



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 183 457** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) МПК⁷ **A 61 K 31/4545, A 61 P 25/06**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 97105384/14, 03.10.1995
(24) Дата начала действия патента: 03.10.1995
(30) Приоритет: 05.10.1994 US 08/318,330
(43) Дата публикации заявки: 20.05.1999
(46) Дата публикации: 20.06.2002
(56) Ссылки: EP 0438230 A2, 24.07.1991. ADHAM et al. Cloning of another human serotonin receptor (γ): a fifth receptor subtype coupled to the inhibition of adenylate cyclase. Proc. Nat. Acad. Sci. V. 90, Jun 1993, p. 408-412. Справочник практического врача./Под ред. Воробьева А.И. - М.: Медицина, 1990, т.2, с.94.
(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 04.04.1997
(86) Заявка РСТ: US 95/13010 (03.10.1995)
(87) Публикация РСТ: WO 96/11006 (18.04.1996)
(98) Адрес для переписки: 129010, Москва, ул. Большая Спасская, 25, стр.3, ООО "Юридическая фирма Городисский и Партнеры", Н.Г.Лебедевой

(71) Заявитель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)
(72) Изобретатель: АУДИА Джеймс Эдмунд (US), БРАНЧЕК Тереза Энн (US), КОХЕН Марлен Лоис (US), ДЖОНСОН Кирк Вилис (US), ФЕБАС Ли Алан (US)
(73) Патентообладатель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)
(74) Патентный поверенный:
Лебедева Наталья Георгиевна

(54) ПРИМЕНЕНИЕ 5-НТ_{1F}-АГОНИСТА ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ 5-НТ_{1F}-ОПОСРЕДУЕМОЙ НЕЙРОГЕННОЙ МЕНИНГЕАЛЬНОЙ ТРАНССУДАЦИИ

(57) Изобретение относится к медицине. Предложено применение 5-НТ_{1F}-агониста для ингибирования 5-НТ_{1F}-опосредуемой нейрогенной менингеальной транссудации и

лечения мигреновой боли. Средства снижают транссудацию вазоактивных нейробелков, вызывающих нейрогенное воспаление, при этом обладают минимальным сосудосуживающим действием. 6 з.п.ф-лы, 5 табл.

RU 2 1 8 3 4 5 7 C 2

RU 2 1 8 3 4 5 7 C 2



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 183 457** ⁽¹³⁾ **C2**
 (51) Int. Cl.7 **A 61 K 31/4545, A 61 P 25/06**

RUSSIAN AGENCY
 FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 97105384/14, 03.10.1995
 (24) Effective date for property rights: 03.10.1995
 (30) Priority: 05.10.1994 US 08/318,330
 (43) Application published: 20.05.1999
 (46) Date of publication: 20.06.2002
 (85) Commencement of national phase: 04.04.1997
 (86) PCT application:
 US 95/13010 (03.10.1995)
 (87) PCT publication:
 WO 96/11006 (18.04.1996)
 (98) Mail address:
 129010, Moskva, ul. Bol'shaja Spasskaja, 25,
 str.3, OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij
 i Partnery", N.G.Lebedevoj

(71) Applicant:
 EhLI LILLI EhND KOMPANI (US)
 (72) Inventor: AUDIA Dzhejms Ehdmond (US),
 BRANChEK Tereza Ehnn (US), KOKhEN Marlen
 Lois (US), DZhONSON Kirk Vilis (US), FEBAS Li
 Alan (US)
 (73) Proprietor:
 EhLI LILLI EhND KOMPANI (US)
 (74) Representative:
 Lebedeva Natal'ja Georgievna

(54) METHOD FOR APPLYING 5-HT₅-HT_{1F}-ANTAGONIST FOR INHIBITING 5-HT₅-HT_{1F}-MEDIATED
 NEUROGENIC MENINGEAL TRANSUDATION

(57) Abstract:
 FIELD: medicine. SUBSTANCE: method
 involves reducing vasoactive neuroprotein
 transudation causing neurogenic

inflammation. EFFECT: enhanced effectiveness
 of treatment; minimum vasoconstrictive
 activity. 7 cl, 5 tbl

RU
 2 183 457
 C2

RU
 ? 183457
 C2

Разнообразная физиологическая активность, проявляемая нейромедиатором серотонином (5-НТ, 5-гидрокситриптамиин), опосредуется по меньшей мере рецепторами семи классов: 5-НТ₁, 5-НТ₂, 5-НТ₃, 5-НТ₄, 5-НТ₅, 5-НТ₆ и 5-НТ₇. Наиболее неоднородным из этих классов, как оказывается, является класс 5-НТ₁, подклассы которого определяются как 5-НТ_{1А}, 5-НТ_{1В}, 5-НТ_{1С}, 5-НТ_{1D} (Hamon et al., *Neuropsychopharmacol.*, 3 (5/6), 349-360 (1990)) и 5-НТ_{1Е} (Leonhardt et al., *J. Neurochem.*, 53 (2), 465-471 (1989)). Као с соавторами выделили человеческий ген, который дает экспрессию дополнительного подкласса 5-НТ₁, 5-НТ_{1F} (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 408-412 (1993)). Этот 5-НТ_{1F}-рецептор, как показано, обладает фармакологическим профилем, отличным от любого уже описанного серотонергического рецептора.

Теории, связанные с патофизиологией мигрени, доминировали с 1938 г. благодаря работам Грэхэма и Вольфа (Graham, Wolff, *Arch. Neurol. Psychiatry*, 39, 737-63 (1938)). Они предполагали, что причиной мигрени, сопровождающейся головной болью, является вазодилатация внечерепных сосудов. Это мнение подтверждается тем, что алкалоиды спорыньи и суматриптан, сокращающие гладкие мышцы сосудов, эффективны при лечении мигрени. Суматриптан представляет собой гидрофильный агонист для 5-НТ₁-подобных рецепторов и не пересекает гематоэнцефалический барьер (Humhprey, et al., *Ann. NY Acad. Sci.*, 600, 587-600 (1990)). В публикациях WO 94/03446, WO 93/11106, 92/13856, EP 0438230 и в WO 91/18897 описано несколько новых рядов соединений, которые могут быть использованы при лечении мигрени. Каждый из этих рядов соединений создан с целью оптимизации сосудосуживающей активности суматриптана, опосредуемой 5-НТ₁-подобными рецепторами.

Противопоказания суматриптана - коронарный вазоспазм, артериальная гипертензия и стенокардия - также являются результатом его сосудосуживающей активности (MacIntyre, P. D., et al., *British Journal of Clinical Pharmacology*, 34, 541-546 (1992); Chester, A.H., et al., *Cardiovascular Research*, 24, 932-937 (1990); Conner, J.E., *European Journal of Pharmacology*, 161, 91-94 (1990)).

Хотя такой сосудистый механизм мигрени получил широкое признание, общие аргументы его обоснованности отсутствуют. Moskowitz показал, что наличие головных болей при мигрени не зависит от изменения диаметра сосудов (*Cephalalgia*, 12, 5-7 (1992)). Кроме того, Moskowitz предположил, что до недавнего времени неизвестные пусковые механизмы стимулируют ганглий тройничного нерва, который раздражает сосудистую сеть в тканях головы, приводя к повышению высвобождения вазоактивных нейробелков из нейритов сосудистой цепи. Эти высвобожденные нейробелки затем инициируют ряд биохимических событий, приводящих к нейрогенному воспалению, следствием которого и является появление боли. Такое нейрогенное воспаление

блокируется суматриптаном и алкалоидами спорыньи в дозе, аналогичной дозе, необходимой для лечения острой мигрени у человека. Хотя, как полагают, такая блокада транссудации нейрогенного белка, опосредуется с помощью 5-НТ_{1D}-рецепторов, эффективные дозы 5-НТ_{1D}-селективных соединений не коррелируют со связыванием *in vitro* с сайтом 5-НТ_{1D} связывания.

Отсутствие корреляции предполагает, что влияние суматриптана может опосредовать подтип рецептора, отличный от 5-НТ_{1D} (*Neurology*, 43 (suppl. , 3), S16-S20 (1993)). Кроме того, сообщалось, что рецепторы α , Н₃, μ -опиоида и соматостатина также могут располагаться на тройничных сосудистых волокнах и могут быть заблокированы нейрогенной плазменной транссудацией (Matsubara et al., *Eur. J. Pharmacol.*, 224, 145-150 (1992)). Weinshank с соавторами сообщили, что суматриптан и ряд алкалоидов спорыньи обладают высоким сродством к 5-НТ_{1F}-рецепторам, подтверждая роль 5-НТ_{1F}-рецепторов при мигрени (WO 93/14201).

Настоящее изобретение предлагает способ лечения мигрени и родственных заболеваний у млекопитающих, который включает введение эффективного количества 5-НТ_{1F}-агониста или композиции, проявляющей активность 5-НТ_{1F}-агониста, которые также обладают минимальным сосудосуживающим действием.

Настоящее изобретение предлагает способ лечения мигрени и родственных заболеваний, который основан на новом механизме действия. При лечении мигрени с помощью соединения или композиции, которые являются селективными агонистами 5-НТ_{1F}-рецепторов, родственных другим серотониновым рецепторам, которые продуцируют нежелательные эффекты типа сужения сосудов, нейрогенная менингеальная транссудация, которая приводит к боли при мигрени, ингибируется и физиологическая ответственность соединений, проявляющих сосудосуживающее действие или другие побочные эффекты, исключена. Этот механизм имеет место у млекопитающих и предпочтительным млекопитающим является человек.

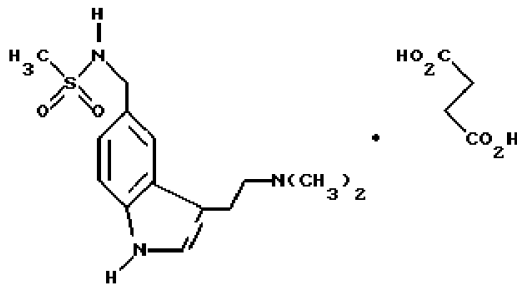
Дополнительный вариант осуществления изобретения включает введение композиции, которая проявляет активность селективного 5-НТ_{1F}-агониста. Композиция может содержать один или несколько агентов, которые индивидуально или вместе, являются селективными агонистами 5-НТ_{1F}-рецепторов, относительно других рецепторов серотонина, которые продуцируют нежелательные побочные эффекты, подобные сужению сосудов.

Термин "5-НТ_{1F}-агонист", который используется в описании настоящего изобретения, используется для обозначения полного или неполного агониста. Соединение, которое представляет собой частичный агонист 5-НТ_{1F}-рецептора, должен обладать достаточной активностью агониста для ингибирования нейрогенной менингеальной транссудации при приемлемой дозе. Хотя неполный агонист любой активности может быть использован в способе настоящего

изобретения, неполные агонисты с по меньшей мере 50%-ным действием агониста ($E_{\text{макс}}$) являются предпочтительными, при этом наиболее предпочтительными являются неполные агонисты с по меньшей мере 80%-ной активностью в качестве агониста ($E_{\text{макс}}$). Наиболее предпочтительны полные агонисты 5-HT_{1F}-рецептора.

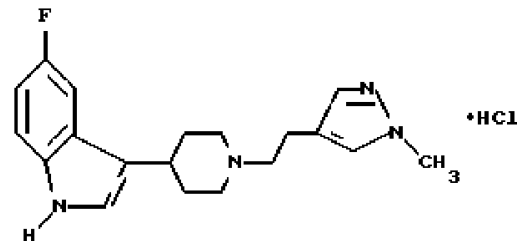
Ингибирование только транссудации нейробелков является необходимым, но недостаточным условием для осуществления способа настоящего изобретения. Способ настоящего изобретения также требует того, чтобы при дозах, эффективных для ингибирования транссудации нейробелков, имело место только минимальное сужение сосудов. Отношение сужения сосудов EC_{50} в подкожной ножной вене кролика к ингибированию транссудации нейробелков ID_{50} у морских свинок определяется как Индекс Специфичности. Индекс Специфичности рассчитывают исходя из данных оценки соединений или композиций, которые способны обнаруживать различия между этими физиологическими событиями. Набор соединений, используемых для доказательства принципов настоящего изобретения, и фармакологические пробы, необходимые для определения Индекса Специфичности, описаны ниже.

Соединение I
3-[2-(диметиламино)этил]-
N-метил-1H-индол-5-метансульфонамида
бутан-1,4-диоат (1:1)
(Сукцинат суматриптана)



Сукцинат суматриптана является коммерчески доступным под торговой маркой Imitrex TM или может быть получен в соответствии с описанием Патента США 5037845, выданного 6 августа 1991.

Соединение II
Гидрохлорид
5-фтор-3-{1-[2-[1-метил-1H-пиразол-4-ил]этил]-4-пиперидинил}-1H-индола



Соединение II может быть получено по следующей методике.

2-(1-метил-3-пиразоло)-1-этанол
К смеси 200 г (2,85 моль) 2,3-дигидрофурана и 800 мл (4,81 моль) триэтилортоформиата по каплям добавляют 0,8 мл (6,5 ммоль) эфирата трифторида бора. После начального экзотермического эффекта

реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение четырех дней. Затем к реакционной смеси добавляют 4,0 г карбоната натрия и реакционную смесь перегоняют при 6,0 мм рт.ст. Собирают фракции, кипящие между 60 и 130 °С, получают 261,64 г (42,1%) светложелтого масла.

Масс-спектр (м/е): 219 (M+).

К раствору 87,2 г (0,40 моль) предварительно полученного желтого масла в 787 мл 1 н. HCl добавляют 21,3 мл (0,40 моль) метилгидразина и реакционную смесь кипятят с обратным холодильником при перемешивании в течение 4 часов. Затем реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и летучие вещества удаляют при пониженном давлении. Оставшееся масло обрабатывают 2 н. NaOH до получения основной среды и водный слой тщательно экстрагируют дихлорметаном. Объединенные органические экстракты сушат над сульфатом натрия и концентрируют при пониженном давлении, получают 32,15 г (64,5%) названного соединения в виде коричневого масла.

Масс-спектр (м/е): 126 (M+).

Спектр ЯМР (DMCO-d₆, δ, м.д.): 7,45 (с, 1H); 7,25 (с, 1H); 4,65 (т, 1H); 3,75 (с, 3H); 3,55 (м, 2H); 2,55 (т, 2H).

1-метил-4-(2-метансульфонилоксиэтил)пиразол
К раствору 16,0 г (127 ммоль) 2-(1-метил-3-пиразоло)-1-этанола и 27 мл (193 ммоль) триэтиламина в 550 мл тетрагидрофурана при охлаждении на ледяной бане добавляют 10,8 мл (140 ммоль) метансульфонилхлорида. После окончания добавления реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 4 часов. Затем летучие вещества удаляют при пониженном давлении и остаток распределяют между водой и дихлорметаном. Органическую фазу промывают водой, затем насыщенным водным раствором хлорида натрия и оставшуюся органическую часть сушат сульфатом натрия. Растворитель удаляют при пониженном давлении, получают 28,4 г сырого продукта в виде коричневого масла, продукт используют без дополнительной очистки.

5-фтор-3-[1, 2, 5, 6-тетрагидро-4-пиридил]-1H-индол

К раствору 74 г гидроксида калия в 673 мл метанола добавляют 10,0 г (74 ммоль) 5-фториндола и 23,3 г (151 ммоль) 4-пиперидона•HCl•H₂O. Реакционную смесь перемешивают при нагревании с обратным холодильником в течение 18 часов. Реакционную смесь разбавляют 1,3 л воды и получающийся осадок отфильтровывают и сушат при пониженном давлении, получают 10,75 г (67,2%) 5-фтор-3-[1, 2, 5, 6-тетрагидро-4-пиридил]-1H-индола в виде желтого твердого вещества.

5-фтор-3-(4-пиперидинил)-1H-индол

К раствору 10,75 г (50 ммоль) 5-фтор-3-[1, 2, 5, 6-тетрагидро-4-пиридил]-1H-индола в 500 мл этанола добавляют 2,0 г 5%-ного палладия на угле и реакционную смесь гидрируют при комнатной температуре в течение 18 часов при начальном давлении водорода 420 кПа (60 фунтов/кв. дюйм). Затем реакционную смесь фильтруют через слой цеолита и фильтрат концентрируют в

вакууме, получают практически белое твердое вещество. Твердое вещество перекристаллизовывают из метанола, получают 8,31 г (76,2%) названного соединения в виде бесцветного твердого вещества. Т.пл. 229-230°C.

Масс-спектр (м/е): 218 (M⁺).

Элементный анализ. Вычислено: С 71,53; Н 6,93; N 12,83. Брутто-формула: C₁₃H₁₅N₂F. Найдено: С 71,81; Н 7,02; N 12,80.

Алкилирование

К раствору 2,0 г (9,2 ммоль) 5-фтор-3-(4-пиперидинил)-1Н-индола и 2,4 г (23 ммоль) карбоната натрия в 50 мл диметилформамида добавляют 1,87 г (9,2 ммоль)

1-метил-4-(2-метансульфонилоксиэтил)пиразола в 5 мл диметилформамида. Реакционную смесь перемешивают при 100°C в течение 18 часов. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и растворитель удаляют при пониженном давлении. Остаток распределяют между дихлорметаном и водой и фазы разделяют. Органическую фазу тщательно промывают водой, затем насыщенным хлоридом натрия. Оставшуюся органическую фазу сушат сульфатом натрия и концентрируют при пониженном давлении. Оставшееся масло подвергают хроматографированию на силикагеле, элюент дихлорметан:метанол, 20:1. Фракции, содержащие требуемое соединение, объединяют и концентрируют при пониженном давлении, получают желтое масло. Масло переводят в хлоргидратную соль и кристаллизуют из смеси этилацетат:метанол. Выделяют 1,61 г (51,1%) Соединения II в виде бесцветных кристаллов. Т.пл. 239°C.

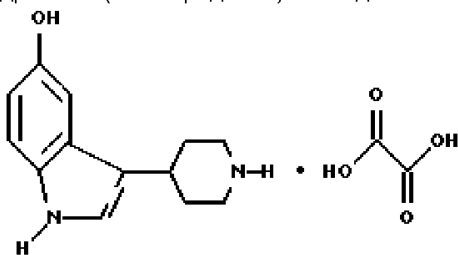
Масс-спектр (м/е): 326 (M⁺).

Элементный анализ. Вычислено: С 62,89; Н 6,67; N 15,44. Брутто-формула: C₁₉H₂₃N₄F•HCl. Найдено С 62,80; Н 6,85; N 15,40.

Соединение III

Оксалат

5-гидрокси-3-(4-пиперидинил)-1Н-индола



Соединение III может быть получено по следующей методике.

5-бензилокси-3-[1, 2, 5, 6-тетрагидро-4-пиридил]-1Н-индол

Исходя из 5,0 г (22 ммоль) 5-бензилоксииндола и 6,88 г (45 ммоль) 4-пиперидона•HCl•H₂O получают 6,53 г (97,6%) 5-бензилокси-3-[1, 2, 5, 6-тетрагидро-4-пиридил]-1Н-индола в виде светло-желтого твердого вещества по методике, описанной для синтеза 5-фтор-3-[1, 2, 5, 6-тетрагидро-4-пиридил]-1Н-индола (см. выше). Это вещество используют в последующих стадиях без дополнительной очистки.

Гидрирование/гидрогенолиз

К раствору 1,23 г (4 ммоль) 5-бензилокси-3-[1,2,5,6-тетрагидро

-4-пиридил]-1Н-индола в 50 мл смеси тетрагидрофуран:этанол, 1:1, добавляют 0,3 г 5%-ного палладия на угле и реакционную смесь гидрируют при комнатной температуре в течение 18 часов при начальном давлении водорода 420 кПа (60 фунтов/кв. дюйм). Затем реакционную смесь фильтруют через слой цеолита и фильтрат концентрируют при пониженном давлении. Остаток переводят в оксалат и выделяют 0,98 г (80,0%) Соединения III в виде коричневой пены. Т.пл. 67°C.

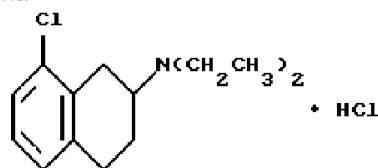
Масс-спектр (м/е): 216 (M⁺).

Элементный анализ. Вычислено: С 58,81; Н 5,92; N 9,14. Брутто-формула: C₁₃H₁₆N₂O•C₂H₂O₄. Найдено С 58,70; Н 5,95; N 9,39.

Соединение IV

Гидрохлорид

8-хлор-2-диэтиламино-1,2,3,4-тетрагидронафталина



Соединение IV может быть получено по следующей методике.

8-хлор-2-тетралон

Смесь 30,0 г (0,176 моль) о-хлорфенилуксусной кислоты и 40 мл тионилхлорида перемешивают при комнатной температуре в течение 18 часов. Летучие вещества удаляют в вакууме, получают 32,76 г (99,0%) о-хлорфенилацетилхлорида в виде прозрачной бледно-желтой подвижной жидкости.

Спектр ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): 7,5-7,1 (м, 4H), 4,2 (с, 2H).

К суспензии 46,5 г (0,348 моль) AlCl₃ в 400 мл дихлорметана при -78°C добавляют по каплям в течение 1 часа раствор 32,76 г (0,174 моль) предварительно приготовленного о-хлорфенилацетилхлорида в 100 мл дихлорметана. Баню сухой лед/ацетон заменяют баней лед/вода и через реакционную смесь барботируют этилен, при этом температура смеси поднимается до 15°C. Добавление этилена прекращают в конце выделения тепла и реакционную смесь перемешивают при температуре

приблизительно 5°C в течение 4 часов. Затем для разрушения алюминиевых комплексов к реакционной смеси добавляют лед. При завершении выделения тепла реакционную смесь разбавляют 500 мл воды и быстро перемешивают до растворения всех твердых веществ. Фазы разделяют и органическую фазу промывают соляной

кислотой (1 н., 3 x 400 мл) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (2 x 400 мл). Оставшуюся органическую фазу затем сушат сульфатом натрия и концентрируют в вакууме, получают бледно-оранжевый остаток. Остаток растворяют в смеси гексан:диэтиловый эфир, 1:1, и наносят на колонку с силикагелем для быстрого хроматографирования, элюируют смесью гексан:диэтиловый эфир, 1:1, получают светло-желтый остаток, который кристаллизуют из смеси гексан:диэтиловый эфир, 4:1, получают 10,55 г названного

соединения.

Спектр ЯМР (CDCl₃, м.д.): 7,5-7,2 (м, 3H), 3,7 (с, 2H), 3,3-3,0 (т, J=7 Гц, 2H), 2,8-2,4 (т, J=7 Гц, 2H).

Масс-спектр: 180(60), 165(9), 138(100), 117(52), 115(50), 103(48), 89(20), 76(25), 74(18), 63(30), 57(9), 52(28), 51(20), 42(6), 39(32).

ИК-спектр (вазелиновое масло): 2950 см⁻¹, 2927 см⁻¹, 1708 см⁻¹, 1464 см⁻¹, 1450 см⁻¹, 1169 см⁻¹, 1141 см⁻¹.

Восстановительное аминирование

К раствору 0,5 г (2,78 ммоль) 8-хлор-2-тетралона в 25 мл циклогексана добавляют 1,4 мл (13,9 ммоль) диэтиламина и затем 0,1 г моногидрата п-толуолсульфокислоты. Затем реакционную смесь кипятят с обратным холодильником с постоянным удалением воды (насадка Дина-Старка) в течение 18 часов. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и летучие вещества удаляют при пониженном давлении. Затем остаток растворяют в 15 мл метанола, к которому добавляют 1,5 мл уксусной кислоты, после чего порциями добавляют 0,5 г боргидрида натрия. Реакционную смесь перемешивают в течение 1 часа при комнатной температуре.

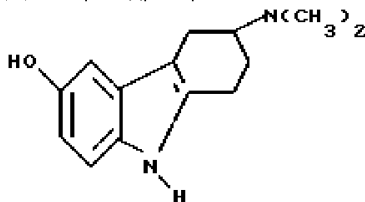
Реакционную смесь затем разбавляют 20 мл 10%-ной HCl и перемешивают еще в течение часа. Далее реакционную смесь экстрагируют диэтиловым эфиром и оставшуюся водную фазу выливают в лед, подщелачивают гидроксидом аммония и тщательно экстрагируют дихлорметаном. Эти экстракты объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют при пониженном давлении. Остаток опять растворяют в дихлорметане и хроматографируют на основном оксиде алюминия, элюируя дихлорметаном. Фракции, содержащие продукт, объединяют и концентрируют при пониженном давлении. Оставшееся масло растворяют в диэтиловом эфире и раствор насыщают хлористым водородом. Вязкий остаток кристаллизуют из смеси ацетон/диэтиловый эфир, получают 0,20 г (23,2%) Соединения IV в виде бесцветных кристаллов. Т.пл. 158-159°C.

Масс-спектр (м/е): 273.

Элементный анализ. Вычислено: С 61,32, Н 7,72, N 5,11. Брутто-формула: С₁₄H₂₁NCI₂. Найдено С 61,62, Н 7,94, N 5,03.

Соединение V

6-гидрокси-3-диметиламино
-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол



Соединение V может быть получено по следующей методике.

Этиленкеталь

4-диметиламино-1-циклогексанона

К раствору 5,0 г (32 ммоль) моно-этиленкеталья 1,4-циклогександиона и 10,80 г (240 ммоль) диметиламина добавляют 2,0 мл уксусной кислоты и смесь перемешивают при 0°C в течение 1,5 часов.

Затем к полученному раствору добавляют 3,62 г (58 ммоль) цианборгидрида натрия и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре еще один час. С помощью 16 мл уксусной кислоты pH реакционной смеси доводят до приблизительно 7 и перемешивают в течение 18 часов при комнатной температуре. Летучие вещества удаляют при пониженном давлении и остаток растворяют в холодном 5%-ном растворе винной кислоты и водную фазу подщелачивают с помощью 5 н. раствора гидроксида натрия. Водную фазу тщательно экстрагируют дихлорметаном. Органические экстракты объединяют и концентрируют при пониженном давлении, получают 5,04 г (85%) названного соединения в виде масла.

4-диметиламино-1-циклогексанон

4,96 г (26,8 ммоль) этиленкеталья

4-диметиламино-1-циклогексанона растворяют в 50 мл муравьиной кислоты и раствор перемешивают при кипячении с обратным холодильником в течение 18 часов. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и летучие вещества удаляют при пониженном давлении, получают 3,78 г (100%) названного соединения.

6-бензилокси-3-диметиламино

-1,2,3,4-тетрагидрокарбазол

К раствору 3,78 г (26,8 ммоль)

4-диметиламино-1-циклогексанона и 6,69 г (26,8 ммоль) гидрохлорида

4-бензилоксифенилгидразина в 50 мл этанола добавляют 2,17 мл (26,8 ммоль) пиридина. К

полученному раствору добавляют порциями (5 x 10 мл) воду и реакционную смесь

оставляют на 18 часов при температуре 0°C. Реакционную смесь разбавляют еще 50 мл

воды и смесь тщательно экстрагируют метилхлоридом. Объединенные

органические экстракты сушат над сульфатом натрия и летучие вещества удаляют при

пониженном давлении. Оставшееся масло подвергают быстрой хроматографии на силикагеле, элюент хлороформ: метанол, 9: 1. Фракции, содержащие требуемый продукт, объединяют и концентрируют при пониженном давлении, получают 2,14 г (24,9%) названного соединения.

Гидрогенолиз

К раствору 2,14 г (6,7 ммоль)

6-бензилокси-3-диметиламино-1,2,3,4-тетрагидрокарбазола в 50 мл этанола

добавляют 0,20 г 10%-ного палладия на угле и реакционную смесь гидрируют при

комнатной температуре при начальном давлении водорода 280 кПа (40 фунтов/кв.дюйм). Через 5 часов добавляют

еще одну порцию 0,20 г 10%-ного палладия на угле и реакционную массу выдерживают

при давлении водорода 280 кПа (40 фунтов/кв.дюйм) в течение 4 часов. Затем

реакционную смесь фильтруют через слой целолита и фильтрат концентрируют при

пониженном давлении. Остаток подвергают хроматографии на Флорисиле (Florisil), элюируют смесью хлороформ: метанол, 9:1.

Фракции, содержащие требуемое соединение, объединяют и концентрируют в вакууме.

Остаток подвергают градиентной хроматографии на Флорисиле, элюируют хлороформом, содержащим 2-10% метанола. Фракции, содержащие требуемое соединение, объединяют и концентрируют в вакууме, получают Соединение V в виде

кристаллического твердого вещества.

Масс-спектр (м/е): 230 (M+).

Элементный анализ. Вычислено: С 73,01; Н 7,88; N 12,16. Брутто-формула: C₁₄H₁₈N₂O. Найдено: С 72,75; Н 7,83, N 11,97.

Для того чтобы показать, что 5-HT_{1F}-рецептор ответственен за опосредование нейрогенной менингеальной трансудации, которая приводит к мигреновой боли, измеряют связующее сродство ряда новых соединений к серотониновым рецепторам, используя вначале стандартные методики. Например, способность соединения связываться с 5-HT_{1F}-рецептором оценивают по методике, описанной в работе N. Adham, et al., Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 90, 408-412 (1993). В целях сравнения определяют связующее сродство соединений к другим серотониновым рецепторам в соответствии с описанной ниже методикой, за исключением того, что вместо клона 5-HT_{1F}-рецептора используют различные клонированные рецепторы.

Препараты мембран

Мембраны получают из трансфецированных Ltk-клеток, которые выращивали до 100%-ного слияния. Клетки промывают дважды фосфатно-солевым буфером, соскабливают с чашек для культивирования и центрифугируют при 200 g в течение 5 мин при 4°C. Полученные пеллеты ресуспендируют в 2,5 мл охлажденного льдом буфера Трис (20 mM Трис HCl, pH 7,4 при 23°C, 5 mM ЭДТУК) и гомогенизируют с помощью гомогенизатора тканей Wheaton. Лизат затем центрифугируют при 200 g в течение 5 мин при 4°C для получения пеллет выделенных больших фрагментов. Надосадочную жидкость собирают и центрифугируют при 40000•g в течение 20 мин при 4°C. Полученные после этого центрифугирования пеллеты промывают охлажденным льдом буфером Трис и ресуспендируют в буфере, содержащем 50 mM Трис HCl и 0,5 mM ЭДТУК, pH 7,4 при 23°C. Препараты мембран хранят во льду и используют при проведении оценки связывания радиолигандов в течение 2-х часов. Концентрации белка определяют способом, описанным Брэдфордом (Bradford, Anal. Biochem., 72, 248-254 (1976)).

Связывание радиолигандов

[³H] 5-HT-связывание проводят с использованием несколько измененных условий 5-HT_{1D}-оценки, описанных Херрик-Дависом и Тителером (Herrick-Davis, Titeler, J. Neurochem., 50, 1624-1631 (1988)), с исключением маскирующих лигандов. Исследования по связыванию радиолигандов проводят при 37°C в общем объеме 250 мкл буфера (50 mM Трис, 10 mM MgCl₂, 0,2 mM ЭДТУК, 10 мкМ паргилина, 0,1% аскорбата pH 7,4 при 37°C) в 96-луночных титрационных микропланшетах.

Исследования по насыщению проводят с использованием [³H]5-HT в 12 различных концентрациях в интервале от 0,5 до 100 нМ. Исследования замещения осуществляют с использованием 4,5-5,5 нМ [³H]5-HT. Профили связывания лекарственных средств в конкурентных экспериментах определяют при использовании 10-12 концентраций соединения. Время выдерживания составляет

30 минут как при изучении насыщения, так и при изучении замещения, исходя из начальных исследований, в которых определяют условия равновесного связывания. Неспецифическое связывание определяют в присутствии 10 мкМ 5-HT. Связывание инициируют путем добавления 50 мкл гомогенатов мембран (10-20 мкг). Взаимодействие останавливают с помощью быстрого фильтрования через предварительно пропитанные (0,5%-ным полиэтиленимином) фильтры с использованием коллектора клеток 48R Brandel Cell Harvester (Gaithersburg, MD). Затем фильтры промывают в течение 5 с охлажденным льдом буфером (50 mM Трис HCl, pH 7,4, 4°C), сушат и помещают в сосуды, содержащие 2,5 мл Read-i-Safe (Beckman, Fullerton, CA) и измеряют радиоактивность с использованием сцинтилляционного счетчика Бекмана-Beckman LS 5000TA. Эффективность счета радиоактивности [³H]5-HT в среднем составляет 45-50%. Данные связывания анализируют с помощью компьютерного нелинейного регрессионного анализа (Accufit and Accucomp, Lunden Software, Chagrin Falls, OH). Значения концентраций IC₅₀ переводят в значение K_i с использованием уравнения Ченга-Пруссофа (Cheng-Prusoff, Biochem. Pharmacol., 22, 3099-3108 (1973)). Все опыты повторяют три раза. Результаты рассмотренных опытов по связыванию представлены в Таблице I.

Как указывалось в WO 93/14201 (Weinshank et al.), 5-HT_{1F}-рецептор функционально сопряжен с G-белком, что измеряется по способности серотонина и серотонергических лекарственных средств ингибировать стимулированное форсколином продуцирование цАМФ (сAMP) в NIH3T3-клетках трансфецированных 5-HT_{1F}-рецепторов. Аденилатциклазу определяют с использованием стандартных методик. Максимальный эффект достигается с помощью серотонина. Значение E_{макс} определяют путем деления ингибирования для испытуемого соединения на максимальный эффект и определения процента ингибирования (см. N. Adham et al., см. выше; R.L. Weinshank et al., Proceeding of the National Academy of Sciences (USA), 89, 3630-3634 (1992), а также приведенные там ссылки).

Измерение образования цАМФ

Трансфецированные NIH3T3-клетки (приблизительное значение V_{макс} для однотоочечных конкурентных исследований = 488 фмоль/мг белка) выдерживают в (DMEM), 5 mM теофиллина, 10 mM HEPES (4-2-гидроксиэтил-1-пиперазин-этансульфоно вая кислота) и 10 мкМ паргилина, в течение 20 минут при 37°C, 5% CO₂. Затем получают кривую зависимости концентрации лекарственного средства - эффект путем добавления 6-ти различных конечных концентраций лекарства с последующим немедленным добавлением форсколина (10 мкМ). Затем клетки выдерживают еще в течение 10 минут при 37°C, 5% CO₂. Среду отсасывают и реакцию останавливают путем добавления 100 mM HCl. Для того чтобы показать конкурентный антагонизм, параллельно получают кривую зависимости

концентрация - ответ для 5-НТ с использованием фиксированной дозы метиотепина (0,32 мкМ). Чашки хранят при 4 °С в течение 15 минут и затем центрифугируют в течение 5 минут при 500 g до получения пеллет клеточных осколков. Отбирают аликвоту надосадочной жидкости и хранят ее при -20 °С до проведения оценки образования цАМФ с помощью радиоиммунологического анализа (с использованием набора для радиоиммунологического анализа цАМФ; Advanced Magnetics, Cambridge, MA). Количественное значение радиоактивности определяют с помощью автоматического счетчика гамма-излучения Packard COBRA Auto Gamma counter, снабженного программным обеспечением. Все испытуемые соединения, как оказалось, являются агонистами при 5-НТ_{1F}-рецепторе при проведении цАМФ-оценки.

С целью определения способности ряда соединений ингибировать транссудацию белка проведен описанный ниже опыт, который представляет собой функциональную оценку нейронного механизма мигрени. Результаты проведенного опыта обобщены в Таблице II.

Оценка белковой транссудации

Крысам (Harlan Sprague-Dawley) весом 225-325 г или морским свинкам, полученным от Charles River Laboratories весом 225-325 г дают наркоз (пентобарбитал натрия, внутривенно, 65 мг/кг или 45 мг/кг соответственно) и помещают в стереотаксическую раму (David Kopf instruments) с набором комплектом переднерезцовых ограничителей при -3,5 мм для крыс или -4,0 мм для морских свинок. После срединного сагитального рассечения скальпа через череп просверливают две пары двухсторонних отверстий (6 мм сзади, 2,0 и 4,0 мм по бокам у крыс; 4,0 мм сзади, 3,2 и 5,2 мм по бокам у морских свинок, все координаты соотношены с брегмой). Пары стимулирующих электродов из нержавеющей стали, изолированных везде, кроме концов (Rhodes Medical Systems, Inc.), опускают через отверстия в оба полушария на глубину 9 мм (крысы) или 10,5 мм (морские свинки) от твердой мозговой оболочки.

Раскрывают бедренную вену и внутривенно вводят испытуемое соединение (1 мл/кг). Приблизительно через 7 минут также внутривенно вводят 50 мг/кг флуоресцентного красителя синий Эванс. Синий Эванс дает комплекс с белками в крови и выполняет функцию маркера белковой транссудации. Точно через 10 минут после инъекции испытуемого соединения стимулируют в течение 3 минут левый ганглий тройничного нерва при интенсивности тока 1,0 мА (5 Гц, продолжительность 4 мс) с помощью потенциостата/гальваностата (Model 273, EG & G Princeton Applied Research).

Через 15 минут после стимуляции животных умерщвляют и выпускают кровь с помощью 20 мл физиологического раствора. Удаляют верхнюю часть скальпа для облегчения сбора дуральных мембран. Образцы мембран удаляют из обоих полушарий, промывают водой и распределяют по плоскости предметных стекол. После сушки ткани покрывают 70%-ным водным раствором глицерина.

Для количественного определения синего Эванса в каждом образце используют флуоресцентный микроскоп (Zeiss), снабженный дифракционным монохроматором и спектрофотометром. Используют возбуждающую длину волны приблизительно 535 нм и определяют интенсивность эмиссии при 600 нм. Микроскоп снабжают механической платформой и соединяют с компьютером. Это обеспечивает контролируемое компьютером движение платформы для флуоресцентных измерений в 25 точках (500 мкм шаги) на каждом дуральном образце. С помощью компьютера определяют среднюю и стандартную ошибку измерений.

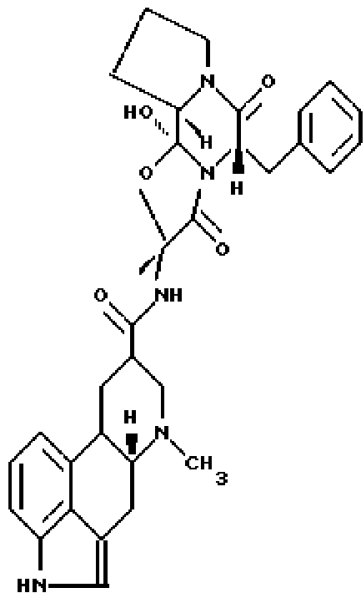
Транссудация, индуцируемая путем электростимуляции ганглия тройничного нерва, является ипсилатеральным эффектом (т.е. имеет место только на стороне твердой мозговой оболочки, в которой стимулировали ганглий тройничного нерва). Это дает возможность использовать не подвергавшуюся стимуляции сторону твердой мозговой оболочки в качестве контроля. Рассчитывают отношение величины транссудации в стимулированной твердой мозговой оболочке к транссудации в нестимулированной стороне. Солевой контроль дает отношение приблизительно 2,0 в случае крыс и 1,8 в случае морских свинок. С другой стороны, соединение, которое эффективно предупреждает транссудацию в твердой мозговой оболочке из стимулированной стороны, должно иметь отношение приблизительно 1,0. Получают кривую зависимости доза - реакция и получают приближенное значение дозы, которая ингибирует транссудацию на 50% (ID₅₀).

Для определения соотношения, существующего между связующим средством к каждому из рецепторов 5-НТ_{1D}^α, 5-НТ_{1D}^β, 5-НТ_{1E} и 5-НТ_{1F} и транссудацией нейробелков, строят график зависимости связывающего средства для каждого подтипа рецептора от их ID₅₀ в модели белковой транссудации. Для каждого набора данных осуществляют линейный регрессионный анализ и вычисляют коэффициент корреляции R². Полученные результаты представлены в Таблице III.

Идеально линейное соотношение будет давать коэффициент корреляции, равный 1,0, иллюстрирующий соотношение причины и эффекта между двумя переменными. Определенный опытным путем коэффициент корреляции между ингибированием транссудации нейробелка и связывающим средством 5-НТ_{1F} составляет 0,94. Такая почти идеальная зависимость ID₅₀ в модели белковой транссудации от связывающего средства к 5-НТ_{1F}-рецептору показывает, что 5-НТ_{1F}-рецептор опосредует ингибирование нейробелковой транссудации, возникающей при стимуляции ганглия тройничного нерва.

Как показано выше, в способе настоящего изобретения также может быть использован неполный агонист 5-НТ_{1F}-рецептора.

Дигидроэрготамин, например, представляет собой коммерческий препарат для лечения мигрени следующей формулы:



При оценке описанным выше способом дигидроэрготамин, как показано, связывается с 5-HT_{1F}-рецептором ($K_i=276$ нМ) и также является неполным агонистом 5-HT_{1F}-рецептора ($E_{\text{макс}}=49,5\%$). При оценке трансудации нейробелка дигидроэрготамин, как показано, является эффективным ингибитором нейробелковой трансудации ($ID_{50}=2,43 \cdot 10^{-8}$ ммоль/кг), достигая отношения 1,0 при сравнении сторон твердой мозговой оболочки. Дигидроэрготамин, как известно, является сильным сосудосуживающим средством (Goodman and Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8-th Edition, 943-947, Pergamon Press, New York (1990)) и сам по себе не может быть использован в настоящем изобретении.

Хотя для того чтобы соединение могло быть использовано в настоящем изобретении, оно должно обладать активностью агониста для 5-HT_{1F}-рецептора, обязательным условием является также то, чтобы оно не проявляло заметного сосудосуживающего действия. Соединения I, II, IV и V были проверены в следующих опытах с целью измерения их способности опосредовать вазоконстрикцию (сужение) подкожной вены ноги кролика. Полученные данные приведены в Таблице IV.

Сужение подкожной ножной вены кролика Самцов новозеландских белых кроликов (3-6 фунтов, 1,36-2,72 кг) (Hazleton, Kalamazoo, MI) умерщвляют летальной дозой пентобарбитала натрия (325 мг), который вводят в ушную вену. Ткани отделяют от соединительной ткани, катетеризируют in situ полиэтиленовой трубкой (ПЭ50, внешний диаметр - 0,97 мм) и помещают в чашки Петри, содержащие бикарбонатный буфер Кребса (описан ниже). Наконечники двух игл для подкожных инъекций из нержавеющей стали (30-го калибра), изогнутых в L-образную форму, плавно переходят в полиэтиленовую трубку. Иглы затем разделяют и нижнюю иглу прикрепляют с помощью нити к стационарному стеклянному стержню, а верхнюю иглу привязывают с помощью нити к датчику.

Ткани подвешивают в ваннах для органов, содержащих 10 мл модифицированного

раствора Кребса: 118,2 ммоль NaCl, 4,6 ммоль KCl, 1,6 ммоль CaCl₂•H₂O, 1,2 ммоль KH₂PO₄, 1,2 ммоль MgSO₄, 10,0 ммоль декстрозы и 24,8 ммоль NaHCO₃. Растворы в ванне для тканей имеют температуру 37 °С и насыщены 95% O₂ и 5% CO₂. К подкожной ножной вене прикладывают начальное оптимальное усилие покоя 1 г.

Изометрические сокращения записывают в виде изменения усилия (в граммах) на приборе Beckman Dynograph с датчиком типа Statham UC-3 и вспомогательным приспособлением, имеющим микрошкалу. Перед воздействием лекарственного средства ткани выдерживают до уравнивания в течение 1-2 часов. Для получения более чем двух кривых зависимости концентрации агониста - реакция получают кривые зависимости суммарная концентрация агониста/реакция в тканях и без ткани. Полученные результаты выражают в виде среднего значения EC₅₀, а максимальную реакцию выражают как процент от реакции, вызванной 67 ммоль KCl, введенных вначале в каждую ткань.

При такой оценке сужения кровеносных сосудов измеряют два важных параметра - сужение подкожной ножной вены (EC₅₀) и максимальное сужение как % от максимальной реакции на KCl. Сужение подкожной ножной вены (EC₅₀) представляет собой величину дозы, необходимой для сужения ткани до 50% от максимальной реакции, которую конкретное соединение способно передать. Максимальную реакцию, которую подкожная ножная вена способна проявить, измеряют после введения высокой концентрации (67 ммоль) хлористого калия. Процент максимального KCl-сужения представляет собой отношение максимальной реакции, которую конкретное соединение способно опосредовать, поделенную на максимальную реакцию, которую может давать ткань.

Данные, представленные в Таблицах II и IV, показывают, что изученные соединения существенно отличаются по их способности ингибировать нейробелковую трансудацию и опосредовать сужение кровеносных сосудов. Специфичность, которая необходима для настоящего изобретения, определяется как разделение способности опосредовать сужение сосудов относительно ингибирования нейробелковой трансудации, опосредуемого 5-HT_{1F}. Количественное выражение такой специфичности представляет собой отношение сужения к эффективности ингибирования нейробелковой трансудации. Это отношение, называемое Индексом Специфичности, для изученных соединений представлено в Таблице V.

Соединения II и V, имеющие Индекс Специфичности соответственно 91,12 и >923, являются примерами типичных соединений, которые могут быть использованы в способе настоящего изобретения. Соединения I и IV, хотя и проявляют значительную 5-HT_{1F}-активность, не обладают требуемой специфичностью. Суматриптан (Соединение I), коммерческий препарат для лечения мигрени, имеет незначительные различия между двумя видами активности и проявляет более высокую эффективность при сужении

кровеносных сосудов. Соединение IV обладает более высокой способностью опосредовать сужение сосудов, чем ингибировать нейробелковую транссудацию.

Следовательно, возможность применения соединения или композиции в способе настоящего изобретения определяется следующим образом:

1. Определение сродства к 5-НТ_{1F}-рецептору при проведении метода оценки связывания радиолигандов, описанного выше.

2. После установления сродства к 5-НТ_{1F}-рецептору определение агониста, неполного агониста или свойств антагониста с использованием описанного ранее цАМФ-метода.

3. Если показано, что соединение или композиция являются агонистом или неполным агонистом со значением E_{макс} по меньшей мере приблизительно 50%, то измеряют его эффективность в качестве ингибитора белковой транссудации и его эффективность при сужении подкожной ножной вены с использованием описанных выше методов.

4. Рассчитывают Индекс Специфичности.

Хотя соединение или композиция с Индексом Специфичности больше 1 могут быть использованы в способе настоящего изобретения, предпочтительны более высокие значения Индекса Специфичности. Более высокий Индекс Специфичности указывает на более высокую эффективность при ингибировании нейробелковой транссудации по сравнению с сужением кровеносных сосудов. Следующие интервалы значений Индекса Специфичности определяют специфичность соединений или композиций, которые могут быть использованы в настоящем изобретении, но никоим образом не ограничивают его.

Индекс Специфичности более 1.

Индекс Специфичности по меньшей мере

5. Индекс Специфичности в интервале 5-10000.

Индекс Специфичности в интервале 5-1000.

Индекс Специфичности в интервале 5-100.

Индекс Специфичности в интервале 5-10.

Индекс Специфичности по меньшей мере 10.

Индекс специфичности в интервале 10-10000.

Индекс Специфичности в интервале 10-1000.

Индекс Специфичности в интервале 10-100.

Индекс Специфичности по меньшей мере 100.

Индекс Специфичности в интервале 100-10000.

Индекс Специфичности в интервале 100-1000.

Индекс Специфичности по меньшей мере 1000.

Индекс Специфичности в интервале 1000-10000.

Индекс Специфичности в интервале 2000-10000.

Индекс Специфичности в интервале 2000-5000.

Индекс Специфичности в интервале 4000-10000.

Индекс Специфичности в интервале 6000-10000.

Индекс Специфичности в интервале 8000-10000.

5 Индекс Специфичности по меньшей мере 10000.

В конечном итоге, полезность соединения или композиции в способе лечения боли при мигрени и родственных заболеваний без значительных побочных эффектов, вызванных сужением кровеносных сосудов, определяется величиной их Индекса Специфичности. Индекс Специфичности представляет собой отношение сужения сосудов к ингибированию нейробелковой транссудации. Измерение способности соединения или композиции ингибировать нейробелковую транссудацию представляет собой функциональную оценку физиологических событий, приводящих к мигреновой боли. Нейробелковая транссудация, как показано, ингибируется агонистами 5-НТ_{1F}-рецептора.

Хотя в рассматриваемом способе можно вводить соединения индивидуально без соответствующей лекарственной формы, эти соединения используют в форме фармацевтических композиций, содержащих фармацевтически приемлемый наполнитель и по меньшей мере один активный ингредиент. Эти композиции могут быть введены различными путями, включая пероральный, трансбуккальный, ректальный, трансдермальный, подкожный, внутривенный, внутримышечный и назальный. Многие соединения, используемые в способе настоящего изобретения, эффективны как в виде композиций для инъекций, так и в виде пероральных композиций. Такие композиции получают хорошо известными в фармакологии способами и содержат по меньшей мере одно активное соединение (см., например, Remington's Pharmaceutical Science, 16th ed., 1980).

При производстве композиций, используемых в способе настоящего изобретения, активный ингредиент обычно смешивают с наполнителем, разбавляют наполнителем или заключают в таком носителе, который может иметь форму капсул, саше, бумаги или другого контейнера. Когда наполнитель служит в качестве разбавителя, он может быть твердым, полутвердым или жидким материалом и может выполнять функцию наполнителя, носителя или среды для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут иметь форму таблеток, пилюль, порошков, лепешек, саше, крахмальных облаток, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (как твердых, так и в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10 вес.% активного ингредиента, мягких и твердых желатиновых капсул, свечей, стерильных растворов для инъекций, а также стерильных упакованных порошков.

При получении рецептур может быть необходимо измельчать активный ингредиент для получения необходимого размера частиц перед смешением с другими ингредиентами. Если активное соединение является практически нерастворимым, то его обычно размалывают до размера частиц менее чем 200 меш. Если активный ингредиент

растворим в воде, то размер частиц обычно доводят путем помола до размера около 40 меш с целью однородного распределения в рецептуре. Некоторыми примерами приемлемых наполнителей являются лактоза, декстроза, сахароза, сорбит, манит, крахмалы, аравийская камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическая целлюлоза, поливинилпирролидон, целлюлоза, вода, сироп и метилцеллюлоза. Рецептуры могут дополнительно включать: смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие агенты; эмульгирующие и суспендирующие агенты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; подслащивающие агенты; и корригенты. Композиции настоящего изобретения могут быть приготовлены так, чтобы после введения лекарственного средства пациенту получить быстрое, отсроченное или замедленное выделение активного ингредиента. С этой целью используют методики, известные в данной области.

Композиции предпочтительно получают в виде стандартных лекарственных форм. Понятие "стандартная лекарственная форма" относится к физически дискретным единицам, которые могут быть использованы в качестве стандартной дозы при лечении человека или млекопитающего, причем каждая единица содержит определенное количество активного материала, рассчитанное так, чтобы получить желаемый терапевтический эффект, в сочетании с приемлемым фармацевтическим наполнителем. Активные соединения обычно проявляют активность в широком интервале доз. Однако следует понимать, что количество вводимого соединения будет определяться врачом с учетом конкретного случая, то есть с учетом состояния, которое должно подвергаться лечению, выбранного способа введения, свойств используемого соединения или соединений возраста, веса и индивидуальной реакции пациента, а также с учетом серьезности симптомов заболевания у пациента.

Далее приведены дозировки, которые иллюстрируют настоящее изобретение и никоим образом не ограничивают его объем. В некоторых случаях могут быть достаточны уровни дозировок ниже количества, приведенного в примерах, тогда как в других случаях могут быть использованы более высокие дозы без появления вредных побочных эффектов, при условии, что такие более высокие дозы делятся на несколько более мелких доз, которые вводятся в течение дня.

Рецептурный Пример 1

Готовят твердые желатиновые капсулы, содержащие следующие ингредиенты:

- Ингредиент - Количество (мг/капсула)
- Соединение II - 30,0
- Крахмал - 305,0
- Стеарат магния - 5,0

Приведенные выше ингредиенты смешивают и вводят в твердые желатиновые капсулы в количестве 340 мг.

Рецептурный Пример 2

Готовят таблетки, содержащие следующие ингредиенты:

- Ингредиент - Количество (мг/таблетка)
- Соединение V - 25,0

- 5 Целлюлоза микрокристаллическая - 200,0
- Коллоидная двуокись кремния - 10,0
- Стеариновая кислота - 5,0
- Представленные выше компоненты смешивают и прессуют в форме таблеток, каждая весом 240 мг.
- Рецептурный Пример 3
- Готовят сухой порошок для ингаляции, содержащий следующие ингредиенты:
- 10 Ингредиент - Вес, %
- Соединение II - 5
- Лактоза - 95
- Активный компонент смешивают с лактозой и полученную смесь добавляют в приспособление для ингаляции сухим порошком.
- 15 Рецептурный Пример 4
- Готовят таблетки, каждая из которых содержит 30 мг активного ингредиента:
- Ингредиент - Количество (мг/таблетка)
- Соединение V - 30,0
- Крахмал - 45,0
- 20 Микрокристаллическая целлюлоза - 35,0
- Поливинилпирролидон (в виде 10%-ного раствора в воде) - 4,0
- Натрий-карбоксиметилкрахмал - 4,5
- Стеарат магния - 0,5
- 25 Тальк - 1,0
- Итого - 120
- Активный ингредиент, крахмал и целлюлозу пропускают через сито размером 20 меш (20 mesh U.S.) и тщательно смешивают. Раствор поливинилпирролидона смешивают с полученными порошками, которые затем пропускают через сито размером 16 меш. Полученные таким образом гранулы сушат при 50-60°C и пропускают через сито 16 меш.
- 30 Натрий-карбоксиметилкрахмал, стеарат магния и тальк, предварительно просеянные через сито размером 30 меш, добавляют затем к гранулам, которые после смешения прессуют с помощью таблетующей машины в таблетки весом 120 мг каждая.
- 35 Рецептурный Пример 5
- Капсулы, каждая из которых содержит по 40 мг лекарственного средства, получают следующим образом:
- Ингредиент - Количество (мг/капсула)
- Соединение II - 40,0
- 45 Крахмал - 109,0
- Стеарат магния - 1,0
- Итого - 150,0 мг
- Активный ингредиент, крахмал и стеарат магния смешивают, пропускают через сито размером 20 меш и полученную смесь вводят в твердые желатиновые капсулы по 150 мг в каждую.
- 50 Рецептурный Пример 6
- Свечи, содержащие по 25 г активного ингредиента, готовят следующим образом:
- Ингредиент - Количество
- 55 Соединение V - 25 мг
- Глицериды насыщенных жирных кислот - до 2000 мг
- Активный ингредиент пропускают через сито размером 60 меш и суспендируют в глицеридах жирных кислот, которые предварительно расплавлены с использованием минимального количества тепла. Смесь затем выливают в форму для свечей с номинальной емкостью 2,0 г и охлаждают.
- 60 Рецептурный Пример 7
- Суспензии, содержащие 50 мг

лекарственного средства в 5 мл, готовят следующим образом:

Ингредиент - Количество, мг
Соединение II - 50,0
Камедь - 4,0

Натрий-карбоксиметилцеллюлоза (11%),
микрокристаллическая целлюлоза (89%) - 50,0

Сахароза - 1,75

Бензоат натрия - 10,0

Корригент и краситель - q.v.

Очищенная вода - до 5, 0 мл

Лекарственное средство, сахарозу и камедь смешивают, пропускают через сито размером 10 меш и затем смешивают с предварительно полученным раствором микрокристаллической целлюлозы и натрий-карбоксиметилцеллюлозы в воде. Бензоат натрия, корригент и краситель разбавляют небольшим количеством воды и добавляют при перемешивании. Затем добавляют воду в количестве, достаточном для получения необходимого объема.

Рецептурный Пример 8

Капсулы, каждая из которых содержит по 15 мг лекарственного средства, получают следующим образом:

Ингредиент - Количество (мг/капсула)

Соединение V - 15,0

Крахмал - 407,0

Стеарат магния - 3,0

Итого - 425,0 мг

Активный ингредиент, крахмал и стеарат магния смешивают, пропускают через сито размером 20 меш и полученную смесь вводят в твердые желатиновые капсулы по 425 мг в каждую.

Рецептурный Пример 9

Внутривенные рецептуры готовят следующим образом:

Ингредиент - Количество

Соединение II - 250,0

Изотоничный солевой раствор - 1000 мл

Рецептурный Пример 10

Препарат для местного применения готовят следующим образом:

Ингредиент - Количество, г

Соединение V - 1-10

Эмульгирующий воск - 30

Вазелиновое масло - 20

Бесцветный мягкий парафин - до 100 г

Бесцветный мягкий парафин нагревают до расплавления, вводят вазелиновое масло и эмульгирующий воск и перемешивают до растворения. Затем добавляют активный ингредиент и перемешивают до получения дисперсии. Смесь охлаждают.

Рецептурный Пример 11

Таблетки для подъязычного или трансбуккального применения, содержащие по 10 мг активного ингредиента, готовят следующим образом:

Ингредиент - Количество, мг/табл.

Соединение II - 10,0

Глицерин - 210,5

Вода - 143,0

Цитрат натрия - 4,5

Поливиниловый спирт - 26,5

Поливинилпирролидон - 15,5

Итого - 410,0

Глицерин, воду, цитрат натрия, поливиниловый спирт и поливинилпирролидон смешивают друг с другом при непрерывном перемешивании и при температуре приблизительно 90°C.

После получения раствора полимеров этот раствор охлаждают приблизительно до 50-55 °C и медленно добавляют лекарственное средство. Полученную гомогенную смесь выливают в формы, изготовленные из инертного материала и получают диффузионную матрицу толщиной приблизительно 2-4 мм, содержащие лекарственное средство. Матрицу разрезают на отдельные таблетки соответствующего размера.

Другая предпочтительная рецептура, которая может быть использована в настоящем изобретении, использует трансдермальное распределяющее устройство ("пластырь"). Такие трансдермальные пластыри могут быть использованы для непрерывного или периодического вливания соединения настоящего изобретения в контролируемом количестве. Устройство и применение трансдермальных пластырей для подачи фармацевтических агентов хорошо известны в данной области (см., например, Патент США 5023252, выдан 11 июня 1991 г., который включен в данное описание в качестве ссылки). Такие пластыри могут быть выполнены для непрерывной или пульсирующей подачи фармацевтического средства или для подачи его по потребности.

Часто существует необходимость или потребность вводить фармацевтические композиции в головной мозг или напрямую, или опосредованно. Методики прямого введения обычно включают размещение катетера, подающего лекарство, в вентрикулярную систему пациента, чтобы обойти гематоэнцефалический барьер. Одна из таких имплантируемых систем подачи лекарственного средства, используемых для переноса биологических факторов к конкретной анатомической области тела, описана в Патенте США 5011472 (выдан 30 апреля 1991 г., включен в данное описание в качестве ссылки).

Методики непрямого введения, которые более предпочтительны, обычно включают получение композиций, обеспечивающих латентизацию лекарственного средства путем превращения гидрофильных соединений в липидорастворимые лекарства или пролекарства. Латентизация обычно достигается блокировкой гидроксильных, карбонильных, сульфатных и первичных аминных групп, присутствующих в лекарственном средстве, для придания соединению растворимости в липидах и способности проходить через гематоэнцефалический барьер. С другой стороны, доставка гидрофильных лекарственных средств может быть усилена с помощью внутриартериального вливания гипертонических растворов, которые могут временно открывать гематоэнцефалический барьер.

Тип рецептуры, используемый для введения соединений при осуществлении способа настоящего изобретения, может определяться свойствами конкретного соединения, типом фармакокинетического профиля, необходимого способа введения и соединения(ний), а также состоянием пациента.

Формула изобретения:

1. Применение 5-HT_{1F}-агониста, который

проявляет минимальные сосудосуживающие свойства в качестве лекарственного средства для ингибирования нейrogenной менингеальной транссудации.

2. Применение 5-HT_{1F}-агониста по п. 1 в качестве лекарственного средства для предупреждения или лечения мигреновой боли.

3. Применение 5-HT_{1F}-агониста по любому из п. 1 или 2, где указанный 5-HT_{1F}-агонист обладает Индексом Специфичности в интервале 5-10000, при этом индекс специфичности равен скорректированному значению сужения EC₅₀(M), разделенному на значение транссудации ID₅₀ (мМоль/кг), причем скорректированное сужение EC₅₀ является значением транссудации ID₅₀, разделенным на процент максимального

сужения относительно KC1.

4. Применение 5-HT_{1F}-агониста по любому из п. 1 или 2, где указанный 5-HT_{1F}-агонист обладает Индексом Специфичности по меньшей мере 10.

5. Применение 5-HT_{1F}-агониста по любому из п. 1 или 2, где указанный 5-HT_{1F}-агонист обладает Индексом Специфичности по меньшей мере 100.

6. Применение 5-HT_{1F}-агониста по любому из п. 1 или 2, где указанный 5-HT_{1F}-агонист обладает Индексом Специфичности по меньшей мере 1000.

7. Применение 5-HT_{1F}-агониста по любому из п. 1 или 2, где указанный 5-HT_{1F}-агонист обладает Индексом Специфичности по меньшей мере 10000.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

RU 2 1 8 3 4 5 7 C 2

RU ? 1 8 3 4 5 7 C 2

Таблица 1

Связывание с подтипами рецепторов серотонина (5-HT₁) (КнМ)

Соединение	5-HT _{1Dα}	5-HT _{1Dβ}	5-HT _{1E}	5-HT _{1F}
I	4,8	9,6	2520,0	25,7
II	21,7	53,6	50,3	2,5
III	163,2	196,5	3,9	22,0
IV	13,5	145,3	813,0	129,2
V	791,0	1683,0	73,6	10,3

Таблица II

Ингибирование белковой трансудации (ID₅₀ мМоль/кг)

Соединение	в/в ID ₅₀ (мМоль/кг)
I	$2,6 \times 10^{-8}$
II	$8,0 \times 10^{-10}$
III	$8,9 \times 10^{-9}$
IV	$1,2 \times 10^{-7}$
V	$8,7 \times 10^{-9}$

Таблица III

Коэффициент корреляции (R²) для связующего средства
специфического 5-HT₁ подтипа относительно ингибиро-
вания трансудации белка

Подтип 5-HT ₁	Коэффициент детерминации (R ²)
5-HT _{1Dα}	0,07
5-HT _{1Dβ}	0,001
5-HT _{1E}	0,31
5-HT _{1F}	0,94

Таблица IV

Сокращение подкожной ножной вены кролика

Соедин.	Подкожная ножная вена	Подкожная ножная вена
	Сужение вены, ЕС ₅₀ (М)	Сужение вены(% макс. КС1)*
I	$6,6 \times 10^{-7}$	64,20
II	$1,0 \times 10^{-6}$	13,72
IV	$1,0 \times 10^{-6}$	67,16
V	$>1,0 \times 10^{-4}$	12,44

*Или полученные максимальные реакции или реакции при 10^{-4} М, если максимальное сужение не было достигнуто.

RU 2183457 C2

RU 2183457 C2

$$\text{Индекс специфичности} = \frac{\text{Скорректированное значение сужения EC}_{50} \text{ (M)}}{\text{Транссудация ID}_{50} \text{ (мМоль/кг)}}$$

Таблица V

Индекс специфичности

Сужение кровеносных сосудов относительно опосредуемого

5-HT_{1F} ингибирования нейробелковой транссудации

	A	B	Индекс специфичности
Соединение	Транссудация ID ₅₀ (мМоль/кг)	Скорректированное сужение сосудов EC ₅₀ (M) *	Отношение B/A
I	$2,6 \times 10^{-8}$	$1,03 \times 10^{-8}$	0,40
II	$8,0 \times 10^{-10}$	$7,29 \times 10^{-8}$	91,12
IV	$1,2 \times 10^{-7}$	$1,49 \times 10^{-9}$	0,01
V	$8,7 \times 10^{-9}$	$>8,03 \times 10^{-6}$	>923,00

*Для коррекции значения EC₅₀ в случае сужения подкожной ножной вены с учетом максимального сужения относительно KCl для каждого отдельного соединения значение ID₅₀ для сужения сосудов делят на % максимального сужения для KCl, получая "скорректированное сужение EC₅₀ (M)".

RU 2183457 C2

RU 2183457 C2