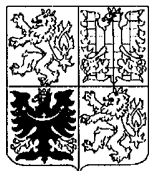


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **21.01.2000**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **26.01.1999**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/9900806**
(33) Země priority: **FR**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.10.2001**
(Věstník č. 10/2001)
(86) PCT číslo: **PCT/FR00/00135**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/44384**

(21) Číslo dokumentu:

2001 - 2681

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 31/5025
A 61 K 31/5377
A 61 P 43/00
A 61 P 9/00
A 61 P 13/12
A 61 P 17/00
A 61 P 25/00
A 61 P 35/00

(71) Přihlašovatel:
SANOFI-SYNTHELABO, Paris, FR;

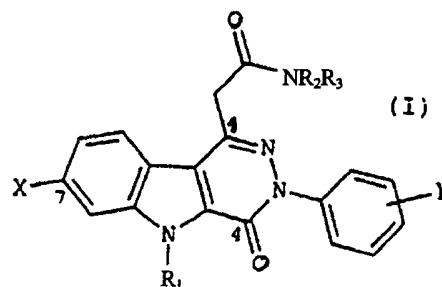
(72) Původce:
Ferzaz Badia, Antony, FR;
Benavides Jésus, Chatenay-Malabry, FR;
Marguet Frank, Verrières le Buisson, FR;
Froissant Jacques, Morée, FR;
Marabout Benolt, Chilly Mazarin, FR;
Evanno Yannick, Bullion, FR;
Sevrin Mireille, Paris, FR;
Janiak Philip, Gif-sur-Yvette, FR;

(74) Zástupce:
Hakr Tomáš Ing., Přístavní 24, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:
Použití derivátů pyridazino[4,5-b]indol-1-acetamidu pro přípravu léčiva pro nemoci spojené s dysfunkcí benzodiazepinových receptorů periferního typu

(57) Anotace:

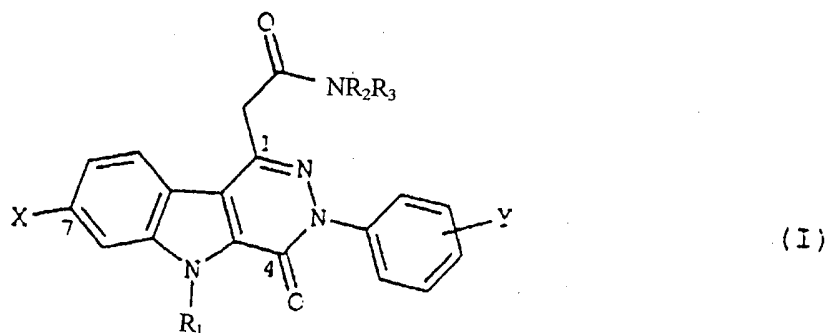
Použití sloučeniny obecného vzorce I, kde X znamená atom halogenu, Y znamená jeden nebo více atomů nebo skupin vybraných ze souboru, který zahrnuje atom vodíku, atomy halogenů, hydroxylovou skupinu, methylovou skupinu, methoxyskupinu a nitroskupinu, R₁ znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, R₂ a R₃ jsou vždy navzájem nezávisle atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alternativně R₂ a R₃ tvoří s atomem dusíku, ke kterému jsou vázány pyrrolidinylovou skupinu, piperidinylovou skupinu nebo morfolinylovou skupinu pro přípravu léčiva pro prevenci a léčbu nemocí a poruch spojených s dysfunkcí benzodiazepinových receptorů periferního typu, jako je degenerativní nemoc CNS, srdeční nemoc a poruchy, nefropatie, kožní stres, nádor nebo rakovina.



Použití derivátů pyridazino[4,5-b]indol-1-acetamidu pro přípravu léčiva pro nemoci spojené s dysfunkcí benzodiazepinových receptorů periferního typu

Podstata vynálezu

V souvislosti s výzkumem sloučenin, které mohou podporovat regeneraci axonů periferních nervových buněk po lézi, byla identifikována mezi sloučeninami mezinárodní patentové přihlášky PCT/FR98/01667, podtřída sloučenin obecného vzorce I



kde

X znamená atom halogenu,

Y znamená jednu nebo více skupin vybraných ze souboru, který zahrnuje atom vodíku, atomy halogenů, hydroxylovou skupinu, methylovou skupinu, methoxyskupinu a nitroskupinu,

R₁ znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R₂ a R₃ jsou vždy navzájem nezávisle atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alternativně R₂ a R₃ tvoří s atomem dusíku, ke kterému jsou vázány pyrrolidinylovou skupinu, piperidinylovou skupinu nebo morfolinylovou skupinu.

Tyto sloučeniny vykazují vysokou afinitu vůči benzodiazepinovým receptorům periferního typu (místa p nebo PBR) a některé indukují zejména snížení ztráty faciálních jader po přeříznutí faciálního nervu. Také vykazují kardio- a renoprotektivní účinky.

Zvlášt výhodná sloučenina pro použití podle vynálezu je například 7-chlor-N,N,5-trimethyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-acetamid.

Později uvedená sloučenina se může připravit podle následujícího postupu, uváděný jako příklad

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1 (sloučenina č. 1 tabulky, která následuje)

Ethyl-6-chlor-1-methyl-1H-indol-2-karboxylát

Suspenze 1,8 g (45 mmol) 60% hydridu sodného (předběžně promytý petroletherem) a 8,0 g (35,8 mmol) ethyl 6-chlor-1H-indol-2-karboxylátu v 80 ml N,N-dimethylformamidu se míchá při teplotě místnosti 2 hodiny; poté se přidá 2,8 ml (45 mmol) jodmethanu a směs se míchá při teplotě místnosti 4 hodiny. Přidá se 5 ml absolutního ethanolu a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se sebere vodou a směs se extrahuje dichlormethanem. Organická fáze se suší, filtruje, rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku a zbytek se čistí chromatografií na koloně silikagelu. Izoluje se 8,5 g (35,7 mmol) bílé krystalické sloučeniny.

Teplota tání: 75,5 až 76,5 °C.

Příklad 2

Ethyl 6-chlor-2-(ethoxykarbonyl)-1-methyl- α -oxo-1H-indol-3-acetát

4 ml (36,4 mmol) chloridu titaničitého se přidají k roztoku 4 ml (36 mmol) ethylchloroacetátu v 100 ml 1,2-dichlorethanu. Reakční směs se míchá 30 minut při teplotě místnosti, a poté se přidá 7,8 g (32,8 mmol) ethyl 6-chlor-1-methyl-1H-indol-2-

karboxylátu a reakční směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Prostředí se ochladí a přidá se 200 ml dichlormethanu a 100 ml vody. Organická fáze se oddekantuje, promyje se vodou, suší se nad síranem sodným, filtruje se, filtrát se koncentruje za sníženého tlaku a zbytek se čistí chromatografií na koloně silikagelu. Izoluje se 9,4 g (29,0 mmol) produktu.

Teplota tání: 94 až 95 °C.

Příklad 3

Ethyl 7-chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-karboxylát

4 ml (40,6 mmol) fenylhydrazinu se při teplotě místnosti přidají k 4,6 g roztoku (13,6 mmol) ethyl 6-chlor-2-(ethoxykarbonyl)-1-methyl- α -1H-indol-3-acetátu v 120 ml kyseliny octové. Reakční směs se míchá 30 minut při teplotě místnosti a poté se zahřívá 4 hodiny při zpětném toku. Prostředí se ochladí a přidá se 350 ml dichlormethanu a 100 ml vody. Organická fáze se oddekantuje, promyje se nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, poté vodou, suší se nad síranem sodným, filtruje se, koncentruje se za sníženého tlaku a zbytek se čistí chromatografií na koloně silikagelu. Izoluje se 4,1 g (10,7 mmol) produktu.

Teplota tání: 216 až 218 °C.

Příklad 4

7-Chlor-1-(hydroxymethyl)-5-methyl-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-4-on

2,5 g (66,1 mmol) tetrahydroboritanu sodného se přidá k 4,04 g roztoku (10,6 mmol) ethyl 7-chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-

dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-karboxylátu v 150 ml tetrahydrofuranu. Poté se za míchání postupně přidá 2,25 ml methanolu a směs se zahřívá 5 hodin při zpětném toku. Směs se vlije do ledově chladného 1M roztoku kyseliny chlorovodíkové a nerozpustná látka se izoluje filtrací na slinutém skle, promyje se vodou a diethyletherem a poté se suší. Ve formě bílé pevné látky, která se použije v dalším kroku, se izoluje 3,3 g (9,7 mmol) sloučeniny.

Teplota tání: 219 až 220,5 °C.

Příklad 5

7-Chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-karboxaldehyd

5,7 g (65 mmol) oxidu mangančitého se přidá k roztoku 3,3 g (9,7 mmol) 7-chlor-1-(hydroxymethyl)-5-methyl-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-4-onu v 300 ml dichlormethanu a reakční směs se míchá 24 hodin při zpětném toku. Prostředí se ochladí, filtruje se na teflonové membráně a pevná látka se promyje dichlormethanem. Filtrát se poté koncentruje za sníženého tlaku. Ve formě bílé pevné látky, která se použije v dalším kroku, se izoluje 2,88 g (8,53 mmol) sloučeniny.

Teplota tání: 235 až 236 °C.

Příklad 6

7-Chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-acetonitril

1,27 g (10,96 mmol) 1,1-dimethylethoxidu draselného se po malých částech přidá k 2,14 g roztoku (10,96 mmol) 1-[(izokyanmethyl)sulfonyl]-4-methylbenzenu v 50 ml 1,2-

dimethoxyethanu, reakční směs se míchá 30 minut při teplotě -60 °C, poté se přidá 2,88 g (8,53 mmol) 7-chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-karboxyldehydu, a reakční směs se míchá při teplotě -60 °C 3 hodiny a 30 minut. Přidá se 9 ml methanolu a reakční směs se znovu míchá 3 hodiny při teplotě místnosti a 1 hodinu se zahřívá při zpětném toku. Prostředí se ochladí, koncentruje se za sníženého tlaku, a ke zbytku se přidá voda, 5 ml kyseliny octové a 200 ml dichlormethanu. Organická fáze se oddekantuje a vodná fáze se extrahuje dichlormethanem. Organické fáze se spojí, promyjí se vodou, suší se nad síranem sodným, filtrují se, koncentrují se za sníženého tlaku a zbytek se čistí chromatografií na silikagelu. Ve formě bílé pevné látky, která se použije v dalším kroku, se izoluje 1,87 g (5,36 mmol) sloučeniny. Teplota tání: 305 až 315 °C.

Příklad 7

Methyl 7-chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-acetát

Chlorovodík se přidává k roztoku 1,83 g (5,25 mmol) 7-chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-acetonitrilu v 250 ml methanolu, dokud se roztok nenasytí, a reakční směs se míchá 4 hodiny při zpětném toku. Prostředí se ochladí, reakční směs se koncentruje za sníženého tlaku, a ke zbytku se přidá 25 ml vody a 25 ml methanolu. Po míchání se nerozpustná látka znovu získá filtrací, promyje se vodou a diethyletherem, suší se a čistí se chromatografií na koloně silikagelu. Ve formě bílé pevné látky se izoluje 1,00 g (2,62 mmol) sloučeniny.

Teplota tání: 188,5 až 190 °C.

Příklad 8

7-Chlor-N,N-5-trimethyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-acetamid

3 ml (6 mmol) trimethylaluminia (2 M v toluenu) se při teplotě 0 °C pod argonem přidá k roztoku 0,49 g (6 mmol) dimethylaminhydrochloridu v 80 ml toluenu a reakční směs se míchá 1 hodinu a 30 minut při teplotě místnosti. Přidá se 0,21 g (0,55 mmol) methyl 7-chlor-5-methyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-acetátu a reakční směs se míchá 6 hodin při zpětném toku. Prostředí se ochladí na teplotu 4 °C, přidá se 10 ml vody a 100 ml dichlormethanu, roztok se filtruje a filtrát se koncentruje za sníženého tlaku. Ke zbytku se přidá voda, 1M kyseliny chlorovodíková a 150 ml dichlormethanu, organická fáze se oddělí, promyje se vodou, suší se nad síranem sodným, filtruje se, koncentruje se za sníženého tlaku a zbytek se čistí chromatografií na koloně silikagelu. Po rekrystalizaci ze směsi dichlormethanu a ethylacetátu se ve formě bílé pevné látky, ve které se objevuje bavlna, izoluje 0,2 g (0,51 mmol) sloučeniny. Teplota tání: 229,5 až 230 °C.

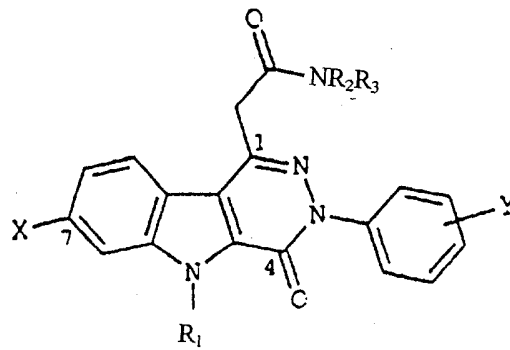
Tabulky které následují ilustrují chemické struktury a fyzikální vlastnosti některých sloučenin, které se mohou použít podle vynálezu.

Legenda k tabulce

„Me“ a „Et“ znamená methylovou skupinu, resp. ethylovou skupinu.

„pyrrolid“, „piperid“ a „morph“ znamená pyrrolidinylovou, piperidinylovou a morfolinylovou skupinu.

Tabulka



(I)

Čís.	X	Y	R ₁	NR ₂ R ₃	t. t. (°C)
1	Cl	H	Me	NMe ₂	229,5-230
2	Cl	H	Me	NEt ₂	167-168
3	Cl	H	Me	pyrrolid	260-263
4	Cl	H	Me	morph	273,5-274,5
5	Cl	3-Me	Me	NMe ₂	204-205,5
6	Cl	3-Me	Me	NEt ₂	200,5-201
7	Cl	3-Me	Me	pyrrolid	268-269,5
8	Cl	3-Cl	Me	NMe ₂	231-232
9	Cl	3-Cl	Me	NEt ₂	202,5-203
10	Cl	3-Cl	Me	pyrrolid	257-258,5
11	Cl	3-Cl	Me	piperid	218-219
12	Cl	2-Cl	Me	NMe ₂	253-255
13	Cl	2-Cl	Me	NEt ₂	206-208
14	Cl	2-Cl	Me	pyrrolid	295-297
15	Cl	4-Cl	Me	NMe ₂	235-237
16	Cl	4-Cl	Me	NEt ₂	223,5-224,5
17	Cl	4-Cl	Me	pyrrolid	265-266
18	Cl	3-OMe	Me	NMe ₂	200,5-202,5

Čís.	X	Y	R ₁	NR ₂ R ₃	t.t. (°C)
19	Cl	3-OMe	Me	NEt ₂	201-202
20	Cl	3-OMe	Me	pyrrolid	240-242
21	Cl	3-NO ₂	Me	NMe ₂	275-277,5
22	Cl	3-NO ₂	Me	NEt ₂	228-228,5
23	Cl	3-NO ₂	Me	pyrrolid	261-263
24	Cl	3-F	Me	NMe ₂	225-226,5
25	Cl	3-F	Me	NEt ₂	171-172
26	Cl	3-F	Me	pyrrolid	270-271,5
27	Cl	3,5-(Cl) ₂	Me	NEt ₂	239-240,5
28	Cl	4-Cl	Me	NMeEt	216,5-217,5
29	Cl	H	Me	NHMe	305-307
30	Cl	H	Me	NH ₂	292-293
31	Cl	4-OMe	Me	NMe ₂	233-234
32	Cl	4-OMe	Me	NEt ₂	172-174
33	Cl	4-OH	Me	NMe ₂	298-300
34	Cl	4-OH	Me	NEt ₂	271-272

Protokoly a výsledky zkoušek, které byly provedeny jsou popsány dále.

Studie vazby [³H]Ro5-4864 k benzodiazepinovým receptorům periferního typu

Stanoví se afinita sloučenin podle vynálezu k benzodiazepinovým receptorům periferního typu (místo p nebo PBR).

p místa receptorů se mohou selektivně označit v membránách ledviny krys inkubovaných v přítomnosti [³H]Ro5-4864. Sloučeniny

byly podrobeny studii *in vitro* s ohledem na jejich afinitu vůči těmto receptorům. Jako zvířata se použily samci krysy Sprague-Dawley (Iffa Credo) o hmotnosti 180 až 300 mg. Po dekapitaci se odstranila ledvina a tkáň se homogenizovala při 4 °C v homogenizéru Polytron™ po dobu 2 minut při 6/10 maximální rychlosti v 35 objemech 50 mM fosfátového Na₂HPO₄ pufru při pH upraveném na 7,5 pomocí NaH₂PO₄. Membránový homogenát se filtroval na gáze a 10násobně se zředl pufrem.

[³H]Ro5-4864 (specifická aktivita: 70-90 Ci/mmol; New England Nuclear) se v koncentraci 0,5 nM inkubuje v přítomnosti 100 μl membránového homogenátu v konečném objemu 1 ml pufru obsahující testovanou sloučeninu.

Po 3 hodinové inkubaci při 0 °C se membrány odstranily filtrací na filtrech Whatman GF/B™, které se promyly dvakrát 4,5 ml studeného inkubačního pufru (0 °C). Množství radioaktivity, která zůstalo na filtru se měřilo kapalnou scintigrafií.

Pro každou koncentraci testované sloučeniny se stanovila procenta inhibice vazby [³H]Ro5-4864 a poté koncentrace IC₅₀, koncentrace, která inhibuje 50 % specifické vazby.

Hodnoty IC₅₀ pro nejaktivnější sloučeniny jsou v rozsahu od 0,6 nM do 20 nM.

Sloučeniny, které se mohou použít podle vynálezu jsou následně ligandy s vysokou afinitou k benzodiazepinovým receptorům periferního typu.

Studie neurotropní aktivity

Test regenerace poraněného faciálního nervu měřením funkční regenerace palpebrálního reflexu podle modifikace metody, kterou popsal K. Kujawa a kol. *Experimental Neurology* (1989) 105 80-85

Poranění faciálního nervu lokálním zmrazením způsobí degeneraci distální části faciálního nervu a ztrátu funkce mrkání očního víčka. Produkty, které se zkoumají se podávají intraperitoneální nebo orální cestou dvakrát denně v intervalech 6 až 8 hodin po dobu 10 dnů (trvání experimentu). První ošetření se provede 30 minut před poraněním.

Pozorování živočichů: regenerace funkce očního víčka u poraněných živočichů se sleduje denně každé ráno od D0 do D5 a dvakrát (ráno a večer v intervalu 6 až 8 hodin) od dne D6 do D10, před každým ošetřením podle teoretického hodnocení od 0 do 4.

Hodnocení 0: otevřené oko; hodnocení 1: oko je zavřené na méně než polovinu oka; hodnocení 2: stupeň zavření oka je mezi $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$; hodnocení 3: stupeň zavření je větší než $\frac{3}{4}$; stupeň 4: zcela zavřené oko.

Výsledky se vyjádří poměrem hodnot AUC (oblast pod křivkou) pro ošetřenou skupinu a kontrolní skupinu. Poměry AUC pro nejaktivnější sloučeniny jsou mezi 1,12 a 1,20.

Tyto sloučeniny tedy zvyšují regeneraci palpebrálního reflexu po poranění faciálního nervu o 12 až 20 %.

Test na přežití motoneuronů po přeříznutí faciálního nervu u kryš starých 4 dny

Po poranění faciálního nervu u nedospělých kryš se motoneurony faciálních jader podrobí neuronální smrti apoptózou. Hodnocení neuronálního přežití se provede za použití histologických a neuronálních čítacích metod.

Nedospělé krysy staré 4 dny se anestetizují pentobarbitalem (3 mg/kg i.p. cestou). Pravý faciální nerv se obnaží a přeřízne, v místě, kde opouští styломastoideum. Po znovu nabytí vědomí se krysí mláďata vrátí ke svým matkám a ošetřují se po dobu 7 dnů jednou nebo dvakrát denně orální

nebo intraperitoneální cestou, dávkami v rozsahu 1 až 10 mg/kg. 7 dnů po poranění se zvířata dekapitují a mozky se zmrazí v izopentanu na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Faciální jádro se nařeže za použití kryostatu na $10\text{ }\mu\text{m}$ plátky ve své celistvosti. Motoneurony se obarví kresolovou violetí a počítají se za pomoci software HistoTM (BiocomTM).

V tomto modelu nejaktivnější sloučeniny zvýší neuronální přežití o 10 až 30 %. Jako příklad, sloučenina popsaná v příklad (č. 1 tabulky) zvyšuje neuronální přežití při i.p. cestě o 31 %.

Výsledky shora popsaných zkoušek ukazují, že sloučeniny obecného vzorce I podporují nervovou regeneraci.

Studie na kardioprotektivní účinky

Kardioprotektivní účinky byly studovány na srdcích izolovaných z králíků, kteří byli podrobeni regionální ischemii a reinfuzi. Měřila se velikost infarktu a rovněž regenerace kontraktilní funkce po reinfuzi.

Novozelandští králíci (2,3 až 2,5 kg, ESD Francie) se anestetizovali směsí ketaminu a xylozinu a heparinizovali. Srdce se odstranilo a rychle se infuzovalo retrográdní aortickou cestou při tlaku 75 mmHg roztokem Krebs Henselheitova typu. Do levé komory se zavedl balon a aplikoval se telediastolický tlak 5 mmHg. Po stabilizační periodě po dobu 20 minut se přidala sloučenina, která se zkoumala (1 mM) nebo vehikulum do infuzního roztoku 15 minut před ischemií a během celého trvání experimentu. Regionální ischemie se dosáhla úplným podvázáním levé koronární artérie po dobu 30 minut a srdce se potom znovu naplnilo infuzním roztokem po dobu 2 hodin.

Během celého pokusu se sledoval komorový tlak, srdeční frekvence a parametry koronárního výstupu.

Po opětné infuzi se koronární artérie opět uzavřela a dodala se čínská tuš, aby se ohraničila riziková oblast. Potom se připravily příčné plátky a inkubovaly se v 1% trifenylnitrazoliovém roztoku, aby se změřila velikost infarktu. Velikost nekrózní oblasti, vyjádřená jako % rizikové oblasti ze získala pomocí software pro analýzu obrazu.

Jako příklad, sloučenina popsaná v příkladu (č. 1 tabulky) způsobí podstatné snížení velikosti infarktu ve výši 47 % (kontroly: $41,7 \pm 5,3$ proti testované sloučenině: $22 \pm 3,3$; $p < 0,01$). Oblasti s rizikem okolo 50 % jsou srovnatelné pro obě skupiny.

Sloučenina č. 1 snižuje kontrakci během opětné infuze a podstatně obnovuje levý ventrikulární tlak (procento preischemické regenerace je u kontrol po 2 hodinách opětné infuze 36 % oproti 65 % u ošetřených živočichů), maximální a minimální hodnoty dP/dt a součin frekvence a tlaku.

Studie renoprotektivních účinků

Experiment se prováděl na samcích krys Sprague-Dawley (Charles River France) o hmotnosti 270 až 330 g. Zvířata se anestetizovala pentobarbitalem (60 mg/kg i.p.), intubovala a uměle se větrala, přičemž se jejich teplota udržovala mezi 37 a 38 °C.

U zvířete se provedl v oblasti dozrálního dekubitu 3 cm laparotomie, pravá a levá renální artérie se obnaží a uzavře se na 30 minut a poté se ledviny opět naplní infúzním roztokem za vizuálního pozorování a incize se uzavře. Ve vzorcích krve odebraných z orbitální dutiny se stanovily úrovně kreatininu v seru a močovinného dusíku v D0 (před anestézií) a v den D1, D2, D3, D4, D8 (po 1 okluzi-reinfuzi).

Sloučenina, která je předmětem zkoumání nebo vehikulum (Tween 80, 2%) se podává v dávce 3 mg/kg, i.p. cestou 60 minut před okluzí.

Jako příklad, sloučenina č. 1 snižuje kreatininaemii o 56 % a uraemii o 49 % ve srovnání s vehikulem v D3. Také snižuje mortalitu u živočichů: 1/12 vůči 4/9 u živočichů, které obdrželi pouze vehikulum.

Předchozí dvě zkoušky ukazují, že na jedné straně sloučeniny, které se mohou použít podle vynálezu snižují velikost infarktu indukovaného srdeční ischemií-reinfuzí u králíků a umožňují lepší regeneraci kontraktilní funkce po reinfuzi, na druhé straně omezují akutní renální nedostatečnost způsobenou příhodou renální ischemie-reinfúze.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou použít pro přípravu léčiv pro prevenci a léčbu periferních neuropatií různých typů, jako je neuropatie spojená s trauma nebo ischemická neuropatie, infekční neuropatie nebo neuropatie spojená s alkoholem nebo léčivy nebo genetická neuropatie a rovněž motoneuronových stavů, jako je spinální amyotropie a amyotropní laterální skleróza. Tato léčiva se také mohou použít při léčbě neurodegenerativních nemocí centrálního nervového systému, buď akutního typu, jako jsou cerebrovaskulární příhody a kraniální a medulární trauma, nebo chronického typu, jako jsou autoimunní nemoci (násobná skleróza), Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc a jakákoliv další nemoc, kde se očekává, že podání neurotropních faktorů má terapeutický účinek.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se také mohou použít při léčbě akutní nebo chronické renální nedostatečnosti, glomerulonefritidy, diabetické nefropatie, srdeční ischemie a nedostatečnosti, infarktu myokardu, ischemie dolních končetin, koronárního angiospazmu, anginy pectoris, patologických stavů spojených se srdečními chlopněmi, zánětlivých srdečních nemocí, vedlejších účinků v důsledku kardiotoxických léčiv nebo pooperačních účinků po operaci srdce, aterosklerózy a tromboembolických komplikací,

restenózy, odmítnutí transplantátu, stavů spojených se špatnou proliferací nebo migrací buněk hladkých svalů.

Dále, poslední údaje uváděné v literatuře indikují, že benzodiazepinový receptor periferního typu by mohl hrát základní roly při regulaci buněčné proliferace a kancerizačních procesech. Obecně a ve srovnání s normálními tkáněmi, je zvýšená hustota benzodiazepinových receptorů periferního typu pozorována u různých typů nádorů a rakoviny.

V lidských astocytomech je úroveň vylučování benzodiazepinového receptoru periferního typu ve vzájemném vztahu se stupněm malignance nádoru, proliferačním indexem a přežitím pacientů. V lidských cerebrálních nádorech se zvýšení v počtu benzodiazepinových receptorů periferního typu použije k diagnostické indikaci v lékařském zobrazování a jako terapeutický terč pro konjugáty obsahující ligand pro benzodiazepinový receptor periferního typu a cytostatické léčivo. Vysoká hustota benzodiazepinových receptorů periferního typu je také pozorována u karcinomů vaječníků a rakovin prsu. Jak se uvádí dále, bylo demonstrováno, že vylučování benzodiazepinových receptorů periferního typu je spojeno s agresivním potenciálem nádoru; dále, přítomnost agonistu benzodiazepinového receptoru periferního typu stimuluje růst prsní rakovinové linie.

Ze všech těchto výsledků, které ukazují na škodlivou funkci benzodiazepinového receptoru periferního typu v kancerizačních procesech, vyplývá potřeba pro výzkum syntetických ligandů specifických vůči benzodiazepinovému receptoru periferního typu, které jsou schopné blokovat jejich účinky.

Sloučeniny se mohou dále použít pro léčbu nádorů a rakoviny.

Benzodiazepinové receptory periferního typu jsou také přítomné v kůži a jejich účinkem se mohou sloučeniny podle vynálezu použít k profylaxi nebo léčbě kožních stresů.

Výraz kožní stres je třeba chápat jako různé situace, které by mohly způsobit poškození, zejména v pokožce bez ohledu na činitel, způsobující tento stres. Toto činitel může být uvnitř lidského těla nebo mimo lidské tělo, jako jsou chemická činitel nebo činitel s volnými radikály, nebo jinak mimo, jako je například ultrafialové záření.

Tak se sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou použít pro prevenci a/nebo ničení kožního podráždění, oparů, erytémů, dysestických pocitů, pocitů nadměrného horka, svědění kůže a/nebo mukózních membrán, stárnutí a mohou být také použity u kožních chorob, jako je například psoriáza, pruriginózní nemoci, opary, fotodermatózy, atopické dermatitidy, kontaktní dermatitidy, lišeje, prurigo, svědění, bodnutí hmyzem, fibrózy, a ostatní choroby dozrávání kolagenu, imunologické choroby nebo dermatologické stavy, jako je ekzém.

Předmětem předkládaného vynálezu je tak použití sloučenin obecného vzorce I pro přípravu farmaceutických prostředků, obsahujících účinnou dávku alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I, ve formě farmaceuticky přijatelné báze, soli nebo solvátu a jako směs, kde to je vhodné, s vhodnými excipienty.

Uvedené excipienty jsou vybrány podle farmaceutické dávkové formy a žádaného způsobu podání.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu mohou být tak určeny pro orální, sublinguální, subkutánní, intramuskulární, intravenózní, topické, intratracheální, intranazální, transdermální, rektální nebo intraokulární podání.

Jednotkové formy podání mohou být například tablety, želatinové kapsle, granule, prášky, orální nebo injektovatelné roztoky nebo suspenze, transdermální náplasti nebo čípky. Pro topické podání se mohou použít masti, omyvadla a oční kapky.

Uvedené jednotkové formy jsou v dávkách, které umožňují denní podání 0,001 až 20 mg aktivní složky na kg tělesné hmotnosti, v závislosti na galenické formě.

K přípravě tablet se přidá k aktivní složce mikronizované farmaceutické vehikulum, které se může skládat z ředidel, jako je například laktóza, mikrokrystalická celulóza, škrob a pomocné látky, jako jsou pojiva (polyvinylpyrrolidon, hydroxypropylmethylcelulóza a podobně), kluzná činidla, jako je oxid křemičitý, mazadla, jako je stearát hořečnatý, kyselina stearová, glyceryltribehenát a stearylfumarát sodný. Rovněž se mohou přidat smáčedla nebo povrchově aktivní činidla, jako je laurylsulfát sodný.

Techniky pro provedení mohou být lisování, suchá granulace, granulace za mokra nebo tavení za tepla.

Tablety mohou být nepovlečené, povlečené cukrem, například sacharózou, povlečené různými polymery nebo jinými vhodnými materiály. Mohou být upraveny, aby umožňovaly rychlé, zpožděné nebo prodloužené uvolňování aktivní složky mohutností polymerních matric nebo specifickými polymery použitými pro povlak.

Pro přípravu želatinových kapslí se aktivní složka smísí se suchými (jednoduché smísení, granulace za sucha nebo za mokra nebo tavení za tepla), kapalnými nebo polotuhými farmaceutickými vehikuly.

Želatinové kapsle mohou být tvrdé nebo měkké, povlečené filmem nebo jinak, tak aby umožňovaly rychlou, prodlouženou nebo zpožděnou aktivitu (například pro enterickou formu).

Prostředky ve formě sirupů nebo elixírů nebo pro podání ve formě kapek mohou obsahovat aktivní složku společně se sladidlem, výhodně bezkalorickým, methylparabenem nebo propylparabenem jako antiseptikem, modifikátorem chuti a barvivem.

Prášky a granule, které jsou dispergovatelné ve vodě mohou obsahovat aktivní složku ve formě směsi s dispergačními činidly nebo smáčedly nebo dispergačními činidly, jako je polyvinylpyrrolidon a rovněž se sladidly a činidly zlepšujícími chuť.

Pro rektální podání se použijí čípky, které se připraví s pojivky tajícími při teplotě rekta, jako je například kakaové máslo nebo polyethylenglykoly.

Pro parenterální podání se použijí vodné suspenze, izotonické fyziologické roztoky nebo sterilní roztoky, které jsou injektovatelné, které obsahují farmakologicky kompatibilní dispergační činidla a/nebo smáčedla, například propylenglykol nebo butylenglykol.

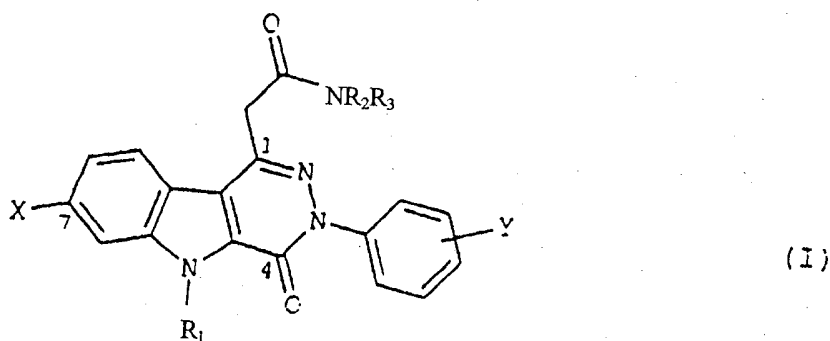
Aktivní složka může také být formulována ve formě mikrokapslí, případně s jedním nebo více nosiči nebo aditivy nebo s polymerní matricí nebo s cyklodextrinem (transdermální náplasti, formy s prodlouženým uvolňováním).

Topické prostředky podle vynálezu obsahují médium kompatibilní s kůží. Mohou být zejména ve formě vodných, alkoholických nebo vodně-alkoholických roztoků, gelů, emulzí voda v oleji nebo olej ve vodě, mající vzhled krému nebo gelu, mikroemulzí, aerosolů nebo ve formě vezikulárních disperzí, obsahujících iontové a neiontové lipidy. Tyto galenické formy se připraví podle obecných metod používaných v těchto oborech.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu mohou obsahovat, nehledě na sloučeninu obecného vzorce I, další aktivní složky, které mohou být užitečné při léčbě chorob a nemocí indikovaných shora.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití sloučeniny obecného vzorce I,



kde X znamená atom halogenu,

Y znamená jednu nebo více atomů nebo skupin vybraných ze souboru, který zahrnuje atom vodíku, atomy halogenů, hydroxylovou skupinu, methylovou skupinu, methoxyskupinu a nitroskupinu,

R₁ znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R₂ a R₃ jsou vždy navzájem nezávisle atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alternativně R₂ a R₃ tvoří s atomem dusíku, ke kterému jsou vázány pyrrolidinylovou skupinu, piperidinylovou skupinu nebo morfolinylovou skupinu pro přípravu léčiva pro prevenci a léčbu nemocí a poruch spojených s dysfunkcí benzodiazepinových receptorů periferního typu.

2. Použití podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e
t í m, že sloučenina obecného vzorce I je 7-chlor-N,N,5-trimethyl-4-oxo-3-fenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indol-1-acetamid.

3. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1 a 2,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že nemoc nebo porucha je degenerativní nemoc centrálního nervového systému.

4. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1 a 2,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že nemoc nebo porucha je
srdeční nemoc nebo porucha.

5. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1 a 2,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že nemoc nebo porucha je
nefropatie.

6. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1 a 2,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že nemoc nebo porucha je
kožní stres.

7. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1 a 2,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že nemoc nebo porucha je
nádor nebo rakovina.