорида лития (0,4М, 7,5 мл на кг). В течение последующих двух дней через каждые 30 мин опыта отмечали потребление воды. Животным потом была предоставлена вода или раствор сахараина и выпитое регистрировалось.

Проявление реакции на пищу. Крыс тренировали для использования нажимного рычага по строго определенному плану 1 (FR1) с выдачей поощрительной порции еды строго в пределах 20 г воды в расчете на 1 крысу в день (Rodriquez de Fonseca et al., Asta Pharmacol. Sin., 20:1109-1114 (1999)). Как только стабильный результат получили, животных научили использовать FR5, выдерживать рычаг поступления пищи в течение 2 мин, и сохраняли ограниченный доступ к пище. Когда были получены данные, характеризующие исходный уровень (базовую линию), животных использовали для исследования влияния разбавителя или ОЕА (1,5 или 20 мг на кг), вводимых за 15 мин до использования нажимного рычага. Продолжительность опыта составляла 60 мин.

Анализ других поведенческих реакций. Опыт с подъемом и с лабиринтом проводили, как описано у



Navarro et al. (Neuroreport, 8:491-496 (1997)) после введения разбавителя или OEA (20 мг на кг, нач. точка). Горизонтальную активность в открытом пространстве (Beltramo et al., J. Neurosci, 20:3401-3407 (2000)) и тест на болевой порог на горячей пластине (Beltramo et al., Science, 277:1094-1097 (1997)) проводили в течение 15 мин после инъекции разбавителя или OEA (20 мг на кг). Ректальную температуру измеряли с помощью цифрового термометра (Martin - Calderon et al., Eur. J. Pharmacol., 344:77-86(1998)).

Гибридизация *in situ*. Крыс в течение пяти дней приучали к тому, чтобы брать их в руки и делать инъекции. На шестой день вводили разбавитель и лекарство - OEA (10 мг на кг, нач. точка) или олеиновую кислоту (10 мг на кг), затем через 60 мин крыс умерщвляли декапитацией под анестезией. Анализы гибридизации *in situ* проводили с помощью  $^{35}$ S-меченных к РНК проб на *c-fos* (Guthrie et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:3329-3333 (1993)) и холинацетилтрансферазы (ChAT) (Lauterborn et al., Brain Res. Mol. Brain Res., 17:59-69 (1993)). Средние значения плотности гибридизации были определены на основе по меньшей мере трех иссечений на крысу. Статистическая значимость определялась на основе однофакторного анализа (ANOVA) с последующим *post-hoc* опытом Tukey-Kramer для сопоставления пар сравниваемых величин.

Результаты анализа. Результаты выражают как среднее значение  $\pm$  s.e.m. для *n* отдельных экспериментов. Значимость различий между группами вычисляли с помощью ANOVA с последующим определением Student-Newman-Keuls *post-hoc*, если не оговорено иное.

Пример 3. Влияние голодания на уровни OEA и других FAE у крыс.

В одном варианте изобретение предусматривает способы лечения, согласно которым лица, нуждающиеся в снижении веса и/или степени ожирения, тестируются по уровням содержания OEA до и/или в течение лечебного голодания. Лица с низким уровнем OEA до или достигшие их после, в результате лечебного голодания, в частности, подвергаются затем лечению с помощью OEA.

Крыс лишали еды на время, пока периодически измеряли уровни FAE в крови сердца с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) вместе с электронной масс-спектрометрией (MS). Содержание OEA плазмы оставалось на исходном уровне в течение первых 12 ч голодания, значительно повышалось на 18-24 ч и возвращалось к норме на 30-ый час (фиг. 1a). Такого эффекта не наблюдалось после лишения воды (фиг. 1b) или применения стрессовых воздействий, таких как сковывающее обездвиживание или введение липополисахарида (LPS) [в пмоль на мл;  $10,3 \pm 0,8$ ; 60 мин спустя после 15 мин иммобилизации,  $8,4 \pm 1,6$ ; 60 мин спустя после инъекции LPS (1 мг/кг),  $7,0 \pm 0,7$ ; *n* = 6-9]. Эти виды обработки не особенно повлияли на уровень PEA в плазме (данные не приведены, тогда как снижение анандамида при лишении пищи шло быстро, оставаясь ниже базовой линии во время всего периода эксперимента (фиг. 1d). Уровни анандамида снижались также после иммобилизации (в пмолях/мл; контроль  $3,6 \pm 0,4$ ; иммобилизация,  $1,1 \pm 0,5$ ; *n* = 7-8; *P* < 0,01), обработки LPS (контроль,  $2,0 \pm 0,5$ ; LPS,  $0,2 \pm 0,2$ ; *n* = 6; *p* < 0,01) и, хотя и незначительно, после лишения воды (фиг. 1e). Эти результаты показывают, что колеблющиеся уровни OEA кратковременно повышаются во время периода лечебного голодания. Этот эффект проявляется у OEA по сравнению с анандамидом и другими FAE и кратковременно совпадает с повышением уровня глицерина и Р-гидроксibuтирата в крови (табл. 1), что свидетельствует о сдвиге энергетического метаболизма от углеводов к жирным кислотам как первичным источникам энергии (Cahill, G. F., Clin. Endocrinol. Metab., 5:397-415 (1976)).

Таблица 1. Уровни содержания  $\beta$ -гидроксibuтирата ( $\beta$ -HBA) и глицерина в плазме у голодающих крыс.

	$\beta$ -HBA	Глицерин
Питание без ограничений	$1,2 \pm 0,4$	$4,6 \pm 0,9$
2-х час. Голодание	$1,2 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,6$
4-х час. Голодание	$0,8 \pm 0,1$	$9,1 \pm 1,8$
8-час. Голодание	$1,3 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,4$
12-час. Голодание	$4,6 \pm 0,8^*$	$7,6 \pm 1,0$
18-час. Голодание	$6,8 \pm 0,4^*$	$8,4 \pm 0,4^*$
24-час. Голодание	$9,1 \pm 1,2^*$	$8,4 \pm 0,3^*$

\**P* < 0,05, *n* = 3 на группу; концентрации выражены в мг/дл.

Уровни OEA в цереброспинальной жидкости незначительно изменялись из-за лишения пищи (фиг. 1с), что означает, что всплеск OEA в плазме может происходить независимо от ЦНС. Чтобы проверить эту гипотезу, исследовали влияние лечебного голодания на метаболизм OEA в различных тканях крысы. Полагают, что биохимический путь продуцирования и расщепления OEA животными клетками включает три ключевые ферментативские стадии. Стимулируемая ионами кальция NAT активность переносит группу жирной кислоты из sn-1 положения донорского фосфолипида к первичному амину фосфатидилэтанол-

ламина, образуется NAPE 2 (Schmid et al., Chem. Phys. Lipids, 80:133-142 (1996); Piomelli et al., Neurobiol. Dis. 5:462-473 (1998)). Расщепление наружной фосфодиэфирной связи в NAPE неизвестной фосфолипазой D приводит к образованию FAE'ов (Schmid et al., Chem. Phys. Lipids, 80:133-142 (1996); Piomelli et al., Neurobiol. Dis. 5:462-473 (1998)), которые в конце концов расщепляются на жирную кислоту и этаноламин внутриклеточной гидролазой амидов жирной кислоты (FAAH) (Schmid et al., J. Biol. Chem., 260:14145 - 14149 (1985); Cravatt et al., Nature, 384: 83-87 (1996)). Лишение пищи (18 ч) сопровождалось значительным повышением активности NAT в тканях жировых отложений белого цвета (фиг. 2a), но не в тканях мозга, желудка или почки (фиг. 2b, d - данные не показаны). В печени, кишечнике и скелетной мышце активность NAT снижалась при голодании (фиг. 2c, d - данные не показаны). Эти изменения ферментативной активности в точности соответствовали колебаниям содержания NAPE в тканях. Некоторые типы молекул NAPE содержатся в тканях крысы, включая ОЕА предшественники алк-1-пальмитоенил-2-арахидонил-sn-глицерофосфоэтаноламин-N-олеил (NAPE 1, фиг. 3a) и алк-1-пальмитил-2-арахидонил-sn-глицерофосфоэтаноламин-N-олеил (NAPE 2; фиг. 3a); и РЕА предшественник алк-1-пальмитил-2-арахидонил-sn-глицерофосфоэтаноламин-N-пальмитил (не показано). В полном соответствии с определениями активности NAT лишение пищи повышало содержание NAPE в жире и уменьшало его в печени (фиг. 3 b,c).

Так как биосинтез NAPE и образование FAE представляют собой тесно связанные процессы (Cadas et al., J. Neurosci., 17:1226-1242 (1997)), можно предположить, что голодание повысит уровни ОЕА и других FAE в жировой ткани, но не в других тканях. Соответственно жир подвергнутых голоданию крысы содержал больше ОЕА и РЕА, чем жир не ограниченных в корме контрольных крыс (фиг. 3d, данные не показаны), тогда как в тканях мозга, желудка, кишечника такое различие не наблюдалось (данные не показаны). В противоположность нашим ожиданиям, тем не менее, содержание ОЕА и РЕА в печени было также выше у лишенных пищи крыс, по сравнению со свободно питающимися крысами (фиг. 3d, данные не показаны). Это расхождение может быть следствием аккумуляции FAE печенью, что согласуется с установленной ролью этого органа в плане улавливания FAE и их метаболизма (Bachur et al., J. Biol. Chem., 240:1019-1024 (1965); Schmid et al., J. Biol. Chem., 260:14145-14149 (1985)).

Гидролиз до жирных кислот и этаноламина, катализируемый FAAH, является ключевой ступенью в разрушении FAE (Bachur et al., J. Biol. Chem. 240:1019-1024 (1965); Schmid et al., J. Biol. Chem., 260:14145-14149 (1985); Cravatt et al., Nature, 384:83-87 (1996); Desarnaud et al., J. Biol. Chem., 270:6030-6035 (1995)). Лишение пищи значительно снижает FAAH активность в мембранах жировых клеток, но не оказывает влияния на FAAH активность в клетках мозга, печени, желудка, кишечника, почки и скелетной мышцы (фиг. 2 a-e, данные не показаны). Таким образом, лишение пищи может повышать уровни ОЕА и других FAE в белом жире двумя синергетическими путями, которые отличаются по механизму от других реакций, протекающих в процессе липолиза: стимуляция активности NAT может привести к усилению биосинтеза NAPE и FAE: тогда как ингибирование активности FAAH может пролонгировать жизненный цикл вновь синтезируемых FAE. Несмотря на то, что некоторые ткани могут участвовать в обеспечении нормальных уровней ОЕА в кровотоке, динамические биохимические изменения, наблюдаемые в жировых клетках, подчеркивают ключевую роль этой ткани в образовании ОЕА в период голодания.

Пример 4. Подавление потребления пищи с помощью ОЕА и других FAE.

Влияние систематически вводимых ОЕА на потребление пищи крысами может быть оценено после 24 ч голодания. В этой системе ОЕА вызывал зависимое от дозы и времени подавление потребления пищи (фиг. 4a, b). Для определения специфики этой реакции различные аналоги ОЕА оценивались по их способности вызывать гипофагию. Анандамид и олеиновая кислота не имели эффекта.

Пальмитилэтаноамид был активным, но гораздо в меньшей степени, чем ОЕА. Элаидилэтаноамид (неприродный аналог ОЕА) по активности был подобен ОЕА (фиг. 4a).

Эти результаты показывают, что ОЕА снижает потребление пищи дифференцированно-селективным образом и что можно выделить и другие соединения, подобные этаноламидам жирных кислот, для использования в соответствии с настоящим изобретением.

Пример 5. Специфичность по сравнению с активаторами рецепторов каннабиноидов.

Вещества, обеспечивающие ОЕА гипофагию, совершенно отличны от тех, что участвуют во взаимодействии анандамида с его известными мишенями каннабиноидной природы (Khanolkar et al., Life Sci., 65:607-616 (1999)). Антагонисты каннабиноидных рецепторов не оказывают влияния на ОЕА гипофагию *in vivo*, а ОЕА не вмешивается в связывание каннабиноидов с мембранами мозга крыс *in vitro*. Так что несмотря на структурное и биогенетическое родство с анандамидом, ОЕА не зависит от эндогенной каннабиноидной системы, чтобы обусловить анорексию.

Пример 6. Поддерживаемое уменьшение веса.

В некоторых вариантах соединения данного изобретения у млекопитающих обеспечивается сохраняемое снижение степени ожирения или снижение веса в течение продолжительного периода лечения.

Этот эффект весьма выгоден, т.к. многие лекарственные средства подавляют аппетит в момент введения лекарства, но этот эффект прекращается при продолжительном лечении (Blundell, J., Trends Pharmacol. Sci., 12:147-157 (1991)).

Крысам периодически вводили ОЕА. Ежедневные инъекции ОЕА (5 мг/кг, *i. p.*) в течение семи дней

привели к небольшому, но существенному снижению общего потребления пищи (фиг. 5a), которое сопровождалось значительным ингибированием прибавки в весе (фиг. 5b, c). ОЕА не оказывал влияния на потребление воды (фиг. 5d). Воздействие ОЕА на вес только частично объясняется его умеренным уменьшением потребления пищи, показывающим, что другие факторы, такие как стимуляция расхода энергии или торможение аккумуляции энергии, могут вносить свой вклад в этот эффект.

Пример 7. FAE'ы могут иметь вспомогательную точку воздействия.

По одному из аспектов данное изобретение предлагает соединения с периферическим местом воздействия. Наличие такого места благоприятно из-за уменьшения вероятности побочных эффектов со стороны центральной нервной системы.

Будучи весьма действенным при периферическом введении ОАЕ оказался неэффективным в результате прямой инъекции в желудочки головного мозга (табл. 2), что дает возможность сделать заключение о том, что первичные центры действия этого соединения могут быть локализованы вне ЦНС. Как дополнительное подтверждение чувствительные волокна блуждающего нерва и других периферических нервов были химически разрушены обработкой взрослых крыс, нейротоксином, капсаицином (Кареко et al., *Am. J. Physiol.* 275: G 1056- G 1062 (1998)). Обработанные капсаицином крысы прекращали реагировать на периферически вводимый холецистокинин-8 (ССК-8) (фиг. 6, а, с), пили больше воды, чем контрольные мыши (фиг. 6 b, d) и утрачивали рефлекс роговицы на химические раздражители (данные не показаны), три свидетельства, что нейротоксин разрушил чувствительные афференты (Mac-Lean, D.B., *Regul. Pept.*, 11:321-333(1985); Ritter of al., *Am. J. Physiol.*, 248: R501-R504 (1985); Curtis et al., *Am. J. Physiol.*, 272. R704-R709 (1997)). Обработанные животные утрачивали также способность реагировать на САЕ (10 мг/кг, нач. точка), но нормально реагировали на соединение CP-93129, которое связывается с 5-HT<sub>1B</sub> рецепторами в ЦНС (фиг. 6a, c) (Lee et al., *Psychopharmacology*, 136,304-330(1998)). Эти открытия подтверждают гипотезу о том, что ОАЕ вызывает гипофагию воздействием на периферическую точку и что для этого нужны чувствительные волокна.

Таблица 2. Влияние интрацеребровентрикулярного пранамида на потребление пищи.

	60 мин	120 мин	240 мин
разбавитель	5,8±0,6	8,0±0,5	9,5±0,5
прана 0,4 мкг	4,8±0,4	6,6±0,4	8,4±0,4
прана 2 мкг	4,9±0,4	6,6±0,6	8,7±0,5
прана 10 мкг	5,9±0,2	8,1±0,4	9,6±0,7

Пранамид / ОЕА (прана, мкг на животное) или разбавитель (DMSO, 5 мкл) вводили крысам, лишенным пищи в течение 24 ч за 15 мин перед осмотром, n = 12 (в группе). Для соединений данного изобретения могут использоваться вспомогательные (периферические) сенсорные входы для подавления аппетита. Вспомогательные сенсорные входы относятся к некоторым укрепляющим подавление аппетита структурам ЦНС, которые включают ядра единственного тракта (NST) в стволе головного мозга, а также аркообразный и паравентрикулярный (PVN) центры в гипоталамусе (Schwartz et al, *Nature*, 404:661-671 (2000)). Чтобы идентифицировать пути в мозге, задействованные в процессе ОЕА - индуцированной гипофагии, картировали уровни активности мРНК, регулируемой геном с - fos (Curan et al., *Oncogene*, 2:79-84 (1987)) с помощью *in situ* гибридизации после систематического введения ОЕА, олеиновой кислоты или разбавителя. При сравнении с контролем ОЕА (10 мг/кг i. p.) вызвал ярко выраженное повышение уровня с-fos мРНК в PVN, супраоптические ядра (фиг. 7a) и NST (фиг. 7c). Это повышение было специфическим в этих областях поскольку, с-fos экспрессия в других участках мозга не так сильно поддается воздействию ОЕА (фиг. 7 b, d). Открытие того факта, что ОЕА стимулирует с-fos экспрессию мРНК в NST (который осуществляет вагусные сенсорные входы в ЦНС) и PVN (Первичный центр гармоничного сочетания катаболических сигналов центра) (Schwartz et al., *Nature*, 404:661-671 (2000)), согласуется с физиологической ролью этого липида как вспомогательного медиатора анорексии.

Возможно, что ОЕА снижал потребление пищи, вызывая неспецифическое состояние бихевиорального подавления. Если это так, ОЕА должен вызывать устойчивое вкусовое отвращение, которое может быть легко вызвано у крыс какими-нибудь ядовитыми веществами (Green et al., *Science*, 173:749-751(1971)), включая хлорид лития (фиг. 4c).

Однако, максимальная доза ОЕА (20 мг/кг, нач. точка) показала небольшой эффект в этом исследовании (фиг. 4c), что дает возможность предположить, что это соединение может быть не вызывающим отвращения. Ряд проведенных дополнительных наблюдений подтверждают бихевиоральную специфичность ОЕА. ОЕА не влияет на потребление воды, не изменяет температуры тела, болевого порога (фиг. 4d-f) или активности гипоталамус-питуитарно-адренальной (HPA) системы позвоночника (табл. 3). Кроме того, ОЕА не вызывает входных с тревогой симптомов (фиг. 4g) и, хотя она уменьшает двигательную активность и реакции по отношению к пище, это имеет место при дозе, существенно превышающей требуемую для того, чтобы вызвать гипофагию (фиг. 4 h-i). Этот фармакологический график отличает ОЕА

от других средств, подавляющих аппетит, таких как амфетамин и глюкагонподобный пептид 1 (которые действуют, часто вызывая отвращение, гиперактивность, тревогу и активацию НРА системы позвоночника), и от эндогенного каннабиноидного анандамида (который стимулирует прием пищи у частично сытых животных, повышает порог боли, снижает температуру тела и активирует МРА систему позвоночника) (Pertwee, R. G., Exp. Opin. Invest. Drugs, 9:1553-1571 (2000)).

Таблица 3. Влияние ОЕА на уровни гормонов в плазме

	<b>B</b>	<b>PRL</b>	<b>LH</b>
<b>разбавитель</b>	<b>212 ± 24</b>	<b>10,8 ± 2,7</b>	<b>5,3 ± 0,9</b>
<b>прана 20</b>	<b>280 ± 61</b>	<b>8,2 ± 3,2</b>	<b>6,2 ± 1,5</b>

В табл. 3 уровни кортикостерона плазмы (B), пролактина (PRL) и лютеинизирующего гормона (LH) измеряли с помощью РИА в образцах плазмы, собранной через 60 мин после инъекции разбавителя или пранамида (прана, в мг/кг, нач. точка) и выразили в нг/мл; n = 6-9 (в группе).

ОЕА вызывает гипофагию в физиологически релевантных дозах. Спустя 1 ч после введения половинной максимальной эффективной дозы (5 мг/кг, i. p.) полученные уровни содержания циркулирующего ОЕА ( $16,1 \pm 2,6$  пмоль/мл) были значительно выше базовой линии ( $10,1 \pm 1,1$ ;  $p < 0,05$ , опыт Student'a;  $n = 5$ ), но ниже значений, определенных у животных, лишенных пищи в течение 18 ч (фиг. 1a). Таким образом, концентрации, которые были обусловлены ОЕА в крови в течение периода лечебного голодания, могут быть существенными для выявления улучшенных бихевиоральных реакций.

Пример 8. Идентифицирование соединений данного изобретения, которые снижают степень ожирения.

Следующие примеры показывают, как распознать (идентифицировать) вещества, подавляющие аппетит, используя ОЕА как позитивный контроль. В частности, обсуждается синтез ОЕА, определение снижения степени ожирения и окисления жирных кислот.

#### Синтез ОЕА

Олеилхлорид может быть закуплен у Nu - Check Prep (Elyson, MN) или может быть получен следующим стандартным способом. Олеилхлорид растворяют в дихлорметане (10 мг/мл) и дают взаимодействовать с пятью эквивалентами этаноламина в течение 15 мин при 0-4°C. Реакцию останавливали добавлением очищенной воды. После тщательного перемешивания и разделения фаз верхний водный слой удаляют, а органическую фазу дважды промывают водой для удаления непрореагировавшего этаноламина. Получившийся в результате ОЕА концентрируют для сухого состояния в струе азота, восстанавливают в хлороформе при 20 мМ и хранят при -20°C, пока не понадобится.

#### Определение снижения степени ожирения, вызванного использованием исследуемых соединений

Способность соединения снижать степень ожирения может быть оценена несколькими способами. Например, соответствующие количества ОЕА и/или исследуемых соединений вводят крысам с помощью внутрибрюшинной инъекции. ОЕА и исследуемые соединения могут быть в среде 70% DMSO в стерильном физрастворе, 5% Твин 80/5% пропиленгликоля в стерильном физрастворе или 10% Твин 80/10% этанол/80% физраствора. 5 мг ОЕА на кг может быть использовано как положительный контроль. Вводимые количества исследуемых соединений могут колебаться, например, до 1 до 25 мг/кг. Обычно дозы каждого соединения в 1, 2, 5, 10, 15 и 20 мг/кг могут вводиться крысам в различные точки для определения оптимальной дозы. Инъекции могут осуществляться за 30 мин до основного кормления животных в течение 7-14 дней. Влияние исследуемого соединения на общее ожирение может быть определено путем непосредственных измерений жира животного с помощью кронциркуля (по обхвату). Кожу на спине крысы, брюшке, грудной клетки, передних и задних лапках можно зажать кронциркулем, чтобы оценить положение перед введением ОЕА и/или исследуемых соединений и в течение каждых 48 ч во время и после введения ОЕА и/или исследуемых соединений. Разница по крайней мере в двух точках зажима отражает изменение общей степени ожирения крысы.

#### Определение окисления жирных кислот, вызванного исследуемыми соединениями

Соединения можно также исследовать на предмет их влияния на метаболизм жирных кислот. Это влияние на метаболизм жирных кислот может быть определено путем оценки окисления жирных кислот в первичных культурах клеток печени. Гепатоциты могут использоваться для определения степени окисления олеата в кетонные структуры и диоксид углерода. Такие клетки можно выделить из печени взрослой крысы энзиматической обработкой (перевариванием), как описано Beynen et al., в Diabetes 28:828 (1979). Клетки обычно выращивают в суспензии и инкубируют в Krebs-Henseleit's бикарбонатной среде с добавлением 5СА и глюкозы, как описано Guzman & Geelen, Biochem. J. 287:487 (1992). Концентрация белка в культуре клеток может быть определена, и клетки засевают в 2 мл среды так, что в реакционной смеси содержится 4-6 мг белка на мл. Клетки можно инкубировать в течение 10 мин при 37°C с [<sup>14</sup>C]-олеиновой кислотой (Amersham), в присутствии или в отсутствии 10 μМ ОЕА, реакции могут быть остановлены 200 μл 2М хлорной кислоты. В кислоте продукты экстрагируют смесью хлороформ/метанол/вода (5:1:1, об:об:об). Водную фазу удаляют и промывают более двух раз. Концентрацию белка можно определить методом Лаури. Скорость превращения олеата в кетонные структуры может

быть выражена в нмоль окисленного олеата в час на мг белка и может быть определена с помощью жидкостного сцинтилляционного подсчета. Соответственно ОЕА увеличивает окисление олеата на  $21 \pm 6\%$  ( $n = 4$ ,  $p < 0,01$  против контрольных инкубации по Studen (t критерию)).

Пример 9. Влияние ОЕА на метаболизм жирных кислот.

Олеилэтаноламид (ОЕА) снижает вес тела не только за счет подавления аппетита, но также и за счет возможного усиления катаболизма жиров в организме. Проверяли влияние ОЕА на окисление жирных кислот в основных сжигающих жир тканях (двигательная мышца, печень, культивируемые кардиоциты и астроциты). ОЕА значительно стимулирует окисление жирных кислот в первичных культурах клеток печени, скелетной мышцы, клеток сердца, тогда как этот эффект отсутствует для культур астроглиальных клеток выделенных из головного мозга. Кроме того, ОЕА вызывает существенную мобилизацию запасов триацилглицеринов из первичных клеток белой жировой ткани. В табл. 4 раскрыты способы и влияние ОЕА на окисление жирных кислот в этих клетках. Опыты по выяснению взаимосвязи структуры и активности дают доказательство, что влияние ОЕА на окисление жирных кислот в скелетной мышце является специфическим (фиг. 8). Таким образом, влияние ОЕА является устойчивым к гидролизу гомологом метил-ОЕА и (отчасти) пальмитилэтаноламидом (РЕА), но не арахидонилэтаноламидом (АЕА) или олеиновой кислотой (ОА). Эти результаты показывают, что окисление липидов и мобилизация усиливаются с помощью ОЕА и что влияние ОЕА ограничено периферийными областями.

Таблица 4

клетка/ткань	гепатоцит	скелетная мышца	кардиомиоцит	астроцит	адипоцит
происхождение	печень взрослой крысы	Задняя конечность взрослой крысы	Сердце новорожденной крысы	Кора головного мозга новорожденной крысы	Эпидидиму с взрослой крысы
метод выделения	Энзиматич. расщепление (Beynen et al., 1979)	Исечение (Chiasson, 1980)	Энзиматическое расщепление (Flink et al., 1992)	Энзиматическое расщепление (McCarthy & De Vellis, 1980)-	Энзиматич. расщепление (Rodbell, 1964)
тип культуры	клеточная суспензия	тканевая суспензия	клеточный монослой	клеточный монослой	клеточная суспензия
среда для инкубации	Krebs-Henseleit бикарбонатная среда с BSA и глюкозой (Guzman & Geelen, 1992)	Krebs-Henseleit Hepes среда с BSA и глюкозой (Fruebis et al., 2001)	Среда DMEM с высоким содержанием глюкозы и BSA (Wu et al., 2000)	среда Hams F12/DMEM с инсулином, трансферрином, прогестероном, путресцином и селенитом (Blazquez et al., 1998)	Среда Krebs-Henseleit Hepes с BSA и глюкозой (Rodbell, 1965)
метаболический признак	окисление [ $^{14}$ C] олеата до кетонов (Guzmann & Geelen, 1992)	окисление [ $^{14}$ C] олеата до CO <sub>2</sub> (Fruebis et al., 2001)	окисление [ $^{14}$ C] олеата до CO <sub>2</sub> (Blazquez et al., 1998)	окисление [ $^{14}$ C] олеата до кетонов (Blazquez et al., 1998)	Липолиз (выделение глицерина) (Serradeil-Le Gal et al., 2000)
Время	10	30	30	30	30
инкубации (мин)					
Стимулирующий эффект 10 $\mu$ M ОЕА (%)	21 $\pm$ 6 (n=4)	36 $\pm$ 10 (n=4)	37 $\pm$ 9 (n=3)	2 $\pm$ 6 (n=3)	38 $\pm$ 16 (n=3)
Статистич. значимость по сравн. с контролем	P<0.01	P<0.01	P<0.01	не существенно	P<0.01

Цитируемые источники: Beynen AC et al. Diabetes 28:828-835 (1979); Blazquez C et al, J Neurochem 71:1597-1606 (1998); Chiasson RB «Laboratory Anatomy of the White Rat» WCB, Dubuque, Iowa (1980); Funk IL et al, J Biol Chem 267:9917-9924 (1992); Fruebis J et al, Proc Natl Acad Sci USA 98:2005-2010 (2001); Guzman M et al, Biochem J 287:487-492 (1992); McCarthy KD et al, J Cell Biol 85:890-902 (1980); Rodbell M J Biol Chem 239:375-380 (1964); Rodbell M Ann NY Acad Sci 131:302-314 (1965); Serradeil-Le Gal C et al,

FEBS Lett 475:150-156 (2000); Wu W et. al., J Biol Chem 275:40133-40119 (2000).

#### Пример 10. Значение эндогенного ОЕА для кишечника

Изучали воздействие питания на биосинтез кишечного ОЕА. С помощью анализов высокоэффективной жидкостной хроматографии /масс-спектрометрии обнаружено, что ткань тонкой кишки свободно питающихся крыс содержит значительные количества ОЕА ( $354 \pm 86$  пмоль/г,  $n = 3$ ). Уровни кишечного ОЕА заметно снижались после ограничения в пище, но возвращались к исходному уровню после возвращения нормального питания. В желудке, наоборот, не наблюдали никаких изменений (в пмоль/г, контроль  $210 \pm 20$ ; голодание,  $238 \pm 84$ ; голодание/возврат к нормальному питанию,  $239 \pm 60$ ,  $n = 3$ ). Колебания интестинального содержания ОЕА сопровождалось параллельными изменениями активности NAT, которая принимает участие в процессе образования ОЕА, но не изменялась активность гидролазы амидов жирных кислот, которая катализирует гидролиз ОЕА. Эти открытия позволяют предположить, что голодание и питание соответственно регулируют биосинтез ОЕА в тонкой кишке. В соответствии с этим внутрибрюшинным источником ОЕА было обнаружено, что уровни ОЕА в плазме у голодающих крыс выше в портальной крови, чем в кавальной (в пмолмл, портальная,  $14,6 \pm 1,8$ , кавальная;  $10,3 \pm 2,8$ ,  $n = 5$ ). Участие других внутрибрюшинных тканей в образовании ОЕА не может быть исключено. Эти результаты подразумевают различные вмешательства, влияющие на роль ОЕА в поведении, связанном с питанием. Согласно этой модели, прием пищи может стимулировать активность NAT, стимулирующую биосинтез ОЕА в тонкой кишке и, возможно, других внутрибрюшинных тканях. Вновь образовавшийся ОЕА может активировать местные чувствительные волокна, которые могут в свою очередь тормозить питание, задействуя такие структуры мозга как NST и PVN.

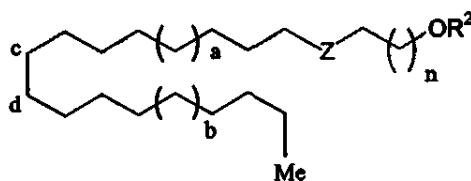
Эти результаты показали неожиданную роль ОЕА в периферическом регулировании потребления пищи и обеспечивают контуры для разработки новых лекарственных средств для снижения веса или степени ожирения, для предотвращения прибавки в весе или повышения степени ожирения, для подавления аппетита или снижения желания есть или потребления пищи и для лечения нарушений, связанных с повышенным весом или тучностью. Эти лекарственные средства должны включать не только аналоги и гомологи ОЕА, но также средства контроля уровня ОЕА путем воздействия на образование ОЕА и гидролизующие системы и ферменты, описанные выше.

Все публикации и патентные заявки, приведенные в этом описании, включены как ссылочные материалы в такой мере, которая не является несовместимой с представленным описанием, как если бы было показано, что каждая конкретная публикация или заявка на патент были бы специально и индивидуально включены в виде ссылок.

Несмотря на то, что вышеизложенное изобретение описано детально с помощью иллюстративных данных и примеров для обеспечения ясности понимания, специалисту в данной области будет очевидно в отношении замысла данного изобретения, что могут быть осуществлены определенные изменения и модификации без искажения идеи и объема предлагаемой формулы изобретения.

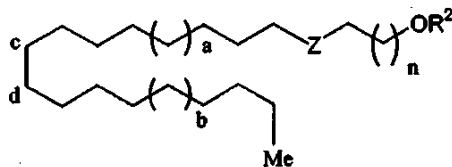
#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ снижения потребления пищи млекопитающим, включающий введение указанному млекопитающему в количестве, эффективном для снижения потребления пищи, соединения формулы



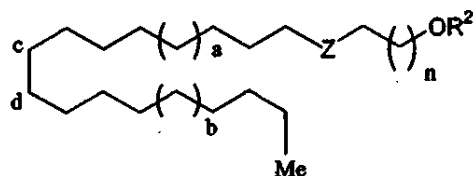
или его фармацевтически приемлемой соли, где  $n$  равно от 0 до 5, сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4,  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из  $-C(O)N(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $NR^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода,  $C_1-C_6$  алкила и низшего ( $C_1-C_6$ ) ацила, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в алканольной части замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной.

2. Способ регулирования метаболизма жирных кислот у млекопитающего, включающий введение указанному млекопитающему в количестве, эффективном для регулирования метаболизма жирных кислот, соединения формулы



или его фармацевтически приемлемой соли, где  $n$  равно от 0 до 5, сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4,  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из  $-C(O)N-(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $NR^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода,  $C_1-C_6$  алкила и низшего ( $C_1-C_6$ ) ацила, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в алканольной части замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной.

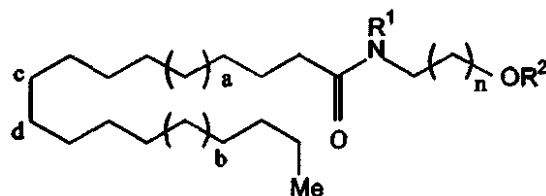
3. Способ снижения или контроля степени ожирения у млекопитающего, включающий введение указанному млекопитающему в количестве, эффективном для снижения или контроля степени ожирения, соединения формулы



или его фармацевтически приемлемой соли, где  $n$  равно от 0 до 5, сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4,  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из:  $-C(O)N-(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $NR^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода,  $C_1-C_6$  алкила и низшего ( $C_1-C_6$ ) ацила, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в алканольной части замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной.

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором соединение формулы представляет собой алканаламид жирной кислоты, включающий остаток жирной кислоты и остаток алканоламина, соединенные амидной связью.

5. Способ по любому из пп.1-3, в котором алканаламид жирной кислоты представляет собой соединение формулы



или его фармацевтически приемлемую соль, где  $n$  равно от 0 до 4, сумма  $a$  и  $b$  равна от 1 до 3,  $R^1$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, включающей водород,  $C_1-C_6$  алкил и ( $C_2-C_6$ ) ацил, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в части алканоламина замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной.

6. Способ по любому из пп.1-3, в котором соединение представляет собой олеилэтаналамид.

7. Способ по п.5, в котором алканаламид жирной кислоты представляет собой остаток жирной кислоты, ковалентно связанный с остатком этаноламина с помощью амидной связи.

8. Способ по п.5, в котором остаток жирной кислоты мононенасыщенный.

9. Способ по п.5, в котором остаток жирной кислоты является остатком олеиновой кислоты.

10. Способ по п.5, в котором остаток жирной кислоты выбирают из группы, состоящей из элаидиновой кислоты, линолевой кислоты, альфа-линоленовой кислоты и гамма-линоленовой кислоты.

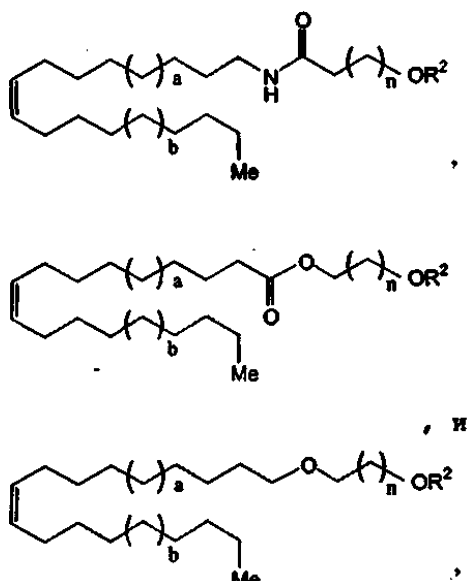
11. Способ по любому из пп.1-3, в котором млекопитающее - это человек.

12. Способ по любому из пп.1-3, в котором введение осуществляют парентеральным, трансдермальным, местно, ректально или интраназальным путем.

13. Способ по п.1, в котором введение осуществляют оральным путем.

14. Способ по п.13, в котором соединение является снабженным солюбильным покрытием.

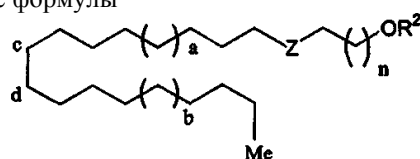
15. Способ по любому из пп.1-3, в котором используют соединение одной из следующих формул:



где  $n$  равно от 1 до 5, а сумма  $a$  и  $b$  равна от 0 до 4;  $R^2$  выбран из группы, состоящей из водорода,  $C_1$ - $C_6$  алкила и  $C_2$ - $C_6$  ацила, и до четырех атомов водорода в жирно-кислотной части и в алканольной части могут также быть замещены метилом или двойной связью, соединяя соседние атомы.

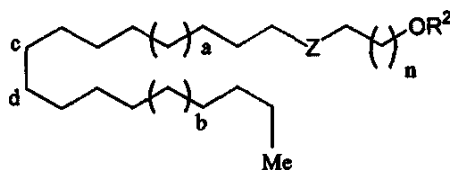
16. Способ по п.5, в котором вводят лекарство, пригодное для соблюдения режима питания или лечения, профилактики, подавления или облегчения состояния ожирения.

17. Фармацевтическая композиция для снижения потребления пищи, включающая фармацевтически пригодный носитель и соединение формулы



или его фармацевтически приемлемой соли, где  $n$  равно от 0 до 5, сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4,  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из:  $-C(O)N-(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $NR^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода,  $C_1$ - $C_6$  алкила и низшего ( $C_2$ - $C_6$ ) ацила, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в алканольной части замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной, отличающаяся тем, что композиция находится в виде однократных доз и обеспечивает количество соединения, эффективное для уменьшения потребления пищи.

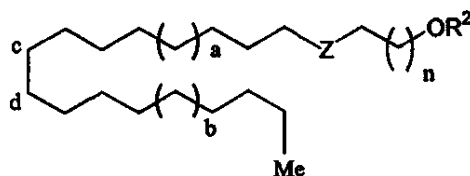
18. Фармацевтическая композиция для снижения или контроля степени ожирения, включающая фармацевтически пригодный носитель и соединение формулы



или его фармацевтически приемлемой соли, где  $n$  равно от 0 до 5, сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4,  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из  $-C(O)N-(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $NR^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода,  $C_1$ - $C_6$  алкила и низшего ( $C_2$ - $C_6$ ) ацила, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в алканольной части замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной, отличающаяся тем, что композиция находится в виде однократных доз и обеспечивает количество соединения, эффективное для снижения или контроля степени ожирения.

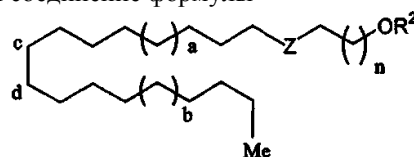
19. Фармацевтическая композиция для уменьшения или контроля аппетита, включающая фармацевтически пригодный носитель и соединение формулы





или его фармацевтически приемлемой соли, где  $n$  равно от 0 до 5, сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4,  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из  $-C(O)N-(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $NR^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода,  $C_1-C_6$  алкила и низшего ( $C_2-C_6$ ) ацила, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в алканольной части замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной, отличающаяся тем, что композиция находится в виде однократных доз и обеспечивает количество соединения, эффективное для уменьшения или контроля аппетита.

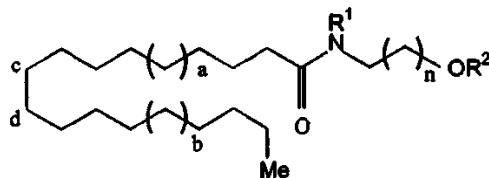
20. Фармацевтическая композиция для снижения или контроля веса, включающая фармацевтически пригодный носитель и соединение формулы



или его фармацевтически приемлемой соли, где  $n$  равно от 0 до 5, сумма  $a$  и  $b$  может быть равна от 0 до 4,  $Z$  представляет собой фрагмент, выбранный из группы, состоящей из  $-C(O)N-(R^0)-$ ;  $-(R^0)NC(O)-$ ;  $-OC(O)-$ ;  $-(O)CO-$ ;  $O$ ;  $NR^0$  и  $S$ , где  $R^0$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, состоящей из замещенного или незамещенного алкила, водорода,  $C_1-C_6$  алкила и низшего ( $C_2-C_6$ ) ацила, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в алканольной части замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной, отличающаяся тем, что композиция находится в виде однократных доз и обеспечивает количество соединения, эффективное для снижения или контроля веса.

21. Композиция по любому из пп.17-20, в которой соединение представляет собой алканоламид жирной кислоты, включающий остаток жирной кислоты и остаток алканоламина, соединенные амидной связью.

22. Композиция по любому из пп.17-20, в которой алканоламид жирной кислоты представляет собой соединение формулы



или его фармацевтически приемлемую соль, где  $n$  равно от 0 до 4, сумма  $a$  и  $b$  равна от 1 до 3, а  $R^1$  и  $R^2$  представляют собой фрагменты, независимо выбранные из группы, включающей водород,  $C_1-C_6$  алкил и низший ( $C_2-C_6$ ) ацил, и где до четырех атомов водорода и в жирно-кислотной части, и в части алканоламина замещены метилом или двойной связью, а связь между атомами углерода в положениях  $c$  и  $d$  может быть ненасыщенной или насыщенной.

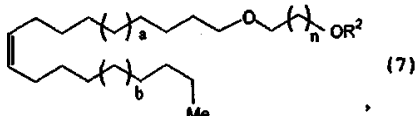
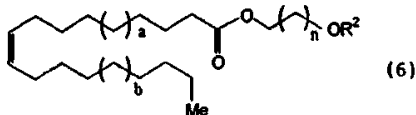
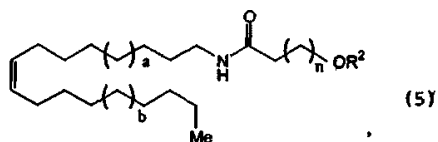
23. Композиция по любому из пп.17-20, в которой соединение представляет собой олеилэтаноламид.

24. Композиция по п.21, в которой алканоламид жирной кислоты включает остаток жирной кислоты, ковалентно связанный с остатком этаноламина с помощью амидной связи.

25. Композиция по любому из пп.17-20, которая представляет собой состав для орального введения.

26. Композиция по любому из пп.17-20, которая содержит энтеросолюбильное покрытие.

27. Композиция по любому из пп.17-20, в которой соединение имеет формулу, выбранную из следующей группы:

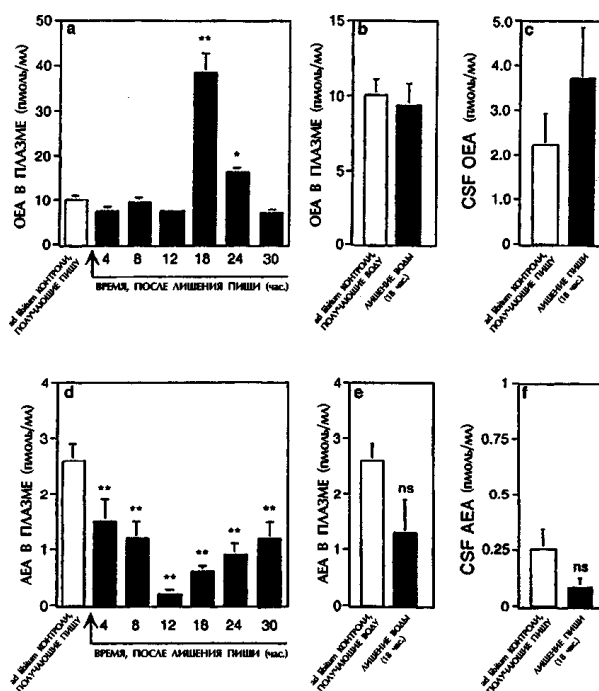


где  $n$  равно от 1 до 5, а сумма  $a$  и  $b$  равна от 0 до 4;  $R^2$  выбран из группы, состоящей из водорода,  $C_1$ - $C_6$  алкила и  $C_2$ - $C_6$  ацила, и до четырех атомов водорода в жирно-кислотной части и в алканольной части могут также быть замещены метилом или двойной связью, соединяя соседние атомы.

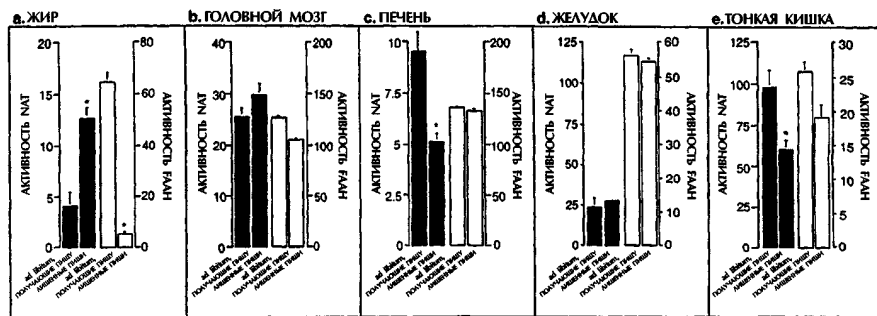
28. Композиция по п.21, которая дополнительно содержит лекарство, пригодное для соблюдения режима питания или лечения, профилактики, подавления или облегчения состояния ожирения.

29. Композиция, включающая олеилэтаноламид, причем композиция находится в виде, предназначенном для орального введения.

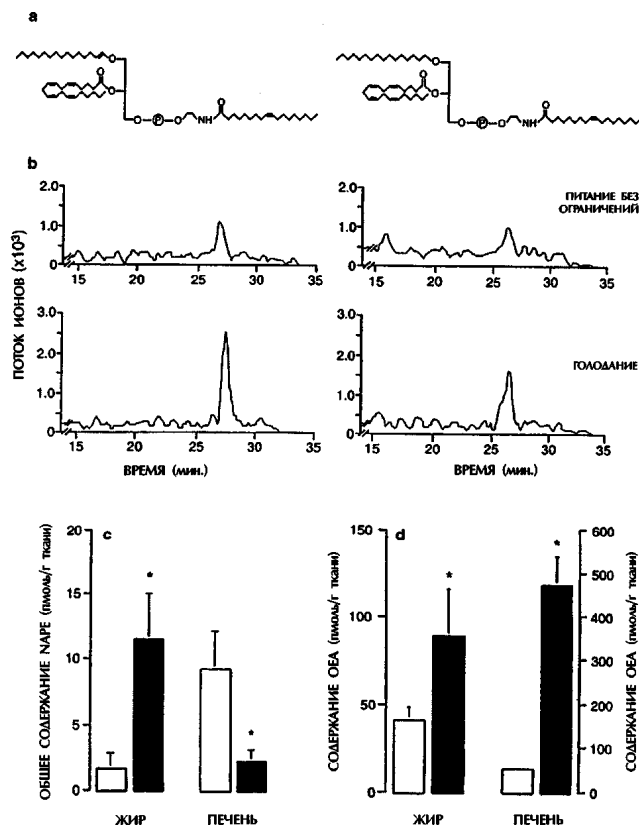
30. Композиция по п.29, которая содержит энтеросолюбильное покрытие.



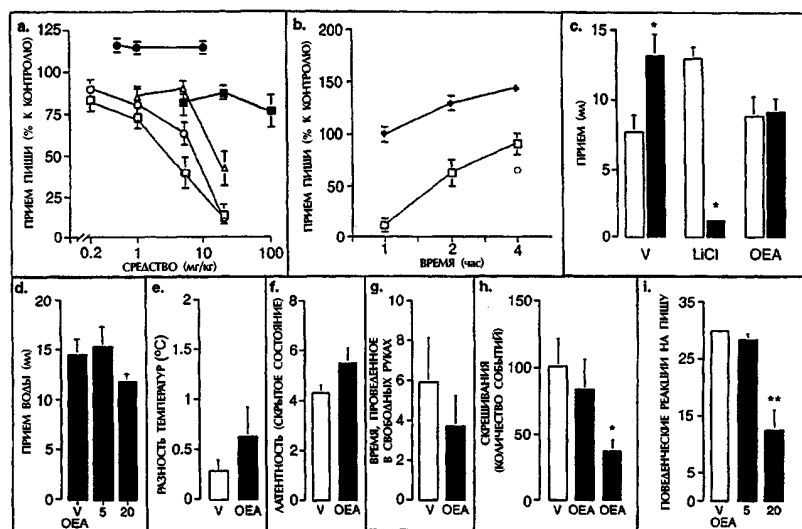
Фиг. 1



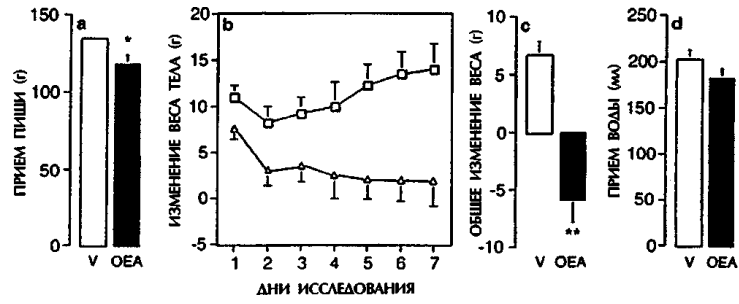
Фиг. 2



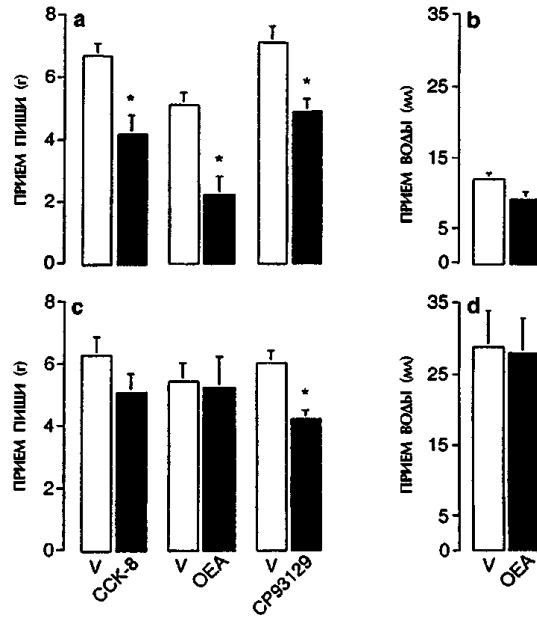
Фиг. 3



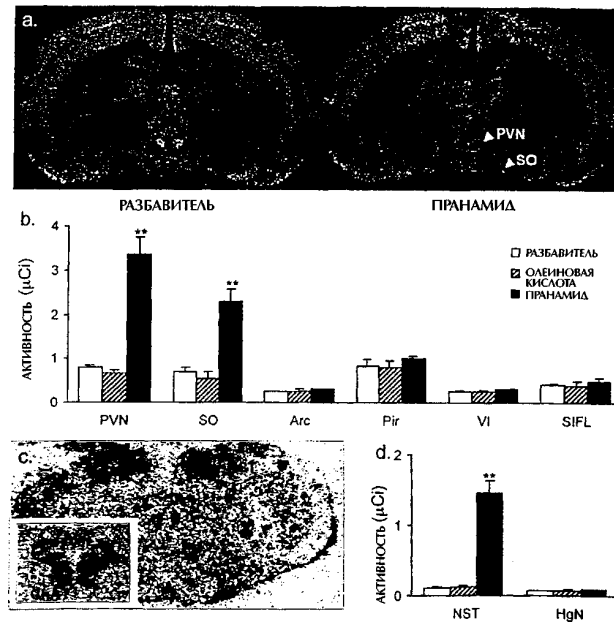
Фиг. 4



Фиг. 5

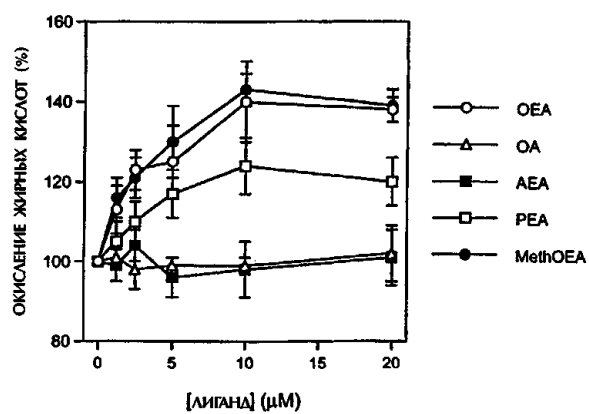


Фиг. 6



Фиг. 7

СТИМУЛЯЦИЯ ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ  
СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ ОЕА  
(SAR ИССЛЕДОВАНИЯ)



Фиг. 8



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2/6