



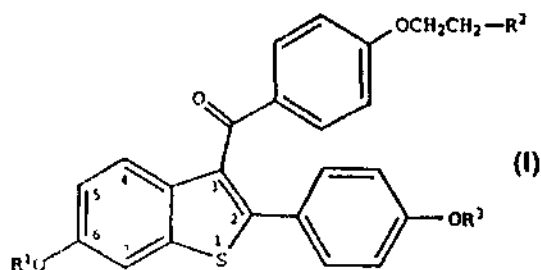
УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВО(19) UA (11) 26772 (13) C1
(51) A 61 K 31/38, A 61 K 31/445ОПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІД(54) ЗАСІБ ДЛЯ ЗБІЛЬШЕННЯ ВИДІЛЕННЯ TGF- β В ГОЛОВНИЙ МОЗОК ТА ДЛЯ ІНГІБУВАННЯ НЕЙРОТОКСИЧНОСТІ, ЯКА ПРОВОДИТЬСЯ β -АМІЛОЇДНИМИ ПЕПТИДАМИ

1

2

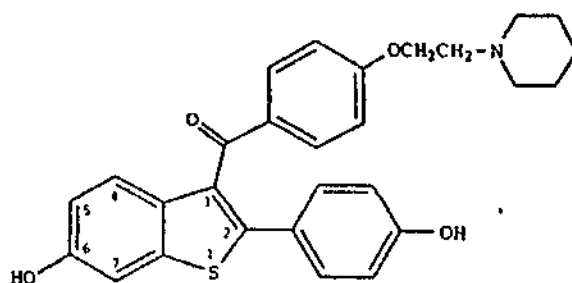
- (21) 94129203
 (22) 19.12.94
 (24) 12.11.99
 (31) 08/171.387
 (32) 21.12.93
 (33) US
 (46) 12.11.99. Бюл. № 7
 (56) 1. Патент США № 4133814, 1979.
 2. Патент США № 4380635, 1983.
 3. Патент США № 4418068, 1983.
 4. Патент США № 5075321, 1991.
 5. Заявка ФРГ № 4320896, 1993.
 6. Международная заявка № 93/10113, 1993.
 7. Международная заявка № 93/1074, 1993.
 8. Bryant et al. Raloxifene is a tissue Specific estrogen agonist // Am. Soc. Bone & Min. Res., Tampa, Sep. 18-22, 1993.
 9. Frolick et al. In vivo and in vitro metabolism of raloxifene // Am. Soc. Bone & Min. Res., Tampa, 18-22, 1993.
 (72) Мей Патрік Корніліус (US)
 (73) ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ (US)
 (57) 1. Применение соединения формулы



где R¹ и R³ независимо друг от друга представляют собой водород, -CH₃,

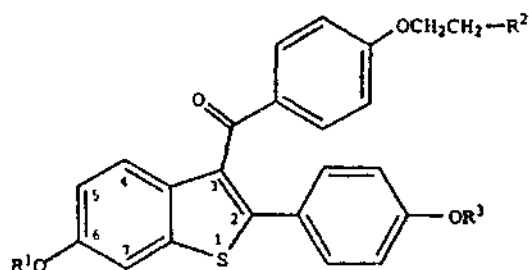
$\begin{matrix} O \\ || \\ -C-(C_1-C_6 \text{ алкил}) \text{ или } -C-Ar, \text{ где } Ar - \\ \text{факультативно замещенный фенил;} \end{matrix}$
 R² выбирается из группы, состоящей из пирролидино и пиперидино; или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, для увеличения выделения в головной мозг TGF- β .

2. Применение по п. 1, где указанным соединением является



или его гидрохлорид.

3. Применение соединения формулы



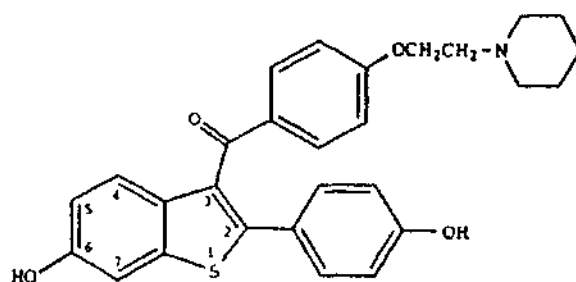
где R¹ и R³ независимо друг от друга представляют собой водород, -CH₃,

(19) UA (11) 26772 (13) C1

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ алкил}) \text{ или } -\text{C}-\text{Ar}, \text{ где Ar} - \\ \text{факультативно замещенный фенил;} \end{array}$

R^2 выбирается из группы, состоящей из пирролидино и пиперидино; или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, для ингибирования нейротоксичности, проводимой β -амилоидными пептидами.

4. Применение по п. 3, где указанным соединением является



или его гидрохлорид.

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой дегенеративное расстройство функции головного мозга, клинически характеризующееся прогрессирующей потерей памяти, познавательной способности, рассудка здравомыслия, эмоциональной уравновешенности, что постепенно приводит к полному умственному истощению и, в конечном итоге, к смерти. БА является распространенной причиной прогрессирующего умственного расстройства (слабоумия) пожилых людей и, как полагают, находится на четвертом месте среди наиболее часто встречающихся медицинских причин смерти в США. БА распространена в разных расовых и этнических группах всего мира и представляет собой серьезную проблему общественного здоровья настоящего времени и будущего. Только в США по подсчетам на сегодняшний день подвержено этому заболеванию приблизительно от двух до трех миллионов человек. Доказано, что в настоящее время БА неизлечима.

Заболевание головного мозга БА проявляется в нейронной деградации и характерных повреждениях, которые определяют как амилоидогенные бляшки, васкулярную амилоидную болезнь кровеносных или/и лимфатических сосудов и связывание тонких нервных волокон в цитоплазме нейрона и его отростках. Большое количество этих поражений, особенно амилоидогенные бляшки и связывание нервных волокон в цитоплазме нейрона, у больных БА, как правило, обнаруживают в некоторых областях головного мозга, которые важны для функции памяти и мышления. Меньшее количество этих поражений и в более ограниченном анатомическом распространении находят в головном

мозге пожилых людей, которые не страдают клинической формой БА. Амилоидогенные бляшки и васкулярная болезнь кровеносных и лимфатических сосудов также характерны для головного мозга пациентов с заболеванием Trisomy 21 (синдром Дауна) и наследственным внутримозговым кровоизлиянием с амилоидной дистрофией Dutch-типа (HCHWA-D). В настоящее время для точного диагноза необходимо, как правило, обнаружение вышеуказанных поражений в ткани головного мозга умершего больного пациента или, реже, в небольшом образце ткани головного мозга, взятого на биопсию посредством нейрохирургической операции.

Некоторые линии ясно показывают, что прогрессирующее церебральное отложение отдельных амилоидогенных протеинов, β -амилоидных протеинов, (β AP), играет роль зародыша в патогенезе БА и может предшествовать симптомам расстройства познавательной способности за годы и десятилетия (см. Selkoe, Neuron, 1991, 6:487). Недавно было показано, что β AP выделяется из нейронных клеток, выращенных в культуре, и присутствует в спинномозговой жидкости (CSF) как здоровых пациентов, так и больных БА (см. Seubert et al. Nature, 1992, 359:325-327).

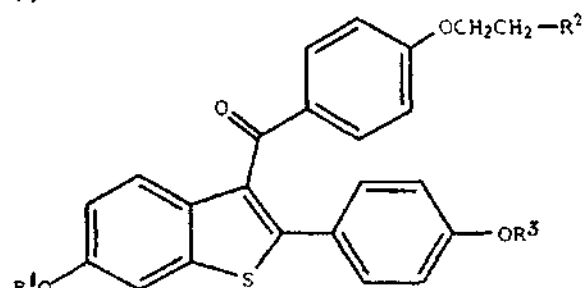
Возможная корреляция бляшечной патологии разрабатывалась несколькими группами, показывающими прямую β AP-нейротоксичность в отношении выращенных нейронов. Прямая нейротоксичность β AP, как сообщалось ранее, ослабляется со-обработкой с TGF- β (Chao et al. Soc. Neurosci. Abs., 1993, 19:1251).

Позднее помимо прямой нейротоксичности к патологии БА была отнесена воспалительная реакция в головном мозге

больных БА, возможно обусловленная β AP. Ограниченное клиническое испытание с NSAID-индометацином продемонстрировало замедление прогрессирования слабоумия Альцгеймера (Rogers et al. Science, 1993, 260:1719-1720).

Несмотря на прогресс в изучении и объяснении механизма БА, сохраняется необходимость в разработке композиций и способов лечения этого заболевания. Способ лечения БА могли бы успешно основываться на лекарствах, которые способны увеличивать выработку в головном мозге TGF- β , снижая таким образом нейротоксичность, проводимую β -амилоидными пептидами, и уменьшая интенсивность воспалительной реакции, связанной с БА.

Данное изобретение предлагает способы ингибирования болезни Альцгеймера, которые включают введение человеку при необходимости такого лечения эффективного количества соединения формулы (I)



где R¹ и R³, независимо друг от друга,

- водород, -CH₃, -C(=O)-(C₁-C₆ алкил) или -C(=O)-Ar, где Ar - необязательно замещенный фенил;

R² выбирается из группы, состоящей

из пирролидино, гексаметиленимино и пиперидино,

и его фармацевтически приемлемой соли и сольвата.

Данное изобретение предлагает способ увеличения выделения TGF- β в головном мозге, включающий введение человеку при необходимости лечения эффективного количества соединения формулы (I).

Данное изобретение предлагает также способ ингибирования нейротоксичности, проводимой β -амилоидными пептидами, и воспалительной реакции, связанной с болезнью Альцгеймера (БА), включающий введение человеку при необходимости лечения эффективного количества соединения формулы (I)

Данное изобретение связано с открытием того факта, что выбранная группа бензотиофенов формулы (I), является полезной для ингибирования последствий болезни Альцгеймера, и в особенности того, что соединения, как полагают, ингибируют воспалительную реакцию, связанную с этой болезнью, посредством увеличения выделения TGF- β в головной мозг. Изобретение включает способы практического применения посредством введения человеку при необходимости лечения дозы соединения формулы (I) или фармацевтически приемлемой соли или сольвата, эффективной для ингибирования болезни Альцгеймера. Способы охватывают как терапевтическое, так и профилактическое применение.

Термин "ингибирование" используется в его общепринятом значении, которое включает запрещение, предупреждение, сдерживание, ослабление, остановку, реверсию прогрессирования, ослабления тяжести или симптома заболевания или его последствия.

Термин "эффективное количество" означает количество соединения, необходимое для ингибирования болезни Альцгеймера или любого ее симптома, ингибирование нейротоксичности, проводимой β -амилоидными пептидами или воспалительной реакции, связанной с болезнью Альцгеймера, или увеличения выделения TGF- β в головном мозге.

Как правило, соединение включается в композицию с обычными носителями, наполнителями, разбавителями, и спрессовывается в таблетки или изготавливается в форме эликсиров или растворов для удобного перорального введения, либо для введения внутримышечно или внутривенно. Соединения могут быть введены трансдермально и могут быть изготовлены в форме с контролируемым выделением действующего вещества и т.п.

Соединения, использованные в способах данного изобретения, могут быть получены согласно известным методикам или методами, схожими с ними, такими, как подробно описанные в Патентах США № 4133814, 4418068 и 4380635, которые включены в список литературных ссылок данного изобретения. Получение, как правило, начинается с исходного бензо(в)тиофена, имеющего в положении 6 гидроксильную группу, а в положении 2 - 4-гидроксифенил. В исходное вещество вводят защитную группу, ацилируют, после чего защитную группу удаляют с получением соединений формулы (I). Примеры

Крахмал, NF 150
 Крахмал в виде текучего порошка 397
 Жидкий силикон 3,0 5
 350 сСт
 Конкретные композиции, представленные выше, могут быть изменены в соответствии с необходимостью.

Композицию в форме таблеток получают с использованием ингредиентов, представленных ниже.

Композиция 6. Таблетки, содержащие, мг/таблетка:

Активный ингредиент 0,1-1000
 Микрокристаллическая целлюлоза 0-650
 Двуокись кремния 0-650
 Стеарат кислоты 0-15

Компоненты смешивают и спрессовывают в формы таблеток.

Таблетки, содержащие каждая 0,1-1000 мг активного ингредиента, изготавливают другим способом.

Композиция 7. Таблетки, содержащие, мг/таблетка:

Активный ингредиент 0,1-1000
 Крахмал 45
 Микрокристаллическая целлюлоза 35
 Поливинилпирролидон (в виде 10%-ного раствора в соде) 4
 Натриевая карбоксиметилцеллюлоза 4,5
 Стеарат магния 0,5
 Тальк 1

Активный ингредиент, крахмал и целлюлозу пропускают через сито размера 45 меш (США) и тщательно смешивают. Раствор поливинилпирролидона смешивают с полученным порошком, после чего образованную смесь пропускают через сито размера 14 меш (США). Полученные таким образом гранулы сушат при температуре 50-60°C и пропускают через сито размера 18 меш (США). Карбоксиметилцеллюлозу натрия, стеарат магния и тальк, предварительно просеянные через сито размером 60 меш (США), добавляют к гранулам, которые после смешения спрессовывают с получением таблеток.

Суспензии, содержащие 0,1-1000 мг лекарственного средства в 5 мл, изготавливают следующим образом.

Композиция 8. Суспензии, содержащие, мг/5 мл:

Активный ингредиент 0,1-1000 мг
 Натриевая карбоксиметилцеллюлоза 50 мг

Сироп 1,25 мг
 Раствор бензойной кислоты 0,10 мл
 Вкусовое вещество Г.о.
 Краситель Г.о.
 Очищенная вода До 5 мл

Лекарственное средство пропускают через сито размера 45 меш (США) и смешивают с натриевой карбоксиметилцеллюлозой и сиропом с образованием густой пасты. Раствор бензойной кислоты, вкусового вещества и красителя разводят в некотором количестве воды и добавляют при перемешивании. После этого добавляют необходимое количество воды до получения требуемого объема.

Испытания.

Для испытаний 1 и 2 предлагается следующий план эксперимента.

Амилины (amylins) могут быть куплены в Bachem, Inc. (Torrance, California), Peninsula Laboratories, Inc. 3Belmont, California или могут быть синтезированы как описано ниже. Амилоид- β (1-40) и противоположный β -амилоидный пептид (40-1) могут быть куплены в Bachem, Inc. β_2 -микроглобулин может быть получен из Sigma Chemicals (St. Louis, Missouri).

Маточные растворы пептидов (1 μ M) вновь приготавливают в стерильной очищенной от пирогена воде и разбавляют до указанных концентраций в определенных культуральных средах. Культуры гипокампа крысы (10-14 дней in vitro) обрабатывают пептидами или растворителем в течение 4 дней. Жизнеспособность кортикальных культур крысы визуальное оценивают фазово-контрастной микроскопией и количественно оценивают измерением количества лактатдегидрогеназы (LDH), выделенной в культивируемую среду.

Испытание 1. Первичные нейроны гипокампа крысы культивируют in vitro стандартными методами выращивания клеток. Амилоид-бета (A β)-пептид добавляют к культивируемым клеткам при нормальной токсичной концентрации 25-50 μ M. Спустя 4 дня после обработки жизнеспособность культуры оценивают измерением количества лактатдегидрогеназы, выделенной в культивируемую среду. Лактатдегидрогеназу (LDH) измеряют в 20 μ л аликвотах, выдержанных в DMEM, используя стандартную 340 пн кинетическую оценку (Sigma Catalog Number 228-20) в 96-ячеечном формате. Опыты осуществляют при 37°C в PC-управляемом считывающем устройстве марки Microplate Bickinetics plate reader (Bio-Tek Instruments/ с использова-

нием Delta Soft II software (v. 3.30, Biomet. Inc.) для анализа данных. Качество контрольных стандартов, содержащих нормальный и повышенный уровни сыворотки LDH (например, Sigma Enzyme Controls 2N S 2E) просматривают с каждым испытанием. Результаты представлены в виде единицы (LDH) на литр, где 1 единица определяется как количество энзима, которое будет катализировать образование 1 мкмоль никотинамидадениндинуклеотида в 1 мин в условиях испытания. Для защиты исследования соединение формулы (I) добавляют в культуру до и/или одновременно с ампицидом-β.

Активность соединений формулы (I) демонстрируется уменьшением выделения LDH в среду (индикатор нейротоксичности) по сравнению с контролем.

Испытание 2. От пяти до пятидесяти крыс подвергают окклюзии четырех сосудов на 15 мин для индуцирования общей ишемии. Соединение данного изобретения вводят экспериментальным и контрольным животным до, в процессе окклюзии и/или в течение нескольких часов после 15-минутной окклюзии. Спустя 3 дня животных обезглавливают после ишемического инсульта и нейронного поражения в гиппокампусе и неостриатуме и исследуют визуально стандартными гистологическими методами.

Активность соединений формулы (I) демонстрируется уменьшением нейронного поражения.

Испытание 3. От 5 до 50 женщин выбирают для клинического исследования

Женщины являются постклимактерическими, то есть с прекращением менструации за 6–12 месяцев до начала исследования, с диагнозом легкой стадии болезни Альцгеймера (БА) и, как ожидается, с ухудшающимися симптомами БА в период исследования, но здоровые во всех других отношениях. Исследование проводят с плацебо-контрольной группой, то есть женщин делят на две группы, одна из которых принимает активный агент данного изобретения, а другая принимает плацебо. У пациентов отмечают исходные симптомы, характерные для БА, то есть ухудшение памяти, познавательной способности, мыслительной способности и т.д. Женщины опытной группы получают от 50 до 200 мг активного агента в день перорально. Продолжительность курса терапевтического лечения составляет 6–36 месяцев. Точное регистрирование исходных симптомов сохраняется в продолжении изучения в обеих группах, а в конце изучения эти результаты сравниваются. Сравнение результатов проводят между членами каждой группы и для каждого пациента относительно уровня симптом до начала изучения. Активность исследуемого лекарства иллюстрируется замедлением типичного ослабления познавательной способности и/или нарушений в поведении, связанных с БА

Полезность соединений формулы (I) доказывается активностью по меньшей мере в одном из описанных выше испытаний.

Упорядник

Техред М. Келемеш

Коректор М.Самборська

Замовлення 529

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл. 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент" м. Ужгород вул. Гагаріна. 101

8

1000000

1000000

1000000

1000000

1000000

1000000

1000000

1000000



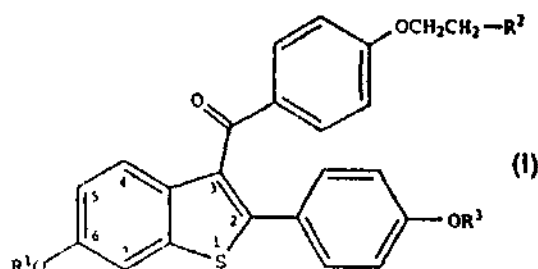
УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВО(19) UA (11) 26772 (13) C1
(51) A 61 K 31/38, A 61 K 31/445ОПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІД(54) ЗАСІБ ДЛЯ ЗБІЛЬШЕННЯ ВИДІЛЕННЯ TGF- β В ГОЛОВНИЙ МОЗОК ТА ДЛЯ ІНГІБУВАННЯ НЕЙРОТОКСИЧНОСТІ, ЯКА ПРОВОДИТЬСЯ β -АМІЛОЇДНИМИ ПЕПТИДАМИ

1

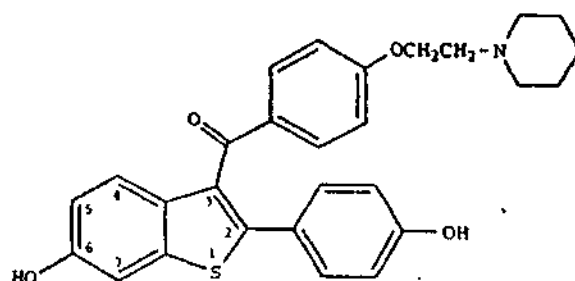
2

- (21) 94129203
 (22) 19.12.94
 (24) 12.11.99
 (31) 08/171.387
 (32) 21.12.93
 (33) US
 (46) 12.11.99. Бюл. № 7
 (56) 1. Патент США № 4133814, 1979.
 2. Патент США № 4380635, 1983.
 3. Патент США № 4418068, 1983.
 4. Патент США № 5075321, 1991.
 5. Заявка ФРГ № 4320896, 1993.
 6. Международная заявка № 93/10113, 1993.
 7. Международная заявка № 93/1074, 1993.
 8. Bryant et al. Raloxifene is a tissue Specific estrogen agonist // Am. Soc. Bone & Min. Res., Tampa, Sep. 18-22, 1993.
 9. Frolick et al. In vivo and in vitro metabolism of raloxifene // Am. Soc. Bone & Min. Res., Tampa, 18-22, 1993.
 (72) Мей Патрік Корніліус (US)
 (73) ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ (US)
 (57) 1. Применение соединения формулы

где R¹ и R³ независимо друг от друга представляют собой водород, -CH₃,

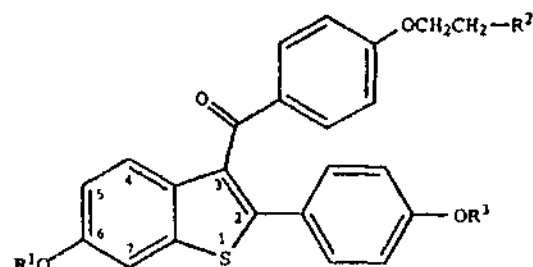
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ алкил}) \text{ или } -\text{C}-\text{Ar}, \text{ где Ar} - \\ \text{факультативно замещенный фенил;} \\ \text{R}^2 \text{ выбирается из группы, состоящей} \\ \text{из пирролидино и пиперидино;} \\ \text{или его фармацевтически приемлемой со-} \\ \text{ли или сольвата, для увеличения выделе-} \\ \text{ния в головной мозг TGF-}\beta. \end{array}$

2. Применение по п. 1, где указанным соединением является



или его гидрохлорид.

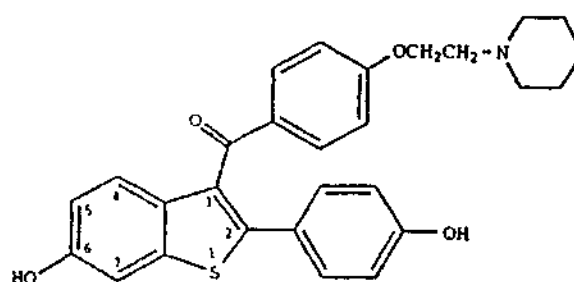
3. Применение соединения формулы

где R¹ и R³ независимо друг от друга представляют собой водород, -CH₃,(19) UA (11) 26772 (13) C1

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C} \end{array}$ (C_1-C_6 алкил) или $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{Ar} \end{array}$, где Ar - факультативно замещенный фенил;

R^2 выбирается из группы, состоящей из пирролидино и пиперидино; или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, для ингибирования нейротоксичности, проводимой β -амилоидными пептидами.

4. Применение по п. 3, где указанным соединением является



или его гидрохлорид.

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой дегенеративное расстройство функции головного мозга, клинически характеризующееся прогрессирующей потерей памяти, познавательной способности, рассудка здравомыслия, эмоциональной уравновешенности, что постепенно приводит к полному умственному истощению и, в конечном итоге, к смерти. БА является распространенной причиной прогрессирующего умственного расстройства (слабоумия) пожилых людей и, как полагают, находится на четвертом месте среди наиболее часто встречающихся медицинских причин смерти в США. БА распространена в разных расовых и этнических группах всего мира и представляет собой серьезную проблему общественного здоровья настоящего времени и будущего. Только в США по подсчетам на сегодняшний день подвержено этому заболеванию приблизительно от двух до трех миллионов человек. Доказано, что в настоящее время БА неизлечима.

Заболевание головного мозга БА проявляется в нейронной деградации и характерных повреждениях, которые определяют как амилоидогенные бляшки, васкулярную амилоидную болезнь кровеносных или/и лимфатических сосудов и связывание тонких нервных волокон в цитоплазме нейрона и его отростках. Большое количество этих поражений, особенно амилоидогенные бляшки и связывание нервных волокон в цитоплазме нейрона, у больных БА, как правило, обнаруживают в некоторых областях головного мозга, которые важны для функции памяти и мышления. Меньшее количество этих поражений и в более ограниченном анатомическом распространении находят в головном

мозге пожилых людей, которые не страдают клинической формой БА. Амилоидогенные бляшки и васкулярная болезнь кровеносных и лимфатических сосудов также характерны для головного мозга пациентов с заболеванием Trisomy 21 (синдром Дауна) и наследственным внутримозговым кровоизлиянием с амилоидной дистрофией Dutch-типа (HCHWA-D). В настоящее время для точного диагноза необходимо, как правило, обнаружение вышеуказанных поражений в ткани головного мозга умершего больного пациента или, реже, в небольшом образце ткани головного мозга, взятого на биопсию посредством нейрохирургической операции.

Некоторые линии ясно показывают, что прогрессирующее церебральное отложение отдельных амилоидогенных протеинов, β -амилоидных протеинов, (β AP), играет роль зародыша в патогенезе БА и может предшествовать симптомам расстройства познавательной способности за годы и десятилетия (см. Selkoe, Neuron, 1991, 6:487). Недавно было показано, что β AP выделяется из нейронных клеток, выращенных в культуре, и присутствует в спинномозговой жидкости (CSF) как здоровых пациентов, так и больных БА (см. Seubert et al. Nature, 1992, 359:325-327).

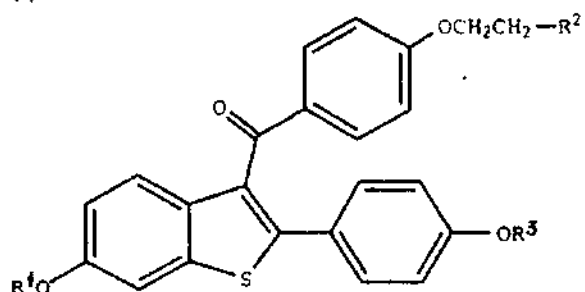
Возможная корреляция бляшечной патологии разрабатывалась несколькими группами, показывающими прямую β AP-нейротоксичность в отношении выращенных нейронов. Прямая нейротоксичность β AP, как сообщалось ранее, ослабляется со-обработкой с TGF- β (Chao et al. Soc. Neurosci. Abs., 1993, 19:1251).

Позднее помимо прямой нейротоксичности к патологии БА была отнесена воспалительная реакция в головном мозге

больных БА, возможно обусловленная β AP. Ограниченное клиническое испытание с NSAID-индометацином продемонстрировало замедление прогрессирования слабоумия Альцгеймера (Rogers et al. Science, 1993, 260:1719-1720).

Несмотря на прогресс в изучении и объяснении механизма БА, сохраняется необходимость в разработке композиций и способов лечения этого заболевания. Способ лечения БА могли бы успешно основываться на лекарствах, которые способны увеличивать выработку в головном мозге TGF- β , снижая таким образом нейротоксичность, проводимую β -амилоидными пептидами, и уменьшая интенсивность воспалительной реакции, связанной с БА.

Данное изобретение предлагает способы ингибирования болезни Альцгеймера, которые включают введение человеку при необходимости такого лечения эффективного количества соединения формулы (I)



где R¹ и R³, независимо друг от друга,

— водород, —CH₃, —C(=O)—(C₁—C₆ алкил) или —C(=O)—Ar, где Ar — необязательно замещенный фенил;

и R² выбирается из группы, состоящей из пирролидино, гексаметиленимино и пиперидино,

и его фармацевтически приемлемой соли и сольвата.

Данное изобретение предлагает способ увеличения выделения TGF- β в головном мозге, включающий введение человеку при необходимости лечения эффективного количества соединения формулы (I).

Данное изобретение предлагает также способ ингибирования нейротоксичности, проводимой β -амилоидными пептидами, и воспалительной реакции, связанной с болезнью Альцгеймера (БА), включающий введение человеку при необходимости лечения эффективного количества соединения формулы (I)

Данное изобретение связано с открытием того факта что выбранная группа бензотиофенов формулы (I), является полезной для ингибирования последствий болезни Альцгеймера, и в особенности того, что соединения, как полагают, ингибируют воспалительную реакцию, связанную с этой болезнью, посредством увеличения выделения TGF- β в головной мозг. Изобретение включает способы практического применения посредством введения человеку при необходимости лечения дозы соединения формулы (I) или фармацевтической приемлемой соли или сольвата, эффективной для ингибирования болезни Альцгеймера. Способы охватывают как терапевтическое, так и профилактическое применение.

Термин "ингибирование" используется в его общепринятом значении, которое включает запрещение, предупреждение, сдерживание, ослабление, остановку, реверсию прогрессирования, ослабления тяжести или симптома заболевания или его последствия.

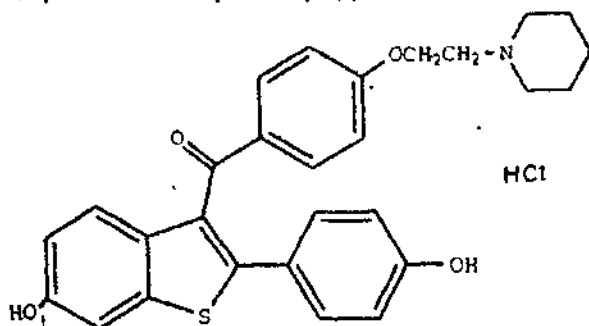
Термин "эффективное количество" означает количество соединения, необходимое для ингибирования болезни Альцгеймера или любого ее симптома, ингибирования нейротоксичности, проводимой β -амилоидными пептидами или воспалительной реакции, связанной с болезнью Альцгеймера, или увеличения выделения TGF- β в головном мозге.

Как правило, соединение включается в композицию с обычными носителями, наполнителями, разбавителями, и спрессовывается в таблетки или изготавливается в форме эликсиров или растворов для удобного перорального введения, либо для введения внутримышечно или внутривенно. Соединения могут быть введены трансдермально и могут быть изготовлены в форме с контролируемым выделением действующего вещества и т.п.

Соединения, использованные в способах данного изобретения, могут быть получены согласно известным методикам или методами, схожими с ними, такими, как подробно описанные в Патентах США № 4133814, 4418068 и 4380635, которые включены в список литературных ссылок данного изобретения. Получение, как правило, начинается с исходного бензо(в)тиофена, имеющего в положении 6 гидроксильную группу, а в положении 2 - 4-гидроксибензил. В исходное вещество вводят защитную группу, ацилируют, после чего защитную группу удаляют с получением соединений формулы (I). Примеры

получения таких соединений приведены в патентах США, указанных выше, и в примерах данного изобретения. Необязательно замещенный фенил включает фенил и фенил, содержащий в качестве заместителя одну или две группы C_1 - C_2 -алкил, C_1 - C_4 -алкокси, гидроксигруппы, нитро, хлор, фтор или три хлора или фторметил.

Одним из соединений данного изобретения является ралоксифен (raloxifene), строение которого представлено ниже:



Соединения, применяемые в способах данного изобретения образуют фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные и основно-аддитивные соли с широким спектром органических и неорганических кислот и оснований, которые включают физиологически приемлемые соли, часто используемые в фармакологии. Такие соли также являются частью данного изобретения. Обычные неорганические кислоты, используемые для таких солей, включают соляную, бромоводородную, йодоводородную, азотную, серную, фосфорную, гипохлоритную и т.п. Соли, полученные из органических кислот, таких как алифатические моно- и дикарбоновые кислоты, фенилзамещенные алкановые кислоты, гидроксикарбоновые кислоты и гидроксиалкандионовые кислоты, ароматические кислоты, алифатические и ароматические сульфокислоты, также могут использоваться. Эти фармацевтически приемлемые соли включают ацетат, фенилацетат, трифторацетат, акрилат, аскорбат, бензоат, хлорбензоат, динитробензоат, гидроксibenzoат, метоксибензоат, метилбензоат, о-ацетоксибензоат, нафталин-2-бензоат, бромид, изобутират фенилбутират, β -гидроксibuтират, бутин-1,4-диоат, гексин-1,4-диоат, каприлат, каприлат, хлорид, циннамат, цитрат, формиат, фумарат, гликолят, гептаноат, гиппурат, лактат, малат, малеат, гидроксималеат, малонат, манделат, мезилат, никотинат, изоникотинат, нитрат, оксалат, фталат, терафталат, фосфат, моногидрофосфат, дигидрофосфат, метафосфат, пирофосфат, пропионат (propionate), пропионат, фенилпропио-

нат, салицилат, себаат, сукцинат, суберат, сульфат, бисульфат, пиросульфат, сульфит, бисульфит, сульфат, бензолсульфонат, п-бромфенилсульфонат, хлорбензолсульфонат, этансульфонат, 2-гидроксиэтансульфонат, метансульфонат, нафталин-1-сульфонат, нафталин-2-сульфонат, п-толуолсульфонат, ксилосулфонат, тартрат и т.п. Предпочтительной солью является гидрохлорид.

Фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли обычно получают реакцией соединения формулы (I) с эквивалентным количеством или избытком кислоты. Реагенты соединяют в растворителе, взаимно приемлемом для обоих реагентов, таком как диэтиловый эфир или бензол. Соль обычно выпадает в осадок из раствора в пределах временного интервала от 1 до 10 ч и может быть выделена фильтрованием, или растворитель отгоняют общепринятыми способами.

Основания, используемые обычно для получения основно-аддитивных солей, включают гидроокись аммония и гидроокиси щелочных и щелочноземельных металлов, карбонаты, а также алифатические первичные, вторичные и третичные амины, алифатические диамины. Основания, особенно полезные для получения аддитивных солей, включают гидроокись аммония, карбонат калия, метиламин, диэтиламин, этилендиамин и циклогексиламин.

Фармацевтически приемлемые соли обычно обладают лучшими характеристиками растворимости по сравнению с соединениями, из которых они получены, и поэтому часто более удобны для приготовления композиций в виде растворов или эмульсий.

Фармацевтические композиции могут быть изготовлены хорошо известными способами. Например, соединения могут быть введены в композиции с общепринятыми наполнителями, разбавителями или носителями, и изготовлены в форме таблеток, капсул, суспензий, порошков и т.п. Примерами наполнителей, разбавителей и носителей, пригодных для применения в таких композициях, является: наполнители или разбавители, такие как крахмал, сахара, маннитол и кремниевые производные; связующие агенты, такие как карбоксиметилцеллюлоза и другие производные целлюлозы, альгинаты, желатин и поливинилпирролидон; увлажнители, такие как глицерин; диспергаторы, такие как карбонат кальция и бикарбонат натрия; агенты замедления растворения, такие как парафин; ускорители ресорбции, такие как

четвертичные аммониевые производные; поверхностно-активные агенты, такие как цетиловый спирт, моностеарат глицерина; адсорбционные носители, такие как каолин и бентонит; смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат кальция и стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли.

Соединения могут быть изготовлены в виде эликсиров или растворов для удобного перорального введения или в виде растворов для парентерального введения, например, внутримышечно, подкожно, или внутривенно. Кроме того, соединения пригодны для изготовления форм с контролируемым выделением действующего вещества и т.п. То есть композиции могут быть составлены таким образом, что они выделяют активный ингредиент только или предпочтительно отдельными частями, возможно, через какой-то период времени. Покрытия, обертки и защитные матрицы могут изготавливаться, например, из полимерных веществ или восков.

Соединения формулы (I) могут вводиться для профилактики и/или для терапевтического лечения болезни Альцгеймера. При терапевтическом применении соединения вводятся пациенту, уже страдающему этим заболеванием.

Конкретная доза соединения формулы (I) согласно данному изобретению будет зависеть от тяжести заболевания, способа введения и других факторов, которые будут учитываться лечащим врачом. В общем случае, приемлемые и эффективные ежедневные дозы будут составлять от приблизительно 0,1 до приблизительно 1000 мг/день, более типично от приблизительно 50 до приблизительно 200 мг/день. Такие дозы будут вводиться пациенту при необходимости лечения от одного до приблизительно трех раз в день или более часто для обеспечения эффективного лечения.

Часто будет необходимо или обязательно вводить фармацевтические композиции прямо или опосредованно в головной мозг. Прямые методы обычно включают введение катетера с лекарством в вентрикулярную систему пациента для обхода гематоэнцефалического барьера. Непрямые методы, которые являются предпочтительными, включают изготовление композиций для обеспечения латентирования лекарства путем конверсии гидрофильных лекарств в липид-растворимые лекарства. Латентация достигается через блокирование гидроксильных, карбоксильных и первичных аминных групп, имеющихся в лекарстве, для повышения

липидной растворимости лекарства и его способности преодолевать гематоэнцефалический барьер. Согласно другому способу, доставка гидрофильных лекарств может быть повышена внутриартериальным вливанием гипертонических растворов, которые могут временно снимать гематоэнцефалический барьер.

Обычно предпочтительными для применения являются соединения формулы (I) в форме кислотно-аддитивной соли, которая наиболее распространена для лекарственных средств, имеющих основную группу, такую как пиперидиновый цикл. Для этих целей приемлемыми являются следующие формы.

В приведенных ниже композициях термин "Активный ингредиент" означает соединение формулы (I).

Композиция 1. Желатиновые капсулы. Твердые желатиновые капсулы получают с использованием следующих компонентов, мг/капсула:

25	Активный ингредиент	0,1-1000
	Крахмал, NF	0-650
	Крахмал в виде текущего порошка	0-650
	Жидкий силикон 350 сСт	0-15

30 Ингредиенты смешивают, пропускают через сито размером 45 меш (США) и наполняют ими желатиновые капсулы.

Примеры конкретных композиций в форме капсул, которые содержат соединение формулы (I), где R² - пиперидино (ралоксифен), представлены ниже.

Композиция 2. Капсула ралоксифена, содержащая, мг/капсула:

40	Ралоксифен	1
	Крахмал, NF	112
	Крахмал в виде текущего порошка	225,3
	Жидкий силикон 350 сСт	1,7

Композиция 3. Капсула ралоксифена, содержащая, мг/капсула:

45	Ралоксифен	5
	Крахмал, NF	108
	Крахмал в виде текущего порошка	225,3
	Жидкий силикон 350 сСт	1,7

Композиция 4. Капсула ралоксифена, содержащая, мг/капсула:

50	Ралоксифен	10
	Крахмал, NF	103
	Крахмал в виде текущего порошка	225,3
	Жидкий силикон 350 сСт	1,7

Композиция 5. Капсула ралоксифена, содержащая, мг/капсула:

55	Ралоксифен	50
----	------------	----

Крахмал, NF 150
 Крахмал в виде текучего порошка 397
 Жидкий силикон 3,0
 350 сСт 5
 Конкретные композиции, представленные выше, могут быть изменены в соответствии с необходимостью.

Композицию в форме таблеток получают с использованием ингредиентов, представленных ниже. 10

Композиция 6. Таблетки, содержащие, мг/таблетка:

Активный ингредиент 0,1-1000
 Микрокристаллическая целлюлоза 0-650
 Двуокись кремния 0-650
 Стеарат кислоты 0-15

Компоненты смешивают и спрессовывают в формы таблеток. 20

Таблетки, содержащие каждая 0,1-1000 мг активного ингредиента, изготавливают другим способом.

Композиция 7. Таблетки, содержащие, мг/таблетка: 25

Активный ингредиент 0,1-1000
 Крахмал 45
 Микрокристаллическая целлюлоза 35
 Поливинилпирролидон (в виде 10%-ного раствора в соде) 4
 Натриевая карбоксиметилцеллюлоза 4,5
 Стеарат магния 0,5
 Тальк 1

Активный ингредиент, крахмал и целлюлозу пропускают через сито размера 45 меш (США) и тщательно смешивают. Раствор поливинилпирролидона смешивают с полученным порошком, после чего образованную смесь пропускают через сито размера 14 меш (США). Полученные таким образом гранулы сушат при температуре 50-60°C и пропускают через сито размера 18 меш (США). Карбоксиметилцеллюлозу натрия, стеарат магния и тальк, предварительно просеянные через сито размером 60 меш (США), добавляют к гранулам, которые после смешения спрессовывают с получением таблеток. 40

Суспензии, содержащие 0,1-1000 мг лекарственного средства в 5 мл, изготавливают следующим образом.

Композиция 8. Суспензии, содержащие, мг/5 мл:

Активный ингредиент 0,1-1000 мг
 Натриевая карбоксиметилцеллюлоза 50 мг

Сироп 1,25 мг
 Раствор бензойной кислоты 0,10 мл
 Вкусовое вещество Г.о.
 Краситель Г.о.
 Очищенная вода До 5 мл

Лекарственное средство пропускают через сито размера 45 меш (США) и смешивают с натриевой карбоксиметилцеллюлозой и сиропом с образованием густой пасты. Раствор бензойной кислоты, вкусового вещества и красителя разводят в некотором количестве воды и добавляют при перемешивании. После этого добавляют необходимое количество воды до получения требуемого объема.

Испытания.

Для испытаний 1 и 2 предлагается следующий план эксперимента.

Амилины (amylins) могут быть куплены в Bachem, Inc. (Torrance, California), Peninsula Laboratories, Inc. 3Belmont, California или могут быть синтезированы как описано ниже. Амилоид-β(1-40) и противоположный β-амилоидный пептид (40-1) могут быть куплены в Bachem, Inc. β₂-микроглобулин может быть получен из Sigma Chemicals (St. Louis, Missouri).

Маточные растворы пептидов (1μM) вновь приготавливают в стерильной очищенной от пирогена воде и разбавляют до указанных концентраций в определенных культуральных средах. Культуры гиппокампа крысы (10-14 дней in vitro) обрабатывают пептидами или растворителем в течение 4 дней. Жизнеспособность кортикальных культур крысы визуальнo оценивают фазово-контрастной микроскопией и количественно оценивают измерением количества лактатдегидрогеназы (LDH), выделенной в культивируемую среду. 30

Испытание 1. Первичные нейроны гиппокампа крысы культивируют in vitro стандартными методами выращивания клеток. Амилоид-бета (Aβ)-пептид добавляют к культивируемым клеткам при нормальной токсичной концентрации 25-50 μM. Спустя 4 дня после обработки жизнеспособность культуры оценивают измерением количества лактатдегидрогеназы, выделенной в культивируемую среду. Лактатдегидрогеназу (LDH) измеряют в 20 μл аликвотах, выдержанных в DMEM, используя стандартную 340 нн кинетическую оценку (Sigma Catalog Number 228-20) в 96-ячеечном формате. Опыты осуществляют при 37°C в PC-управляемом считывающем устройстве марки Microplate Bickinetics plate reader (Bio-Tek Instruments/ с использова-

нием Delta Soft II software (v. 3.30, Biomet. Inc.) для анализа данных. Качество контрольных стандартов, содержащих нормальный и повышенный уровни сыворотки LDH (например, Sigma Enzyme Controls 2N S 2E) просматривают с каждым испытанием. Результаты представлены в виде единицы (LDH) на литр, где 1 единица определяется как количество энзима, которое будет катализировать образование 1 мкмоль никотинамидадениндинуклеотида в 1 мин в условиях испытания. Для защиты исследования соединение формулы (I) добавляют в культуры до и/или одновременно с амилиодом-В.

Активность соединений формулы (I) демонстрируется уменьшением выделения LDH в среду (индикатор нейротоксичности) по сравнению с контролем.

Испытание 2. От пяти до пятидесяти крыс подвергают окклюзии четырех сосудов на 15 мин для индуцирования общей ишемии. Соединение данного изобретения вводят экспериментальным и контрольным животным до, в процессе окклюзии и/или в течение нескольких часов после 15-минутной окклюзии. Спустя 3 дня животных обезглавливают после ишемического инсульта и нейронного поражения в гиппокампусе и неостриатуме и исследуют визуальными стандартными гистологическими методами.

Активность соединений формулы (I) демонстрируется уменьшением нейронного поражения.

Испытание 3. От 5 до 50 женщин выбирают для клинического исследования

Женщины являются постклимактерическими, то есть с прекращением менструации за 6–12 месяцев до начала исследования, с диагнозом легкой стадии болезни Альцгеймера (БА) и, как ожидается, с ухудшающимися симптомами БА в период исследования, но здоровые во всех других отношениях. Исследование проводят с плацебо-контрольной группой, то есть женщин делят на две группы, одна из которых принимает активный агент данного изобретения, а другая принимает плацебо. У пациентов отмечают исходные симптомы, характерные для БА, то есть ухудшение памяти, познавательной способности, мыслительной способности и т.д. Женщины опытной группы получают от 50 до 200 мг активного агента в день перорально. Продолжительность курса терапевтического лечения составляет 6–36 месяцев. Точное регистрирование исходных симптомов сохраняется в продолжении изучения в обеих группах, а в конце изучения эти результаты сравниваются. Сравнение результатов проводят между членами каждой группы и для каждого пациента относительно уровня симптома до начала изучения. Активность исследуемого лекарства иллюстрируется замедлением типичного ослабления познавательной способности и/или нарушений в поведении, связанных с БА

Полезность соединений формулы (I) доказывается активностью по меньшей мере в одном из описанных выше испытаний.

Упорядник

Техред М. Келемеш

Коректор М.Самборська

Замовлення 529

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл. 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент" м. Ужгород вул. Гагаріна. 101

