

Даний винахід стосується використання сполуки формули (Ia) або (Ib) для лікування латентного туберкульозу.

Mycobacterium tuberculosis спричинює більш ніж 2 мільйони смертей за рік і є головною причиною смертності у осіб, інфікованих ВІЛ¹. Незважаючи на десятиріччя виконання програм боротьби з туберкульозом (ТБ), близько 2 мільярдів людей інфіковано *M. tuberculosis*, хоч і безсимптомно. Приблизно 10% з цих людей мають ризик розвитку активного ТБ впродовж їхнього життя². Глобальна епідемія ТБ підтримується за рахунок інфікування ВІЛ-пацієнтів ТБ та виникнення штамів ТБ з множинною лікарською резистентністю (МЛР-ТБ). Реактивація латентного ТБ є високонебезпечним фактором розвитку хвороби і спричинює 32% смертей у ВІЛ-інфікованих пацієнтів¹. Для боротьби з епідемією ТБ, існує потреба у відкритті нових лікарських засобів, які можуть знищувати сплячі або латентні бацили ТБ. Сплячий ТБ може бути реактивованим та викликати хворобу під дією кількох факторів, таких як пригнічення імунітету хазяїна внаслідок застосування імунодепресивних агентів, таких як антитіла проти фактора некрозу пухлини α , або інтерферону- γ . У випадку ВІЛ-позитивних пацієнтів єдиним профілактичним лікуванням, доступним для латентного ТБ, є дво- тримісячні курси приймання рифампіцину, піразинаміду^{3,4}. Ефективність схеми лікування досі незрозуміла і, крім того, тривалість лікування є важливим обмеженням у країнах з обмеженими ресурсами. Звідси випливає нагальна потреба у виявленні нових лікарських засобів, що можуть діяти як хіміопротекторні агенти для осіб-переносників латентних бацил ТБ. Туберкульозні бацили потрапляють до здорових людей повітряним шляхом; вони зазнають фагоцитозу альвеолярними макрофагами легень. Це приводить до сильної імунної відповіді та утворення гранулом, які складаються з макрофагів, інфікованих *M. tuberculosis*, оточених Т-клітинами. Через період часу у 6-8 тижнів імунна відповідь хазяїна спричинює загибель інфікованих клітин шляхом некрозу та накопичення казеозного матеріалу з певним числом позаклітинних бацил, оточених макрофагами, епітеліоїдними клітинами та шарами лімфоїдної тканини на периферії⁵. У випадку здорових людей, більшість мікобактерій в таких умовах гине, але невелика частка бацил виживає і, як вважають, існує у нереплікуючому гіпометаболічному стані та є толерантною до знищення анти-ТБ ліками, такими як ізоніазид⁶. Ці бацили можуть залишатися у зміненому фізіологічному оточенні навіть протягом всього життя людини, не виявляючи ніяких клінічних симптомів хвороби. Однак, у 10% випадків ці латентні бацили можуть реактивуватися та викликати хворобу. Однією з гіпотез щодо розвитку цих персистентних бактерій є патофізіологічне середовище в осередках ураження людини, а саме, знижений кисневий потенціал, обмежений доступ живильних речовин та кислотне рН⁷. Ці фактори, як стверджується, надають таким бактеріям фенотипу толерантності до основних антимікобактеріальних лікарських засобів⁷.

WO 2004/011436 описує заміщені хінолінові похідні, придатні для лікування мікобактеріальних хвороб. Зазначений документ розкриває антимікобактеріальні властивості заміщених хінолінових похідних проти чутливих, сприйнятливих штамів *Mycobacterium*, але не згадує про їхню активність по відношенню до латентних, сплячих, персистентних мікобактерій.

Нами було знайдено, що сполуки, розкриті у WO 2004/011436, зокрема, сполуки формули (Ia) та (Ib), які визначені далі, мають стерилізуючі властивості; ефективно знищують сплячі, латентні, персистентні мікобактерії, зокрема, *Mycobacterium tuberculosis* і, таким чином, можуть бути використані для лікування латентного ТБ. Тим самим вони значно посилюють арсенал засобів боротьби з ТБ.

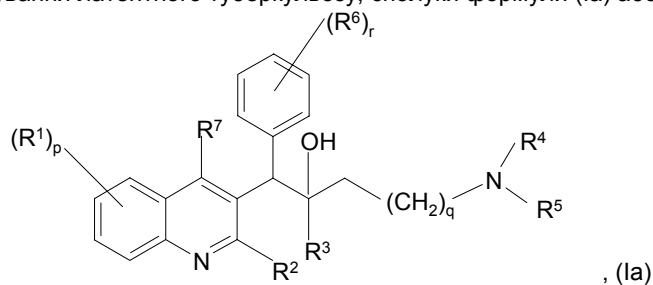
Фігура 1: Вплив різних лікарських засобів на сплячі *M. bovis* за результатами кількісного аналізу з люциферазою (RLU: відносні одиниці люмінесценції) (бактерії суспендують у середовищі, що не містить лікарського засобу, протягом 5 днів після 7 днів анаеробіозу).

Фігура 2A: Вплив різних лікарських засобів на сплячі *M. bovis* (КУО: колонієутворювальні одиниці) (наведені величини КУО, визначені через 2 дні після анаеробіозу).

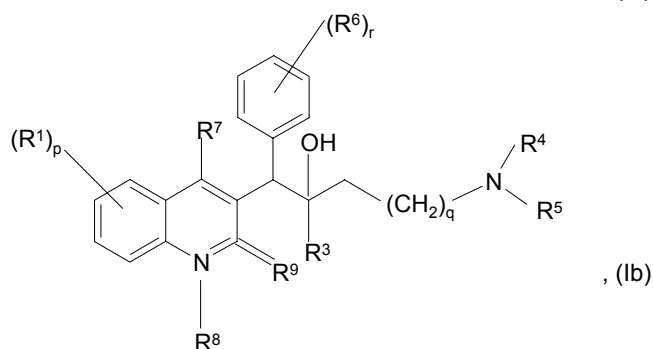
Фігура 2B: Ефект різних лікарських засобів на сплячі *M. bovis* (КУО: колонієутворювальні одиниці) (наведені величини КУО, визначені через 5 днів після анаеробіозу).

Фігура 3: Ефект різних лікарських засобів на сплячі *M. tuberculosis* (модель Вейна)

Таким чином, даний винахід стосується використання для виробництва лікарського засобу, призначеного для лікування латентного туберкульозу, сполуки формули (Ia) або (Ib)



, (Ia)



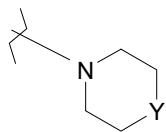
, (Ib)

її фармацевтично прийнятної солі приєднання кислоти чи основи, її четвертинного аміну, її N-оксиду, її таутомерної форми або її стереохімічної ізомерної форми, де:

R¹ позначає гідроген, галоїд, галоїдалкіл, ціаногрупу, гідроксил. Ar, Het, алкіл, алкоксигрупу, алкілтіогрупу, алкоксіалкіл, алкілтіоалкіл, Ar-алкіл або ді-(Ar)-алкіл;

p позначає ціле число, яке дорівнює 1, 2, 3 або 4;

R² позначає гідроген, гідроксил, меркаптогрупу, алкоксигрупу, алкоксіалкоксигрупу, алкілтіогрупу, моно- або ді(алкіл)аміногрупу або радикал формули



, де Y позначає CH₂, O, S, NH чи N-алкіл;

R³ позначає алкіл. Ar, Ar-алкіл, Het або Het-алкіл;

q позначає ціле число, яке дорівнює нулю, 1, 2, 3 або 4;

R⁴ та R⁵ кожний незалежно позначають гідроген, алкіл або бензил; або

R⁴ та R⁵ обидва та разом з N, до якого вони приєднані, можуть утворювати радикал, вибраний з групи, яка включає піролідиніл, 2-піролініл, 3-піролініл, піроліл, імідазолідиніл, піразолідиніл, 2-імідазолініл, 2-піразолініл, імідазоліл, піразоліл, триазоліл, піперидиніл, піридиніл, піперазиніл, піридазиніл, піримідиніл, піразиніл, триазиніл, морфолініл та тіоморфолініл, причому кожна із зазначених кільцевих систем необов'язково заміщена алкілом, галоїдом, галоїдалкілом, гідроксилом, алкоксигрупою, аміногрупою, моно- чи діалкіламіногрупою, алкілтіогрупою, алкоксіалкілом, алкілтіоалкілом та піримідинілом;

R⁶ позначає гідроген, галоїд, галоїдалкіл, гідроксил, Ar, алкіл, алкоксигрупу, алкілтіогрупу, алкоксіалкіл, алкілтіоалкіл, Ar-алкіл або ді-(Ar)-алкіл; або два віцинальні радикали R⁶ можуть разом утворювати бівалентний радикал формули -CH=CH-CH=CH-;

r позначає ціле число, яке дорівнює 1, 2, 3, 4 або 5;

R⁷ позначає гідроген, алкіл. Ar або Het;

R⁸ позначає гідроген або алкіл;

R⁹ позначає оксогрупу; або

R⁸ та R⁹ разом утворюють радикал =N-CH=CH-;

алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону, приєднаний до лінійного чи розгалуженого насиченого вуглеводневого радикала, що містить від 1 до 6 атомів карбону; де кожен атом карбону може бути, необов'язково, заміщений галоїдом, гідроксилом, алкоксигрупою чи оксогрупою;

Ar позначає гомоцикл, вибраний з групи, яка включає феніл, нафтил, аценафтил, тетрагідронафтил, причому кожен гомоцикл, необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен замісник незалежно вибраний з групи, яка включає гідроксил, галоїд, ціаногрупу, нітрогрупу, аміногрупу, моно- чи діалкіламіногрупу, алкіл, галоїдалкіл, алкоксигрупу, галоїдалкоксигрупу, карбоксил, алкоксикарбоніл, амінокарбоніл, морфолініл та моно- чи діалкіламінокарбоніл;

Het позначає моноциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає N-феноксипіперидиніл, піперидиніл, піроліл, піразоліл, імідазоліл, фураніл, тієніл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіазоліл, ізотіазоліл, піридиніл, піримідиніл, піразиніл та піридазиніл; або біциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає хінолініл, хіноксалініл, індоліл, бензімідазоліл, бензоксазоліл, бензізоксазоліл, бензотіазоліл, бензізотіазоліл, бензофураніл, бензотієніл, 2,3-дигідробензо[1,4]діоксиніл або бензо[1,3]діоксоліл; причому кожен моноциклічний та біциклічний гетероцикл може бути, необов'язково, заміщений 1, 2 або 3 замісниками, вибраними з групи, яка включає галоїд, гідроксил, алкіл, алкоксигрупу або Ar-карбоніл; галоїд позначає замісник, вибраний з групи, яка включає фтор, хлор, бром та йод; і галоїдалкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону, або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону, де один чи кілька атомів карбону заміщені одним чи кількома атомами галоїду.

Даний винахід також стосується способу лікування пацієнта, включаючи людину, з латентним ТБ, який включає введення пацієнту терапевтичне ефективної кількості сполуки за винаходом.

Сполуки формули (Ia) та (Ib) є взаємозв'язаними в тому, що, наприклад, сполука формули (Ib), у якій R⁹ позначає оксогрупу, є таутомерним еквівалентом сполуки формули (Ia), у якій R² позначає гідроксильну групу (кет-енольний таутомеризм).

В рамках цієї заявки, алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону, приєднаний до лінійного чи розгалуженого насиченого вуглеводневого радикала, що містить від 1 до 6 атомів карбону; де кожен атом карбону може бути, необов'язково, заміщений галоїдом, гідроксилом, алкоксигрупою чи оксогрупою. Краще, алкіл позначає метил, етил або циклогексилметил.

В рамках цієї заявки, Ar позначає гомоцикл, вибраний з групи, яка включає феніл, нафтил, аценафтил, тетрагідронафтил, кожен, необов'язково, заміщений 1, 2 або 3 замісниками, причому кожен замісник незалежно вибраний з групи, яка включає гідроксил, галоїд, ціаногрупу, нітрогрупу, аміногрупу, моно- чи діалкіламіногрупу, алкіл, галоїдалкіл, алкоксигрупу, галоїдалкокс и групу, карбоксил, алкоксикарбоніл, амінокарбоніл, морфолініл та моно- чи діалкіламінокарбоніл. Краще, Ar позначає нафтил або феніл, кожен, необов'язково, заміщений 1 або 2 галоїдними замісниками.

В рамках цієї заявки, Het позначає моноциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає N-феноксипіперидиніл, піперидиніл, піроліл, піразоліл, імідазоліл, фураніл, тієніл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіазоліл, ізотіазоліл, піридиніл, піримідиніл, піразиніл та піридазиніл; або біциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає хінолініл, хіноксалініл, індоліл, бензімідазоліл, бензоксазоліл, бензізоксазоліл, бензотіазоліл, бензізотіазоліл, бензофураніл, бензотієніл, 2,3-дигідробензо[1,4]діоксиніл або бензо[1,3]діоксоліл; причому кожен моноциклічний та біциклічний гетероцикл може бути, необов'язково, заміщений 1, 2 або 3 замісниками, вибраними з групи, яка включає галоїд, гідроксил, алкіл, алкоксигрупу або Ar-карбоніл. Краще, Het позначає тієніл.

В рамках цієї заявки, галоїд позначає замісник, вибраний з групи, яка включає фтор, хлор, бром та йод, а галоїдалкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону, або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону, де один чи кілька атомів карбону заміщені одним чи кількома атомами галоїду. Краще, галоїд позначає бром, фтор або хлор і, краще, галоїдалкіл позначає полігалоїд- C_{1-6} -алкіл, що визначається як моно- або полігалогенований C_{1-6} -алкіл, наприклад, метил з одним чи кількома атомами фтору, наприклад, дифторметил або трифторметил, 1,1-дифторетил і т.п. У випадку, коли до алкільної групи у визначенні полігалоїд- C_{1-6} -алкілу приєднано більш ніж один атом галогену, вони можуть бути однаковими чи різними. C_{1-6} -алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону, такий як, наприклад, метил, етил, пропіл, 2-метилетил, пентил, гексил і т.п.

У визначенні Het або коли R^4 та R^5 розглядаються як одне ціле, вважається, що вони включають всі можливі ізомерні форми гетероциклів, наприклад, піроліл включає 1H-піроліл та 2H-піроліл.

Ar або Het, включені у визначення замісників сполук формули (Ia) або (Ib) (див., наприклад, R^3), в тому значенні, що використовується вище чи далі, можуть бути приєднані до решти молекули формули (Ia) або (Ib) через будь-який придатний кільцевий атом карбону або гетероатом, якщо не вказано інше. Так, наприклад, якщо Het позначає імідазоліл, це може бути 1-імідазоліл, 2-імідазоліл, 4-імідазоліл і т.п.

Лінії, заведені від замісників в кільцеві системи, показують, що зв'язок може бути приєднаний до будь-якого з придатних кільцевих атомів.

Якщо два віцинальні радикали R^6 разом утворюють бівалентний радикал формули $-CH=CH-CH=CH-$, це означає, що два віцинальні радикали R^6 разом з фенільним кільцем, до якого вони приєднані, утворюють нафтил.

Для терапевтичного застосування, солями сполук формули (Ia) або (Ib) є такі, що мають фармацевтичне прийнятний протиіон. Однак, солі кислот та основ, які не є фармацевтичне прийнятними, можуть також знайти застосування, наприклад, у синтезі чи очищенні фармацевтично прийнятної сполуки. Всі солі, будь то фармацевтично прийнятні чи ні, входять до обсягу даного винаходу.

Фармацевтично прийнятні солі приєднання, згадані вище чи далі, мають включати терапевтичне активні нетоксичні форми солей приєднання кислоти, що можуть бути утворені сполуками формули (Ia) або (Ib). Останні можуть бути зручно одержані шляхом обробки основної форма такими придатними кислотами, як неорганічні кислоти, наприклад, галоїдводневі кислоти, наприклад, хлористоводнева, бромистоводнева і т.п.; сірчана кислота; азотна кислота; фосфорна кислота і т.п.; або органічні кислоти, наприклад, оцтова, пропіонова, гліколева, 2-оксипропіонова, 2-оксопропіонова, щавлева, малінова, бурштинова, малеїнова, фумарова, яблучна, винна, 2-окси-1,2,3-пропантрикарбонова, метансульфонова, етансульфонова, бензолсульфонова, 4-метилбензолсульфонова, циклогексансульфамова, 2-гідроксибензойна, 4-аміно-2-гідроксибензойна і т.п. кислоти. Навпаки, сольова форма може бути перетворена шляхом обробки лугами на вільну основну форму.

Сполуки формули (Ia) або (Ib), що мають кислотні протони, можуть бути перетворені на їхні терапевтично активні нетоксичні сольові форми приєднання металу чи аміну шляхом обробки Придатними органічними та неорганічними основами. Придатні основні сольові форми включають, наприклад, солі амонію, солі лужних та лужноземельних металів, наприклад, солі літію, натрію, калію, магнію, кальцію і т.п., солі з органічними основами, наприклад, первинними, вторинними та третинними аліфатичними та ароматичними амінами, такими як метиламін, етиламін, пропіламін, ізопропіламін, чотири ізомери бутиламіну, диметиламін, діетиламін, діетаноламін, дипропіламін, діізопропіламін, ди-н-бутиламін, піролідін, піперидин, морфолін, триметиламін, триетиламін, трипропіламін, хінуклідін, піридин, хінолін та ізохінолін, бензатин, N-метил-D-глюкамін, 2-аміно-2-(гідроксиметил)-1,3-пропандіол, солі гідрабініну та солі з амінокислотами, такими як, наприклад, аргінін, лізін і т.п. Навпаки, сольова форма може бути перетворена шляхом обробки кислотою на вільну кислотну форму.

Термін сіль приєднання також включає гідрати та форми приєднання розчинника, що можуть бути утворені сполуками формули (Ia) або (Ib). Прикладами таких форм є наприклад, гідрати, алкоголяти і т.п.

Термін "четвертинний амін" в тому значенні, що використовується вище, позначає солі четвертинного амонію, що можуть бути утворені сполуками формули (Ia) або (Ib) за реакцією між основним нітрогеном сполуки формули (Ia) або (Ib) та придатним кватернізуючим агентом, таким як, наприклад, необов'язково заміщений галоїдалкіл, галоїдарил, алкілкарбонілгалогенід, арилкарбонілгалогенід або арилалкілгалоїд, наприклад, метилйодид або бензилйодид. Можуть також бути використані інші реагенти з придатними відхідними групами, такі як алкілтрифторметансульфонати, алкілметансульфонати та алкіл-п-толуолсульфонати. Четвертинний амін має позитивно заряджений нітроген.

Фармацевтично прийнятні протиіони включають хлор, бром, йод, трифторацетат, ацетат, трифлат, сульфат, сульфонат. Бажаний протиіон може бути введений за допомогою іонообмінних смол.

Сполуки будь-якої з формул (Ia) та (Ib) і деякі проміжні сполуки завжди мають в своїй структурі щонайменше два стереогенні центри, внаслідок чого можуть утворювати щонайменше 4 стереохімічне різні структури.

Термін "стереохімічне ізомерні форми" в тому значенні, що використовується вище чи далі, позначає всі можливі стереоізомерні форми, які можуть мати сполуки формули (Ia) і (Ib) та їхні четвертинні аміни, N-оксиди, солі приєднання або фізіологічне функціональні похідні. Якщо не вказано чи визначено інше, хімічні назви сполук позначають суміш всіх можливих стереохімічних ізомерних форм, причому зазначені суміші містять всі діастереомери та енантіомери базової молекулярної структури.

Зокрема, стереогенні центри можуть мати R- або S-конфігурацію; замісники на бівалентних циклічних (частково) насичених радикалах можуть мати цис- або транс-конфігурацію. Сполуки з подвійними зв'язками можуть мати E (entgegen, проти) або Z (zusammen, разом) стереохімію на зазначеному подвійному зв'язку. Терміни цис, транс, R, S, E та Z є добре відомими фахівцям в цій області.

Сtereохімічне ізомерні форми сполук формули (Ia) та (Ii) мають бути безумовно включені до обсягу даного винаходу.

Згідно з правилами номенклатури CAS, якщо молекула містить два стереогенні центри відомої абсолютної конфігурації, то дескриптор R або S присвоюють (на основі правила послідовності Кана-Інголда-Прелога) хіральному центру з найнижчим номером - центру відліку. Конфігурація другого стереогенного центра вказується за допомогою відносних дескрипторів $[R^*, R^*]$ або $[R^*, S^*]$, де R^* завжди визначається як центр відліку і $[R^*, R^*]$ позначає центри з однаковою хіральністю, а $[R^*, S^*]$ позначає центри з різною хіральністю. Наприклад, якщо наймолодший хіральний центр в молекулі має конфігурацію .S', а другий центр - R, то стереодескриптор буди

визначений як S-[R*,S*]. Якщо використовуються " α " та " β ": положення старшого замісника на асиметричному атомі карбону в кільцевій системі з найменшим цифровим локантом завжди довільно визначається як положення " α " по відношенню до середньої площини, що визначається кільцевою системою. Положення найстаршого замісника на іншому асиметричному атомі карбону в кільцевій системі по відношенню до положення найстаршого замісника на опорному атомі позначається " α ", якщо він розташований з того самого боку середньої площини, що визначається кільцевою системою, або " β ", якщо він розташований з іншого боку середньої площини, що визначається кільцевою системою.

Якщо вказана конкретна стереоізомерна форма, то це означає, що зазначена форма, по суті, не містить, тобто, асоційована з менш ніж 50%, краще, менш ніж 20%, ще краще, менш ніж 10%, ще краще, менш ніж 5%, ще краще, менш ніж 2%, і найкраще, менш ніж 1%, іншого ізомера (ізомерів). Так, якщо сполука формули (I) позначена, наприклад, як (α S, β R), це означає, що сполука по суті не містить (α R, β S)-ізомера.

Сполуки будь-якої з формул (Ia) та (Ib) можуть бути синтезовані у формі рацемічних сумішей енантіомерів, які можуть бути відокремлені один від одного за допомогою відомих фахівцям процедур розділення. Рацемічні сполуки будь-якої з формул (Ia) та (Ib) можуть бути перетворені на відповідні діастереомерні сольові форми за реакцією з придатною хіральною кислотою. Зазначені діастереомерні сольові форми згодом розділяють, наприклад, шляхом селективної або фракційної кристалізації і енантіомери вивільняють з них за допомогою лугів. Альтернативний спосіб розділення енантіомерних форм сполук будь-якої з формул (Ia) та (Ib) включає рідинну хроматографію з використанням хіральної нерухомої фази. Зазначені чисті стереохімічні ізомерні форми можуть також одержані з відповідних чистих стереохімічних ізомерних форм придатних вихідних матеріалів, за умови, що реакція протікає стереоспецифічно. Краще, якщо потрібний конкретний стереоізомер, зазначену сполуку синтезують стереоспецифічними методами. Ці методи, краще, використовують енантіомерно чисті вихідні матеріали.

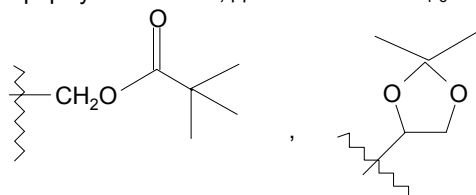
Таутомерні форми сполук будь-якої з формул (Ia) та (Ib) мають включати ті сполуки будь-якої з формул (Ia) та (Ib), у яких, наприклад, енольна група перетворена на кето-групу (кето-енольний таутомеризм).

N-оксидні форми сполук за будь-якою з формул (Ia) та (Ib) мають включати ті сполуки будь-якої з формул (Ia) та (Ib), у яких один чи кілька третинних атомів нітрогену окиснені до так званого M-оксиду.

Сполуки формули (Ia) та (Ib) можуть бути перетворені на відповідні N-оксидні форми з використанням відомих фахівцям процедур перетворення тривалентного нітрогену на його N-оксидну форму. Зазначена реакція N-оксидації звичайно може бути здійснена шляхом проведення реакції вихідного матеріалу формули (Ia) та (Ib) з придатним органічним або неорганічним пероксидом. Придатні неорганічні пероксиди включають, наприклад, перекис водню, пероксиди лужного металу чи лужноземельного металу, наприклад, пероксид натрію, пероксид калію; придатні органічні пероксиди можуть включати пероксикислоти, такі як, наприклад, пербензойна кислота або галоїдзаміщена пербензойна кислота, наприклад, 3-перхлорбензойна кислота, пероксоалканові кислоти, наприклад, пероксооцтова кислота, алкілгідропероксиди, наприклад, трет-бутилгідропероксид. Придатними розчинниками є, наприклад, вода, нижчі спирти, наприклад, етанол і т.п., вуглеводні, наприклад, толуол, кетони, наприклад, 2-бутанон, галогеновані вуглеводні, наприклад, дихлорметан, та суміші таких розчинників.

Винахід також включає похідні сполуки (звичайно називані "проліки") фармакологічно активних сполук за винаходом, які розкладаються *in vivo*, утворюючи сполуки за винаходом. Проліки звичайно (але не завжди) мають нижчу активність по відношенню до цільового рецептора, ніж сполуки, до яких вони розкладаються. Проліки є особливо корисними, коли бажана сполука має хімічні або фізичні властивості, що роблять її введення складним або неефективним. Наприклад, бажана сполука може бути малорозчинною, вона може погано переноситися через мукозальний епітелій або може мати небажано короткий період напіввиведення з плазми. Більш детальне обговорення проліків наведено у Stella, V.J. et al., "Prodrugs", Drug Delivery Systems, 1985, pp. 112-176, та Drugs, 1985, 29, pp.455-473.

Форми проліків фармакологічно активних сполук за винаходом загалом є сполуками будь-якої з формул (Ia) та (Ib), їхніми фармацевтично прийнятними солями приєднання кислоти чи основи, їхніми четвертинними амінами, їхніми стереохімічними ізомерними формами, їхніми таутомерними формами та їхніми N-оксидними формами, які мають естерифіковану або амідовану кислотну групу. Такі естерифіковані кислотні групи включають групи формули $-\text{COOR}^x$, де R^x позначає C_{1-6} -алкіл, феніл, бензил або одну з таких груп:

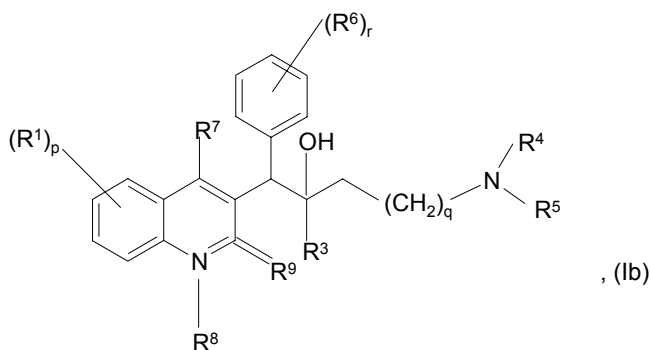
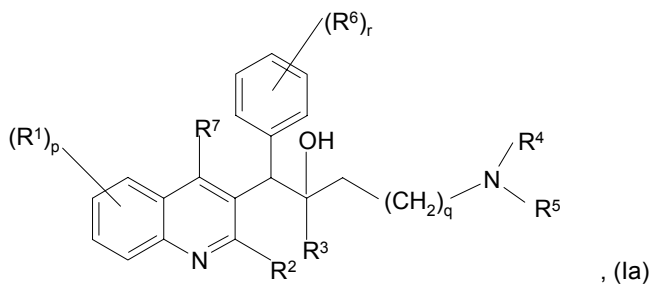


Амідовані групи включають групи формули $-\text{CONR}^y\text{R}^z$, де R^y позначає H, C_{1-6} -алкіл, феніл або бензил, і R^z позначає -OH, H, C_{1-6} -алкіл, феніл або бензил.

Сполуки за винаходом, що мають аміногрупу, можуть бути дериватизовані кетоном або альдегідом, таким як формальдегід, з утворенням основи Манніха. Ця основа гідролізується у водному розчині за кінетикою першого порядку.

При використанні в цьому описі, термін "сполуки формули (Ia) або (Ib)" має також включати їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти або основи, їхні четвертинні аміни, їхні N-оксидні форми, їхні таутомерні форми або, їхні стереохімічні ізомерні форми. Особливо цікавими є ті сполуки формули (Ia) або (Ib), які є стереохімічними чистими.

Перший цікавий варіант втілення даного винаходу стосується використання, як було визначено вище, сполук формули (Ia) або (Ib), де сполукою формули (Ia) або (Ib) є

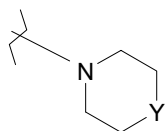


їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні N-оксиди, їхні таутомерні форми або їхні стереохімічне ізомерні форми, де

R¹ позначає гідроген, галоїд, галоїдалкіл, ціаногрупу, гідроксил, Ar, Het, алкіл, алкоксигрупу, алкілтіогрупу, алкоксіалкіл, алкілтіоалкіл, Ar-алкіл або ді-(Ar)-алкіл;

p позначає ціле число, яке дорівнює 1, 2, 3 або 4;

R² позначає гідроген, гідроксил, меркаптогрупу, алкоксигрупу, алкоксіалкоксигрупу, алкілтіогрупу, моно- чи ді(алкіл)аміногрупу або радикал формули



, де Y позначає CH₂, O, S, NH чи N-алкіл;

R³ позначає алкіл, Ar, Ar-алкіл, Het або Het-алкіл;

q позначає ціле число, яке дорівнює нулю, 1, 2, 3 або 4;

R⁴ та R⁵ кожний незалежно позначають гідроген, алкіл або бензил; або

R⁴ та R⁵ обидва та разом з N, до якого вони приєднані, можуть утворювати радикал, вибраний з групи, яка включає піролідиніл, 2-піролініл, 3-піролініл, піроліл, імідазолідиніл, піразолідиніл, 2-імідазолініл, 2-піразолініл, імідазоліл, піразоліл, триазоліл, піперидиніл, піридиніл, ігіперазиніл, піридазиніл, піримідиніл, піразиніл, триазиніл, морфолініл та тіоморфолініл, причому кожна із зазначених кільцевих систем, необов'язково, заміщена алкілом, галоїдом, галоїдалкілом, гідроксилом, алкоксигрупою, аміногрупою, моно- чи діалкіламіногрупою, алкілтіогрупою, алкоксіалкілом, алкілтіоалкілом та піримідинілом;

R⁶ позначає гідроген, галоїд, галоїдалкіл, гідроксил, Ar, алкіл, алкоксигрупу, алкілтіогрупу, алкоксіалкіл, алкілтіоалкіл, Ar-алкіл або ді-(Ar)-алкіл; або два віцинальні радикали R можуть разом утворювати бівалентний радикал формули -CH=CH-CH=CH-;

r позначає ціле число, яке дорівнює 1, 2, 3, 4 або 5;

R⁷ позначає гідроген, алкіл, Ar або Het;

R⁸ позначає гідроген або алкіл;

R⁹ позначає оксогрупу; або R⁸ та R⁹ разом утворюють радикал =N-CH=CH-;

алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону, приєднаний до лінійного чи розгалуженого насиченого вуглеводневого радикала, що містить від 1 до 6 атомів карбону; де кожний атом карбону може бути, необов'язково, заміщений галоїдом, гідроксилом, алкоксигрупою чи оксогрупою;

Ar позначає гомоцикл, вибраний з групи, яка включає феніл, нафтил, аценафтил, тетрагідронафтил, причому кожний гомоцикл, необов'язково, заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожний замісник незалежно вибраний з групи, яка включає гідроксил, галоїд, ціаногрупу, нітрогрупу, аміногрупу, моно- чи діалкіламіногрупу, алкіл, галоїдалкіл, алкоксигрупу, галоїдалкоксигруп, карбоксил, алкоксикарбоніл, амінокарбоніл, морфолініл та моно- чи діалкіламінокарбоніл;

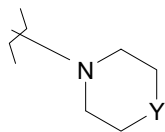
Het позначає моноциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає N-феноксипіперидиніл, піперидиніл, піроліл, піразоліл, імідазоліл, фураніл, тієніл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіазоліл, ізотіазоліл, ігіридиніл, піримідиніл, піразиніл та піридазиніл; або біциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає хінолініл, хіноксалініл, індоліл, бензімідазоліл, бензоксазоліл, бензізоксазоліл, бензотіазоліл, бензофураніл, бензотієніл, 2,3-дигідробензо[1,4]діоксиніл або бензо[1,3]діоксоліл; кожний моноциклічний та біциклічний гетероцикл може бути, необов'язково, заміщений 1, 2 або 3 замісниками, вибраними з групи, яка включає галоїд, гідроксил, алкіл, алкоксигрупу або Ar-карбоніл; галоїд позначає замісник, вибраний з групи, яка включає фтор, хлор, бром та йод; і галоїдалкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону, або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону, де один чи кілька атомів карбону заміщені одним чи кількома атомами галоїду.

Другий цікавий варіант втілення даного винаходу стосується використання, як було визначено вище, сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, де

R¹ позначає гідроген, галоїд, ціаногрупу, Ar, Het, алкіл, та алкоксигрупу;

p позначає ціле число, яке дорівнює 1, 2, 3 або 4; зокрема, 1 або 2;

R² позначає гідроген, гідроксил, алкоксигрупу, алкоксіалкоксигрупу, алкілтіогрупу або радикал формули



, де Y позначає O;

R³ позначає алкіл, Ar, Ar-алкіл або Het;

q позначає ціле число, яке дорівнює нулю, 1, 2 або 3;

R⁴ та R⁵ кожний незалежно позначають гідроген, алкіл або бензил; або

R⁴ та R⁵ обидва та разом з N, до якого вони приєднані, можуть утворювати радикал, вибраний з групи, яка включає піролідиніл, імідазоліл, триазоліл, піперидиніл, піперазиніл, піразиніл, морфолініл та тіоморфолініл, причому кожна кільцева система, необов'язково, заміщена алкілом або піримідинілом;

R⁶ позначає гідроген, галоїд або алкіл; або два віцинальні радикали R⁶ можуть разом утворювати бівалентний радикал формули -CH=CH-CH=CH-;

r позначає ціле число, яке дорівнює 1;

R⁷ позначає гідроген;

R⁸ позначає гідроген або алкіл;

R⁹ позначає оксогрупу; або

R⁸ та R⁹ разом утворюють радикал =N-CH=CH-;

алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону; або циклічний насичений вуглеводневий радикал, що містить від 3 до 6 атомів карбону, приєднаний до лінійного чи розгалуженого насиченого вуглеводневого радикала, що містить від 1 до 6 атомів карбону; де кожний атом карбону може бути, необов'язково, заміщений галоїдом або гідроксильною групою;

Ar позначає гомоцикл, вибраний з групи, яка включає феніл, нафтил, аценафтил, тетрагідронафтил, причому кожний гомоцикл, необов'язково, заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожний замісник незалежно вибраний з групи, яка включає галоїд, галоїдалкіл, ціаногрупу, алкоксигрупу та морфолініл;

Het позначає моноциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає N-феноксипіперидиніл, піперидиніл, фураніл, тієніл, піридиніл, піримідиніл; або біциклічний гетероцикл, вибраний з групи, яка включає бензотієніл, 2,3-дигідробензо[1,4]діоксиніл або бензо[1,3]діоксоліл; причому кожний моноциклічний та біциклічний гетероцикл може бути, необов'язково, заміщений 1, 2 або 3 алкільними або Ar-карбонільними замісниками; і галоїд позначає замісник, вибраний з групи, яка включає фтор, хлор та бром.

В третьому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де R¹ позначає гідроген, галоїд, Ar, алкіл або алкоксигрупу; краще, R¹ позначає галоїд; ще краще, R¹ позначає бром.

В четвертому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де p дорівнює 1 і R¹ не є гідрогеном.

В п'ятому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де R² позначає гідроген, алкоксигрупу або алкілтіогрупу; краще, R² позначає алкоксигрупу, зокрема, C₁₋₄-алкоксигрупу; ще краще, R² позначає метоксигрупу.

C₁₋₄-алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 4 атомів карбону, такий як, наприклад, метил, етил, пропіл, 2-метилетил і т.п.

В шостому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де R³ позначає нафтил, феніл або тієніл, кожний, необов'язково, заміщений 1 або 2 замісниками, які, краще, є галоїдом або галоїдалкілом, найкраще, галоїдом; краще, R³ позначає нафтил або феніл, кожний, необов'язково, заміщений галоїдом, краще, 3-фтором; ще краще, R³ позначає нафтил або феніл; найкраще, R позначає нафтил.

В сьомому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де q дорівнює нулю, 1 або 2; краще, q дорівнює 1.

В восьмому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де R⁴ та R⁵ кожний незалежно позначають гідроген або алкіл, зокрема, гідроген або C₁₋₄-алкіл, особливо, C₁₋₄-алкіл; краще, гідроген, метил або етил; найкраще, метил.

C₁₋₄-алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 4 атомів карбону, такий як, наприклад, метил, етил, пропіл, 2-метилетил і т.п.

В дев'ятому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де R⁴ та R⁵ обидва та разом з N, до якого вони приєднані, утворюють радикал, вибраний з групи, яка включає імідазоліл, триазоліл, піперидиніл, піперазиніл та тіоморфолініл, необов'язково, заміщений алкілом, галоїдом, галоїдалкілом, гідроксилом, алкоксигрупою, алкілтіогрупою, алкоксіалкілом або алкілтіоалкілом, краще, заміщений алкілом, найкраще, заміщений метилом або етилом.

В десятому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де R позначає гідроген, алкіл або галоїд; краще, R⁶ позначає гідроген.

В одинадцятому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де г дорівнює 1 або 2.

В дванадцятому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де R^7 позначає гідроген або метил; краще, R^7 позначає гідроген.

В тринадцятому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де, лише для сполук формули (Ib), R^8 позначає алкіл, краще, метил, і R^9 позначає оксиген.

В чотирнадцятому цікавому варіанті втілення сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, є сполуками за будь-якою з формул (Ia) та (Ib), де сполука є сполукою формули (Ia), її фармацевтично прийнятною сіллю приєднання кислоти чи основи, її четвертинним аміном, її N-оксидом, її таутомерною формою або її стереохімічне ізомерною формою.

П'ятнадцятим цікавим варіантом втілення сполук формули (Ia) або (Ib) є сполуки формули (Ia), їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні четвертинні аміни, їхні стереохімічно ізомерні форми, їхні таутомерні форми або їхні N-оксидні форми, у яких R^1 позначає гідроген, галоїд. Аг, алкіл або алкоксигрупу; $p = 1$; R^2 позначає гідроген, алкоксигрупу або алкілтіогрупу; R^3 позначає нафтил, феніл або тієніл, кожний, необов'язково, заміщений 1 або 2 замісниками, вибраними з групи, яка включає галоїд та галоїдалкіл; $q = 0, 1, 2$ або 3; R^4 та R^5 кожний незалежно позначають гідроген чи алкіл або R^4 та R^5 обидва та разом з N, до якого вони приєднані, утворюють радикал, вибраний з групи, яка включає імідазоліл, триазоліл, піперидиніл, піперазиніл та тіоморфолініл; R^6 позначає гідроген, алкіл або галоїд; г дорівнює 1, і R^7 позначає гідроген.

Шістнадцятим цікавим варіантом втілення сполук формули (Ia) або (Ib) є сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, або їхні фармацевтично прийнятні солі приєднання кислоти чи основи.

Сімнадцятим цікавим варіантом втілення сполук формули (Ia) або (Ib) є сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, або їхні четвертинні аміни.

Вісімнадцятим цікавим варіантом втілення сполук формули (Ia) або (Ib) є сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, або їхні N-оксиди.

Дев'ятнадцятим цікавим варіантом втілення сполук формули (Ia) або (Ib) є сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, або їхні стереохімічно ізомерні форми.

Двадцятим цікавим варіантом втілення сполук формули (Ia) або (Ib) є сполуки формули (Ia) або (Ib) чи будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення.

Краще, в сполуках формули (Ia) та (Ib) або будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, термін "алкіл" позначає C_{1-6} -алкіл, де C_{1-6} -алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону, такий як, наприклад, метил, етил, пропіл, 2-метилетил, пентил, гексил і т.п.

Краще, в сполуках формули (Ia) та (Ib) або будь-якої їхньої підгрупи, вказаної вище як цікавий варіант втілення, термін "галоїдалкіл" позначає полігалоїд- C_{1-6} -алкіл, який визначається як моно- або полігалогенований C_{1-6} -алкіл, наприклад, метил з одним чи кількома атомами фтору, наприклад, дифторметил або трифторметил, 1,1-дифторетил і т.п. У випадку, коли до алкільної групи у визначенні полігалоїд- C_{1-6} -алкілу приєднано більш ніж один атом галогену, вони можуть бути однаковими чи різними. C_{1-6} -алкіл позначає лінійний чи розгалужений насичений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 6 атомів карбону, такий як, наприклад, метил, етил, пропіл, 2-метилетил, пентил, гексил і т.п.

Краще, сполуку вибирають з:

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-2-(3,5-дифторфеніл)-4-диметиламіно-1-фенілбутан-2-олу;

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-нафталін-1-іл-1-фенілбутан-2-олу, що відповідає 6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафталеніл- β -феніл-3-гінолінетанолу;

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-2-(2,5-дифторфешл)-4-диметиламіно-1-фенілбутан-2-олу;

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-2-(2,3-дифторфешл)-4-диметиламіно-1-фенілбутан-2-олу;

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-(2-фторфеніл)-1-фенілбутан-2-олу;

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-нафталін-1-іл-1-п-толілбутан-2-олу;

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-метиламіно-2-нафталін-1-іл-1-фенілбутан-2-олу;

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-(3-фторфеніл)-1-фенілбутан-2-олу; та

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-феніл-1-фенілбутан-2-олу;

їхніх фармацевтично прийнятних солей приєднання кислоти чи основи, їхніх N-оксидів, їхніх таутомерних форм або їхніх стереохімічно ізомерних форм.

Ще краще, сполука є

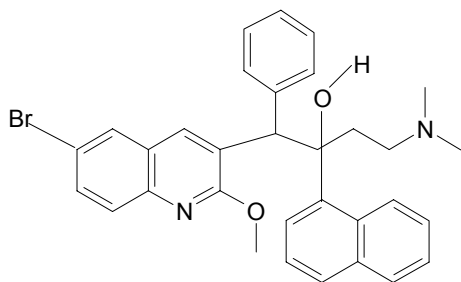
1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-2-(2,3-дифторфешл)-4-диметиламіно-1-фенілбутан-2-олом; або

1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-нафталін-1-іл-1-фенілбутан-2-олом, що відповідає 6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафталеніл- β -феніл-3-гінолінетанолу;

їхніми фармацевтично прийнятними солями приєднання кислоти чи основи, їхніми N-оксидами, їхніми таутомерними формами або їхніми стереохімічно ізомерними формами.

Ще краще, сполука є 1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-нафталін-1-іл-1-фенілбутан-2-олом, його фармацевтично прийнятною сіллю приєднання кислоти чи основи, його N-оксидом або його стереохімічне ізомерною формою.

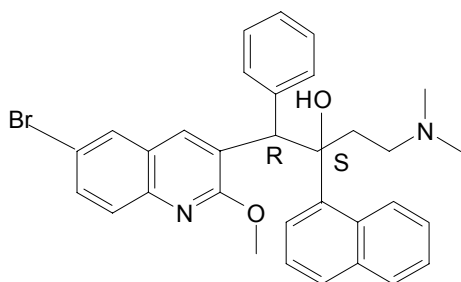
Альтернативною хімічною назвою 1-(6-бром-2-метоксигінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-нафталін-1-іл-1-фенілбутан-2-олу є 6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафталеніл- β -феніл-3-гінолінетанол. Зазначена сполука може також бути представлена як:



Ще краще, сполука є однією з таких:

6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-3- β -феніл-3-хінолінетанол або його фармацевтично прийнятна сіль приєднання кислоти; або 6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-1- β -феніл-3-хінолінетанол або його стереохімічне ізомерна форма; або 6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-1- β -феніл-3-хінолінетанол або його N-оксидна форма; або суміш, зокрема, рацемічна суміш, (α S, β R)-6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-1- β -феніл-3-хінолінетанолу та (α R, β S)-6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-1- β -феніл-3-хінолінетанолу, або їхня фармацевтично прийнятна сіль приєднання кислоти або їхня стереохімічне ізомерна форма; тобто, сполука 14 (діастереоізомер A); або (α S, β R)-6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-1- β -феніл-3-хінолінетанол, тобто, сполука 12, або її фармацевтично прийнятна сіль приєднання кислоти; або (α S, β R)-6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-1- β -феніл-3-хінолінетанол, тобто, сполука 12.

Найкращою сполукою є (α S, β R)-6-бром- α -[2-(диметиламіно)етил]-2-метокси- α -1-нафтален-1- β -феніл-3-хінолінетанол, що відповідає (1R,2S)-1-(6-бром-2-метоксихінолін-3-іл)-4-диметиламіно-2-нафталін-1-іл-1-фенілбутан-2-олу. Ця сполука може бути також представлена як:

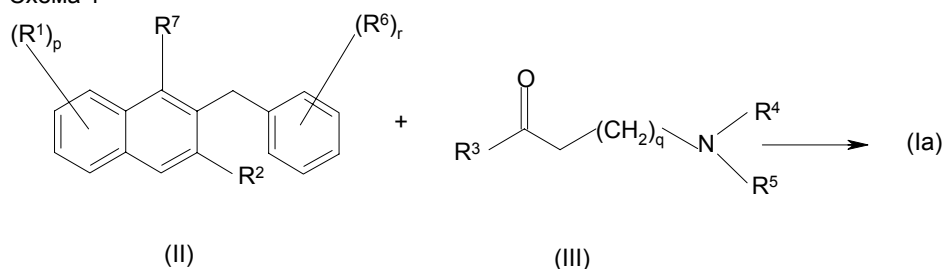


Іншою цікавою групою сполук є такі сполуки: 12, 71, 174, 75, 172, 79 та 125, описані далі у Таблицях 1-6; зокрема, сполуки 12, 71, 174, 75, 172 та 79, або сполуки 12, 71, 75, 172 та 125; особливо, сполуки 12, 71, 174 та 75, або сполуки 12, 71, 75 та 172; ще краще, сполуки 12, 71 та 174, або сполуки 12, 71 та 75; їхні фармацевтичне прийнятні солі приєднання кислоти чи основи, їхні N-оксиди, їхні таутомерні форми або їхні стереохімічне ізомерної форми.

Сполуки формули (Ia) та (Ib) можуть бути одержані відповідно до методів, описаних у WO 2004/011436, який включено сюди за посиланням. Загалом, сполуки за винаходом можуть бути одержані шляхом здійснення послідовності стадій, кожна з яких є відомою фахівцям.

Зокрема, сполуки формули (Ia) можуть бути одержані шляхом проведення реакції проміжної сполуки формули (II) з проміжною сполукою формули (III) за такою схемою реакції (I):

Схема 1

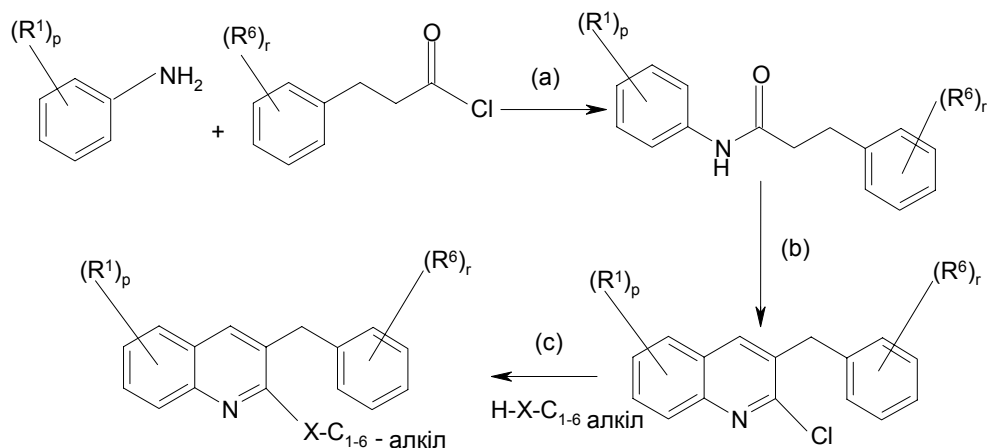


з використанням BuLi в суміші діізопропіламіну та тетрагідрофурану, де всі змінні мають значення, визначені у формулі (Ia). Перемішування може збільшувати швидкість реакції. Реакцію можна зручно проводити при температурі в інтервалі від -20 до -70°C.

Така сама процедура реакції може бути використана для синтезу сполук формули (Ib).

Вихідні матеріали та проміжні сполуки формули (II) та (III) є або комерційно доступними, або можуть бути одержані у відповідності до звичайних процедур реакцій, загальновідомих фахівцям. Наприклад, проміжні сполуки формули (II-a) можуть бути одержані за такою схемою реакції (2):

Схема 2

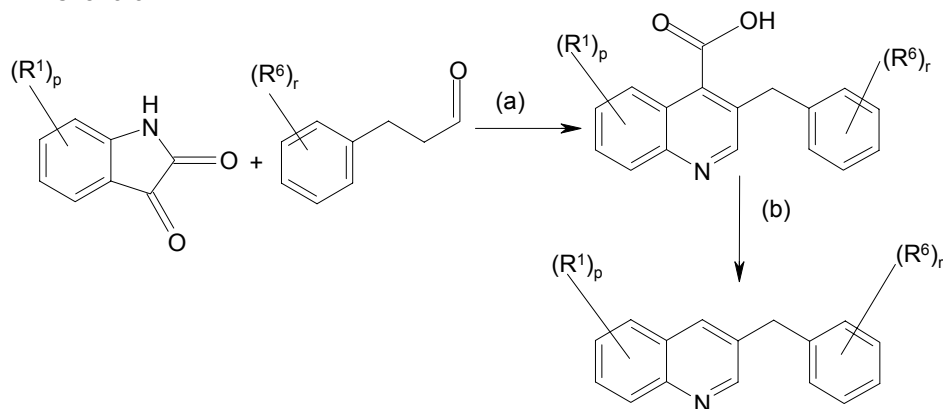


(IIa)

де всі змінні мають значення, визначені у формулі (Ia). Реакційна схема (2) включає стадію (a), на якій відповідно заміщений анілін вводять в реакцію з придатним галоїдангідридом, таким як 3-фенілпропіонілхлорид, 3-фторбензолпропанойлхлорид або п-хлорбензолпропанойлхлорид, в присутності придатної основи, такої як триетиламін, та придатного інертного по відношенню до реакції розчинника, такого як метиленхлорид або етилендихлорид. Реакцію можна зручно проводити при температурі в інтервалі від кімнатної температури до температури кипіння зі зворотним холодильником. На наступній стадії (b) аддукт, одержаний на стадії (a), вводять в реакцію з фосфорилхлоридом (POCl_3) в присутності N,N-диметилформаміду (формілування за Вільсмайєром-Хааком з наступною циклізацією). Реакцію можна зручно проводити при температурі в інтервалі від кімнатної температури до температури кипіння зі зворотним холодильником. На наступній стадії (c) вводять специфічну R^2 -групу, де R^2 позначає, наприклад, C_{1-6} -алкокси- або C_{1-6} -алкілтіо-радикал, шляхом проведення реакції проміжної сполуки, одержаної на стадії (и), зі сполукою H-X-C_{1-6} -алкіл, де X позначає S або O.

Проміжні сполуки формули (II-b) можуть бути одержані за такою схемою реакції (3), де на першій стадії (a) заміщений індол-2,3-діон вводять в реакцію з заміщеним 3-фенілпропіональдегідом в присутності придатної основи, такої як гідроксид натрію (реакція Пфітцингера), після чого одержану сполуку карбонової кислоти декарбоксилують на наступній стадії (b) при підвищеній температурі в присутності придатного інертного по відношенню до реакції розчинника, такого як дифеніловий ефір.

Схема 3

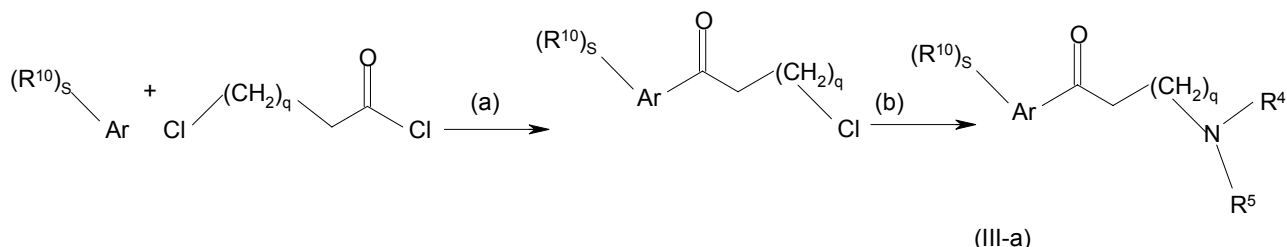


(II-b)

Зрозуміло, що у наведених вище та далі реакціях, продукти реакції можуть бути виділені з реакційного середовища і, в разі потреби, додатково очищені методами, загальновідомими фахівцям, такими як екстракція, кристалізація та хроматографія. Далі зрозуміло, що продукти реакції, які існують у більш ніж одній енантімерній формі, можуть бути виділені з їхньої суміші відомими методами, зокрема, препаративною хроматографією, такою як препаративна ВЕРХ. Типово, сполуки формули (I) можуть бути розділені на їхні ізомерні форми.

Проміжні сполуки формули (III) є або комерційно доступними, або можуть бути одержані у відповідності до звичайних процедур реакцій, загальновідомих фахівцям. Наприклад, проміжні сполуки формули (III-a), у якій R^3 позначає Ar, заміщений s замісниками R^{10} , де кожний R^{10} незалежно вибирають з групи, яка включає гідроксил, галоїд, ціаногрупу, нітрогрупу, аміногрупу, моно- чи ді-(C_{1-6} -алкіл)аміногрупу, C_{1-6} -алкіл, полігалоїд- C_{1-6} -алкіл, C_{1-6} -алкоксигрупу, полігалоїд- C_{1-6} -алкоксигрупу, карбоксил, C_{1-6} -алкоксикарбоніл, амінокарбоніл, морфолініл та моно- чи ді-(C_{1-6} -алкіл)амінокарбоніл, і s позначає ціле число, яке дорівнює нулю, 1, 2 або 3, можуть бути одержані за такою схемою реакції (4):

Схема 4



Реакційна схема (4) включає стадію (а), на якій відповідно заміщений Ar, зокрема, ап відповідно заміщений фенол, вводять в реакцію Фріделя-Крафтса з придатним галоїдангідридом, таким як 3-хлорпропіонілхлорид або 4-хлорбутирилхлорид, в присутності придатної кислоти Льюїса, такої як, наприклад, AlCl_3 , FeCl_3 , SnCl_4 , TiCl_4 або ZnCl_2 , та придатного інертного по відношенню до реакції розчинника, такого як метиленхлорид або етилендихлорид. Реакцію можна зручно проводити при температурі в інтервалі від кімнатної температури до температури кипіння зі зворотним холодильником. На наступній стадії (b) вводять аміногрупу ($-\text{NR}^4\text{R}^5$) шляхом проведення реакції проміжної сполуки, одержаної на стадії 1 (а), з придатним первинним або вторинним аміном.

В цілях інтерпретації даного винаходу, латентний ТБ, сплячий ТБ або персистентний ТБ позначають одне й те саме (ТБ позначає туберкульоз).

Як було вказано вище, сполуки формули (Ia) та (Ib) можуть бути використані для лікування латентного ТБ. Точна доза та частота введення сполук за даним винаходом залежить від конкретної використовуваної сполуки формули (Ia) та (Ib), конкретного стану, що лікується, тяжкості стану, що лікується, віку, ваги, статі, раціону, часу введення та загального фізичного стану конкретного пацієнта, способу введення, а також інших лікарських засобів, які може приймати пацієнт, як добре відомо фахівцям в цій галузі. Крім того, зрозуміло, що ефективна добова кількість може бути зменшена чи збільшена у залежності від реакції суб'єкта, що лікується, та/або у залежності від оцінки лікаря, який признає сполуки за даним винаходом.

Сполуки за даним винаходом можуть бути введені у фармацевтичне прийнятній формі, необов'язково, у фармацевтичне прийнятному носії.

Фармацевтичні композиції можуть мати різні фармацевтичні форми з метою введення. Як придатні, можна перелічити всі композиції, звичайно використовувані для системного введення лікарських засобів. Для одержання фармацевтичних композицій, ефективну кількість конкретної сполуки, необов'язково, у формі солі приєднання, як активний інгредієнт, ретельно змішують з фармацевтичне прийнятним носієм, який може набувати різноманітних форм у залежності від форми препарату, бажаної для введення. Ці фармацевтичні композиції, бажано, мають уніфіковану дозовану форму, придатну, зокрема, для введення перорально або шляхом парентеральної ін'єкції. Наприклад, при виготовленні композиції у вигляді дозованої форми для перорального введення можуть бути використані будь-які звичайні фармацевтичні середовища, такі як, наприклад, вода, гліколи, масла, спирти і т.п., у випадку рідких препаратів для перорального введення, таких як суспензії, сиропи, еліксири, емульсії та розчини; або тверді носії, такі як крохмалі, цукри, каолін, розріджувачі, змащувальні речовини, зв'язуючі, розпушувальні агенти і т.п., у випадку порошків, пілюль, капсул та таблеток. Через простоту введення, таблетки та капсули є найкращими разовими дозованими формами для перорального введення, в яких, безумовно, використовують тверді фармацевтичні носії. Для парентеральних композицій носій буде звичайно включати стерильну воду, щонайменше, здебільшого, хоч можуть бути додані інші інгредієнти, наприклад, для поліпшення розчинності. Можуть бути одержані, наприклад, розчини для ін'єкцій, в яких носій включає сольовий розчин, глюкозний розчин, або суміш сольового та глюкозного розчинів. Можуть бути виготовлені також суспензії для ін'єкцій, в яких можуть бути використані придатні рідкі носії, суспендувальні агенти і т.п.. Включені також тверді форми препаратів, які мають бути перетворені, незабаром до застосування, на препарати у рідкій формі.

У залежності від способу введення, фармацевтична композиція, краще, включає від 0,05 до 99 % мас., ще краще, від 0,1 до 70 % мас., активного інгредієнта, і від 1 до 99,95 % мас., ще краще, від 30 до 99,9 % мас., фармацевтичне прийнятне носія, де всі проценти вказані у розрахунку на композицію в цілому.

Фармацевтична композиція може додатково містити різні інші інгредієнти, відомі фахівцям, наприклад, змащувальну речовину, стабілізатор, буферний агент, емульгатор, агент регулювання в'язкості, поверхнево-активну речовину, консервант, смакову речовину або барвник.

Особливо краще, вищезгадані фармацевтичні композиції складають у вигляді разових дозованих форм для простоти введення та однорідності доз. Разова дозована форма в тому значенні, що використовується тут, стосується фізично дискретних одиниць, придатних для використання як разові дози, кожна з яких містить попередньо визначену кількість активного інгредієнта, розраховану на створення бажаного терапевтичного ефекту, разом з потрібним фармацевтичним носієм. Прикладами таких разових дозованих форм є таблетки (включаючи таблетки з надрізом чи з покриттям), капсули, пілюлі, порошки в пакетиках, облатки, супозиторії, розчини або суспензії для ін'єкцій і т.п., та їхні кратні частки. Добова доза сполуки за винаходом буде, звичайно, змінюватися у залежності від використовуваної сполуки, способу введення, бажаного лікування та показань мікобактеріальної хвороби. Однак, загалом, задовільні результати будуть одержані, коли сполуку за винаходом вводять при добовій дозі, що не перевищує 1 або 2 грами, наприклад, в інтервалі значень від 10 до 50 мг/кг ваги тіла.

Як було вказано вище, сполуки формули (Ia) та (Ib) та їхній синтез описані у WO 2004/011436, який включено сюди за посиланням.

Для деяких сполук не було експериментальне визначено абсолютну стереохімічну конфігурацію стереогенного атома (атомів) карбону. В цих випадках стереохімічне ізомерна форма, виділена першою, позначена як "A", а другою - як "B", без додаткових посилань на справжню стереохімічну конфігурацію. Однак, зазначені ізомерні форми "A" та "B" можуть бути однозначно охарактеризовані фахівцем в цій області з використанням відомих фахівцям методів, таких як, наприклад, рентгенівська дифракція.

У випадку, коли "A" та "B" є стереоізомерними сумішами, вони можуть бути згодом розділені, причому відповідні виділені першими фракції позначаються "A1" та, відповідно, "B1", а другими - як "A2" та, відповідно, "B2", без додаткових посилань на справжню стереохімічну конфігурацію. Однак, зазначені ізомерні форми "A1,

A2" та "B1, B2" можуть бути однозначно охарактеризовані фахівцем в цій області з використанням відомих фахівцям методів, таких як, наприклад, рентгенівська дифракція.

Сполуки за даним винаходом (див. Таблиці 1-6) пронумеровані відповідно до нумерації сполук у WO 2004/011436 і можуть бути одержані методами, описаними у WO 2004/011436. "Пр. №" у наведених нижче Таблицях стосуються номерів Прикладів WO 2004/011436 та вказують, за якою процедурою можуть бути одержані сполуки.

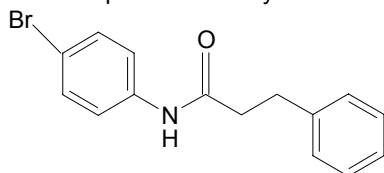
Зокрема, синтез сполук 12, 13, 12а, 13а, 14 та 15 детально описаний нижче.

Тут та надалі, "ДМФ" позначає N,N-диметилформамід, "ТГФ" позначає тетрагідрофуран, "DIPE" позначає діізопропіловий ефір.

Синтез проміжних сполук

Приклад A1

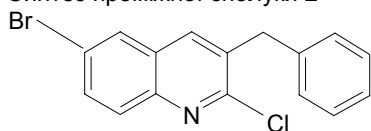
Синтез проміжної сполуки 1



Бензолпропаноїлхлорид (0,488 моль) додають по краплях при кімнатній температурі до розчину 4-бромбензоламіну (0,407 моль) в Et₃N (70 мл) та CH₂Cl₂ (700 мл) і суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш виливають в воду та концентрований NH₄OH і екстрагують CH₂Cl₂. Органічний шар осушають (MgSO₄), фільтрують і розчинник випарюють. Залишок кристалізують з діетилового ефіру. Залишок (119,67 г) розводять у CH₂Cl₂ та промивають 1Н НС1. Органічний шар осушають (MgSO₄), фільтрують і розчинник випарюють. Вихід: 107,67 г проміжної сполуки 1.

Приклад A2

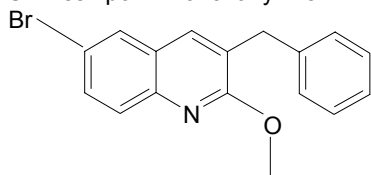
Синтез проміжної сполуки 2



Реакцію проводять двічі. POCl₃ (1,225 моль) додають по краплях при 10°C до N,N-диметилформаміду (ДМФ) (0,525 моль). Потім додають при кімнатній температурі проміжну сполуку 1 (одержану згідно A1) (0,175 моль). Суміш перемішують протягом ночі при 80°C, виливають на лід та екстрагують CH₂Cl₂. Органічний шар осушають (MgSO₄), фільтрують і розчинник випарюють. Продукт використовують без додаткового очищення. Вихід: 11,62% проміжної сполуки 2 (67%).

Приклад A3

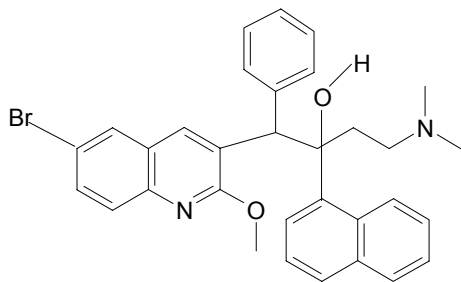
Синтез проміжної сполуки 3



Суміш проміжної сполуки 2 (одержану згідно з A2) (0,233 моль) в CH₂ONa (30%) в метанолі (222,32 мл) та метанол (776 мл) перемішують і нагрівають до кипіння зі зворотним холодильником протягом ночі, потім виливають на лід та екстрагують CH₂Cl₂. Органічний шар відокремлюють, осушають (MgSO₄), фільтрують і розчинник випарюють. Залишок очищають хроматографією на колонці з силікагелем (елюент: CH₂Cl₂/циклогексан 20/80, а потім 100/0; 20-45мм). Чисті фракції збирають і розчинник випарюють. Вихід: 25 г проміжної сполуки 3 (Вихід = 33%; т.пл. 84°C) у вигляді білого порошку.

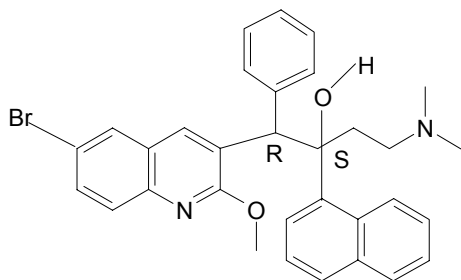
Синтез кінцевих сполук 12, 13, 12а, 13а, 14 та 15

Синтез кінцевих сполук 12, 13, 12а, 13а, 14 та 15

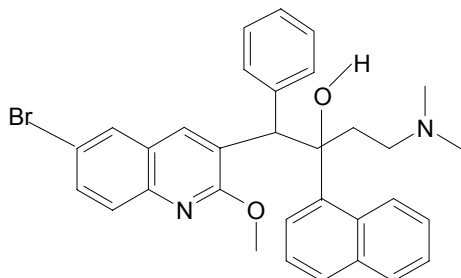


Сполука 14(A)

Сполука 15(B)

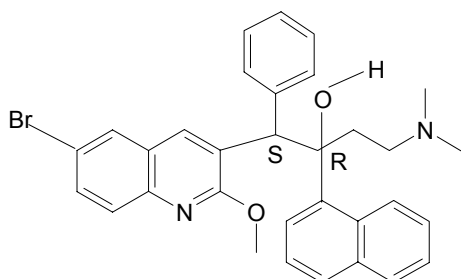


Сполука 12a(B1)

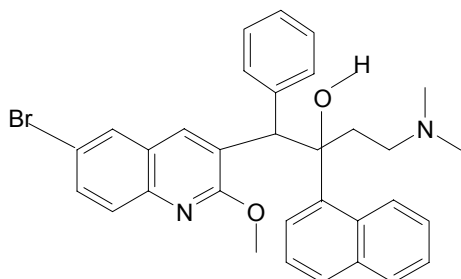


Сполука 12(A1)

$[\alpha]_D^{20} = -166,98$ (с=0,505 г/100 мл в ДМФ) $[\alpha]_D^{20} = -42,56$ (с=0,336 г/100 мл в ДМФ)



Сполука 13(A2)



Сполука 13a(B2)

$[\alpha]_D^{20} = +167,60$ (с=0,472 г/100мл в ДМФ) $[\alpha]_D^{20} = +43,55$ (с=0,349 г/100мл в ДМФ)

н-BuLi 1,6М (0,05 моль) додають повільно при -20°C під током N_2 до розчину N-(1-метилетил)-2-пропанаміну (0,05 моль) в тетрагідрофурані (ТГФ) (80 мл). Суміш перемішують при -20°C протягом 15 хвилин, потім охолоджують до -70°C . Додають повільно розчин проміжної сполуки 3 (одержаної згідно з АЗ, як описано вище) (0,046 моль) в ТГФ (150 мл). Суміш перемішують при -70°C протягом 30 хвилин. Додають повільно розчин 0,055 моль 3-(диметиламіне)-1-(1-нафтил)-1-пропанону в ТГФ (120 мл). Суміш перемішують при -70°C протягом 3 годин, гідролізують при -30°C льодяною водою та екстрагують EtOAc. Органічний шар відокремлюють, осушають (MgSO_4), фільтрують і розчинник випарюють.

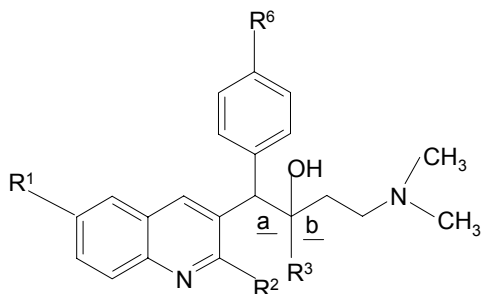
Залишок (29 г) очищають хроматографією на колонці з силікагелем (елюент: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$; 99,5/0,5/0,1; 15-35мкм). Збирають дві фракції і розчинник випарюють, одержуючи 3 г фракції 1 та 4,4 г фракції 2. Фракції 1 та 2 кристалізують роздільно з DIPE. Осад збирають на фільтрі та висушують, одержуючи 2,2г діастереоізомеру А, тобто, кінцевої сполуки 14 (Вихід: 9%; т. пл. 210°C) у вигляді білої твердої речовини та 4г діастереоізомеру В, тобто, кінцевої сполуки 15 (Вихід: 16%; т. пл. 244°C) у вигляді білої твердої речовини. Для одержання відповідних енантіомерів, діастереоізомер А (кінцева сполука 14) очищають хіральною хроматографією на силікагелі (chiralpack AD) (елюент: гексан/EtOH; 99,95/0,05). Збирають дві фракції і розчинник випарюють. Вихід: 0,233г енантіомера А1 (кінцева сполука 12) (т. пл. 118°C , $[\alpha]_D^{20} = -166,98$ (с = 0,505г/100мл в ДМФ)) у вигляді білої твердої речовини та 0,287г енантіомера А2 (кінцева сполука 13) (т. пл. 120°C , $[\alpha]_D^{20} = +167,60$ (с = 0,472г/100мл в ДМФ)) у вигляді білої твердої речовини. Енантіомер А1 кристалізують з ЕЮН, одержуючи білу тверду речовину: т. пл. 184°C , $[\alpha]_D^{20} = -188,71^{\circ}$ (с= 0,621г/100мл в ДМФ). Кристалізація енантіомера А2 з EtOH дає білу тверду речовину з т. пл. 175°C .

Очищають 0,2г діастереоізомеру В (кінцева сполука 15) методом хіральної хроматографії на силікагелі (chiralpack AD) (елюент: EtOH/ізо-PrOH/N-етилетанамін; 50/50/0,1). Збирають дві фракції і розчинник випарюють.

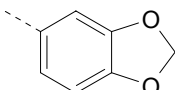
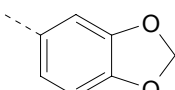
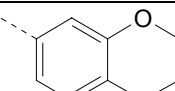
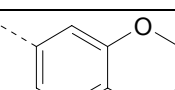
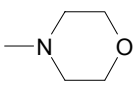
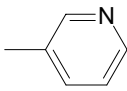
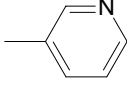
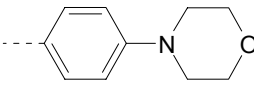
Вихід: 78,2 мг енантіомера В1 та 78,8мг енантіомера В2. Енантіомер В1 очищають хроматографією на колонці з силікагелем (елюент: CH₂Cl₂/CH₃OH/NH₄OH; 99/1/0,1; 15-40мкм). Збирають одну фракцію і розчинник випарюють. Вихід: 57 мг енантіомера В1 (кінцева сполука 12а) ($[\alpha]_D^{20} = -42,56^\circ$ (с = 0,336г/100мл в ДМФ)). Енантіомер В2 очищають хроматографією на колонці з силікагелем (елюент: CH₂Cl₂/CH₃OH/NH₄OH; 99/1/0,1; 15-40мкм). Збирають одну фракцію і розчинник випарюють. Вихід: 53 мг енантіомера В2 (кінцева сполука 13а) ($[\alpha]_D^{20} = +43,55^\circ$ (с = 0,349г/100мл в ДМФ)).

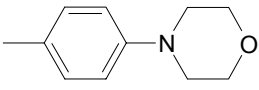
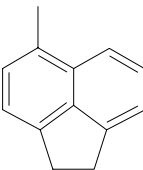
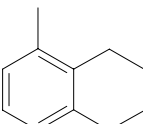




У Таблицях 1-6 наведений перелік сполук формули (Ia) та (Ib).

Таблиця 1:



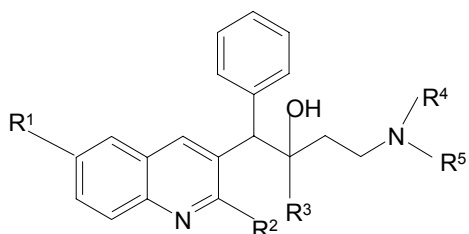
Сп. №	Пр. №	R ¹	R ²	R ³	R ⁶	Стереохімія та точки плавлення
1	В1	Br	OCH ₃	феніл	H	(A1); 194°C
2	В1	Br	OCH ₃	феніл	H	(A2); 191°C
3	В1	Br	OCH ₃	феніл	H	(A); 200°C
4	В1	Br	OCH ₃	феніл	H	(B); 190°C
16	В1	Br	OCH ₃	4-хлорфеніл	H	(A); 200°C
17	В1	Br	OCH ₃	4-хлорфеніл	H	(B); 190°C
20	В1	Br	OCH ₃	2-тієніл	H	(A); 96°C
21	В1	Br	OCH ₃	2-тієніл	H	(B); 176°C
22	В1	CH ₃	OCH ₃	феніл	H	(A); 148°C
23	В1	CH ₃	OCH ₃	феніл	H	(B); 165°C
24	В1	Br	OCH ₃	3-тієніл	H	(A); 162°C
25	В1	Br	OCH ₃	3-тієніл	H	(B); 160°C
26	В1	феніл	OCH ₃	феніл	H	(A); 174°C
27	В1	феніл	OCH ₃	феніл	H	(B); 192°C
28	В1	F	OCH ₃	феніл	H	(A); 190°C
29	В1	F	OCH ₃	феніл	H	(B); 166°C
30	В1	Cl	OCH ₃	феніл	H	(A); 170°C
31	В1	Cl	OCH ₃	феніл	H	(B); 181°C
32	В1	Br	SCH ₃	феніл	H	(A); 208°C
33	В1	Br	SCH ₃	феніл	H	(B); 196°C
34	В1	OCH ₃	OCH ₃	феніл	H	(A); 165°C
35	В1	OCH ₃	OCH ₃	феніл	H	(B); 165°C
36	В1	Br	OCH ₃	феніл	Cl	(A); 197°C
37	В1	Br	OCH ₃	феніл	Cl	(B); 221°C
38	В9	Br	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A); 198°C
39	В9	Br	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(B); 207°C
108	В9	Br	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A1); 160°C
109	В9	Br	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A2); 156°C
40	В1	H	OCH ₃	феніл	H	(A); 152°C
41	В1	H	OCH ₃	феніл	H	(B); 160°C
42	В1	H	OCH ₃	CH ₃	H	(A); 140°C
43	В1	H	OCH ₃	CH ₃	H	(B); 120°C
59	В1	Br	ОН	феніл	H	(A); >260°C
60	В1	Br	ОН	феніл	H	(B); 215°C
5	В2	Br	OCH ₂ CH ₃	феніл	H	(A); 162°C
6	В2	Br	OCH ₂ CH ₃	феніл	H	(B); 74°C
7	В3	Br	H	феніл	H	(A); 98°C
8	В3	Br	H	феніл	H	(B); 180°C
12	В7	Br	OCH ₃	1-нафтил	H	(A1), 118°C (піна); a=R, b=S; $[\alpha]_D^{20} = -166,98$ (с-0,505 г/100 мл в ДМФ)
13	В7	Br	OCH ₃	1-нафтил	H	(A2); 120 °C (піна);

						$\alpha=S, \beta=R; [\alpha]_D^{20} = +167,60$ (с=0,472 г/100мл в ДМФ)
12a	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	H	(B1); $[\alpha]_D^{20} = -42,56$ (с = 0,336 г/100 мл в ДМФ)
13a	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	H	(B2); $[\alpha]_D^{20} = +43,55$ (с = 0,349 г/100 мл в ДМФ)
14	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	H	(A); 210°C
15	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	H	(B); 244°C
45	B7	Br	OCH ₃	2-нафтил	H	(A); 262°C
46	B7	Br	OCH ₃	2-нафтил	H	(B); 162°C
67	B8	Br	OCH ₃	2,5-дифторфеніл	H	(A); 60°C
68	B8	Br	OCH ₃	2,5-дифторфеніл	H	(B); 208°C
110	B8	Br	OCH ₃	2,5-дифторфеніл	H	(A1); 167°C
111	B8	Br	OCH ₃	2,5-дифторфеніл	H	(A2), масляниста рідина
69	B1	Br	OCH ₃	2-фторфеніл	H	(A), масляниста рідина
70	B1	Br	OCH ₃	2-фторфеніл	H	(B), масляниста рідина
71	B1	Br	OCH ₃	1-нафтил	CH ₃	(A); 174°C
72	B1	Br	OCH ₃	1-нафтил	CH ₃	(B); 178°C
73	B1	Br	OCH ₃	1-нафтил	Cl	(B); 174°C
74	B1	Br	OCH ₃	1-нафтил	Cl	(A); 110°C
75	B1	Br	OCH ₃		H	(A); 196°C
76	B1	Br	OCH ₃		H	(B); 130°C
77	B1	Br	OCH ₃		H	(A); 202°C
78	B1	Br	OCH ₃		H	(B); 202°C
79	B1	Br		1-нафтил	H	(A); >250°C
80	B1	Br	OCH ₃	4-ціанофеніл	H	(A); 224°C
81	B1	Br	OCH ₃	4-ціанофеніл	H	(B); 232°C
82	B1	CH ₃	OCH ₃	1-нафтил	H	(A); 202°C
83	B1	CH ₃	OCH ₃	1-нафтил	H	(B); 198°C
84	B1	феніл	OCH ₃	1-нафтил	H	(A); 248°C
85	B1	феніл	OCH ₃	1-нафтил	H	(B); 214°C
86	B1	Br	OCH ₃		H	(A); 184°C
87	B1	Br	OCH ₃		H	(B); 186°C
88	B1	Br	SCH ₃	1-нафтил	H	(A); 240°C
89	B1	Br	OCH ₃		H	(A); 236°C

90	B1	Br	OCH ₃		H	(B); 206°C
91	B1	H	OCH ₃	1-нафтил	H	(A); 178°C
92	B1	H	OCH ₃	1-нафтил	H	(B); 160°C
93	B1	H	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A); 178°C
94	B1	H	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(B); 182°C
95	B1	Br	OCH ₃	2-фенілетил	H	(A); 178°C
96	B1	Br	OCH ₃	2-фенілетил	H	(B); 146°C
97	B1	OCH ₃	OCH ₃	1-нафтил	H	(A); 168°C
98	B1	OCH ₃	OCH ₃	1-нафтил	H	(B); 154°C
113	B14	Br	OCH ₃	2,3-дифторфеніл	H	(A); 128°C
114	B14	Br	OCH ₃	2,3-дифторфеніл	H	(B); 213°C
115	B15	Br	OCH ₃	3,5-дифторфеніл	H	(A); 192°C
116	B15	Br	OCH ₃	3,5-дифторфеніл	H	(B); 224°C
117	B15	Br	OCH ₃	3,5-дифторфеніл	H	(A1); 161°C
118	B15	Br	OCH ₃	3,5-дифторфеніл	H	(A2); 158°C
119	B7	Cl	OCH ₃	1-нафтил	H	(A); 212°C
120	B7	Cl	OCH ₃	1-нафтил	H	(B); 236°C
122	B7	Br	OCH ₃		H	(B); 227°C
127	B7	Br	OCH ₃	5-бром-2-нафтил	H	(A); 226°C
130	B7	Br	OCH ₃	5-бром-2-нафтил	H	(B); 220°C
131	B1	Br	OCH ₃		H	(A); 206°C
134	B9	OCH ₃	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A); 172°C
135	B9	OCH ₃	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(B); 182°C
143	B7	Br	OCH ₃	3-бром-1-нафтил	H	(A); 234°C
150	B7	Br	OCH ₃	3-бром-1-нафтил	H	(B); 212°C
159	B8	Br	OCH ₃	2,5-дифторфеніл	H	(A1); 208°C
160	B8	Br	OCH ₃	2,5-дифторфеніл	H	(A2); 167°C
162	B7	Br	OCH ₃	6-метокси-2-нафтил	H	(A); 206°C
163	B7	Br	OCH ₃	6-метокси-2-нафтил	H	(B); 206°C
164	B9	Br		3-фторфеніл	H	(A); 118°C
165	B9	Br		3-фторфеніл	H	(B); масляниста рідина
167	B8	Br	OCH ₃	2,6-дифторфеніл	H	(B); 180°C
174	B9		OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A); 159°C
175	B9		OCH ₃	3-фторфеніл	H	(B); 196°C

176	B7	Br		1-нафтил	H	(A); масляниста рідина
179	B9	CN	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A); 213°C
180	B9	CN	OCH ₃	3-фторфеніл	H	(B); 163°C
181	B9	Br	OCH ₃	4-фторфеніл	H	(A); 198°C
182	B9	Br	OCH ₃	4-фторфеніл	H	(B); 238°C
183	B1	Br	OCH ₃	3-трифторметил-феніл	H	(A); 170°C
188	B1	Br	OCH ₃	1,4-піримідин-2-іл	H	(A); 110°C
189	B1	Br	OCH ₃	1,4-піримідин-2-іл	H	(B); 145°C
195	B15	Br	OCH ₃	3,4-дифторфеніл	H	(A); 250°C
196	B15	Br	OCH ₃	3,4-дифторфеніл	H	(B); 184°C
201	B1	Br	OCH ₃		H	(A); 214°C
202	B1	Br	OCH ₃		H	(B); 246°C
203	B9		OCH ₃	3-фторфеніл	H	(A); 225°C
204	B9		OCH ₃	3-фторфеніл	H	(B); 216°C
205	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	F	(A); 213°C
206	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	F	(B); 213°C
207	B15	F	OCH ₃	3,5-дифторфеніл	H	(A); 232°
208	B15	F	OCH ₃	3,5-дифторфеніл	H	(B); 188°C
212	B7		OCH ₃	1-нафтил	H	(B); 220°C

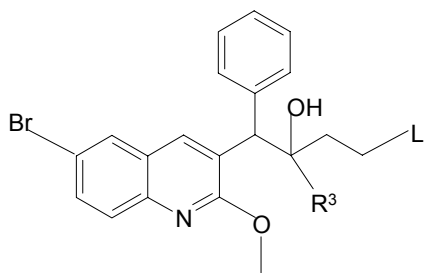
Таблиця 2.



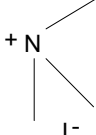
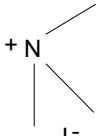
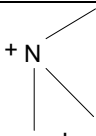
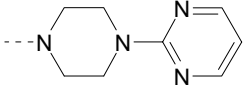
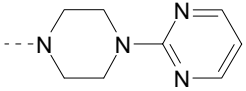
Сп.№	Пр.№	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Фізичні дані (сіль/точки плавлення) та стереохімія
18	B1	Br	OCH ₃	феніл	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	•етандіоат (2:3); (A); 230°C
19	B1	Br	OCH ₃	феніл	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	•етандіоат (2:3); (B); 150°C
44	B4	Br	OCH ₃	феніл	H	H	(A); 190°C
9	B4	Br	OCH ₃	феніл	H	H	(B); 204°C
141	B7	Br	OCH ₃	2-нафтил	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(A); 188°C
142	B7	Br	OCH ₃	2-нафтил	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(B); 202°C
230	B12	Br	OCH ₃	1-нафтил	CH ₃	бензил	масляниста рідина
147	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(A); 168°C
148	B7	Br	OCH ₃	1-нафтил	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(B); 212°C

56	B13	Br	OCH ₃	1-нафтил	CH ₃	H	(A); 204°C
214	B13	Br	OCH ₃	1-нафтил	CH ₃	H	(B); 225°C

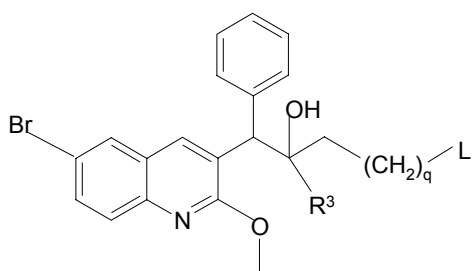
Таблиця 3:



Сп.№	Пр.№	R ³	L	Стереохімія та точки плавлення
47	B1	феніл	1-піперидиніл	(A); 190°C
48	B1	феніл	1-піперидиніл	(B); 210°C
128	B1	2-нафтил	1-піперидиніл	(A); 254°C
129	B1	2-нафтил	1-піперидиніл	(B); 212°C
49	B1	феніл	1-імідазоліл	(A); 216°C
50	B1	феніл	1-імідазоліл	(B); 230°C
51	B1	феніл	1-(4-метил)піперазиніл	(A); 150°C
52	B1	феніл	1-(4-метил)піперазиніл	(B); 230°C
53	B1	феніл	1-(1,2,4-триазоліл)	(A); 180°C
54	B1	феніл	1-(1,2,4-триазоліл)	(B); 142°C
55	B1	феніл	тіоморфолініл	(A); масляниста рідина
57	B5	феніл		(A); 244°C
10	B5	феніл		(B); 198°C
58	B6	феніл		(A); 208°C
11	B6	феніл		(B); 208°C
99	B11	1-нафтил		(A1); 218°C
100	B6	1-нафтил		(A2); 218°C
101	B6	1-нафтил		(B); 175°C

102	B5	1-нафтил		(A2); 210°C
103	B5	1-нафтил		(B); >250°C
121	B5	1-нафтил		(A1); 210°C
123	B1	феніл	морфолініл	(A); 226°C
124	B1	феніл	морфолініл	(B); 210°C
136	B7	2-нафтил	4-метилпіразиніл	(A); 188°C
137	B7	2-нафтил	4-метилпіразиніл	(B); 232°C
139	B7	2-нафтил	морфолініл	(A); 258°C
140	B7	2-нафтил	морфолініл	(B); 214°C
144	B7	2-нафтил	піролі диніл	(A); 238°C
145	B7	1-нафтил	1-піперидиніл	(A); 212°C
146	B7	1-нафтил	1-піперидиніл	(B); 220°C
149	B7	1-нафтил	4-метилпіразиніл	(B); 232°C
151	B7	3-бром-1-нафтил	4-метилпіперазиніл	(A); 178°C
152	B7	3-бром-1-нафтил	4-метилпіперазиніл	(B); 226°C
153	B7	6-бром-2-нафтил	4-метилпіперазиніл	(A); 208°C
154	B7	6-бром-2-нафтил	4-метилпіперазиніл	(B); 254°C
155	B7	6-бром-2-нафтил	1-піперидиніл	(A); 224°C
156	B7	1-нафтил	4-метилпіперазиніл	(A); 200°C
157	B7	6-бром-2-нафтил	1-піролідиніл	(B); 220°C
158	B7	1-нафтил	морфолініл	(B); 272°C
166	B7	6-бром-2-нафтил	1-піперидиніл	(B); 218°C
170	B7	2-нафтил	1-піролідиніл	(A); 238°C
171	B7	2-нафтил	1-піролідиніл	(B); 218°C
172	B7	1-нафтил	1,2,4-триазол-1-іл	/142°C
173	B7	1-нафтил	1,2-імідазол-1-іл	(A); 222°C
177	B7	6-бром-2-нафтил	морфолініл	(A); 242°C
178	B7	6-бром-2-нафтил	морфолініл	(B); 246°C
187	B7	1-нафтил	1,2-імідазол-1-іл	(B); 236°C
200	B7	2-нафтил		(A); 254°C
209	B7	2-нафтил		(B); 198°C

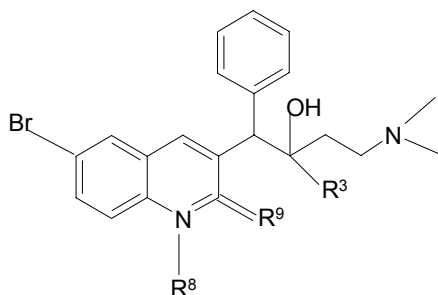
Таблиця 4:



Сп. №	Пр. №	R ³	Q	L	Стереохімія та точки плавлення
61	B1	феніл	0	N(CH ₃) ₂	(A); 220°C

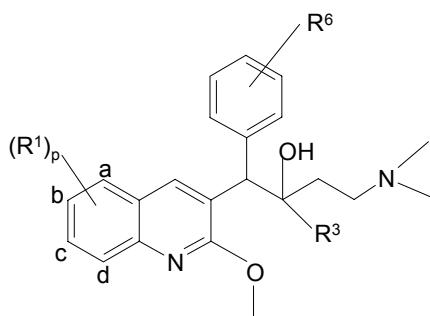
62	B1	феніл	0	N(CH ₃) ₂	(B); 194°C
63	B1	феніл	2	N(CH ₃) ₂	(A); 150°C
64	B1	феніл	2	N(CH ₃) ₂	(B); 220°C
125	B7	2-нафтил	2	N(CH ₃) ₂	(A); 229°C
126	B7	2-нафтил	2	N(CH ₃) ₂	(B); 214°C
65	B1	феніл	3	N(CH ₃) ₂	(A); 130°C
66	B1	феніл	3	N(CH ₃) ₂	(B); 170°C
132	B7	2-нафтил	2	піролідиніл	(A); 227°C
133	B7	2-нафтил	2	піролідиніл	(B); 222°C
161	B7	2-нафтил	2	морфолініл	(B); 234°C
186	B7	1-нафтил	2	N(CH ₃) ₂	(A); 187°C
190	B7	2-нафтил	3	N(CH ₃) ₂	(A); 170°C
191	B7	2-нафтил	3	N(CH ₃) ₂	(B); 145°C
192	B7	2-нафтил	2	N(CH ₂ CH ₃) ₂	(A); 90°C
193	B7	2-нафтил	2	N(CH ₂ CH ₃) ₂	(B); 202°C
194	B7	1-нафтил	2	піролідиніл	(B); 206°C
197	B7	1-нафтил	3	N(CH ₃) ₂	(A); 160°C
198	B7	2-нафтил	2	морфолініл	(A); 215°C
199	B7	1-нафтил	2	N(CH ₂ CH ₃) ₂	(A); 185°C
210	B7	1-нафтил	2	морфолініл	(B); 222°C
211	B7	1-нафтил	2	морфолініл	(A); 184°C

Таблиця 5:





Сп.№	Пр.№	R ³	R ⁸	R ⁹	Стереохімія та точки плавлення
104	B1	феніл	-CH=CH-N=		(A); 170°C
105	B1	феніл	-CH=CH-N=		(B); 150°C
106	B1	феніл	CH ₃	=O	(A); 224°C
107	B1	феніл	CH ₃	-O	(B); 180°C
138	B7	1-нафтил	H	=O	(A1); >260°C

Таблиця 6



Сп. №	Пр. №	R ¹				R ³	R ⁶	Стереохімія та точки плавлення
		a	b	c	d			
15	B9	H	Br	CH ₃	H	3-фторфеніл	H	(A), 197°C
216	B9	H	Br	CH ₃	H	3-фторфеніл	H	(B), 158°C
217	B7	H	H	Br	H	1-нафтил	H	(A); 212°C
218	B7	H	H	Br	H	1-нафтил	H	(B), 172°C
219	B9	H	Br	H	CH ₃	3-фторфеніл	H	(A), 220°C
220	B9	H	Br	H	CH ₃	3-фторфеніл	H	(B), 179°C

221	B7	Br	H	H	H	1-нафтил	H	(A), 170°C
224	B7	Br	H	H	H	1-нафтил	H	/205°C
222	B7	H	Br	H	H	1-нафтил		(A), 155°C
223	B7	H	Br	H	H	1-нафтил		(B), 205°C
225	B7	H	Br	CH ₃	H	1-нафтил	H	(A), 238°C
226	B7	H	Br	CH ₃	H	1-нафтил	H	(B), 208°C
227	B15	H	Br	CH ₃	H	3,5-дифторфеніл	H	(A), 195°C
228	B15	H	Br	CH ₃	H	3,5-дифторфеніл	H	(B), 218°C
229	B7	H	CH ₃	CH ₃	H	1-нафтил	H	(A), 238°C

Фармакологічна частина

A. Дослідження ефекту кінцевої сполуки 12 на знищення сплячих *Mycobacterium bovis*.

Бактеріальні штами та культуральне середовище

Mycobacterium bovis BCG були одержані від фірми Tibotec Virco (ТБ0087-(Бельгія). *M. bovis* BCG, що експресує ген люциферази на плазміді pSMT1 (дарунок від Dr. Kris Huygen, Пастерівський інститут, Брюссель⁸) культивували в середовищі Middlebrook 7H9 (Difco, BD271310) з 0,05% Твін-80 (Sigma) в логарифмічній фазі протягом періоду 3-4 днів перед початком експерименту.

Для одержання живильного середовища з добавками: розчиняють 4,7 г порошку Middlebrook в 895 мл дистильованої води та додають 5мл гліцерину, 200мкл Твін 80 та автоклавують при 121°C протягом 15 хвилин. Асептичне додають до середовища 100 мл добавки Middlebrook OADC після охолодження до 45°C.

Зберігають при 4°C протягом максимум 1 місяця. Попередньо інкубують всі середовища протягом 2 днів при 37°C для перевірки на забруднення. Додають 50мкг/мл гігromіцину для штаму *M. bovis* BCG, що експресує ген люциферази (BCG-pSMT1).

I. Дослідження *Mycobacterium bovis* BCG

Аналіз на сплячий стан.

500 мкл штаму *Mycobacterium bovis* BCG додають до 100мл бульйону Middlebrook 7H9 з добавками у стерильній пляшці Duran на 250 мл зі стрижнем для магнітного перемішування. Інкубацію проводять на електричній магнітній мішалці протягом 7 днів при 37 °C (500 об./хв.). Аліквоти 5 мл логарифмічної фази культури (OD_{600nm} (оптична густина на 600nm) = 0,5-0,8) переносять в пробірки falcon на 15мл із закручуваною кришечкою. До окремих пробірок додають різні лікарські засоби до кінцевої концентрації 10мкг/мл. Після додавання лікарських засобів, всі пробірки нещільно закривають та поміщають усередину анаеростату (BBL). Для створення анаеробних умов в анаеростаті використовують пакети для виділення анаеробного газу, і для контролю анаеробних умов - анаеробні індикаторні смужки. Додавання індивідуальних лікарських засобів та початок анаеробіозу в анаеростаті здійснювали якомога швидше, як було описано раніше⁹. Анаеростат інкубують протягом 7 днів при 37°C.

Аналіз КУО

Після 7 днів анаеробіозу, сплячі культури збирають центрифугуванням на малій швидкості (2000 об./хв. протягом 10 хвилин). Клітини промивають двічі середовищем 7H9 для видалення лікарських засобів та ресуспендують у середовищі, що не містить лікарського засобу. КУО оброблених та необроблених культур визначають висіванням на чашки в дні 0, 2 та 5 для оцінки бактерицидної активності.

II. Дослідження *M. bovis* BCG, що експресують ген люциферази в плазміді pSMT1.

Аналіз на сплячий стан.

500мкл штаму *Mycobacterium bovis* BCG-люцифераза (pSMT1) додають до 100 мл бульйону Middlebrook 7H9 з добавками в стерильні пляшки Duran на 250 мл

зі стрижнем для магнітного перемішування. Інкубацію проводять на електричній магнітній мішалці протягом 7 днів при 37°C (500 об./хв.). Аліквоти 5 мл логарифмічної фази культури (OD_{600nm} = 0,5-0,8) переносять в пробірки falcon із закручуваною кришечкою на 15 мл. Різні лікарські засоби додають до окремих пробірок до кінцевої концентрації 10мкг/мл. Після додавання лікарських засобів, всі пробірки не щільно закривають та дуже швидко поміщають усередину анаеростату (BBL), як було описано раніше⁹. Для створення анаеробних умов в анаеростаті використовують пакети для виділення анаеробного газу, а для контролю анаеробних умов - анаеробні індикаторні смужки. Анаеростат інкубують протягом 7 днів при 37°C.

Аналіз з люциферазою.

Після 7 днів анаеробіозу, сплячі культури збирають центрифугуванням на малій швидкості (2000 об./хв. протягом 10 хвилин). Клітини промивають двічі середовищем 7H9 для видалення лікарських засобів та ресуспендують у середовищі, що не містить лікарського засобу. Після промивання, 250мкл сплячих *M. bovis* BCG-люцифераза (pSMT1) наносять на 5 різних мікропланшетів (від дня 0 до дня 5). Кожний зразок розводять на мікропланшетах (5-кратні розведення) у середовищі та знов інкубують при 37°C від 0 до 5 днів. 40мкл зразків та розведень додають до 140мкл фосфатно-сольового буфера (PBS). Додають 20мкл субстрату люциферази (1% н-дециловий альдегід в етанолі). Вимірюють люмінесценцію протягом 10 секунд для відстежування росту життєздатних бактерій щоденно з 0 по 5 день (Використовують прилад Luminoskan Ascent Labsystems з інжектором).

Схема експерименту:

Зразок №	Штам <i>M. bovis</i>	Зразок/сполука	мікрограм/мл
1-2	BCG	Контроль	

3	BCG	Метронідазол	10
4	BCG	Ізоніазид	10
5-6	BCG	Кінцева сполука 12	10
7-8	BCG	Кінцева сполука 12	1
9-10	BCG	Кінцева сполука 12	0,1
11-12	BCG/pSMT1	Контроль	
13	BCG/pSMT1	Метронідазол	10
14	BCG/pSMT1	Ізоніазид	10
15-16	BCG/pSMT1	Кінцева сполука 12	10
17-18	BCG/pSMT1	Кінцева сполука 12	1
19-20	BCG/pSMT1	Кінцева сполука 12	0,1

Результати та обговорення

Модель *in vitro* сплячого стану було розроблено на основі методу Вейна створення сплячих бактерій шляхом витрачання кисню^{9,10}. В моделі Вейна по мірі осідання мікобактерій на дно колби вони створюють градієнт кисню з утворенням анаеробних умов на дні колби. Цей перехід до низьких концентрацій кисню примушує мікобактерії переходити в сплячий стан та спричинює підвищувальну регуляцію експресії кількох генів, включаючи ізоцитратліазу та гліциндегідрогеназу⁷. Ці ферменти відповідають за продукування енергії за відсутності кисню, а кінцевими акцепторами електронів є нітрати, сульфати і т.д., на відміну від молекулярного кисню у випадку аеробного дихання. Енергія відновлюваних субстратів створює електрохімічний градієнт.

В цьому експерименті використовували адаптовану модель Вейна в експериментальній установці з використанням анаеростатів gaspak, в яких кисень витрачається в камері за допомогою хімічної реакції⁹. Анаеростати gaspak обладнані кришкою, що містить каталізатор. Фольгову упаковку Gaspak, що містить речовини, які генерують водень та CO₂, поміщають в анаеростат з бактеріальними культурами. Упаковку відкривають і піпеткою вносять в неї 10 мл водопровідної води. Коли анаеростат закритий (кришка щільно притиснена), водень, що виділяється, реагує з киснем за допомогою каталізатора з утворенням води. Це приводить до поступового витрачання кисню, присутнього в камері, та створює градієнт кисню. Крім того, індикаторна смужка в анаеростаті містить метиленовий синій, який за відсутності кисню стає безбарвним. Зміна кольору індикаторної смужки вказує на досягнення належного стану атмосфери.

Для швидкого аналізу впливу сполук на сплячих бактерій, використовували *M. bovis* BCG, трансформовані люциферазним конструктом. *M. bovis* BCG

використовувалися в попередніх експериментах як заміник для імітації сплячого стану мікобактерій загалом та *M. tuberculosis* зокрема^{11,12}. Штами з репортером люциферази часто використовувалися для оцінки життєздатності бактерій^{13,14}. *M. bovis* BCG трансформують репортерною плазмідною рSMT1, яка є човниковим вектором, що містить початок реплікації E.coli та мікобактерій⁸. Люмінесцентні гени з *Vibrio harvey* (lux A та B) знаходяться під контролем промотора BCG hsp60 та продукують світло у присутності АТФ або флавінмононуклеотиду (FMNPIa). Мертві клітини є нездатними продукувати ці кофактори, що відповідає зменшенню люмінесценції.

В цьому аналізі на сплячий стан визначають активність кінцевої сполуки 12, а також активність інших лікарських засобів, включаючи метронідазол та ізоніазид. Сплячі бактерії не гинуть від ізоніазиду і в певному ступені є також резистентними до рифампіцину, але сприйнятливі до знищення метронідазолом, який є антибіотиком для анаеробних патогенів^{5,16}. Ізоніазид діє як ранній бактерицидний агент, а його активність обмежена знищенням бацил, що розмножуються, але він не виявляє помітної стерилізуючої активності щодо сплячих бацил¹⁷.

Після 7 днів анаеробіозу, бактерії суспендують у середовищі, що не містить лікарського засобу, на 5 днів та оцінюють ефект різних сполук на життєздатність бактерій шляхом кількісного аналізу з люциферазою. Як показано на Фігурі 1, ізоніазид на впливає на такі сплячі бактерії і ці бактерії мають показники росту, майже порівнянні з контролем, що підтверджує сплячий або нездатний до реплікації стан бацил у культурі. Навпаки, метронідазол, очевидно, ефективно знищує сплячі бацили протягом певного періоду часу зі зменшенням їхньої кількості у 2 log₁₀ разів порівняно з контролем. Кінцева сполука 12 впливає на виживаність сплячих бактерій у концентрація-залежний спосіб. При концентрації кінцевої сполуки 12 10мкг/мл спостерігається приблизно 4 log₁₀ зниження виживаності бактерій порівняно з необробленим контролем. При 0,1 та 1мкг/мл сполуки відповідне знищення сплячих бактерій складає приблизно 0,5 log₁₀ та 2 log₁₀, відповідно.

Для кореляції впливу кінцевої сполуки 12 на знищення бактерій у показниках залежності відносних одиниць люмінесценції (RLU/мл) від колонієутворювальних одиниць (КУО/мл) були також проведені підрахунки числа бактерій на планшетах з 7H10. Аналогічне співвідношення величини RLU до числа КУО спостерігалось після висіювання зразків в день 2 та день 4 на планшетах з 7H10. Зменшення величин КУО порівняно з показниками для необробленого контролю показує, що кінцева сполука 12 в концентрації 10мкг/мл, 1мкг/мл та 0,1мкг/мл знижує життєздатність приблизно в 4, 2, 3, та 0,5 log₁₀ разів в день 2 та приблизно в 6, 4, 7 та 1,1 log₁₀ разів в день 5, відповідно. Фіг. 2 (А та В) зображує дані КУО. Спостерігається тісна кореляція між люмінесценцією та величинами КУО на різних стадіях експерименту. Цікаво, що в момент часу 0 спостерігається помітне зниження RLU порівняно з величинами КУО, переважно через дуже низьку концентрацію АТФ в цих клітинах, що, як було показано, є характерним для метаболічного стану сплячих бацил⁸.

Активність кінцевої сполуки 12 по відношенню до сплячих мікобактерій (які не розмножуються) є надзвичайно важливим результатом, оскільки це допоможе боротьбі з туберкульозом шляхом знищення хвороби у осіб з ризиком розвитку ТБ.

В. Дослідження ефекту сполук за даним винаходом на знищення сплячих *Mycobacterium tuberculosis* відповідно до моделі сплячого стану Вейна*

Бактеріальний штам та культуральне середовище

Mycobacterium tuberculosis (H37RV) культивують у середовищі Middlebrook з 0,05% Твін.

Для приготування бульйону Middlebrook 7H9 (1x) (BD 271310) з добавками розчиняють 4,7 г порошку Middlebrook у 895мл дистильованої води та додають 5 мл гліцерину, 200 мкл Твін 80 і автоклавують при 121 °C протягом 15 хвилин.

Асептичне додають до середовища 100 мл добавки Middlebrook OADC Enrichment (BD 211886) після охолодження до 45°C. Зберігають при 4°C протягом максимум 1 місяця. Попередньо інкубують всі середовища протягом 2 днів при 37°C для перевірки на забруднення.

* Wayne L.G. et al.; Infection and Immunity 64 (6), 2062-2069 (1996).

Дослідження *Mycobacterium tuberculosis* (H37RV).

Аналіз на сплячий стан.

1000мкл штаму *Mycobacterium tuberculosis* (попередня культура) додають до 100 мл бульйону Middlebrook 7H9 з добавками в стерильній пляшці Duran на 250мл зі стрижнем для магнітного перемішування. Інкубацію проводять на електричній магнітній мішалці протягом 7 днів при 37°C (500 об./хв.). Аліквоти 17 мл логарифмічної фази культури (розрахункова $OD_{600nm} = 0,01$) переносять в пробірки на 25мл. Пробірки щільно укупорюють пробками з резиновими прокладками та інкубують на столику для магнітного перемішування для створення анаеробіозу шляхом витрачання кисню. Перемішування в пробірках здійснюють за допомогою 8 мм тefлонових стрижнів для перемішування. Пробірки інкубують протягом 22 днів при 37°C в інкубаторі на столику для магнітного перемішування (120 об./хв.) до анаеробіозу (метиленовий синій (1,5 мг/літр) стає безбарвним). Через 14 днів до індивідуальних пробірок додають різні лікарські засоби (кінцева концентрація 100, 10, 1 та 0,1мкг/мл). Додають метронідазол як контроль для знищення сплячих бактерій (додають на початку). Ізоніазид додають як контроль, щоб показати, що він не має впливу на ріст та життєздатність сплячих бактерій.

Аналіз КУО.

Через 22 дні, культури збирають центрифугуванням на малій швидкості (2000 об./хв. протягом 10 хвилин). Клітини промивають двічі середовищем, що не містить лікарського засобу, ресуспендують у середовищі, що не містить лікарського засобу, та інкубують. Зниження КУО у порівнянні з необробленими контрольними культурами визначають шляхом висіювання на планшетах після анаеробіозу для оцінки бактерицидної активності.

Схема експерименту

Зразок №	Зразок / Сполука	мкг/мл
1-2	Контроль	-
3-4	Метронідазол	100
5-6	Ізоніазид	10
7-8	Моксифлоксацин	10
9-10		1
11-12	Кінцева сполука 12	10
13-14		1
15-16	Рифампіцин	10
17-18		1

Результати та обговорення:

Вплив кінцевої сполуки 12 на сплячих бактерій продемонстрований (див. Фіг. 3) з використанням моделі сплячого стану Вейна. Як вже було вказано вище, це модель витрачання кисню *in vitro*, яка викликає у бактерій реакцію переходу у сплячий стан¹⁸⁻²³. В моделі Вейна, культури бактерій піддають поступовому витрачання кисню шляхом інкубації у герметично закритих пробірках при перемішуванні. При повільному переході бактерій з умов аеробного росту до анаеробних умов, культура є більш здатною адаптуватися та пережити анаеробіоз за рахунок переходу до стану анаеробної витривалості. Модель Вейна є добре дослідженою *in vitro* моделлю сплячого стану.

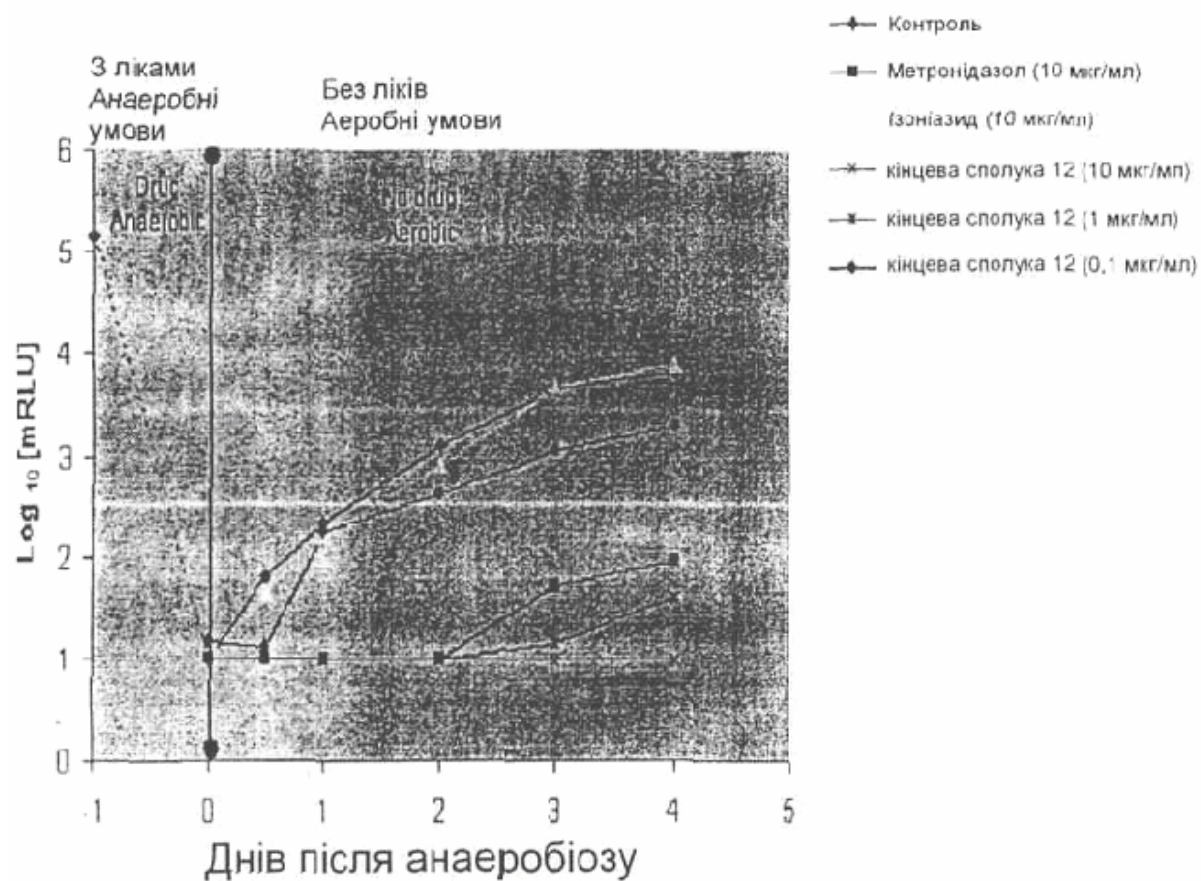
При концентрації кінцевої сполуки 12 10мкг/мл, спостерігається більш ніж 2 \log_{10} зменшення числа сплячих бактерій, так само, як у випадку моксифлоксацину та рифампіцину. При концентрації 1мкг/мл, для сполуки 12 спостерігається 1,41 \log_{10} зменшення. Сполуки 71, 75, 172 та 125 також були піддані випробуванням в такому самому тесті. При концентрації 10мкг/мл, для сполуки 71 спостерігається зменшення числа сплячих бактерій більш ніж 2 \log_{10} ; для сполуки 75 спостерігається зменшення 1,14 \log_{10} ; для сполуки 172 спостерігається 0,98 \log_{10} зменшення; для сполуки 125 спостерігається 0,23 \log_{10} зменшення. При концентрації 1мкг/мл, для сполуки 71 спостерігається 1,55 \log_{10} зменшення; для сполуки 75 спостерігається 0,87 \log_{10} зменшення; для сполуки 172 спостерігається 0,29 \log_{10} зменшення.

Ізоніазид не мав ніякого впливу на сплячих бактерій, у той час як контрольна сполука - метронідазол - виявляв добру ефективність.

Література

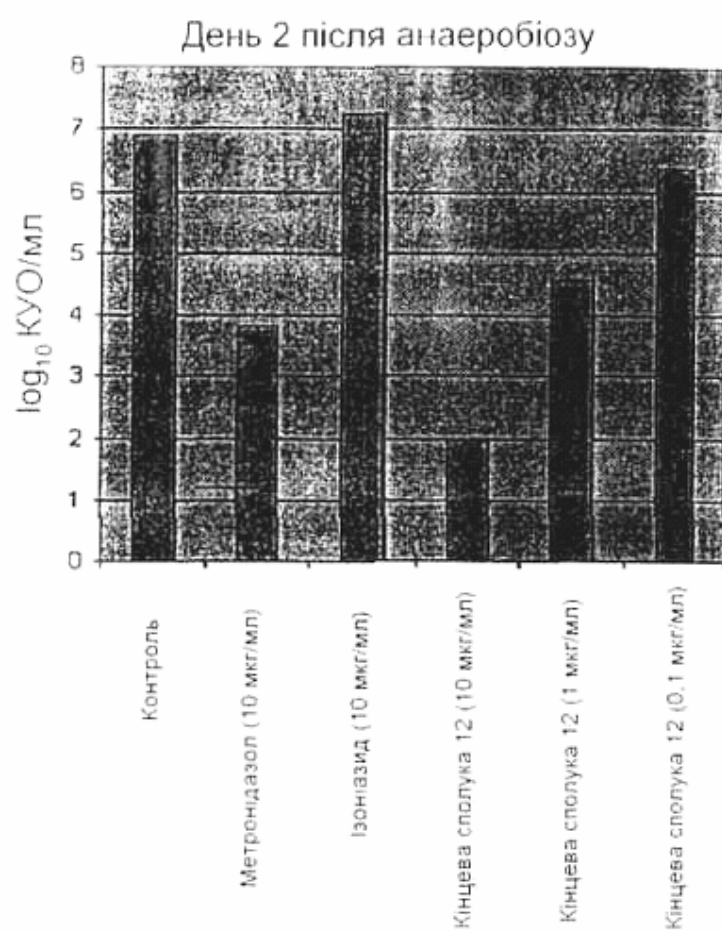
1. Corbett, E.L. et al. The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. Arch. Intern. Med. 163, 1009-1021 (2003).
2. Dye, C., Scheele, S., Dolin, P., Pathania, V. & Raviglione, M.C. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA 282, 677-686 (1999).
3. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Ця офіційна заява Американського торакального товариства (American Thoracic Society) була прийнята правлінням ATS у липні 1999 р. Це спільна заява Американського торакального товариства (ATS) та Центрів з боротьби та профілактики захворювань (CDC). Ця заява була затверджена Радою Американського товариства інфекційних захворювань (IDSA), вересень 1999 р., разом з розділами даної заяви. Am. J. Respir. Crit. CareMed., 161, S221-S247 (2000).
4. Halsey, N.A. et al. Randomised trial of isoniazid versus rifampicin and pyrazinamide for prevention of tuberculosis in HIV-1 infection. Lancet 351, 786-792 (1998).

5. Mitchison, D.A. & Coates, A.R. Predictive in vitro models of the sterilizing activity of anti-tuberculosis drugs. *Curr. Pharm. Des.*, 10, 3285-3295 (2004).
6. Karakousis, P.C. et al. Dormancy phenotype displayed by extracellular *Mycobacterium tuberculosis* within artificial granulomas in mice. *J. Exp. Med.*, 200, 647-657 (2004).
7. Gomez, J.E. & McKinney J.D. *M. tuberculosis* persistence, latency, and drug tolerance. *Tuberculosis (Edinb.)*, 84, 29-44 (2004).
8. Snewin, V.A. et al. Assessment of immunity to mycobacterial infection with luciferase reporter constructs. *Infect. Immun.*, 67, 4586-4593 (1999).
9. Stover, C.K. et al. A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis. *Nature*, 405, 962-966 (2000).
10. Wayne, L.G. Synchronized replication of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect. Immun.*, 17, 528-530 (1977).
11. Boon, C. & Dick, T. *Mycobacterium bovis* BCG response regulator essential for hypoxic dormancy. *J. Bacteriol.*, 184, 6760-6767 (2002).
12. Hutter, B. & Dick, T. Up-regulation of *narX*, encoding a putative 'fused nitrate reductase' in anaerobic dormant *Mycobacterium bovis* BCG. *FEMS Microbiol. Lett.*, 178, 63-69 (1999).
13. Andrew, P.W. & Roberts, I.S. Construction of a bioluminescent mycobacterium and its use for assay of antimycobacterial agents. *J. Clin. Microbiol.*, 31, 2251-2254 (1993).
14. Hickey, M.J. et al. Luciferase in vivo expression technology: use of recombinant mycobacterial reporter strains to evaluate antimycobacterial activity in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 40, 400-407 (1996).
15. Wayne, L.G. & Sramek, H.A. Metronidazole is bactericidal to dormant cells of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38, 2054-2058 (1994).
16. Wayne, L.G. Dormancy of *Mycobacterium tuberculosis* and latency of disease. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 13, 908-914 (1994).
17. Lalande, V., Truffot-Pemot, C., Paccaly-Moulin, A., Grosset J. & Ji, B. Powerful bactericidal activity of sparfloxacin (AT-4140) against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37, 407-413 (1993).
18. Zhang, Y. Persistent and dormant tubercle bacilli and latent tuberculosis. *Front. Biosci.*, 9, 1136-1156 (2004).
19. Boon, C. & Dick, T. *Mycobacterium bovis* BCG response regulator essential for hypoxic dormancy. *J. Bacteriol.*, 184, 6760-6767 (2002).
20. Peh, H.L., Toh, A., Murugasu-Oei, B. & Dick, T. In vitro activities of mitomycin C against growing and hypoxic dormant tubercle bacilli. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45, 2403-2404 (2001).
21. Hutter, B. & Dick, T. Increased alanine dehydrogenase activity during dormancy in *Mycobacterium smegmatis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 167, 7-11 (1998).
22. Wayne, L.G. & Hayes, L.G. An in vitro model for sequential study of shutdown of *Mycobacterium tuberculosis* through two stages of nonreplicating persistence. *Infect. Immun.*, 64, 2062-2069 (1996).
23. Antia, R., Koella J.C. & Perrot, V. Models of the within-host dynamics of persistent mycobacterial infections. *Proc. Biol. Sci.*, 263, 257-263 (1996).

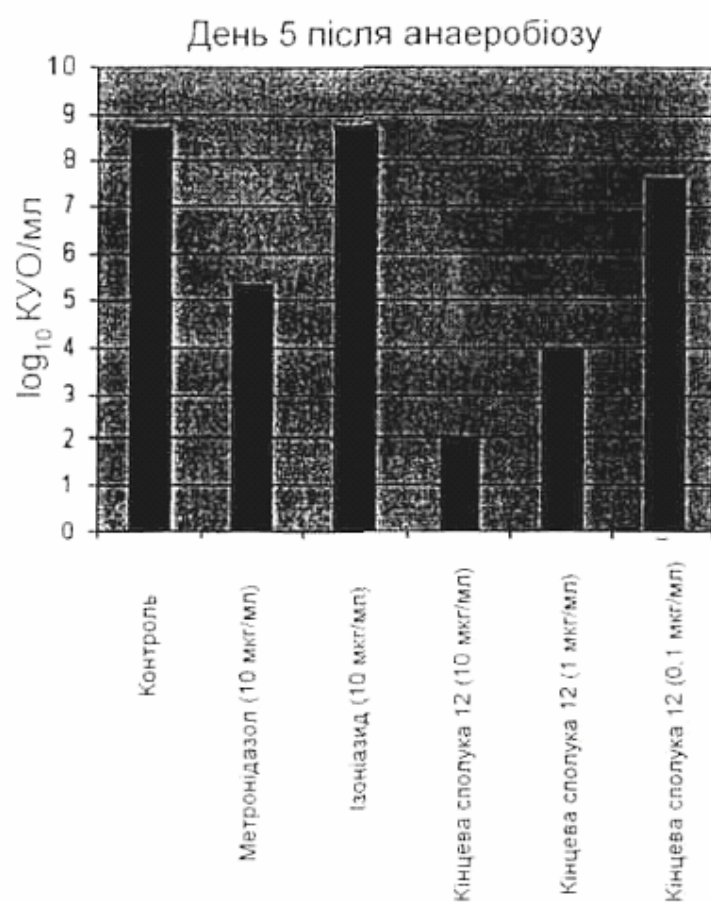


Фіг. 1

A)

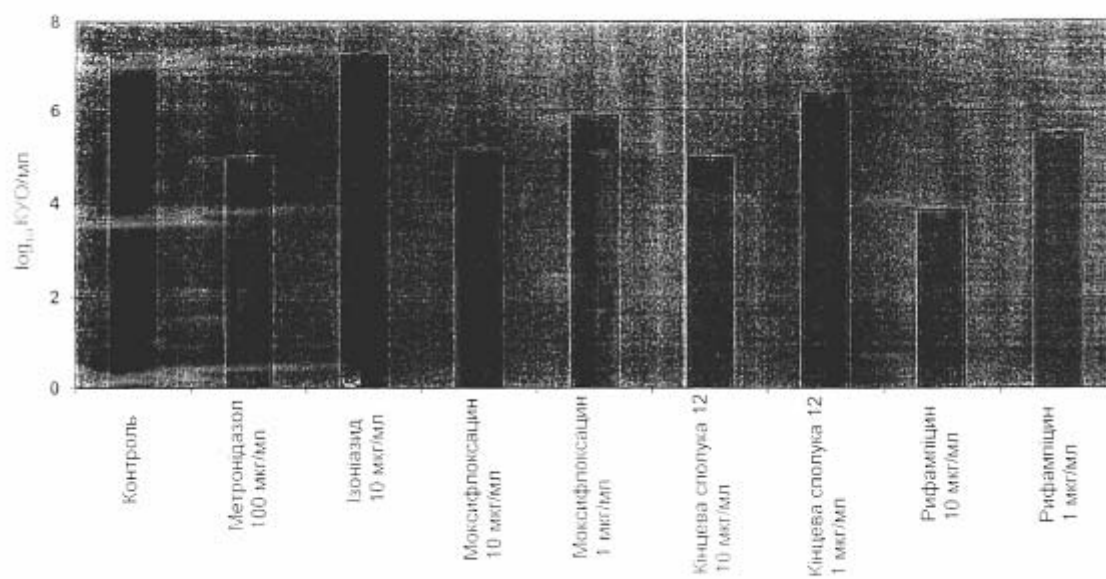


B)



Фіг. 2

Вплив різних лікарських засобів на сплячі *M. tuberculosis* (модель Вейна); n=2



Фіг. 3