

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

(19) BG

(11) 63534 B1



ОПИСАНИЕ КЪМ ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

7(51) C 07 C 59/305
C 07 C 59/315
C 07 C 47/198
C 07 C 59/353
C 07 D 257/04
A 61 K 31/19

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 101993

(22) Заявено на 24.10.97

(24) Начало на действие
на патента от: 05.02.96

Приоритетни данни

(31) 409780 (32) 24.03.95 (33) US

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 5 на 29.05.98

(45) Отпечатано на 30.04.2002

(46) Публикувано в бюлетин № 4
на 30.04.2002

(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(73) Патентоприетжател(и):

WARNER-LAMBERT COMPANY
MORRIS PLAINS, NJ (US)

(72) Изобретател(и):

Charles Larry Bisgaier
Paul Leroy Creger
Alan Robert Saltiel
Ann Arbor, MI
Sherrie Rae Tafuri
Dexter, MI (US)

(74) Представител по индустриална
собственост:

Фани Владимирова Божинова,
1000 София, п.к. 728

(86) № и дата на PCT заявка:

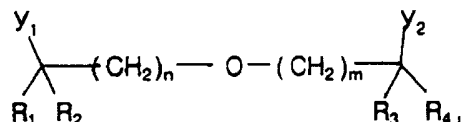
PCT/US96/01639, 05.02.96

(87) № и дата на PCT публикация:

WO96/30328, 03.10.96

(54) ДИАЛКИЛЕТЕРИ, СЪДЪРЖАЩИ КРАЙНИ КАРБОКСИЛНИ ИЛИ ТЕТРАЗОЛНИ ГРУПИ

(57) Изобретението се отнася до карбокси- или тетразолзаместени диалкилетери и до техните соли и естери с формула



в която значенията на заместителите са посочени в описанието. Те се прилагат за профилактика и лечение на сърдечносъдови заболявания и на диабет. независещ от инсулин, чрез намаляване на различните плазмени липиди, включващи Lp (a), триглицериди, VLDL-холестерол и LDL-холестерол, или чрез увеличаване на плазмения HDL-холестерол.

32 претенции, 8 фигури

BG 63534 B1

(54) ДИАЛКИЛЕТЕРИ, СЪДЪРЖАЩИ КРАЙНИ КАРБОКСИЛНИ ИЛИ ТЕТРАЗОЛНИ ГРУПИ

ОБЛАСТ НА ТЕХНИКАТА

Изобретението се отнася до съединения, които представляват диалкил етери, притежаващи крайни карбоксилни или тетразолни групи. Съединенията намират приложение за понижаване на различни плазмени липиди при животни, вкл. Lp (a), триглицериди, VLDL - холестерол и LDL - холестерол, и за понижаване на други, като напр. HDL - холестерол. Тези съединения са ефективни за профилактика и лечение на съдови заболявания и диабет, напр. чрез увеличаване на чувствителността към инсулин.

ПРЕДШЕСТВАЩО СЪСТОЯНИЕ НА ТЕХНИКАТА

Съдовите заболявания, като коронарни сърдечни заболявания, инфаркта, рестенозите и периферните съдови заболявания остават водеща причина за смърт и инвалидност в целия свят. Около 1,5 милиона души умират всяка година в Съединените щати само от миокарден инфаркт, причинен от запушвания на сърдечни съдове. Диетата и начинът на живот могат да ускорят появата на тези заболявания, докато генетичното предразположение води до дислипимии, които са значим фактор при съдовите заболявания и предизвикания от тях смъртен изход. "Дислипимия" означава ненормално ниво на липопротеините в кръвната плазма.

Различните рискови фактори са свързани с повишения риск от съдови заболявания. След тях са дислипимия, протичаща с повишения на липопротеините с ниска гъстота (low-density lipoprotein - LDL) и ниско ниво на липопротеини с висока гъстота (high-density lipoprotein - HDL). Съотношението между HDL - холестерол и LDL - холестерол често се използва за оценяване на риска от съдови заболявания. Високите стойности на съотношението HDL/ LDL - холестерол са за препоръчване. Съединения, които увеличават това съотношение, било то чрез понижаване на LDL, или чрез повишение на HDL, или чрез едновременно въздействие и върху двете са твърде перспективни. Настоящите изследвания показват, че повишените нива на модифицираната форма на LDL, наречена липопротеин (a) - „Lp (a)“ са вредни.

Lp (a) - холестерол се явява нежелателен, тъй като повишеното ниво на Lp (a) се свързва с развитието на артериосклероза, коронарни сърдечни заболявания, удар, мозъчен инфаркт и рестеноза след балонна ангиопластика. Фактически Lp (a) е един превъзходен прогнозиращ фактор на тези заболявания. Високата концентрация на Lp (a) е един от главните рискови фактори, водещ до смърт при сърдечни заболявания.

Открито беше, че различни известни етери са ефективни за понижаване на плазмената концентрация на Lp (a).

Настоящото изобретение се отнася до метод за понижаване на плазменото ниво на Lp (a) посредством въвеждане на диалканолови етери или естери. Този тип съединения не са били използвани за лечение на съдови заболявания. Например, US N° 3 320 079 описва 3, 3' - оксисбис(2, 2 - диметилпропионова киселина) като пластификатор. US N° 3 930 024 описва серия от алкандиоли, за които се казва, че понижават серумните диглицериди. US N° 3 674 836 описва феноксиалканова киселина, за която се твърди, че понижават диглицеридите. US N° 4 711

896 описва различни α, ω - дикарбокси киселини, които намаляват липидите.

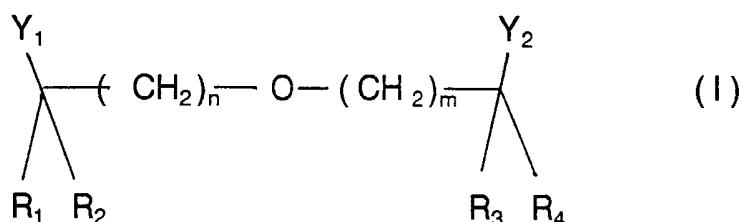
Целта на настоящото изобретение е да се създаде серия от карбокси заместени диалкил етери, които са ефективни при понижаването на плазмените липопротеини.

Друга задача на настоящото изобретение е да се създадат фармацевтични състави, съдържащи тези съединения и метод за лечение на съдови заболявания посредством тези съединения.

ТЕХНИЧЕСКА СЪЩНОСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Настоящото изобретение се отнася до нови химически съединения, охарактеризирани като карбокси или тетразолзаместени диалкил етери и техни соли и естери.

Изобретението се отнася, по-специално до съединения, дефинирани с формула I



в която m и n са независими едно от друго цели числа от 2 до 9, R_1 , R_2 , R_3 и R_4 независимо едно от друго са $C_1 - C_6$ алкил, $C_2 - C_6$ алкенил, $C_2 - C_6$ алкинил, и R_1 и R_2 заедно с въглеродния атом, към който са свързани, и R_3 и R_4 , заедно с въглеродния атом, към който са свързани могат да образуват въглероден пръстен, съдържащ от 3 до 5 C атома.

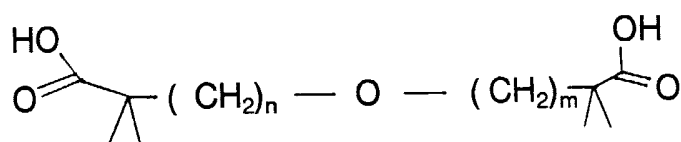
Y_1 и Y_2 независимо един от друг са $COOH$, CHO , тетразол и $COOR_5$, където R_5 е $C_1 - C_6$ алкил, $C_2 - C_6$ алкенил, $C_2 - C_6$ алкинил, и алкил-, алкенил- и алкинилгрупите могат да бъдат заместени с

една или две групи, избрани от : хало-, хидрокси-, C_1 - C_6 алкокси и фенил.

Предпочитаните съединения съгласно изобретението имат горната формула, в която m и n са същите цели числа и в която всяка една от групите R_1, R_2, R_3 и R_4 са алкили.

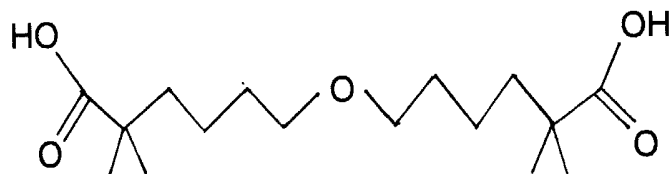
По-нататък, предпочитани са съединения, в които Y_1 и Y_2 са независими един от друг $COOH$ или $COOR_5$, където R_5 е алкил.

Най-предпочитаните съединения съгласно изобретението имат следната формула:



в която n и m са цели числа, избрани от групата 2, 3, 4 или 5, най-добре 4 и 5.

Най-предпочитаното съединение има следната формула :

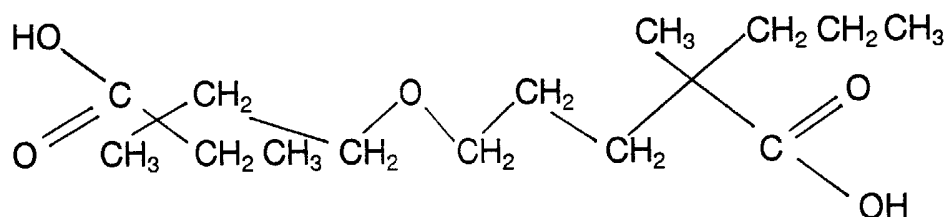


Изобретението се отнася също до фармацевтично приемливи соли на тези киселини.

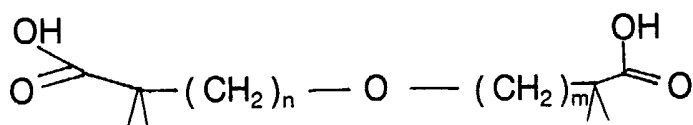
По-нататък, в основата на изобретението са фармацевтични състави, включващи едно съединение от формула I, заедно с фармацевтично приемливи носители, разредители или пълнители. Също така, изобретението се отнася до метод за лечение на съдови заболявания, като периферни съдови заболявания, коронарни сърдечни заболявания, удар и рестеноза. Изобретението се отнася до метод за намаляване на $Lp(a)$, плазмените триглицериди, липопротеини с много

ниска гъстота (very low density lipoprotein - VLDL - холестерол), LDL - холестерол и аполипопротеин В. Изобретението допълнително се отнася до метод за повишаване на плазмените HDL - холестерол, аполипопротеин - А - I и аполипопротеин Е. Изобретението също се отнася до метод за лечение и профилактика на неинсулинозависимия захарен диабет чрез увеличаване на чувствителността към инсулина посредством въвеждане на съединение от формула I.

Съединенията, съгласно настоящото изобретение ще бъдат наричани алканолови киселини и естери, например съединението със следната формула :



което ще бъде наричано пентанолова киселина, по-точно 2 - метил - 2 - n - пропил - 5 - (3 - метил - 3 - хидрокси - карбонил) - пентокси пентанолова киселина. Както беше отбелязано по-горе , предпочитаните съединения са тези, в които m и n във формула I са еднакви и R₁, R₂, R₃ и R₄ са всичките еднакви алкилови групи. Когато Y₁ и Y₂ са и двете карбокси групи, съединенията ще бъдат наричани оксибис алканолови киселини. Например, едно предпочитано съединение е със следната формула :



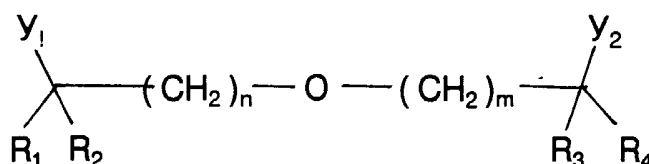
в която m и n са и двете 4 и може да се нарече 6, 6'-оксибис (2, 2-диметил капронова киселина).

Във формула I R_1, R_2, R_3 и R_4 са определени да съдържат „ $C_1 - C_6$ алкил“, който термин включва метил, етил, изопропил, терциерен бутил, n -хексил и 2-метил-пентил. Алкиловата група може да бъде заместена с хало, хидроксид, $C_1 - C_6$ алкокси и фенил. „Хало“ включва хлор, бром и йод. „ $C_1 - C_6$ “ е една $C_1 - C_6$ алкилова група, свързана чрез кислород, такава като етокси, изопропокси, n -хексилокси и др. подобни. Типични заместени алкилови групи са хлорметил, 3-хидроксид-хексил, 4-фенилбутил, 2-йодпентил, изопропоксиметил и др. подобни. R_1, R_2, R_3 и R_4 също могат да включват $C_2 - C_6$ -алкинил и заместен алкинил. Типични групи са винил, 2-пропенил, 3-хлор-4-хексенил, 2-фенил-3-пентил, етинил, 2-метоксиетинил, 2-брометинил, 6-фенил-3-хексенил и др. подобни. R_1 и R_2 могат да се комбинират с въглерод, към който те са свързани, за да образуват въглероден пръстен, като циклопропилов, циклобутилов, циклохексиров и циклопентилов. Аналогично, R_3 и R_4 могат да участват заедно с въглерод, към който са свързани, за да образуват $C_3 - C_6$ въглероден пръстен, като циклопропилов, циклохексиров и др. подобни.

Y_1 и Y_2 във формула I, независимо едно от друго съдържат групата $COOR_5$, в която R_5 е алкил, алкенил или алкинил. Тези групи са илюстрирани по-горе, като R_1, R_2, R_3 и R_4 .

Тези съединения съгласно изобретението, които притежават най-малко една карбоксилна група (Y_1 или Y_2 е $COOH$), лесно образуват фармацевтично приемливи соли чрез взаимодействие с органични или неорганични основи. Типични основи, използвани в случая за получаване на соли, включват натриев хидроксид, калиев хидроксид, натриев карбонат, триетиламин, пиридин, амоняк и др. подобни.

Типични съединения съгласно изобретението са описани по-долу:



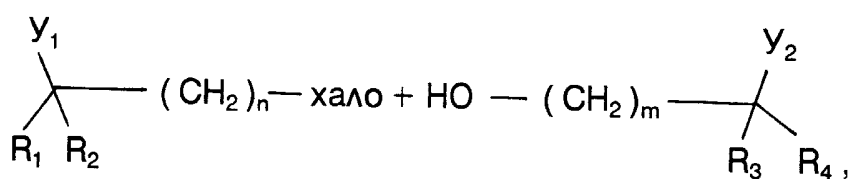
n	m	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Y ₁	Y ₂
2	3	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	COOH	COOH
3	3	CH ₃	CH ₃	етил	етил	COOCH ₃	COOH
2	4	етил	i-пропил	етил	етил	COOH	COOCH ₃
3	4	3-хлорпропил	CH ₃	CH ₃	2-гидроксиетил	COOH	CHO
4	4	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	COOH	COOH
4	4	етил	етил	етил	етил	COO ⁻ Na ⁺	COO ⁻ Na ⁺
4	4	етил	CH ₃	n-бутил	n-бутил	COOH	COOCH ₃
4	4	HOCH ₂	HOCH ₂	HOCH ₂	HOCH ₂	COOC ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅
4	4	n-пропил	n-пропил	n-пропил	n-пропил	тетразолил	CHO
4	4					COOH	COOH
4	4			CH ₃	CH ₃	CHO	CHO
4	4	фенилметил	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CHO	CHO
4	5	CH ₃	CH ₃	етил	етил	COOH	CHO
4	5	етил	i-пропил	i-пропил	етил	COOH	COOH
2	5	n-гексил	n-гексил	n-гексил	n-гексил	COOH	COOH
2	6	i-бутил	i-бутил	n-пропил	n-пропил	COO ⁻ K ⁺	COO ⁻ K ⁺
2	6	CH ₃	CH ₃	етил	етил	COOH	COOH
3	7	HOCH ₂	ClCH ₂	BrCH ₂	ICH ₂	COOH	COOH
4	7	n-пентил	n-пентил	CH ₃ OCH ₂ ⁻	CH ₃ OCH ₂ ⁻	COO ⁻ (C ₂ H ₅) ₃ N ⁺	COOH
4	8	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CHO	COOH
4	9	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	COO-n-C ₆ H ₁₁	COOC ₂ H ₅
5	8	етил	етил	етил	етил	тетразолил	тетразолил
9	9	етил	етил	ClCH ₂	фенилметил	COOH	COOH

Съединенията съгласно настоящото изобретение са получени, като е използвана методика, добре позната в органичната химия. При един такъв типичен синтез карбоксизаместен алкилхалогенид реагира с карбокси заместен алканол в присъствието на основа, която въздейства на един кондензационен процес, осигуряващ съединението, съгласно изобретението.

Карбоксиестери типично са използвани за получаването на съединение съгласно изобретението, в което Y_1 , както и Y_2 са $COOR_5$.

Просто осапунване превръща една или две от естерните групи в свободна киселина, когато това е необходимо.

По-нататъшната кондензационна реакция е представена по-долу :



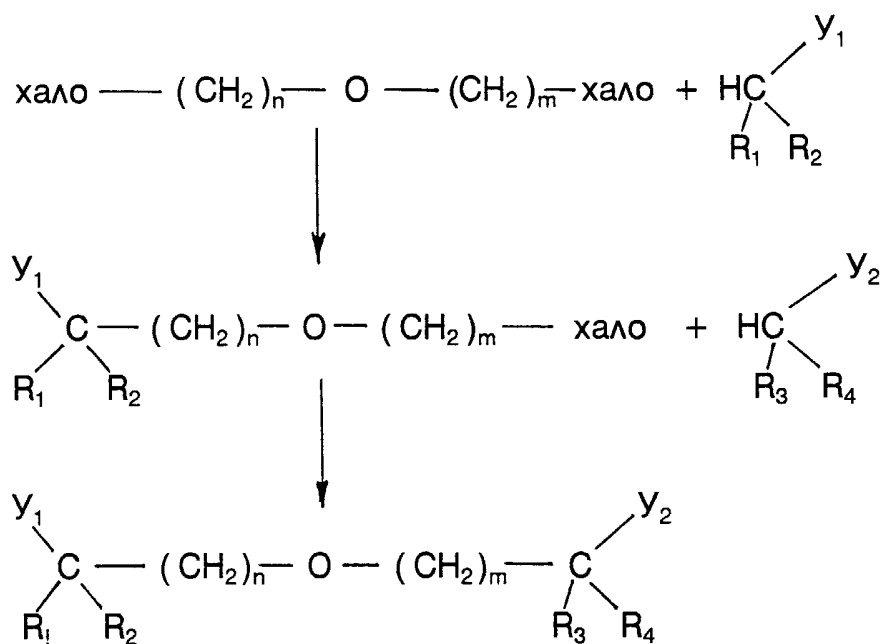
в която хало е бром, хлор, йод или др. подобни и Y_1 и Y_2 са за предпочитане $COOR_5$, въпреки че реакцията протича еднакво добре, когато Y_1 и Y_2 , независимо едно от друго са тетразол или CHO .

Реакцията в основата си протича чрез първоначално взаимодействие на алканол с приблизително еквимоларни количества основа, като натриева основа или метален натрий обикновено в неутрален органичен разтворител като бензол, толуол, ксилол, тетраhydroфуран или др. подобни. Това води до получаване на оксидната форма на алканола, която впоследствие лесно взаимодейства с еквимоларно количество алкилхалид до получаване на съединение съгласно изобретението.

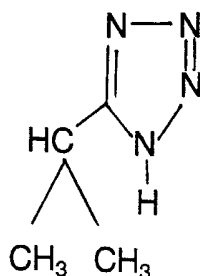
Реакцията в основата си напълно завършва за два до около десет часа, когато се провежда при повишена температура от около 50° до около $120^{\circ}C$. Съединението съгласно изобретението се изолира

лесно чрез просто отделяне на разтворителя, например чрез изпаряване. Продуктът може да бъде пречистен, ако е необходимо, по известни методи, като кристализация из разтворители като етилацетат, бензол, хексан и др. или чрез хроматография, например върху твърд носител, като силикагел.

Един алтернативен метод за получаване на съединенията съгласно настоящото изобретение, предизвиква реакция на халозаместен диалкилетер с α , α - дизаместена оцетна киселина или естер, етанал или метилтетразол. Такава реакция е дадена по-долу :



Горният процес е за предпочитане да се използва за получаване на съединения съгласно изобретението, при което R_1 и R_2 са същите, както R_3 и R_4 и Y_1 и Y_2 са същите. В този случай халогензаместеният диалкил етер е реагирал с два еквивалента или повече оцетнокисело производно или триазол, например вещество като :



Реакцията основно се провежда в общ разтворител, като тетраhydroфуран, диоксан, диетил етер или др. подобни и в присъствието на една основа, като натриева основа, метален натрий, бутиллитий и др. Реакцията в основата си е приключила в рамките на около 2 до около 10 часа, когато се провежда при температура от около 0° C до около 50° C. Продуктът, който е съединение съгласно изобретението, лесно се изолира чрез отстраняване на реакционния разтворител и по-нататък пречистването може да бъде доведено до край по желание чрез известни от практиката методи, включващи хроматография, кристализация и др. подобни.

Желателно би било да се защитят понякога някои реакционни групи с подвижни органични радикали, така че да се предотвратят нежелателните странични реакции. Например, хидроксиди и свободни карбоксидни групи могат да бъдат отклонени посредством радикали, които елиминират тяхната способност да участват в протичащите химични реакции, при което радикалът може лесно да се отстрани и да се възстановят като свободни хидроксиди и карбоксидни групи.

Типични хидроксиди и карбоксидни защитени групи и методи за тяхното присъединяване и следващо отстраняване са обширно дискутирани от Green и Wirts в „Защитни групи в органичните синтези”, II издание, John Wiley & Sons, Inc. N. York, 1991. Например, хидроксидните групи лесно се защитават чрез превръщане в о - бензилови групи, които лесно се разцепват при необходимост чрез хидрогенолиза.

Карбокси групите се превръщат главно в естери, например *p*-нитробензилови естери или 2, 2, 2 - трихлоретилови естери. Такива естерни групи лесно се хидролизират при необходимост, за да се освободят карбокси групите.

Както беше отбелязано по-горе, карбокси киселините, съгласно настоящото изобретение, лесно образуват соли чрез взаимодействие с неорганична или органична основа. Предпочитани соли са неорганичните соли, получени от основи като натриев хидроксид, калиев хидроксид, калциев хидроксид и др. подобни. Типичните органични основи включват : триетиламин, пиридин, метиламин и др. подобни.

Следните конкретни примери по-нататък илюстрират синтеза на химически съединения съгласно настоящото изобретение. Примерите са само илюстративни и не трябва да се тълкуват като ограничаващи в никакво отношение.

ПРИМЕРНИ ИЗПЪЛНЕНИЯ

ПРИМЕР 1 :

6, 6' - оксибис (2, 2 - диметилкапронова киселина)

Към разбъркан разтвор на натриев хидроксид (2 г от 60 % - ен, диспергиран в минерално масло, 700 mM) в 600 мл сух тетраhydroфуран, съдържащ 61 г (600 mM) диизопропиламин се добавят 52, 9 г (600 mM) изомаслена киселина. Реакционната смес се бърка при 24° C в продължение на 30 минути и след това се охлажда до 0° C във вана, съдържаща лед и ацетон. Към охладения разтвор се добавят 286 мл 2,1 M разтвор на *n* - бутиллитий (600 mM) и сместа се разбърква при 0° C в продължение на 1 час. Към охладената разбъркана реакционна смес се

добавят 59,2 г (297 мм) 4,4' - дихлорбутилтер на капки в продължение на 15 минути. Сместа се загрева до 24° С и бърка в продължение на 48 часа. Реакционната смес се разрежда чрез добавяне на 600 мл вода. Водният слой се отделя, промива се с 200 мл диетилтер, след което се подкислява до рН 5,0 (Конго-червено) с около 150 мл 6 N солна киселина. Воднокиселият разтвор се екстрахира трикратно с 300 - милилитрови порции диетил етер. Етерните екстракти се смесват, промиват се с луга, изсушават се над магнезиев сулфат и разтворителят се отстранява чрез изпаряване при понижено налягане до получаване на продукт с консистенция на масло. Маслото се дестилира при 160° С при 3 мм Hg до получаване на 66,7 г 6,6' - оксибис (2,2 - диметилкапронова киселина), т. т. 49 - 51° С.

Анализи, изчислени за : $C_{16}H_{30}O_5$

C, 63,47 ; H, 9,88

Теоретично :

C, 63,75 ; H, 10,00

ПРИМЕР 2 ДО 9 :

Следвайки основната последователност при операциите от Пример 1 се получават следните химически съединения :

7,7' - оксибис (2,2 - диметилхептанова киселина)

5,5' - оксибис (2,2 - диметилпентанова киселина)

4,4' - оксибис (2,2 - диметилбутанови киселина)

8,8' - оксибис (2,2 - диметилоктанова киселина)

Етил 2,2 - диметил - 5 - (4 - метил - 4 - етоксикарбонил пентилокси) пентаноат

Етил 2,2 - диметил - 6 - (5 - метил - 5 - етоксикарбонил хексилокси) хексаноат

Метил 2, 2 - диметил - 8 - (7 - метил - 7 - метокси - карбонил октилокси) октаноат

7 - (4 - метил - 4 - хидроксикарбонил пентилокси) - 2, 2 - диметил хептанова киселина.

Както беше споменато по-горе, алкил етерите, съгласно настоящото изобретение, се прилагат за лечение и профилактика на съдови заболявания, такива като коронарни сърдечни заболявания, удар, рестеноза и др. подобни чрез използване на тяхната способност да намаляват нивото на плазмения холестерол на липопротеин, богат на триглицериди като LDL и да увеличават нивото на холестерола на HDL. Съединенията, по-специално са ефективни при понижаващия Lp (a), както и при повишаващия HDL - холестерол.

Способността на производните на диалкил етера от фиг. 1 да понижава Lp (a) и да увеличава HDL - холестерола се определя в *in vivo* изследвания рутинно прилагани в тази област на техниката. Изследванията върху животни, по-специално върху плъхове са проведени по следния протокол : Мъжки плъхове от вида Sprague - Dawley (100 - 200 г) са получени от Charles River Laboratories и се отглеждат по 3 до 6 плъха в клетка, като им се дава регулярно специална храна за плъхове тип Purina и вода колкото пожелаят в стаи с контролирана температура при дванадесет часов цикъл светло/тъмно, започващ със светване в шест часа сутринта. Плъховете се третират всеки ден между 6 и 9 часа сутринта орално с порции от тестираните съединения, разтворени или суспендирани в 0, 2 % Tween - 20 плюс 1, 5 % Карбоксиметилцелулоза (във вода), които служат като пълнеж, или само с пълнежа. Обемът на пълнежа представлява 0, 25 % от телесното тегло и Gemfibrozil (100 мг / кг телесно тегло / дневно) се използва като сравнителен агент за всички проучвания. Тестираните съединения се въвеждат в количества до 100 мг / кг телесно тегло / дневно в продължение на 7 до 14 дни. Негладувалите плъхове се убиват

чрез етерна инхалация, претеглят се, извършва се сърдечно кръвопускане и се подлагат на хепатектомия за определяне теглото на черния дроб. Кръвта се пренася до съдържащи ЕДТА вакуумни епруветки за изолиране на плазмата. Кръвта на маймуни от вида *Cynomolgus* се изтегля директно във вакуумните епруветки за изолиране на серума и плазмата.

Мъжки маймуни от вида *Cynomolgus* (*macaca fascicularis*) се доставят от Charles River Laboratories (Wilmington, MA), отглеждат се в отделни помещения и се хранят с диета, състояща се от 20 нормални маймунски бисквити (производство на Ralston Purina, St. Louis, MO) и плодове (1 банан и 12 грейпфрута). Маймуните се поставят в стандартните изолатори за примати (произведени от Primate Products, Woodside, CA), като им се монтира също устройство за получаване на кръвни проби (произведено от Norfolk Medical Products, Skokie, IL). Ефектите от съединенията от Пример 1 се изследват чрез нарастване на дозата. В продължение на 3 седмици се проучват 3 контролни кръвни проби от тези животни с помощта на устройството за вземане на кръв. За изследване със съединението от Пример 1 обездвижените маймуни получават орално посредством сонда 3 мг / кг телесно тегло (I седмица), 10 мг / кг телесно тегло (II седмица) и 30 мг / кг телесно тегло (III седмица) от описаното в Пример 1 съединение, суспендирано в смес от 0,2 % TWEEN - 20 и 1,5 % Карбоксиметилцелулоза като пълнеж между 5 и 7 часа сутринта. По време на изследвания период от гладувалите животни се взема ежеседмично кръв 24 часа след третирането. Допълнителни кръвни проби от гладували животни се вземат една седмица след спирането на третирането със съединението от Пример 1. По време на проучването консумирането на храна и поведението на животните е нормално.

Пробите от маймунска плазма се държат в лед, разпределени в множество центрофужни епруветки, като веднага се замразяват и

съхраняват при -70°C . Пробите серум се съхраняват при 4°C преди извършването на анализ на специфични серумни ензими и албумин, както е описано по-долу :

Анализ на пробите :

Триглицеридите се определят с помощта на готови китове (Trigli - cinct 2, Sclavo, Siena, Itali или Triglyceride G. Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Osaka, Japan).

Общите плазмени холестероли се определят ензиматично по метода, описан от Allain и сътрудници, Clin. Chem. , 20 : 470 - 474 (1974).

Профилите на общите плазмени холестеролни липопротеини се определят чрез анализ на фракциите, получени чрез Superose в гелна хроматография при високо налягане (HPGC) на апарат Rainin - HPLC (виж Kieft и сътрудници, J. Lipid Res., 32 : 859 - 866 (1991).

Липопротеиновият холестерол се определя от общото количество определен холестерол и като процент от площта на разпределението на холестерола, определена чрез HPGC.

Аполипопротеин А - I и Е в цялата плазма се определят количествено с помощта на rocket - имуноелектрофореза по метода на Laurell и сътрудници, Methods Enzimol, 73 : 339 - 369) чрез използването на антитела, получени в зайци срещу плъхови апо А - I и в коза срещу плъхови апо Е (от Dr. Patrick Tso, LSV Medical Center, Shreveport, LA).

Пробите плазма се разреждат в 4М уреа, 1% Triton X - 100, 12 mM Tricine, 40 mM Tris, 0, 6 mM калциев лактат, 0, 01 % натриев азид, рН 8,2 и инкубират в продължение на 60 минути при 52°C преди имуноелектрофорезите.

Направени са подходящи разреждания на плазмата от плъхове, за да може определянето на липопротеините да се извършва в линеен вид. Имуноелектрофорезата се провежда на Gel Bond филм (Cat 53748, FMC Bioproducts, Rockland, ME), обикновено съдържащ или 4 %

заешки антпльхов апо В антисерум в 1 %-на агароза, 2 % полиетиленгликол 6000 в 24 mM Tricine, 80 mM Tris и 1, 2 mM калциев лактат. Дължината на пиковите се измерва след оцветяване на гелове с Amido black. За цифров анализ аполипопротеините в плазмата на животни от контролната група се избират да бъдат 100.

Пльховият апо В се изследва в микротитърни плаки според Rifai и сътрудници, Clin. Chem., 32 : 957 - 961 (1986), с малки модификации, т. н. имунотурбидометричен метод, който използва антитела срещу миши апо В, получени в овце, които показват кръстосана реакция с пльховите апо В. Пробите плазма от експерименталните животни (5, 10, 20 и 30 мл) или сборна стандартна пльхова плазма (от 0 до 50 μ л) се комбинират с 2М уреа, 10 % овчи антимиши апо В серум, 1, 6 % полиетиленгликол 8000 (крайни концентрации) в общ обем 200 μ л фосфатбуфериран физиологичен разтвор. Помътняването (оптическа плътност 340 nm) се определя първоначално и след инкубация в продължение на една нощ при стайна температура като се използва Titertek, Multiscan MCC / 34 ОМК II (Flow Laboratories) - спектрофотометър, отчитащ плака с 96 проби. Подходящо разреждане на плазмата от пльх (обикновено 10 μ л) се прилага за определяне на апо В в линейната област на изследването. За анализиране на данните, нивата на апо В в плазмата на третирани с лекарството животни се сравняват с тези, получени в контролната група, като последната избирателно се нагласява на 100 за всеки експеримент.

Lp (a) нивото в маймуни се изследва с готови Lp (a) ELISA китове (Apo - Tek Lp (a), Elisa Test System, Organon Teknika, Biotechnology Research Institute), разработени за определяне на човешки Lp (a). Lp (a) се определя количествено с помощта на сандвич - техника, при която повърхността на микротитърните плаки е покрита с анти апо (a) антитела, които захващат апо (a). Това захващане се

определя количествено чрез свързване с апо В в разтворими антитела, свързани с ензим.

Стандартните криви, получени с човешка и маймунска плазма са паралелни, което показва, че това изследване може да се използва за количествено определяне на маймунски липопротеини. Измерването на $Lp(a)$ за всички маймунски плазми се определят едновременно, като пробите са тройни и се размразяват само веднъж.

При плъхове, хранени със стандартна храна, полученият ефект от Gemfibrozil е сравнен с този, получен от съединението от Пример 1 по отношение на неговия ефект спрямо различни липидни параметри. Тези резултати представят сборните данни от няколко отделни проучвания за една седмица и едно проучване за две седмици (по 8 плъха в група). Данните за всяко изследване са нормализирани към стойностите, получени при плъхове, третирани само с пълнеж. Gemfibrozil (100 мг / кг / дневно) не показва никакъв ефект върху плазмените апо А - I, които обаче се увеличават най-много при високите дози от съединението от Пример 1. Апо А само леко се увеличава от Gemfibrozil, но забележително се увеличава,дозозависимо от съединението от Пример 1. Тези данни са най-добре представени в едноседмичните изследвания (I седмица - 30 животни, II седмица - 8 животни) и поради това не е свързано със забележимото покачване на плазмените апо Е, които се откриват при третиране с Gemfibrozil в продължение на две седмици. И двете - Gemfibrozil и съединението от Пример 1 значително редуцират апо В.Тези промени в аполипопротеините биха могли да се представят също като съотношение или апо Е / апо В или апо А - I / апо В. Параметрите на плазмените липиди, включително общия холестерол, липопротеинния холестерол и триглицеридите също благоприятно се повлияват от съединението от Пример 1 (фиг. 2).

Общият плазмен холестерол леко се намалява от доза 10 мг / кг телесно тегло Gemfibrozil, но се увеличава дозозависимо от съединението от Пример 1. Този ефект се дължи главно на повишаването на HDL - холестерол. И двата препарата Gemfibrozil и съединението от Пример 1, понижават VLDL и LDL - холестерол. Тези ефекти могат да се оценят като съотношение между HDL - холестерол и сбора от VLDL и LDL - холестерол, при което 100 мг Gemfibrozil повишава това съотношение до ефект, който се получава от 10 мг от съединението от Пример 1 (1 до 2 пъти), докато по-високата доза (30 до 100 мг) от съединението от Пример 1 по-нататък увеличава това съотношение, което достига 8 до 10 пъти повишаване при най-високите тествани концентрации. И двата препарата - Gemfibrozil и съединението от Пример 1 намаляват плазмените диглицериди. Използва се гелна хроматография при високи налягания (HPGC) за характеризиране на липопротеинхолестеролните профили при плъхове (фиг. 3) и маймуни, третирани със съединението от Пример 1 (фиг. 4). Фиг. 3 представлява липопротеинхолестеролния профил от плъхове (8 в група), третирани само с пълнеж, 100 мг / кг / дневно Gemfibrozil или 1, 3, 10, 30 и 100 мг / кг / дневно от съединението от Пример 1 в продължение на 3 седмици. Всеки профил е от един плъх. Всички профили са начертани на една и съща графика и профилът на първия плъх от конкретната група (потъмнен профил) се наслага в началото на всяка третирана група за сравнение. Профилите от Gemfibrozil - групата при 10 мг / кг тегло / дневно са подобни на тези от съединението от Пример 1 при доза 3 до 10 мг / кг тегло / дневно. При третиране със съединението от Пример 1 въздействието върху липопротеинния холестерол се увеличава по-нататък, включващо намаляване на VLDL и LDL - холестерол и увеличаване на HDL - холестерол.

HPGC също се използва за характеризиране на липопротеинхолестеролния профил при три мъжки маймуни преди, по

време и след третирането със съединението от Пример 1. Животните предварително са подбрани с високо, средно и ниско LDL / HDL - холестеролно съотношение. Базалните профили са напълно идентични, поради което са обединени и усреднени за получаването на един показателен основен профил. Една седмица третиране с 3 мг / кг тегло / дневно от съединението от Пример 1 не показват ефект върху липопротеинхолестеролния профил. Обаче, третирането с 10 мг / кг тегло / дневно със съединението от Пример 1 по време на втората седмица и с 30 мг / кг тегло / дневно по време на третата седмица прогресивно намаляват VLDL, LDL и HDL - холестерол, който започва да се връща до нивото на контролните 2 от 3 маймуни след едноседмичен период без третиране.

В приматите, Lp (a) - холестеролът принадлежи към възходящото рамо на LDL пика. При продължително третиране LDL, пикът става по-симетричен, което вероятно се дължи на понижаване на Lp (a). Ето защо Lp (a) директно се измерва чрез ELISA (фиг. 5). Директното Lp (a) определяне показва дозозависима редукция в нивото на Lp (a), като се получават 62 %, 83 % и 89 % редукция (78 ± 8 % средно) при 30 мг / кг тегло / дневно от съединението от Пример 1, независимо от базалното тегло при трите маймуни (фиг. 5). След една седмица Lp (a) достига или надхвърля нивото преди третиране.

Обратно на плъховете, при които HDL - холестеролът значително се увеличава по време на третирането със съединението от Пример 1, съединението предизвиква намаление на HDL - холестерола в маймуните. Редукцията в HDL - холестерола в маймуните от вида *Сynomolgus* може да се дължи на високото ниво на холестерилестер - транспортен протеин (CETR) в тези видове. Плъховата плазма има малка или почти никаква CETR - активност. Ето защо, високото ниво на CETR може да увеличи скоростта на пренасяне на HDL - холестерол към LDL и LDL - предшественици, което довежда до понижаване на нивото на

HDL - холестерола. Анализът на нивото на CETP - активността в зайци и една разновидност примати показва, че плазменото ниво на CETP в маймуни от вида *Сynomolgus* е забележително по-високо (10 до 12 пъти) отколкото при хора (фиг. 6).Ето защо очакваните резултати за третиране на хора със съединенията, съгласно настоящото изобретение, включват намаление на VLDL, LDL и Lp (a) - холестерол и увеличение на HDL - холестерол.

Фиг. 1 до 6 показват резултатите от биологичната преценка на съединенията, съгласно изобретението. Резултатите са представени за предпочитаното съединение от Пример 1. На фиг. 1 е представена структурата на избраното съединение от Пример 1, което се означава като „PD - 72953„ , който термин се използва в някои от фигурите, като съединението от Пример 1. Сравнителният агент е Gemfibrozil, който на някои места във фигурите е даден като „ Cl - 719 „.

Фиг. 2 показва ефектът от съединението от Пример 1, когато се въвежда в плъхове, хранени с готова храна. Мъжки Sprague - Dawley - плъхове се третират дневно орално с Карбоксиметилцелулоза / Tween-ов пълнеж, с Gemfibrozil или със съединението от Пример 1 в представените концентрации между 6 и 9 часа сутринта в продължение на 7 дни. В един експеримент 8 плъха от контролната група, 8 плъха от групата, третирана с Gemfibrozil и 8 плъха от групата, третирана със съединението от Пример 1 в дозировка 1, 3, 10, 30, и 100 мг / кг тегло / дневно се третират в продължение на 14 дни. Животните получават храна и вода, колкото желаят и се убиват чрез инхалиране с етер приблизително 12 часа след приемане на последната доза. Общият холестерол и триглицеридите се определят ензиматично. Липопротеинните профили се определят чрез количествена гелна хроматография при повишено налягане - HPGC. Площта на HPGC - пиковите (виж фиг. 3 например) и стойностите на общия плазмен холестерол се използват за определяне на холестерола в

липопротеинните фракции. Аполипопротеин А - I и Е се определят чрез имуноелектрофореза. Аполипопротеин В се определя чрез имунотурбидометричен метод. При този 14 - дневен експеримент активността на чернодробната карнитин ацилтрансфераза се определя като индикация за пероксизомалната ензимна активност. Тази методика е описана от Krause и сътрудници, Pharmacol. Research, 29 : 345 - 357. При тези данни съединението от Пример 1 предизвиква дозозависимо увеличаване на тази активност, имайки активация подобна на тази, която се получава при Gemfibrozil при дозировка 100 мг / кг тегло / дневно.

Данните са представени като средно $\pm$ SEM за стойностите, определени в сравнение с контролната група от 9 отделни експеримента.

Плъховете се третират, както е описано по-горе за фиг. 2. Плазмата се подлага на KPGC, за да се определи разпределението на холестерола между отделните липопротеини. Всички профили от всяка група от по 8 плъха се начертават на една и съща графика в групите и между групите. Референтният профил на първия плъх от контролната група е представен до всяка третирана група от по 8 плъха.

Използва се HPGC за анализиране на липопротеинхолестероловия профил на 10 μ л плазма от 3 маймуни от вида *Cynomolgus* (маймуни 90 - 98, 90 - 122, 90 - 182) преди, по време на третирането и една седмица след прекратяването му. По време на периода на третирането с увеличаващи се седмични дози със съединението от Пример 1, то се дава в споменатата дозировка всеки ден с помощта на сонда орално при използване на комбинация от Карбоксиметилцелулоза и Tween като пълнеж между 5 и 6 часа сутрин след гладуване. Кръвта се взема в посочените интервали преди въвеждане на лекарството и по време на гладуването. Животните се хранят с 20 нормални маймунски бисквити, 12 грейпфрута и 1 банан дневно. Профилите от трите нива за всяка от маймуните са напълно

единични, поради което за всяка маймуна тези три профила се усредняват за получаване на един представителен профил.

За отбелязване е, че LDL - пикът се намалява и става по-симетричен по време на третирането, което показва редукция на $Lp(a)$.

$Lp(a)$ се определя с готови ELISA - китове. Плазмените проби след всяко вземане на кръв се изливат в малки обеми (100 мл) и замразяват до -70°C . $Lp(a)$ на всички плазмени проби се определя при едно и също изследване. Данните, показани на фиг. 5 представляват абсолютните (горен панел), отнесени към изходните (долен панел) нива на $Lp(a)$ при 3 маймуни (фиг. 4).

Активността на холестерилестертранспортния протеин (CETP), както е показано на фиг. 6, се определя в няколко вида примати, както и при обикновено хранени и хранени с холестерол зайци. CETP - активността в общата плазма се определя чрез измерване скоростта на пренасянето на белязани с флуоресцентно вещество синтетичен холестерилестерен аналог, съдържащ се в микроемулсии по метода на Bisgaier и сътрудници, *Lipid Rec.*, 34 : 1625 - 1634 (1993).

За да се сравни относителната активност на съединението от Пример 1 с активността на другите съединения, съгласно изобретението, се провежда едноседмичен експеримент с плъхове, хранени с холестеринова диета. Мъжки плъхове от вида Sprague - Dawley са хранени орално или с комбинацията Карбоксиметилцелулоза и Tween, като пълнеж или със съединенията, съгласно изобретението, което е показано на фиг. 7 (виж графиката на фигурата за структурите) - при 30 мг / кг тегло / дневно, между 6 и 9 часа сутрин в продължение на седем дни.

На животните се разрешава да поемат храна и вода, колкото желаят и се убиват с помощта на етерна инхалация около 12 часа след последната доза. Плазмените триглицериди, общият плазмен

холестерол, разпределението на холестерола между липопротеините и аполипопротеините се определят, както по-горе.

На фигура 7 са показани резултатите от този тест. От фигурата се вижда, че избраното съединение от Пример 1 драстично намалява плазмените триглицериди и VLDL - холестерола и увеличава HDL - холестерола.

Беше показано също, че диалкил етерите увеличават чувствителността към инсулина и в такъв случай те могат да бъдат полезни за увеличаване използването на глюкозата в диабетични животни и за лечението на диабет, по-специално на неинсулинзависимия захарен диабет. Съединенията, съгласно изобретението, се оценяват по стандартни изследвания, при които се използват 3T3 - L 1 адипоцити, които са особено чувствителни към инсулин, т. е. натрупването на захар може да се активира 15 - 20 пъти по-бързо, отколкото при инсулин. Този метод се използва за изследвания, които са описани по-детайлно от Frost и сътрудници, *J. Biol. Chem.*, 260 : 2646 - 2652, (1985).

Специфични 3T3 - L 1 фибропластни клетки са получени от American Type Culture Collection (ATCC , Rockville, MD). Клетките се отглеждат, докато нарастнат достатъчно и се диференцират в адипоцити. В ден 0, тези клетки се третират с 167 mM инсулин , 0, 25 μ M Dexamethazone и 0, 5 mM метил изобутилметил ксантин в 10 % фетален телешки серум (FBS) и Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM). Два дена по-късно хранителната среда се сменя с DMEM, съдържащ 167 nM инсулин и 10 % FBS . След това средата се превключва на 10 % DMEM и се сменя през ден до края на експеримента. Експериментиранияте съединения, разтворени в диметилсулфоксид, се прибавят към средата в деня 0 и също при всяка смяна на хранителната среда. Диференциацията се оценява посредством визуализиране на натрупването на мастни капчици в клетките. Глюкозният транспорт се измерва посредством натрупването на маркирана по $[^{14}\text{C}]$

деоксиглюкоза в диференцираните клетки на деветия ден, според метода, описан от Sandouk и сътрудници, *Endocrinology*, 133 : 352 - 359, (1993).

Фигура 8 показва резултатите от тези клетъчни оценки, получени от конкретни съединения, съгласно изобретението. Транспортът на глюкозата се изследва на базално ниво по глюкозния транспортьор GLUT 1 в тези култивирани адипоцити. Troglitazone, съединението, което е изследвано клинично като агент, увеличаващ използването на глюкоза при животни и хора (описан подробно в Пример 2 на US N 4 572 912) се включва като референтно съединение, предизвикващо 70 % увеличение на глюкозния транспорт при тези клетки в концентрация 5 μ M. Тази активност на Troglitazone се дължи на неговото инсулинсензибилизиращо действие. От тестираните съединения, съгласно изобретението, съединенията от Пример 1 и Пример 2 предизвикват забележително увеличаване на транспорта на глюкозата, като съединението от Пример 2 предизвиква двукратно стимулиране. Съединенията, съгласно изобретението, се оценяват при концентрация 100 μ M.

Както може да се види от данните, посочени по-горе, диалкил етерите, съгласно изобретението, са ефективни при намаляване на Lp (a), триглицериди, аполипопротеин B, VLDL - холестерол и LDL - холестерол. Тези съединения повишават също аполипопротеин A - I, аполипопротеин E, HDL - холестерол и съотношението HDL / (VLDL + LDL). Като такива съединенията могат да се използват за лечение и профилактика на съдови заболявания и неинсулинозависим захарен диабет. Друго приложение на изобретението се отнася до метод за лечение и профилактика на сърдечни заболявания и диабет посредством въвеждане при бозайници, при необходимост на такова лечение, на ефективни дози от съединението от формула 1. „Ефективно количество“ представлява дозата, препоръчана за лечение и профилактика на

сърдечни заболявания или диабет при бозайници. Съединенията обикновено трябва да се въвеждат в дози от около 50 до около 5000 мг дневно и по-специално от около 50 до около 2000 мг дневно. Обикновено се използва дозиране, което би могло да бъде от около 50 до около 300 мг дневно, въвеждано 1 до 4 пъти на ден. Подобни дози биха могли да се използват за лечение и профилактика на сърдечни заболявания, както и за специфично намаляване на плазменото ниво на $Lp(a)$ и увеличаване на плазмения HDL - холестерол, както и за лечение и профилактика на диабет.

Друго приложение на изобретението са фармацевтични състави, съдържащи съединението от формула 1 в комбинация с фармацевтично приемливи пълнители, носители и разтворители. Съединението може да се прилага орално или парентерално, като оралното приложение е за предпочитане. Типични фармакологични пълнители и носители, които се използват при оралните комбинации, включват : лактоза, захароза, нишестета, като царевично или картофено нишесте ; производни на целулозата, като метил- или етилцелулоза ; желатини ; талк ; масла, като растително масло, сусамово масло, памучно масло и глицерин, като полиетиленгликол. Препаратите за орално лечение могат да бъдат под формата на таблетки, капсули, емулсии, разтвори и пр. Други възможни състави, които използват например полимерна основа или осмотична помпа или други подобни методи, също биха могли да се прилагат. Типичните състави биха могли да съдържат от около 5 до около 95 % тегл. диалкил етер, въвеждан със съответните пълнители и носители. Ароматизиращи агенти, като черешова есенция, портокалова есенция и пр. могат да бъдат включени в състава.

За парентерално въвеждане, съединенията могат да се приготвят чрез използване на разтворители, като физиологичен разтвор, 5%- ен воден разтвор на глюкоза или други подобни за мускулно или

венозно приложение. Съединенията могат да се комбинират с восъци и гелове за получаване на супозитории. Те са също много подходящи за кожно приложение и могат да се смесват с вещества, подпомагащи проникването им в кожата, когато са под формата на линименти.

Следващият пример илюстрира по-нататък типичните състави, които могат да се получават, съгласно настоящото изобретение:

ПРИМЕР 10:

Компоненти	Количества
2, 2 - диметил - 6 (3 - метил - 3 - хидрокси карбонил бутилокси капронова киселина	1000 г
Лактоза	960 г
Магнезиев стеарат	40 г

Компонентите се смесват добре и се поставят в твърди желатинови капсули №4. Всяка капсула се пълни с 200 мг от сместа и съдържа около 100 мг от активния диалкил етер. Капсулите се дават на възрастни хора в доза от 1 до 3 капсули дневно до намаляване на плазменото ниво на $Lp(a)$.

ПРИМЕР 11 :

Компоненти	Количества
2, 2 - диметил - 6 (6 - метил - 6 - етоксикарбонил хептил-окси) капронова киселина	3000 г
Лактоза	750 г
Царевично нишесте	300 г
Желатин	120 г
Вода	1000 г
Магнезиев стеарат	20 г

Диалкил етерът, лактозата и 150 г от царевичното нишесте се смесват във воден разтвор на желатин. Влажните гранули се пресяват, изсушават се и отново се пресяват. Сухите гранули се смесват с магнезиевия стеарат и останалото нишесте, като сместа се пресова в 698 мг^{-ови} таблетки с помощта на 15 / 32 - инчова стандартна таблетираща преса. Всяка таблетка съдържа 500 мг диалкил етер.

ПРИМЕР 12:

Компоненти	Количества
6, 6' - оксибис (2, 2 - диметилкапронова киселина)	4,0 г
Полиоксиетилен сорбитан моностеарат	0,1 мл
Карбоксиметилцелулоза - натриева сол	0,3 г
Комплексен магнезиево - алуминиев силикат	0,5 г
Захар	10,0 г
Глицерин	2 мл
Натриев бензоат	0,5 г
Натриев цитрат	0,2 г
Одобрен червен оцветител	1,0 мг
Черешова есенция	0,02 мл
Дестилирана вода	100,0 мл

Полиоксиетиленсорбитан моностеаратът може да бъде Polisorbat 60 или Tween 60. Комплексният магнезиево-алуминиев силикат служи като гелформиращ агент. В този случай може да се използва продуктът под името Veegum H. V. Тези субстанции се хидратират в продължение на една нощ в 10 мл дестилирана вода. Приготвя се смес от полиоксиетиленсорбитан моностеарат, черешова есенция, 30 мл дестилирана вода и диалкил етер, която смес се прекарва през хомогенизатор. При внимателно разбъркване се прибавя захарта, глицеринът, натриевият бензоат, натриевият цитрат и натриевата карбоксиметилцелулоза, след което се прибавят хидратираният комплексен магнезиево-алуминиев силикат и разтворът на червеното багрило в 2 мл вода. Получената суспензия се хомогенизира до

достигане на pH 5 с помощта на лимонена киселина, след което се разрежда с дестилирана вода до краен обем от 100 мл. Доза от 55 мл от тази суспензия за орално приложение съдържа 20 мг от диалкил етера. Ако е необходимо, червеното багрило и черешовата есенция могат да не се слагат в състава или могат да бъдат заменени с други оцветители и ароматизатори.

Предпочитано приложение на изобретението е използването на диалкил етера за профилактика и лечение на неинсулинзависимия захарен диабет и предхождащите го състояния.

Неинсулинзависимият захарен диабет (NIDDM), в други случаи описан като II тип диабет, е форма на захарен диабет, която се среща предимно у възрастни и при която има достатъчно производство на инсулин, но съществува дефект в свързаното с инсулин използване и метаболизиране на глюкозата в периферните тъкани. NIDDM се характеризира от три главни метаболитни смущения: резистентност на инсулинсвързаното освобождаване на глюкоза, увреждане на стимулираната от храната инсулинова секреция и свръхпродукция на глюкоза от черния дроб.

Хората, които развиват NIDDM, го развиват понеже техните В - клетки не могат да поддържат достатъчна инсулинова секреция за компенсирание на инсулиновата резистентност. Механизмите, отговорни за увреждането на В - клетките, не са добре изучени, но те могат да бъдат отнесени към хроничните натоварвания на В - клетките от периферната инсулинова резистентност и / или от въздействието на хипергликемията за влошаване функциите на В - клетките. В - клетъчен ефект може да съществува също като „независим вроден дефект в така наречените предиабетични индивиди“. NIDDM често се развива в различни рискови популации от хората, като една такава популация са индивиди с поликистозен овариален синдром (PCOS). Той е най-често срещаното ендокринно разстройство при жени в репродуктивна възраст.

Този синдром се характеризира с хиперандрогения и разстройство в секрецията на гонадотропините, довеждащо до рядка овулация или липса на такава.

PCOS е свързан с тежка инсулинова резистентност в резултат на предизвикана значителна хиперинсулинемия. Като резултат от тази инсулинова резистентност, жените с PCOS са с повишен риск да развият NIDDM. Окосмяване, акне и алоpecia, които се срещат често при тези жени, са клиничното проявяване на хиперандрогенията.

Менструалните разстройства и стерилитета се получават в резултат на яйчниковата дисфункция, свързана с разстройства в секрецията на гонадотропините. Излишъкът на андрогени, вероятно посредством превръщането на андрогени в естрогени, също играе важна роля за нарушаването на гонадотропиновата секреция при тези болни.

NIDDM се развива също в рискови популации от индивиди със захарен диабет по време на бременност (GDM). Бременността нормално е свързана с прогресивна резистентност към инсулинпредизвиканото глюкозно разпределение. Фактически инсулиновата чувствителност е ниска по време на късна бременност в сравнение с всички други физиологични състояния. Смята се, че инсулиновата резистентност се повлиява в по-голямата си част от циркулиращите хормони, като плацентарният лактоген прогестерон и кортизол едновременно се повишават по време на бременност. Като проява на тази инсулинова резистентност, отговорът на В - клетките към глюкоза нормално се повишава почти три пъти в късната бременност, който ефект довежда до намаление на инсулиновата резистентност върху нивото на циркулиращата глюкоза. По този начин бременността се проявява като един „ стрес - тест „ за капацитета на В- клетките да компенсират инсулиновата резистентност.

Други популационни групи, които се смятат за рискови за развитието на NIDDM, това са: лица със Синдром X ; лица с вродена

хиперинсулинемия ; лица с инсулинова резистентност, характеризираща се с хиперинсулинемия и недостатъчен отговор на екзогенния инсулин ; лица с ненормален инсулин и / или данни за разстройство в глюкозния метаболизъм, свързан с повишено количество на циркулиращите глюкокортикостероиди, растежен хормон, катехоламини, глюкагон, паратироиден хормон и др. инсулинорезистентни състояния.

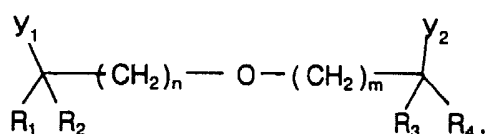
- Невъзможността да се лекуват болни с NIDDM довежда до повишена смъртност, дължаща се на сърдечносъдови заболявания и други усложнения от диабета, като ретинопатия и периферни невропатии. От много години лечението на NIDDM е включено в програми, които имат за цел понижаване на кръвната захар, включващо комбинации от диети и физически упражнения. Като алтернатива, в лечението на NIDDM се включват орални хипогликемични агенти, например сулфонилуреа, самостоятелно или в комбинация с инжекции на инсулин.

В много случаи е необходим метод за лечение на тези рискови популации, които могат да развият PCOS или GDM с оглед предпазване или забавяне на предизвиканите от лечението на NIDDM признаци и усложнения, които методи включват подобрения начин на живот, предпазване от остри и хронични усложнения, намаляване на смъртността и лечение на популациите с повишен риск за развитие на NIDDM.

Методите на използване на описаните съединения за лечение на рисковите популации, включващи PCOS и GDM, за да се предотврати или забави развитието на NIDDM, са описани в настоящото изобретение и отговарят на тези условия.

Патентни претенции

1. Съединение с формула



в която m и n са независими едно от друго цели числа от 2 до 9, R_1 , R_2 , R_3 и R_4 независимо едно от друго са C_1 - C_6 алкил, C_2 - C_6 алкенил, C_2 - C_6 алкинил и R_1 и R_2 заедно с въглеродния атом, към който са свързани, и R_3 и R_4 заедно с въглеродния атом, към който са свързани могат да образуват въглероден пръстен, съдържащ от 3 до 6 C атома, Y_1 и Y_2 независимо едно от друго са $COOH$, CHO , тетразол и $COOR_5$, където R_5 е C_1 - C_6 алкил, C_2 - C_6 алкенил и C_2 - C_6 алкинил; и където алкил, алкенил и алкинил групите могат да бъдат заместени с една или две групи, избрани между: хало, хидрокси, C_1 - C_6 алкокси и фенил, и техните фармацевтично приемливи соли.

2. Съединение съгласно претенция 1, характеризиращо се с това, че R_1 , R_2 , R_3 и R_4 означават C_1 - C_6 алкил.

3. Съединение съгласно претенция 1, характеризиращо се с това, че Y_1 и Y_2 , независимо едно от друго са $COOH$ или $COOR_5$.

4. Съединение съгласно претенция 3, характеризиращо се с това, че Y_1 и Y_2 независимо едно от друго са $COOH$ или $COOR_5$ и R_5 е C_1 - C_6 алкил.

5. Съединение съгласно претенция 4, характеризиращо се с това, че R_1 , R_2 , R_3 и R_4 е същият алкил и Y_1 и Y_2 и двете са COOH .

6. Съединение съгласно претенция 5, характеризиращо се с това, че R_1 , R_2 , R_3 и R_4 всичките са метил.

7. Съединение съгласно претенция 6, характеризиращо се с това, че m и n са същите цели числа.

8. Съединение съгласно претенция 7, характеризиращо се с това, че m и n са еднакви и означават 4.

9. Съединение съгласно претенция 8, характеризиращо се с това, че представлява 6,6'-оксибис-(2,2-диметилкапронова киселина).

10. Съединение съгласно претенция 7, характеризиращо се с това, че m и n и двете са избрани между числата: 2, 3, 5 или 6.

11. Съединение съгласно претенция 10, характеризиращо се с това, че представлява:

4,4' -оксибис (2,2-диметилбутанова киселина)

5,5' -оксибис (2,2-диметилпентанова киселина)

7,7' -оксибис (2,2-диметилхептанова киселина) или

8,8' -оксибис (2,2-диметилоктанова киселина).

12. Съединение съгласно претенция 7, характеризиращо се с това, че Y_1 и Y_2 и двете са COOR_5 .

13. Съединение съгласно претенция 12, характеризиращо се с това, че R_5 е метил.

14. Съединение съгласно претенция 13, характеризиращо се с това, че представлява метил-2,2-диметил-8-(7-метил-7-

метоксикарбонилтокси)октаноат.

15. Съединение съгласно претенция 12, при което R_5 е етил.

16. Съединение съгласно претенция 15, което представлява етил-2,2-диметил-5-(4-метил-4-оксикарбонилпентилокси)пентаноат или етил-2,2-диметил-6-(5-метил-5-етоксикарбонилпентилокси)хексаноат.

17. Фармацевтичен състав, характеризиращ се с това, че включва едно съединение съгласно претенция 1 в комбинация с фармацевтично приемливи пълнители, носители и разтворители.

18. Състав съгласно претенция 17, характеризиращ се с това, че включва съединение, в което Y_1 и Y_2 независимо едно от друго са $COOH$ или $COOR_5$, където R_5 е C_1-C_6 алкил.

19. Състав съгласно претенция 18, характеризиращ се с това, че се включва съединение, в което R_1 , R_2 , R_3 и R_4 означават метил.

20. Състав съгласно претенция 19, характеризиращ се с това, че включва съединение, при което m и n са със същите стойности.

21. Състав съгласно претенция 20, характеризиращ се с това, че се включва съединение, в което m и n са еднакви и означават 4.

22. Състав съгласно претенция 20, характеризиращ се с това, че се включва съединението: 6,6'-оксибис-(2,2-диметил-капронова киселина).

23. Метод за понижаване на плазмения Lp(a), характеризиращ се с това, че съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници в количества, намаляващи Lp(a).

24. Метод за профилактика и лечение на съдови заболявания, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

25. Метод за повишаване на плазмения HDL-холестерол, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1, се въвежда в бозайници.

26. Метод за понижаване на плазмените триглицериди, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

27. Метод за профилактика и лечение на неинсулинозависим захарен диабет, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

28. Метод за понижаване на LPL-холестерола, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

29. Метод за понижаване на VLDL-холестерола, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

30. Метод за понижаване на аполипопротеин В, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

31. Метод за повишаване на плазмения аполипопротеин

А-I, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

32. Метод за повишаване на плазмения аполипопротеин Е, характеризиращ се с това, че ефективно количество от съединението съгласно претенция 1 се въвежда в бозайници.

Приложение: 8 фигури

Издание на Патентното ведомство на Република България
1113 София, бул. "Д-р Г. М. Димитров" 52-Б

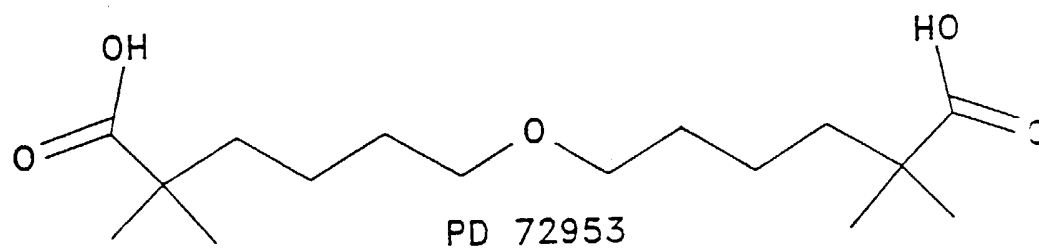
Експерт: Р. Йовович

Редактор: Т. Панчева

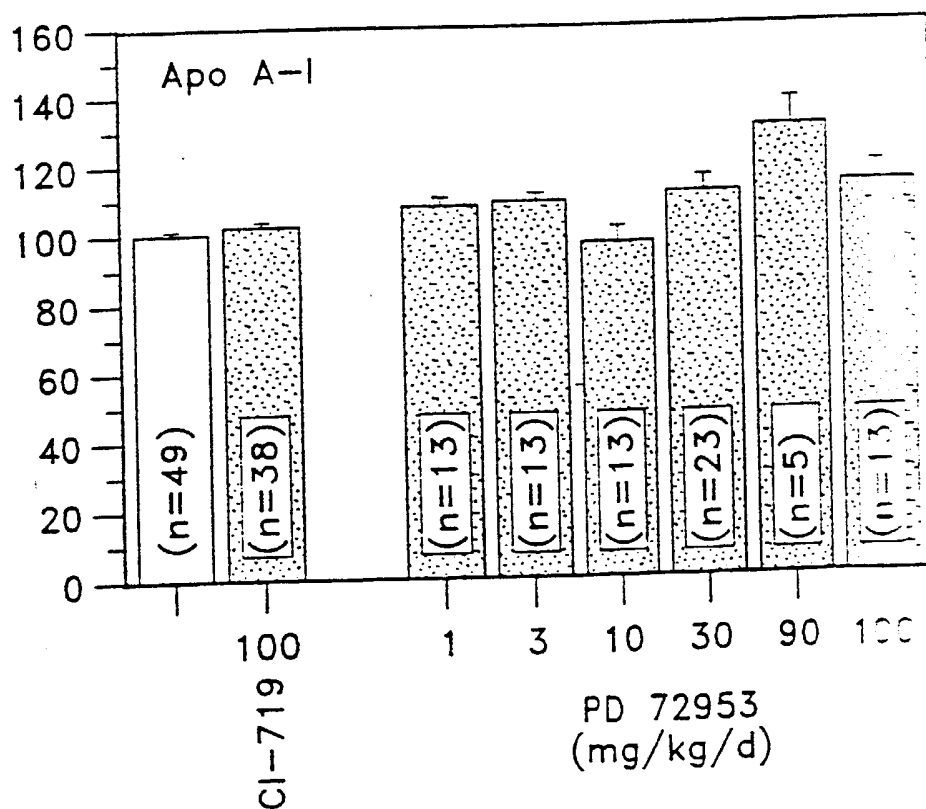
Пор. № 41419

Тираж: 40 ВК

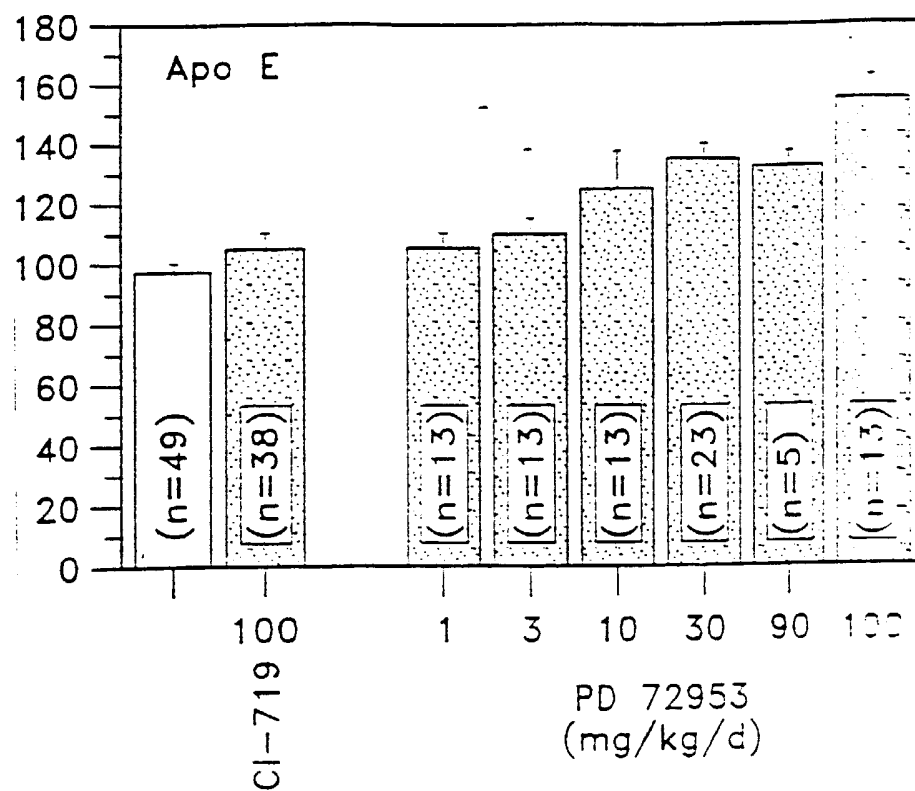
ФИГ. — 1



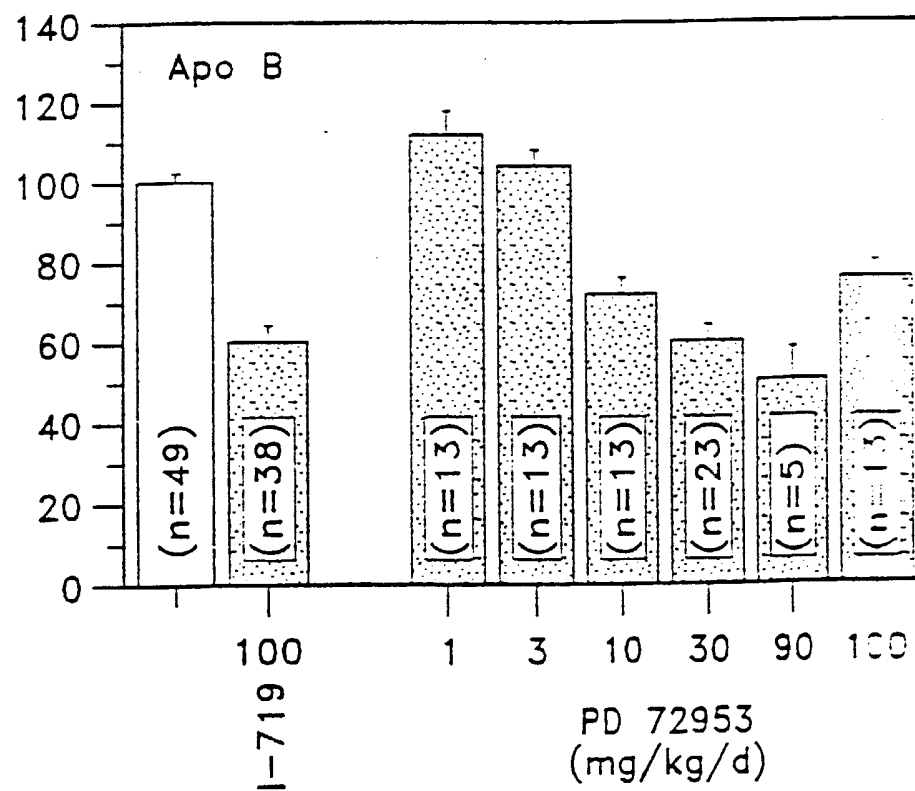
ФИГ. — 2A



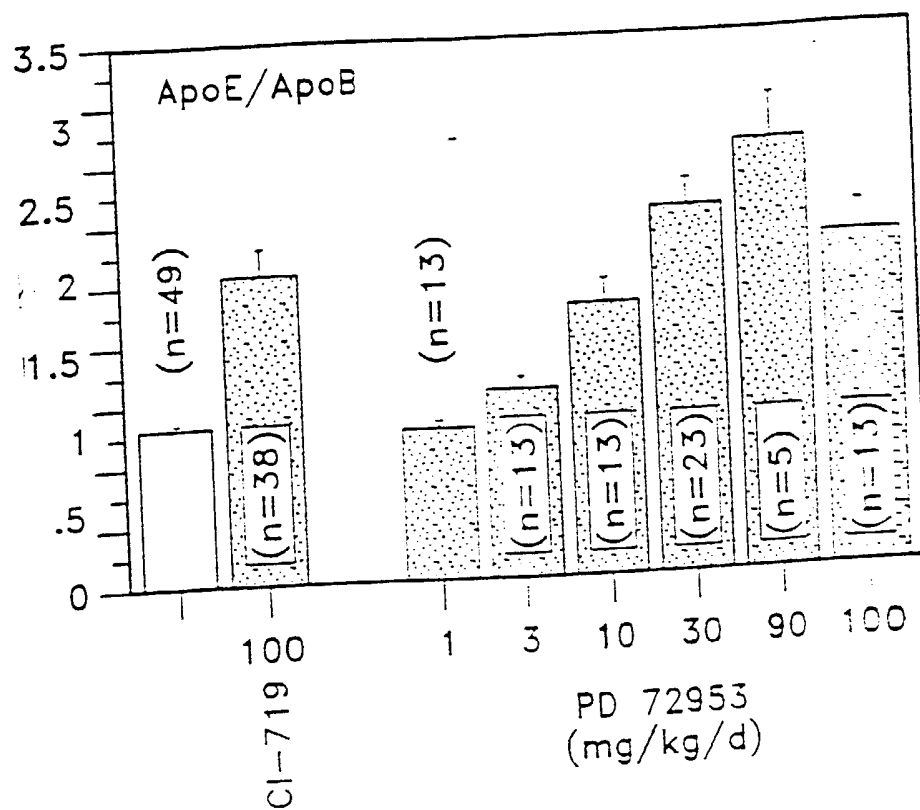
ФИГ. -2В



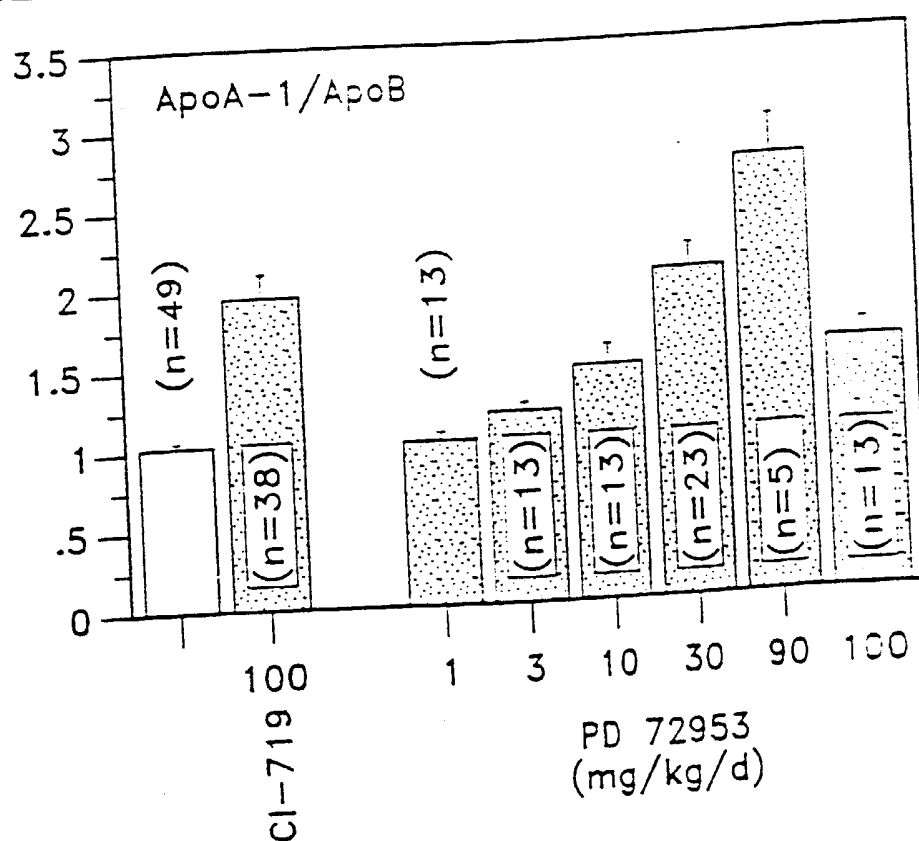
ФИГ. -2С



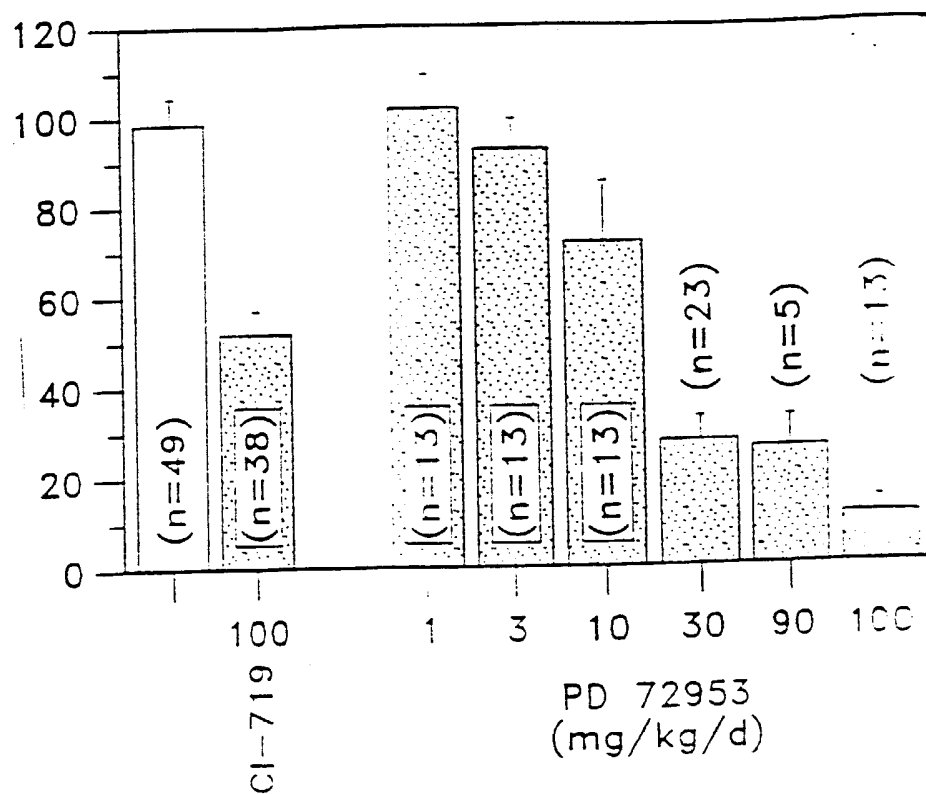
ФИГ. -2D



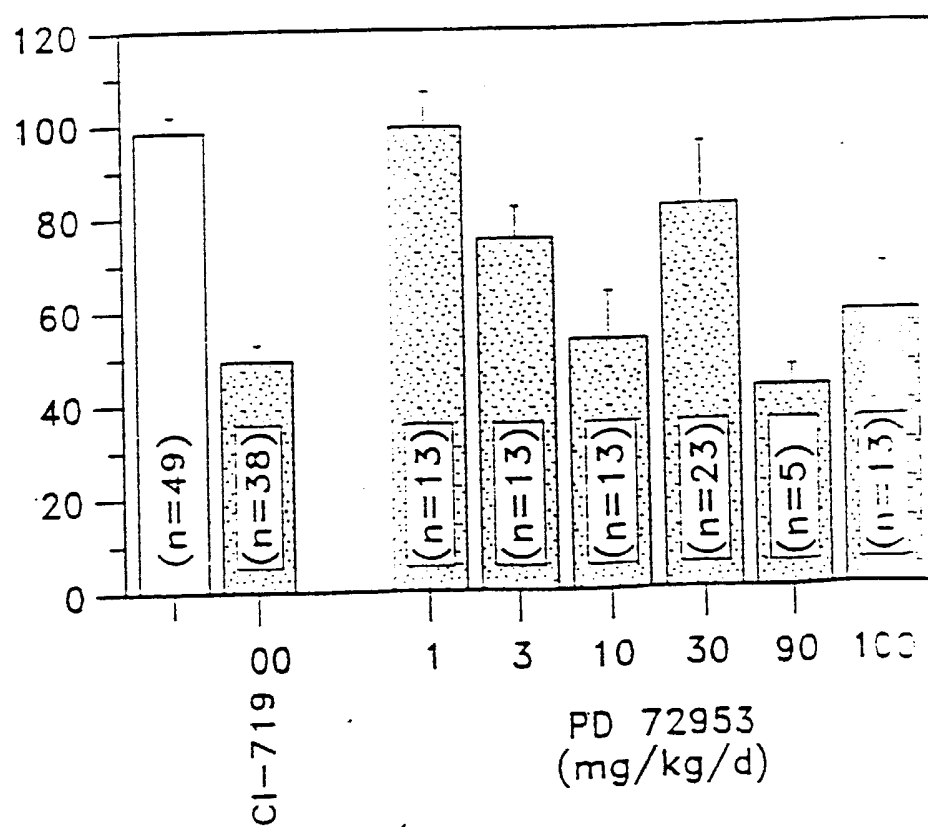
ФИГ. -2E



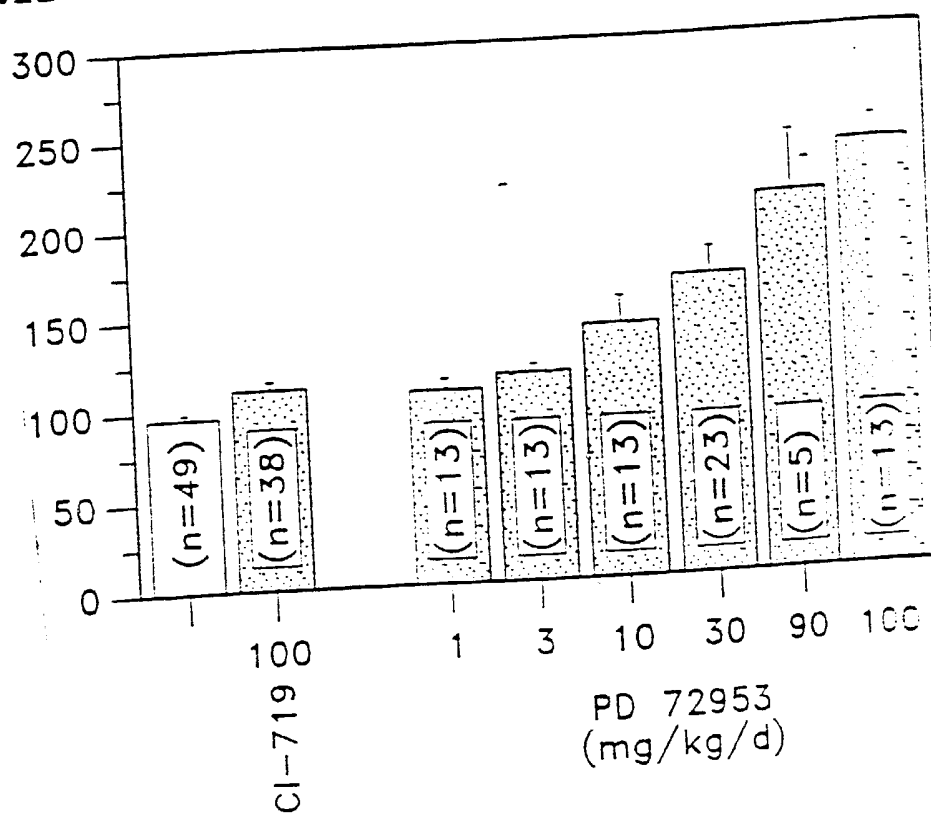
ФИГ. -2F



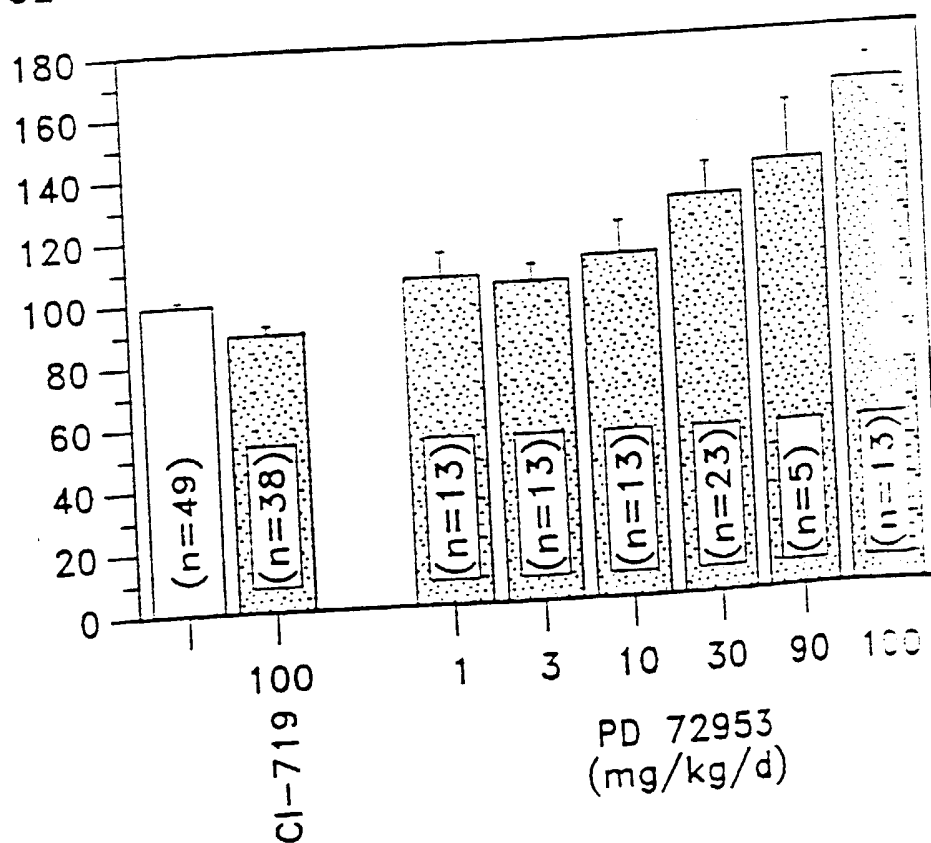
ФИГ. -2G



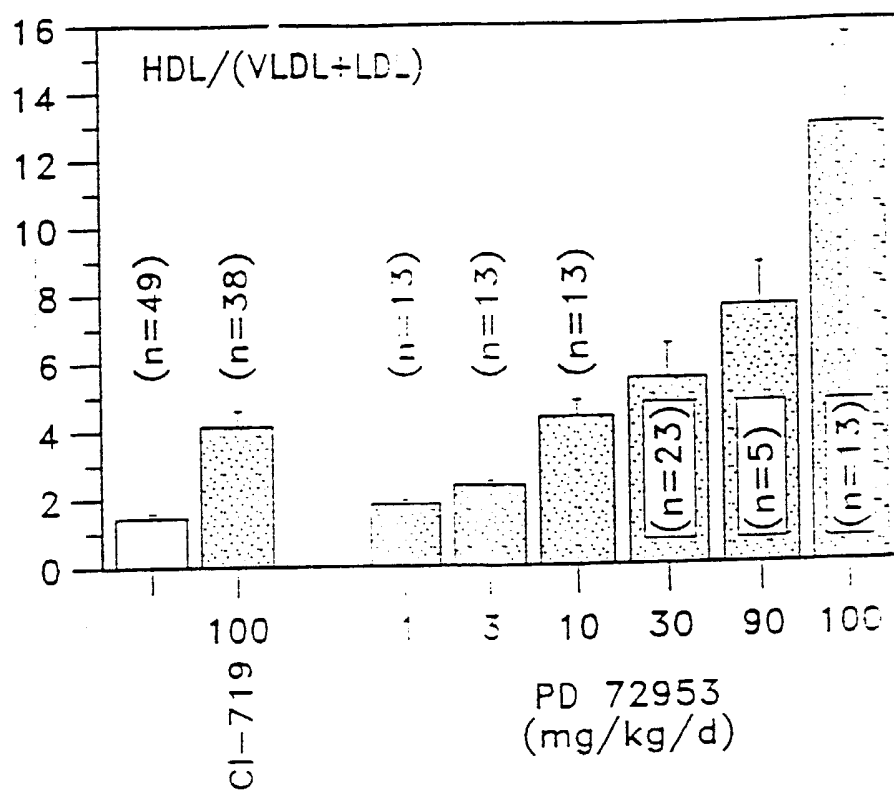
ФИГ. -2H



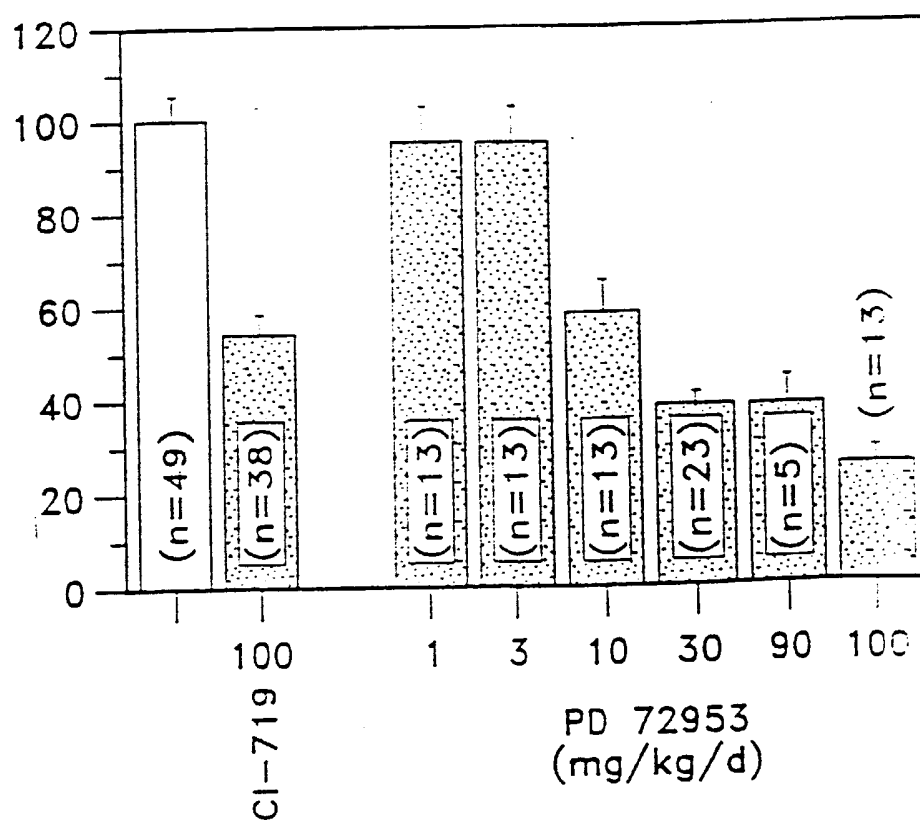
ФИГ. -2I



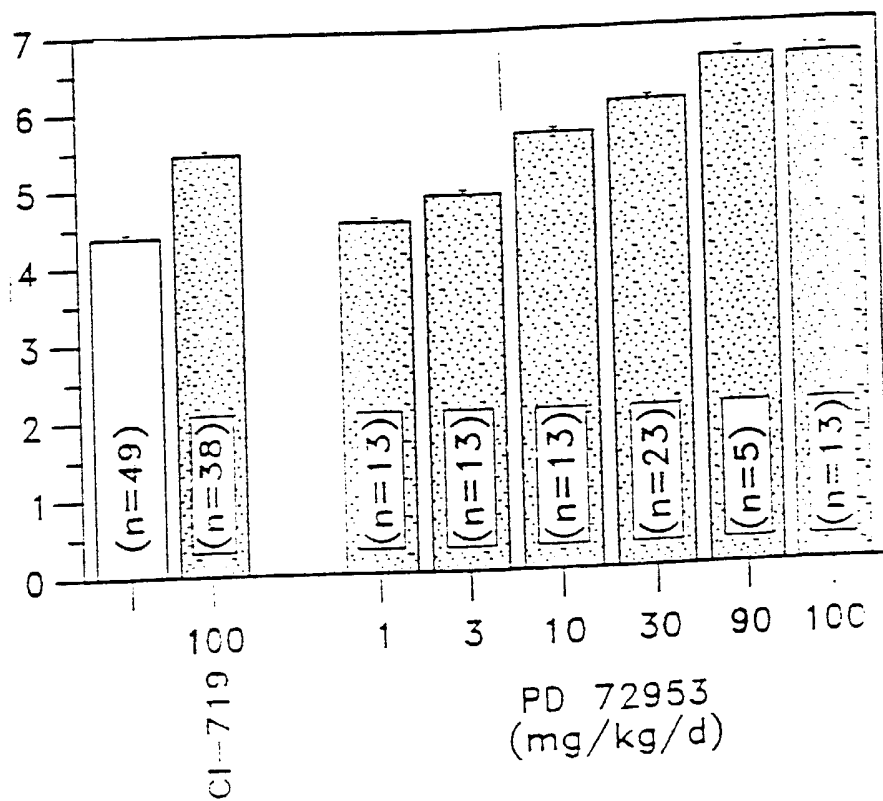
ФИГ. -2J



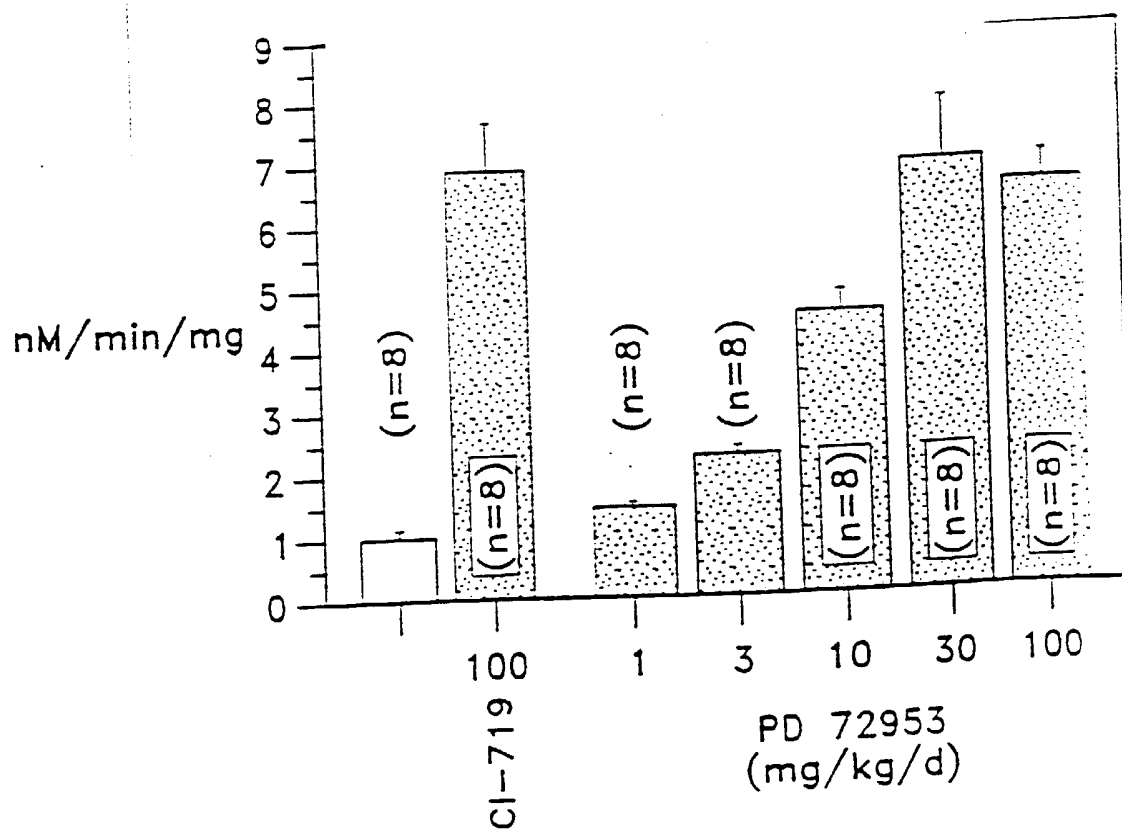
ФИГ. -2K



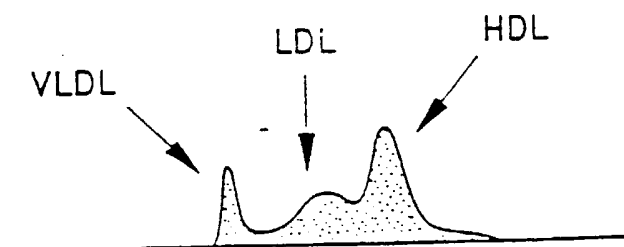
ФИГ. -2L



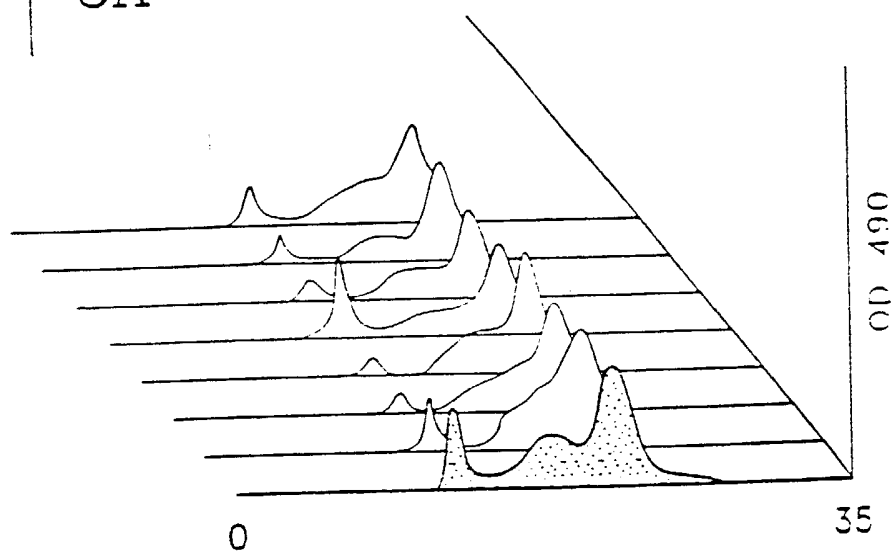
ФИГ. -2M



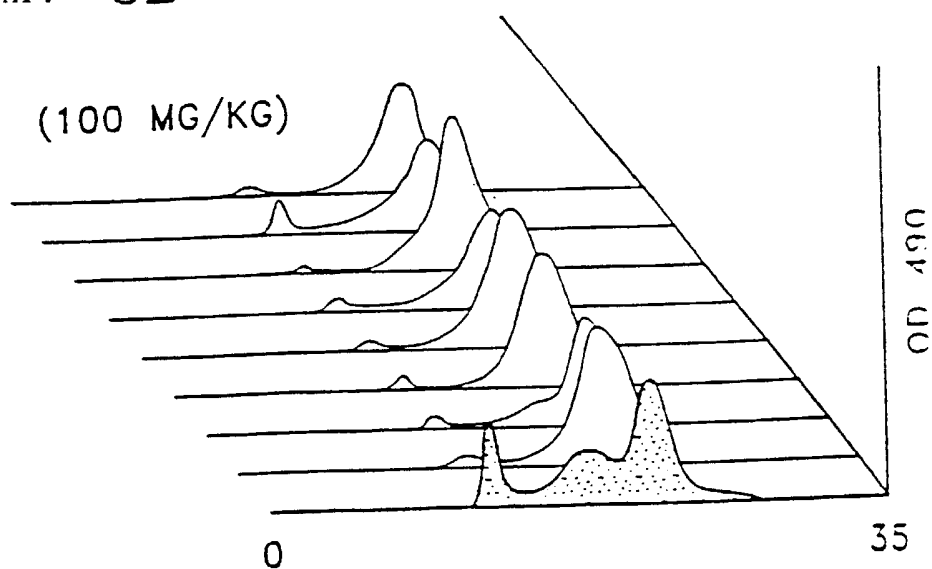
ФИГ. — 3



ФИГ. — 3А

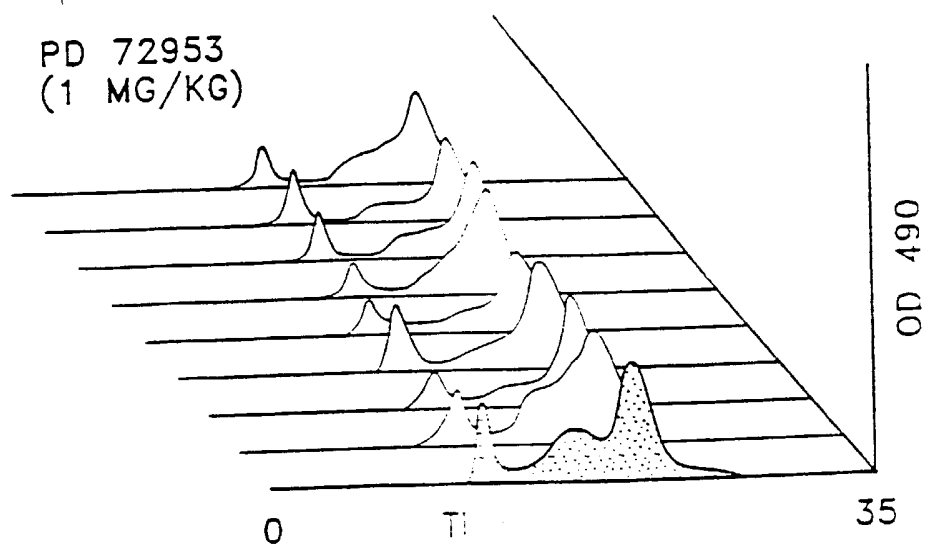


ФИГ. — 3В



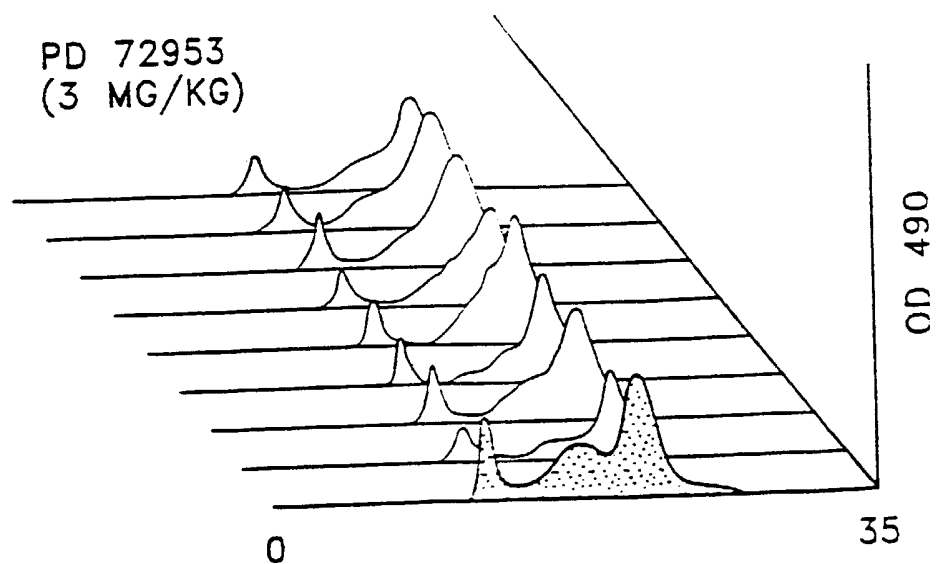
ФИГ.

-3C

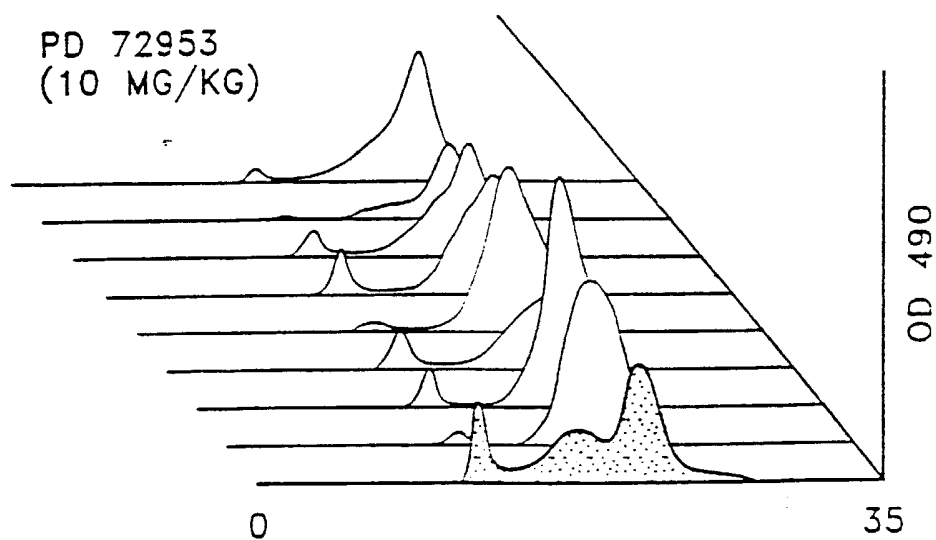
PD 72953
(1 MG/KG)

ФИГ.

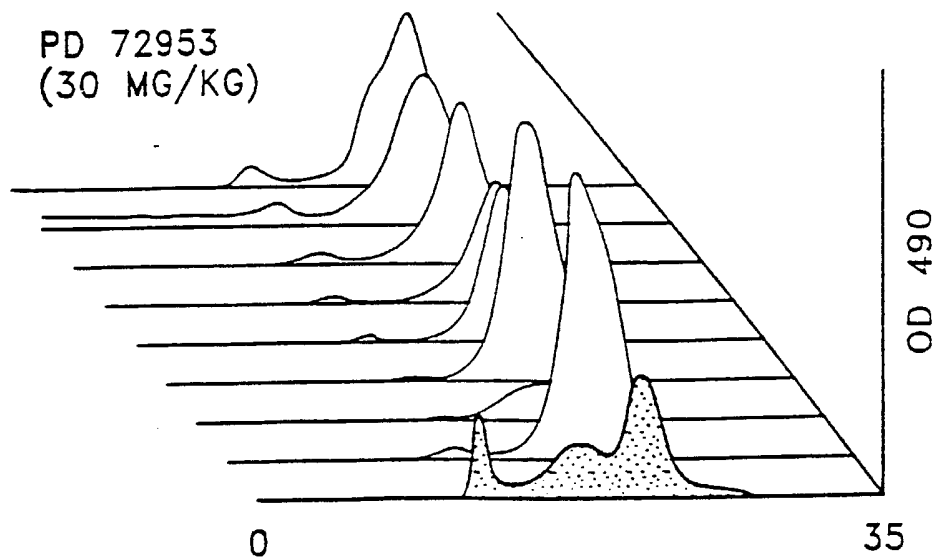
-3D

PD 72953
(3 MG/KG)

ФИГ. —3E

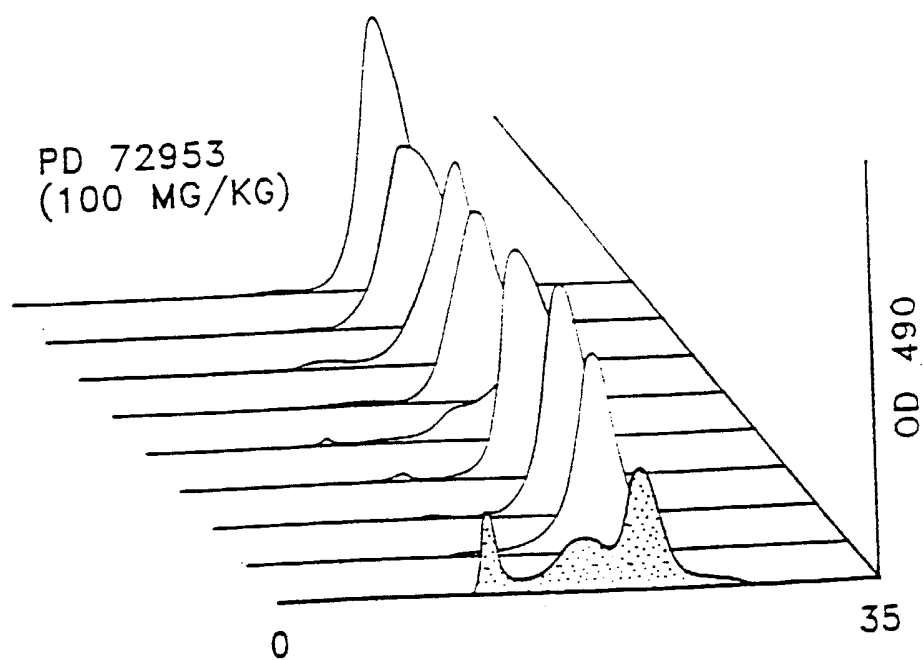
PD 72953
(10 MG/KG)

ФИГ. —3F

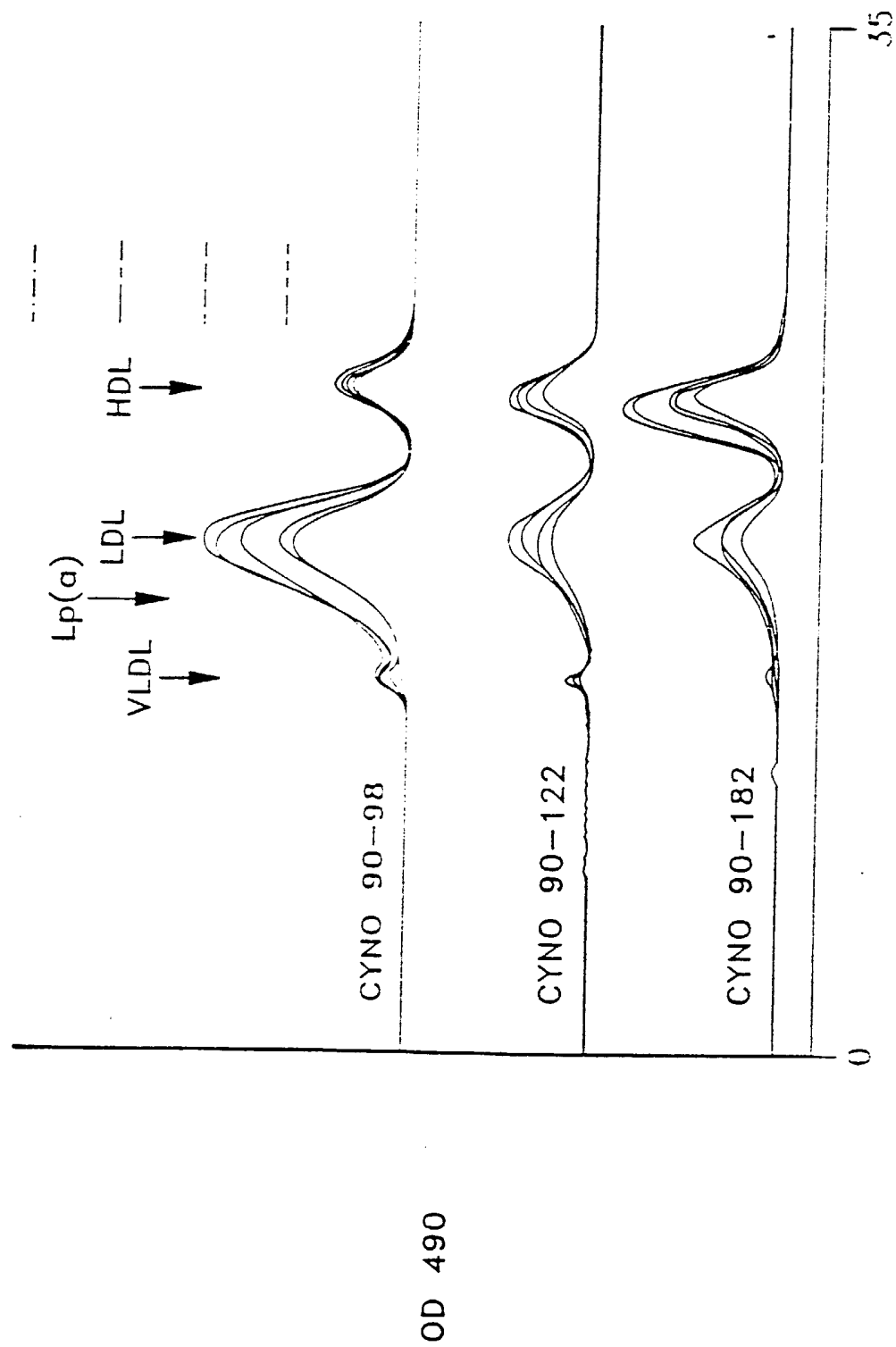
PD 72953
(30 MG/KG)

ФИГ.

-3G

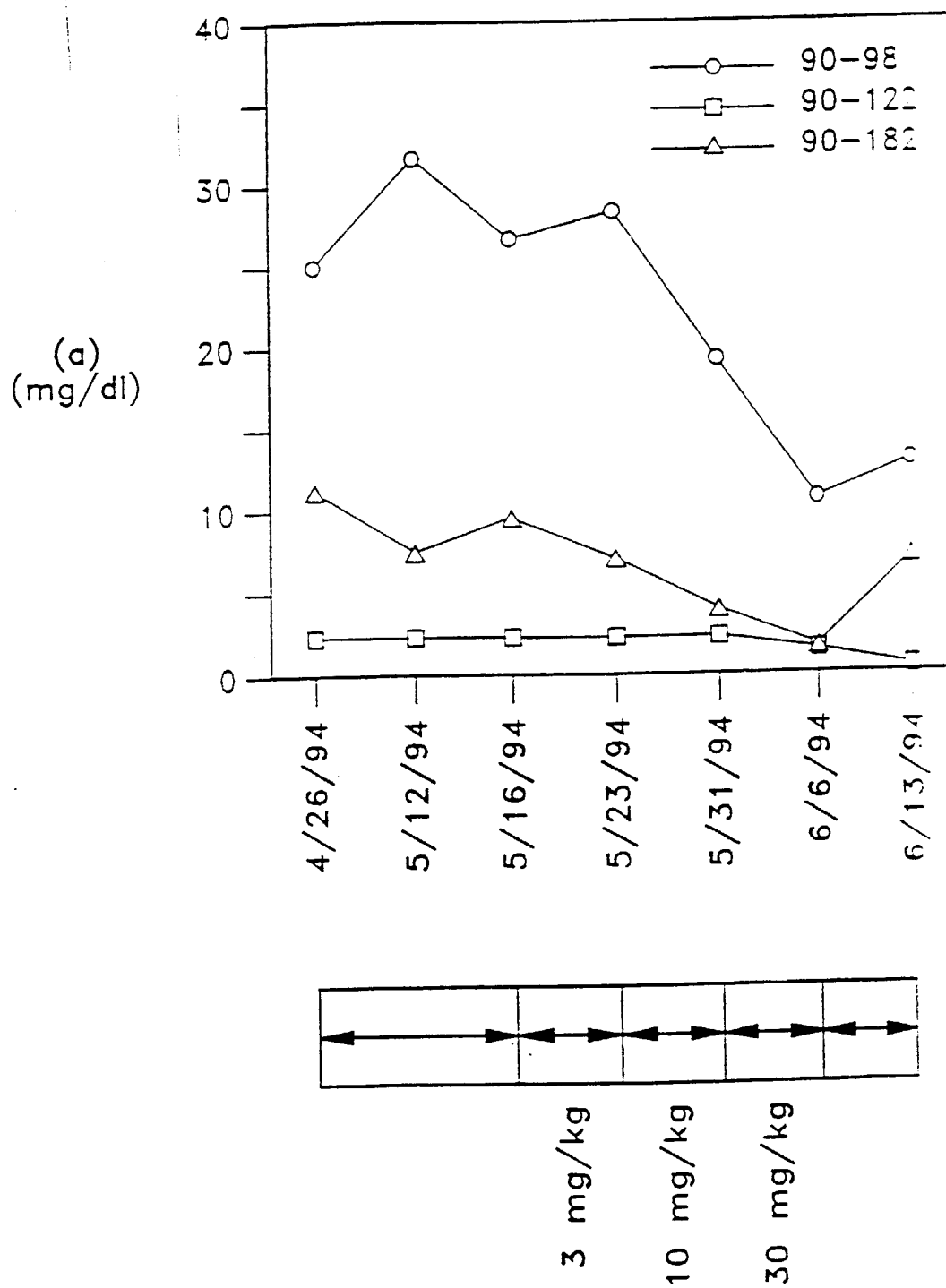


Фиг. —4

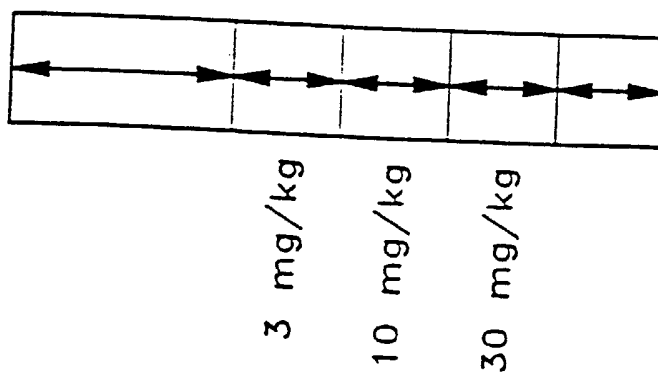
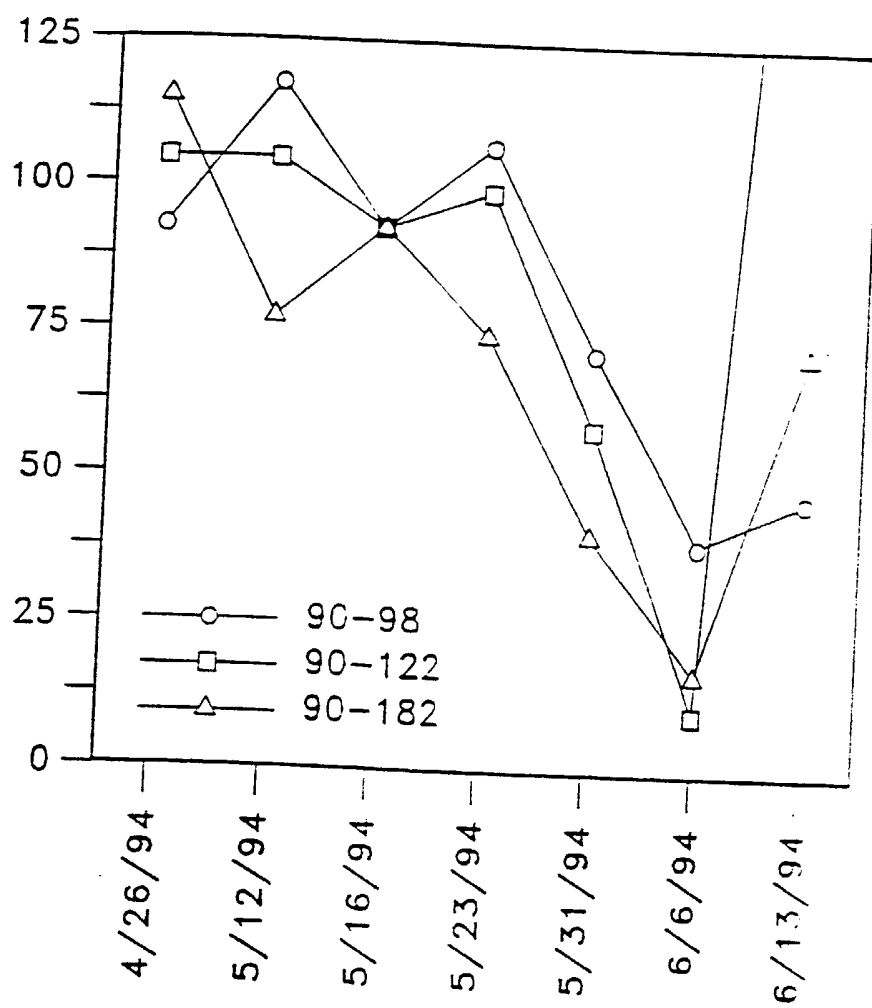


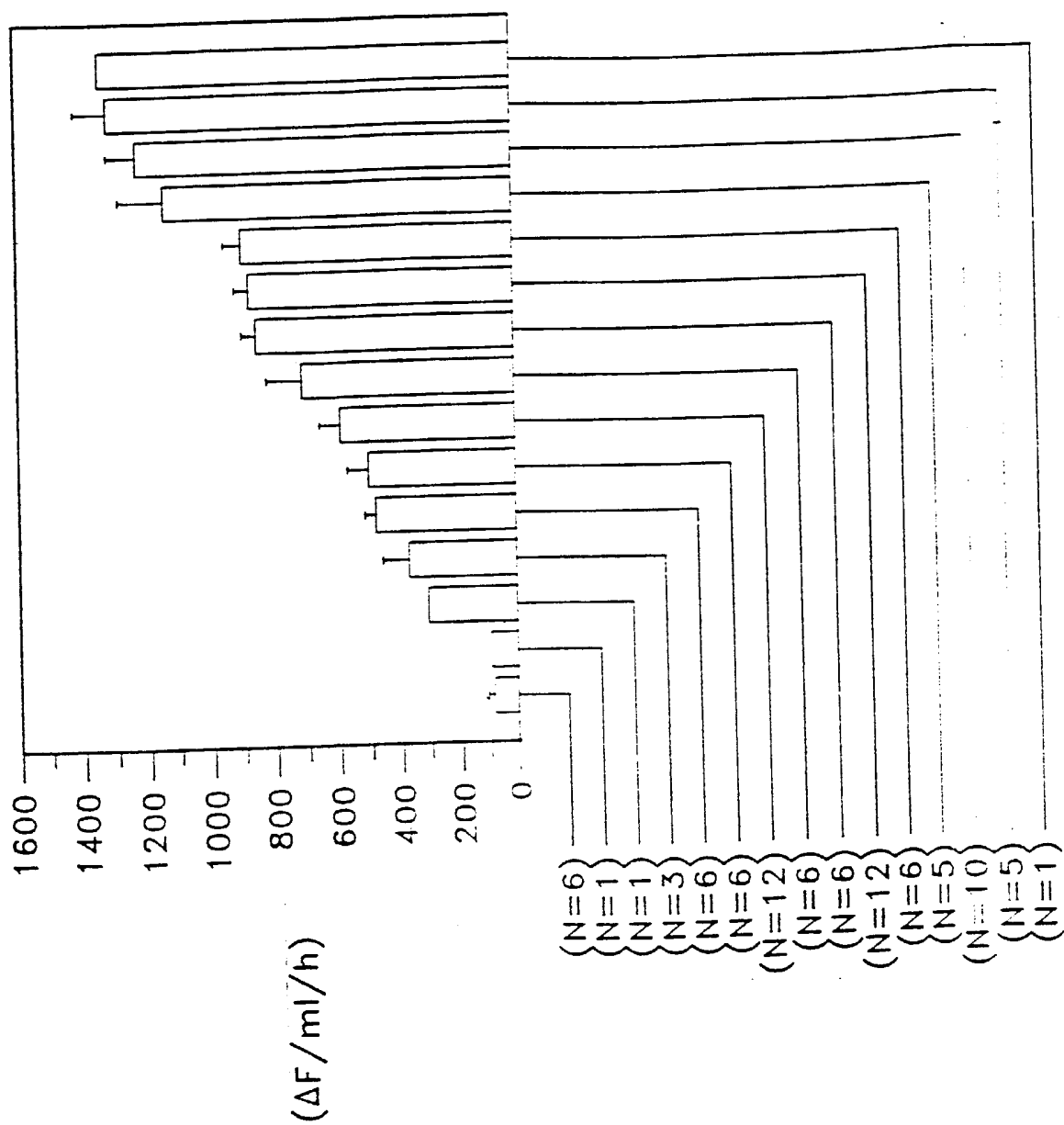
ФИГ.

-5A



ФИГ. -5В

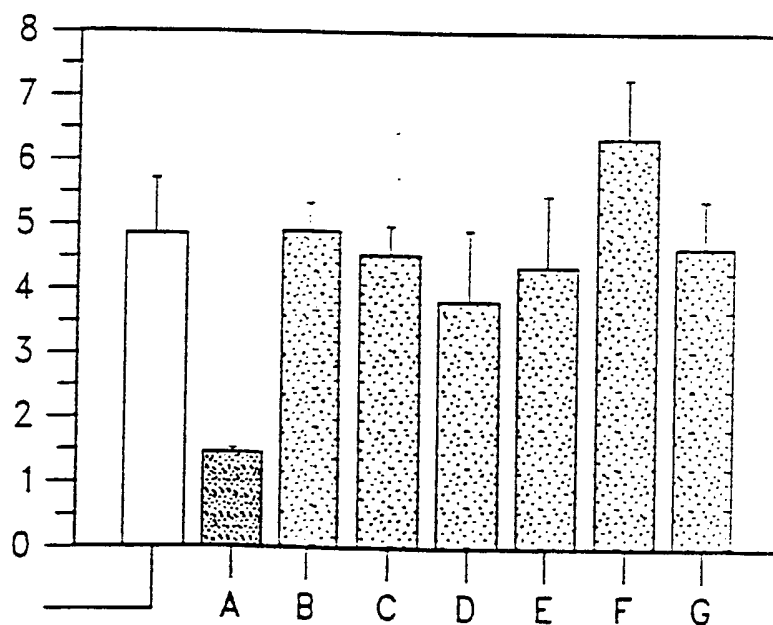




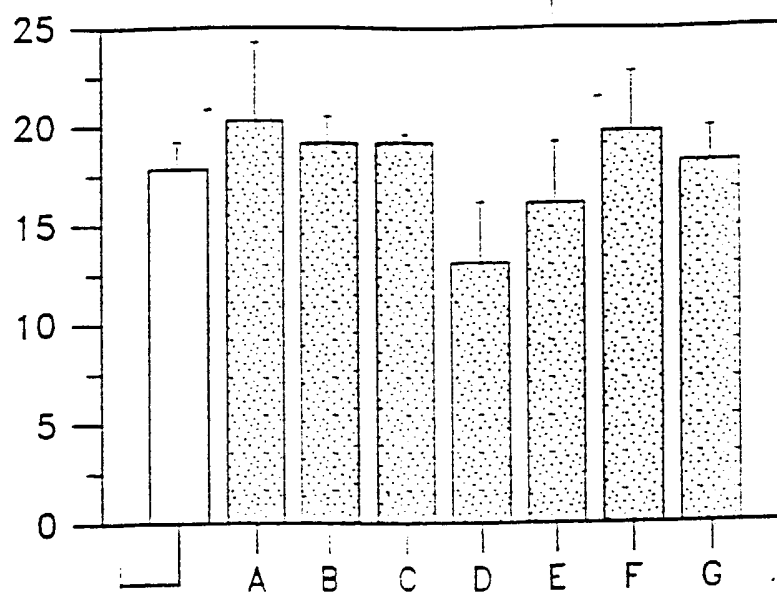
ФИГ. -7A

$ \begin{array}{c} Y_1 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} (CH_2)_n \text{---} O \text{---} (CH_2)_m \text{---} \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} Y_2 \end{array} $							
	1	4	6	7	2	9	ε
	A	B	C	D	E	F	G
n	4	2	3	4	5	3	ε
m	4	2	3	4	5	5	ε
Y ₁	COOH	COOH	COOEt	COOEt	COOH	COOH	COOCH ₃
Y ₂	COOH	COOH	COOEt	COOEt	COOH	COOH	COOCH ₃

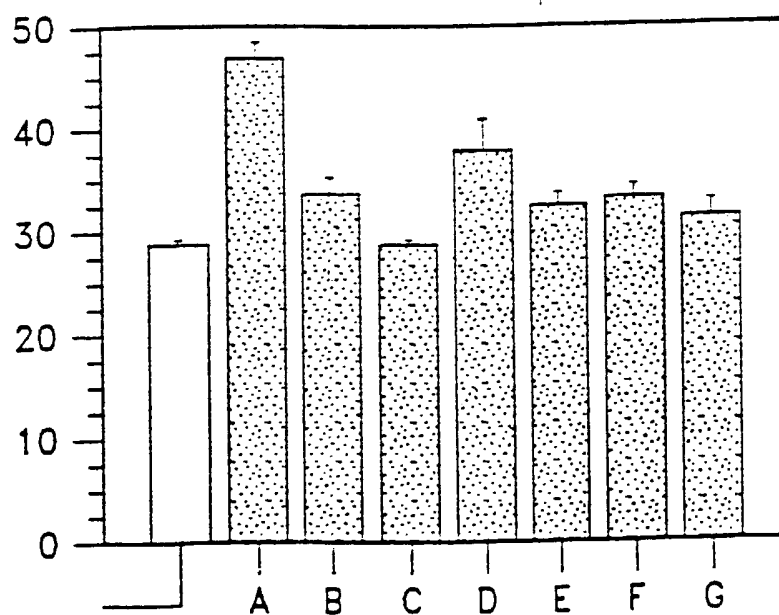
ФИГ. -7B



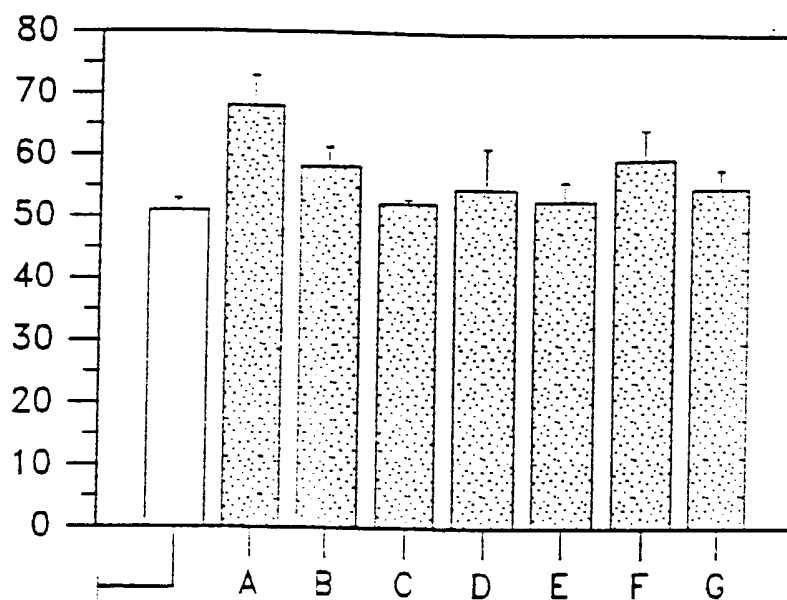
ФИГ. —7C



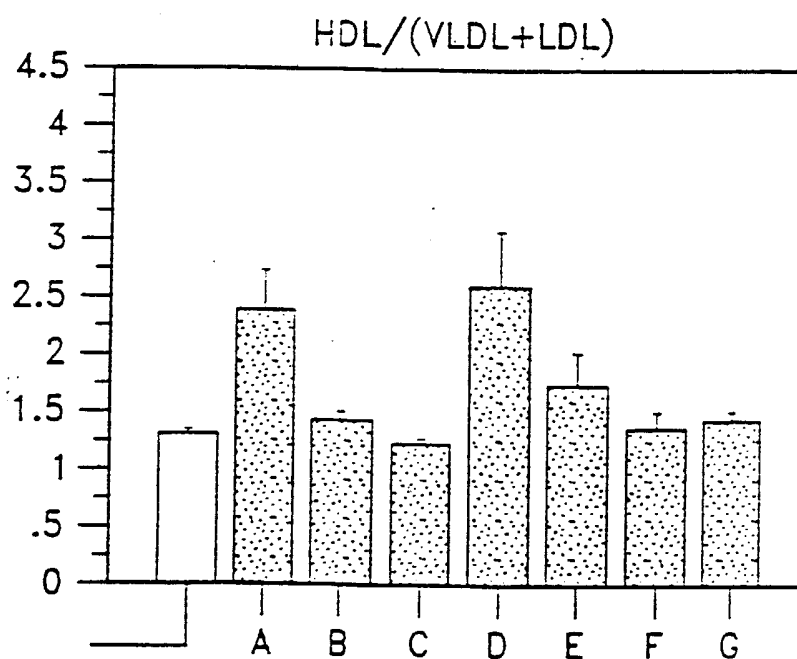
ФИГ. —7D



ФИГ. -7E

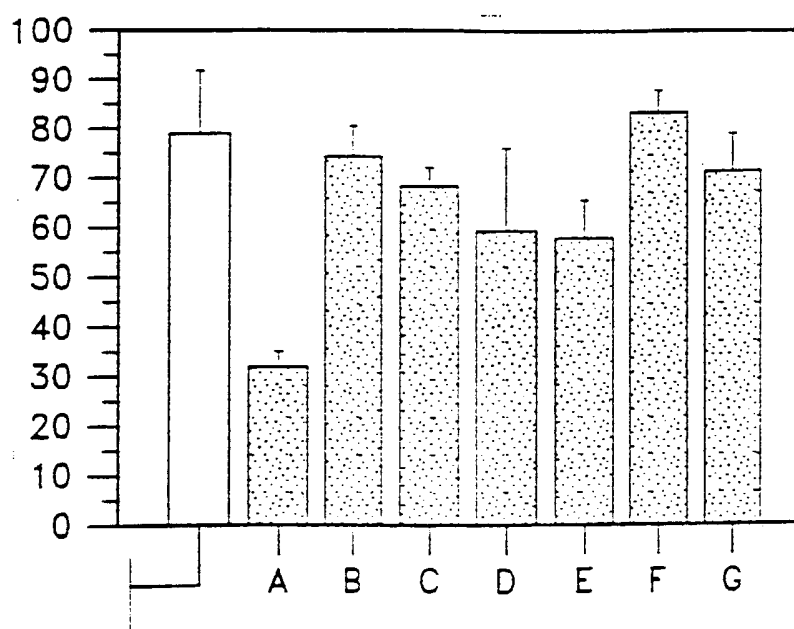


ФИГ. -7F

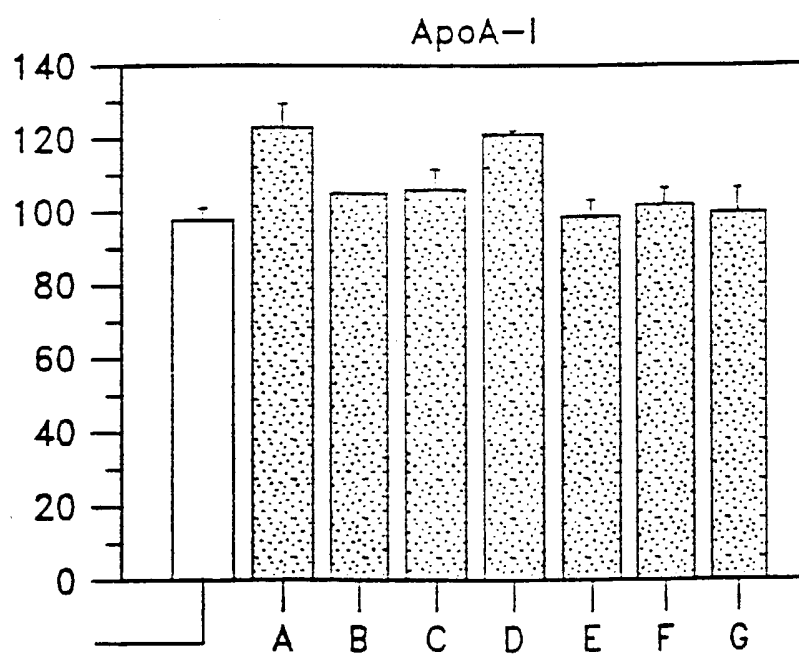


ФИГ.

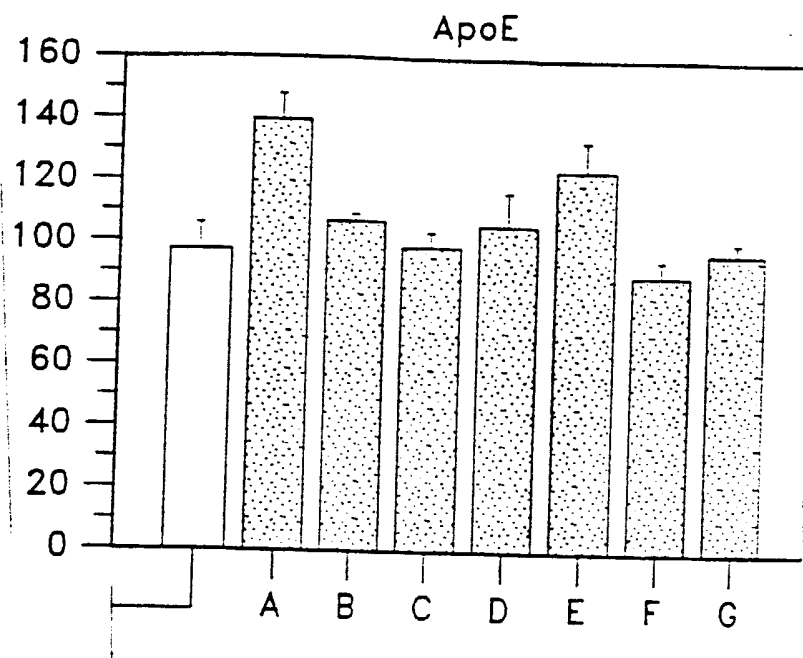
-7G



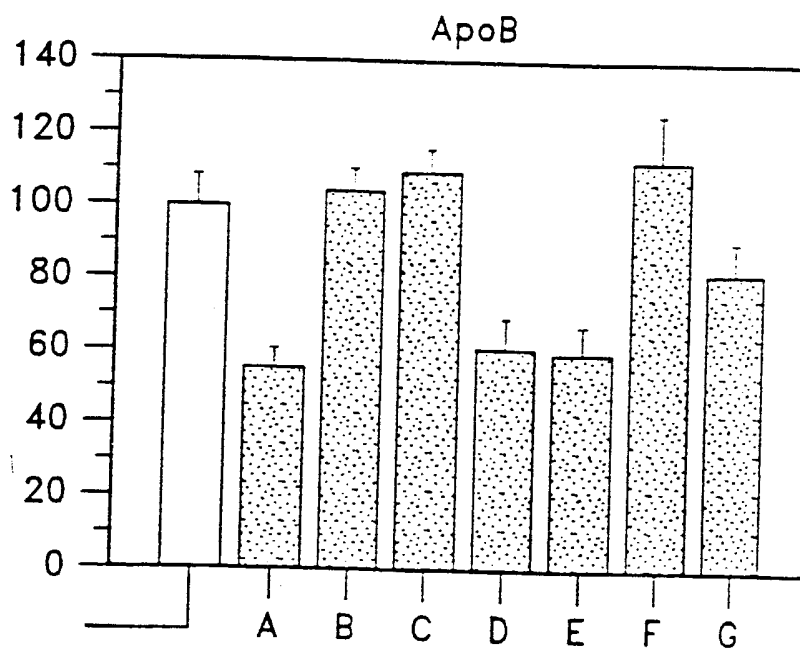
ФИГ. -7H



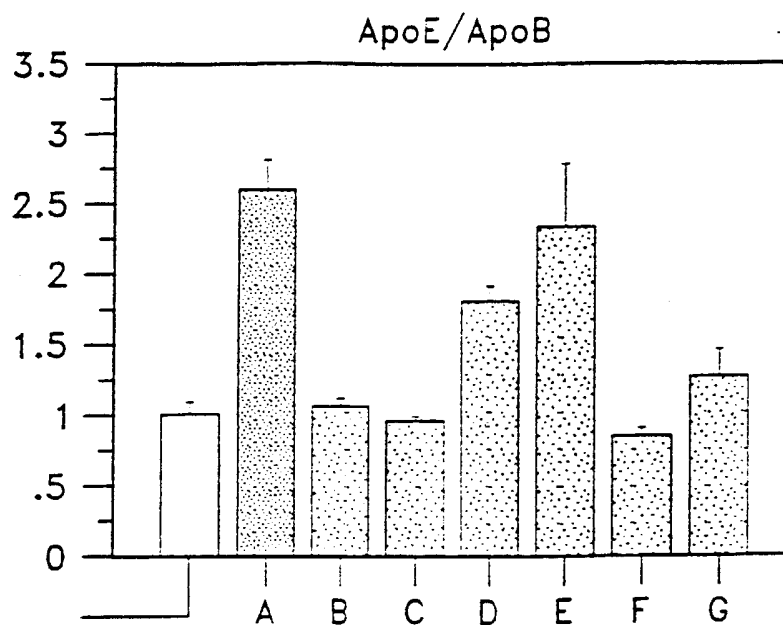
ФИГ. —7I



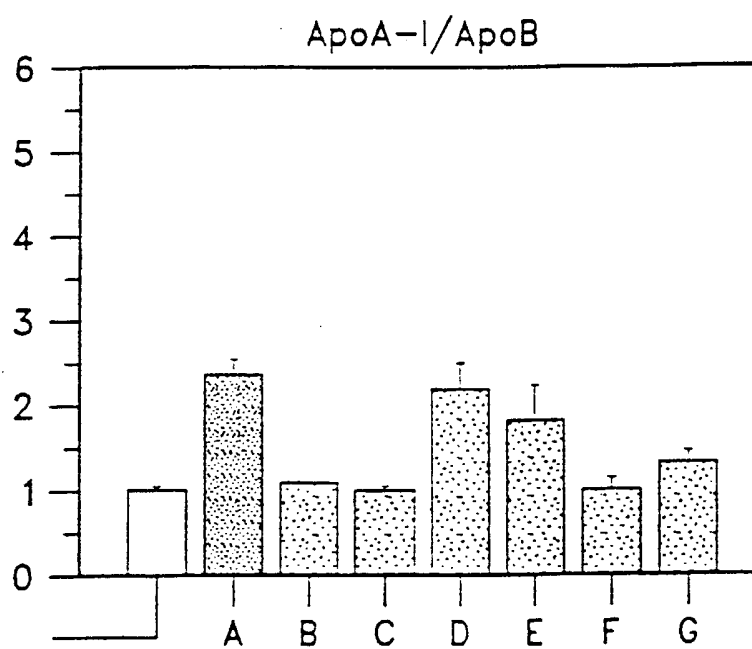
ФИГ. —7J



ФИГ. -7K



ФИГ. -7L



ФИГ. -7М

