



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46112 (13) C2

(51) 6 A61K31/35,31/36

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

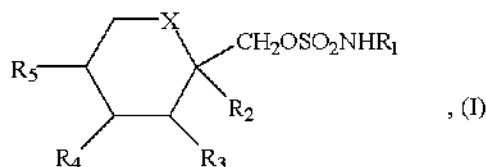
(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ БІЧНОГО АМІОТРОФІЧНОГО СКЛЕРОЗУ

1

2

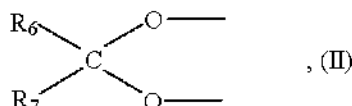
(21) 98126945
(22) 24 08 1997
(24) 15 05 2002
(86) PCT/US97/10955, 24 06 1997
(31) 60/022,006
(32) 28 08 1996
(33) US
(46) 15 05 2002, Бюл. № 5, 2002 р
(72) Шенк Річард П., US
(73) ОРТО-МАКНЕЙЛ ФАРМАСЬЮТИКЕЛ, ІНК., US
(56) US 4 513 006 A, 23 04 1985
US 4 792 569 A, 20 12 1988

(57) 1 Спосіб лікування бічного аміотрофічного склерозу, при якому свавцю, що страждає на це захворювання, призначають терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I)



де X - CH₂ або кисень, радикал R₁ - атом водню або алкіл, R₂, R₃, R₄ та R₅ - незалежно один від одного означають атом водню або низькомолеку-

лярний алкіл, якщо X означає CH₂, то R₄ та R₅ можуть бути алкеновими групами, які приймають участь у формуванні бензольного кільця, а якщо X означає кисень, то R₂ та R₃ і/або R₄ та R₅ разом можуть бути метилendioксидною групою, яка має формулу (II)



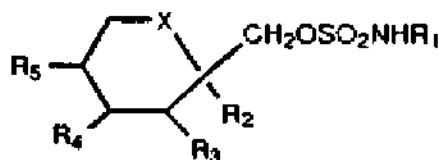
де радикали R₆ та R₇ - однакові або різні і означають або атом водню і низькомолекулярний алкіл, або обидва радикали означають алкільні групи, які залучені до формування цикlopентильного або циклогексильного кільця

2 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що сполукою формули (I) є топірамат

3 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що терапевтично ефективна кількість сполуки формули (I) складає від 100 до 800 мг

4 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що терапевтично ефективна кількість сполуки формули (I) складає від 25 до 200 мг

Рівень техніки
Сполуки з хімічною формулою (I)



є структурно новими антиепілептичними препаратами, що продемонстрували високу протисудомну ефективність у досліджах на тваринах (Maryanoff, B E, Nortey, S O, Gardocky, J F, Shank, R P, Dodgson, S P, J Med Chem 30, 880 - 887, 1987, Maryanoff, B C, Costanzo, M J, Shank, R P, Shupsky, J J, Ortegon, M E, and Vaught J L

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 3, 2653 - 2656, 1993, McComes, D F and Maryanoff, B E, J Org Chem 1995) Ці сполуки описані в патенті США №4,513,006 Одна з цих сполук - 2,3,4,5-біс-О-(1-метилетіпідин)-β-D-фруктопіранози сульфат, відома як топірамат - продемонструвала в клінічних дослідженнях хворих на епілепсію свою ефективність як при ад'ювантній, так і при монотерапії простих, складних парціальних і вторинних генералізованих судом (E FAUGHT, B J WILDER, R E RAMSEY, R A REIFE, L D KRAMER, G W PLEDGER, R M KARIM et al, Epilepsia 36 (S4) 33, 1995, S K SACHDEO, R C SACHDEO, R A REIFE, P LIM, G W PLEDGER, Epilepsia 36 (S4) 33, 1995), і зараз топірамат впроваджується на ринках Великобританії, Фінляндії, Сполучених Штатах, Швеції як засіб лікування й попередження простих і скла-

(13) C2

(11) 46112

(19) UA

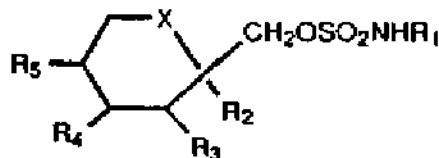
дних нападів епілепсії з розвитком (або без) вторинних генералізованих судом, а в багатьох країнах світу найближчим часом очікується дозвіл на застосування вказаних сполук з боку регулюючих органів

На початкових етапах досліджень виявили, що сполуки, які мають формулу I, здатні проявляти антисудомну активність в традиційному максимальному електрошоковому судомному (MEC) тесті на мишах (SHANK, R P, GARDOCKI, J F, VAUGHT, J L, DAVIS, C B, SCHUPSKY, J J, RAFFA, R B, DODGSON, S J, NORTEY, S O, and MARYANOFF, B E, *Epilepsia* 35 450 - 460, 1994). Наступні дослідження виявили, що сполуки, які мають формулу I, були також високо ефективними у MEC-тесті на щурах. Пізніше на декількох моделях епілепсії у гризунів довели здатність топірама-ту ефективно блокувати розвиток судом (J NAKAMURA, S TAMURA, T KANDA, A ISHII, K ISHIIHARA, T SERIKAWA, J YAMADA, and M SASA, *Eur J Pharmacol* 254 83 - 89, 1994) і на тваринних моделях "вибухової" епілепсії (A WAUQUIER and S ZHOU, *Epilepsy Res* 24, 73 - 77, 1996).

Подальші доклінічні дослідження виявили нові, до того невідомі фармакологічні властивості топірама-ту, що дало змогу припустити, що топірамат може бути ефективним при лікуванні деяких інших неврологічних захворювань, зокрема — бічного аміотрофічного склерозу (БАС).

Суть винаходу

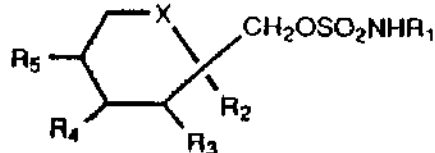
Відповідно до даного винаходу сполуки, які мають наступну хімічну формулу I



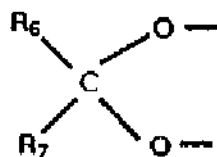
де X - атом кисню або CH_2 - група, а радикали R_1 , R_2 , R_3 , R_4 і R_5 визначені нижче, застосовуються для лікування бічного аміотрофічного склерозу (БАС).

Детальний опис винаходу

Згідно з даним винаходом сульфамати мають наступну хімічну формулу (I)



де $\text{X}-\text{CH}_2$ або кисень, радикал R_1 - атом водню або алкіл, R_2 , R_3 , R_4 , та R_5 - незалежно атоми водню або низькомолекулярні алкіли, якщо X - кисень, R_2 і R_3 та/або R_4 і R_5 разом можуть бути метилендіоксидною групою, що має наступну формулу (II)

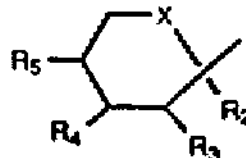


де радикали R_6 та R_7 - однакові або різні - представлені атомом водню або низькомолекулярним алкілом, або обидва радикали представлені алкільними групами, які залучені до формування циклопентильного або циклогексильного кільця. Радикал R_1 , зокрема, представлений атомом водню або алкілом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю - це може бути метил, етил або ізопропіл. Алкільна група, згідно з даною специфікацією, містить прямий або розгалужений ланцюг. Радикали R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 та R_7 представлені алкільними групами, що містять від 1 до 3 атомів вуглецю - це може бути метил, етил, ізопропіл або n-пропіл.

Зокрема, до групи сполук, що мають формулу I, належать такі, в хімічній будові яких X представлено атомом кисню, а радикали R_2 і R_3 та R_4 і R_5 представлені метилендіоксидними групами, що мають хімічну формулу (II), де радикали R_6 та R_7 або однакові і обидва представлені атомами водню або алкільними групами, або різні, представлені комбінацією атома водню і алкільної групи і ці радикали формують спіроциклопентилінове або спіроциклогексилінове кільце, зокрема якщо R_6 та R_7 обидва представлені алкільною групою, такою як метильна група. Другою групою сполук є такі сполуки, в хімічній будові яких X представлено CH_2 -групою, а R_4 і R_5 формують бензольне кільце. До третьої групи сполук, що мають формулу (I), належать такі, в хімічній будові яких обидва радикали R_2 і R_3 представлені атомами водню.

Сполуки, що мають формулу (I), можуть бути синтезовані наступними способами

а) Реакція між спиртом, що має хімічну формулу RCH_2OH , та хлорсульфаматом, який має формулу ClSO_2NH_2 або $\text{ClSO}_2\text{NHR}_1$, в присутності основи, такої як калію а-бутоксид або натрію підрид, при температурі від -20 до 25° з використанням таких розчинників, як толуол, тетрагидрофуран або диметилформамід, радикал R має наступну хімічну формулу (III)



б) Реакція між спиртом, що має хімічну формулу RCH_2OH , та сульфурилхлоридом, який має формулу SO_2Cl_2 , в присутності основи - такої, як триетіламін або піридин, при температурі від -40° до 25°C , з використанням таких розчинників, як диетилівий ефір або метилену хлорид, до утворення хлоросульфату, який має хімічну формулу $\text{RCH}_2\text{OSO}_2\text{Cl}$.

Потім хлоросульфат, який має хімічну формулу $\text{RCH}_2\text{OSO}_2\text{Cl}$, вступає в реакцію з аміном, який має хімічну формулу R_1NH_2 , при температурі від -40° до 25°C з використанням таких розчинників, як метилену хлорид або ацетонітрил, до утворення сполуки, що має формулу (I). Умови реакції (б) описані T Tsuchiya et al. In *Tet Letters*, 36, p 3365 to 3368 (1978).

в) Реакція між хлорсульфатом $\text{RCH}_2\text{OSO}_2\text{Cl}$ та азидом металу, таким як натрію азид, з використанням таких розчинників, як метилену хлорид або ацетонітрил, з утворенням азидосульфату,

який має формулу $RCH_2OSO_2N_3$ (реакція описана M Hedayatullah In Tet Lett p 2455 - 2458 (1975)). Потім азидосульфат може бути відновлений до сполуки, що має формулу (I) (де радикал R_1 представлений атомом водню) шляхом каталітичного підрування, наприклад, з використанням благородного металу та H_2 або шляхом нагрівання з металевкою міддю у розчиннику, такому як метанол.

Вихідні матеріали, що мають хімічну формулу RCH_2OH , можуть бути отримані комерційним шляхом або вироблені згідно з стандартними технологіями. Наприклад, вихідні матеріали, що мають хімічну формулу RCH_2OH , де R_2 , R_3 , R_4 і R_5 - однакові і мають хімічну формулу (II), отримують способом, який описано R F Brady in Carbohydrate Research, Vol, 14, p 35 to 40 (1940) або в результаті реакції між триметилсилиловим енольним ефіром кетону або альдеїду з хімічною формулою R_6COR_7 та фруктозою при температурі $25^\circ C$ в розчиннику, такому як галогенпохідні вуглеводнів - наприклад, метилену хлорид в присутності аренісульфатної кислоти (такої, як HCl) або львівської кислоти (такої, як хлорид цинку), реакція з триметилсилиловим енольним ефіром описана G L Larson et al in J Org Chem Vol 38, No 22, p 3935 (1973).

Далі, карбоксильні кислоти та альдеїди з хімічними формулами $RCOOH$ та $RCHO$ відповідно можуть бути відновлені до сполук, що мають формулу RCH_2OH , згідно з стандартними технологіями відновлення - таких, як реакція з літійю алюмогідридом, натрієм борогідридом або боран-тетрагідрофурановим комплексом в інертних розчинниках, таких як диетил, тетрагідрофуран або толуол, при температурі від 0° до $100^\circ C$ (ця реакція описана H O House in "Modern Synthetic Reactions", 2nd Ed, pages 45 to 144 (1972)).

Сполуки, що мають формулу I, також отримують способом, який описано в патенті США №4,513,006, що включений в даний опис у вигляді посилки.

Сполуки, що мають формулу I, містять в собі окремі ізомери та рацемати, зокрема, такі ізомери, що характеризуються альфа- та бета-розташуванням (тобто вище та нижче площини малюнку) радикалів R_2 , R_3 , R_4 і R_5 на 6-членному кільці. Бажано, щоб атоми кисню метилendioксильної групи II були розташовані на одному боці 6-членного кільця.

Дані про активність сполук, що мають формулу I, при лікуванні бічного аміотрофічного склерозу (БАС) походять від досліджень, які вказують, що топірамат впливає як антагоніст на АМФА/каінатові підтипи глутаматових рецепторів (The R W Johnson Pharmaceutical Research Institute, Internal Research Report, Document ID Accession No A500,960, J W GIBBS III, S SOMBATI, R J DELORENZO, and D A COULTER, Epilepsia 37, in press, 1996) і те, що БАС є хронічним нейродегенеративним захворюванням, при якому пошкоджується регуляція метаболізму глутамату (J D ROTHSTEIN, M VAN KAMMEN, A I LEVEY, L J MARTIN and R W KUNCI, Annals Neurology 38, 73 - 84). Глутамат розглядається як головний нейротрансмітер, що забезпечує процеси збудження в ЦНС. Ця функція забувається фізіологічним процесом, при якому молекули глутамату містяться у

везикулах в середині синаптичних закінчень нейронів. Під впливом потенціалу деполяризації синаптичної мембрани ці молекули вивільняються в синаптичну щілину, де вони активують специфічні рецептори на постсинаптичній мембрані відповідних нейронів. З часом молекули вилучаються з синаптичної щілини завдяки білковим "транспортерам", розташованим у мембрані синаптичного закінчення пресинаптичного нейрона, та оточуючим гліальним клітинам (астроцитам). При БАС активність цих транспортних протеїнів патологічно знижена, що може бути причиною підвищення концентрації глутамату в синаптичній щілині. Це може бути причиною надмірної активації глутаматових рецепторів, яка, при достатній інтенсивності процесів, може викликати загибель нейронів (J D ROTHSTEIN, In Pathogenesis and Therapy of Amyotrophic Lateral Sclerosis, Edited by G Serratric and Munsat, Advances in Neurology 68,7 - 20, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1995).

Дослідження показали, що топірамат перешкоджає стимулюючому впливу на нейрони з боку канату - речовини, яка подібна глутамату і здатна селективно активувати деякі субтипи глутаматових рецепторів (J W GIBBS III, S SOMBATI, R J DELORENZO, and D A COULTER, Epilepsia 37, in press, 1996, The R W Johnson Pharmaceutical Research Institute, Internal Research Report, Document ID Accession Numbers A500,960 and 398533 1). В цих дослідженнях первинні культури, збагачені нейронами, що були взяті з гіпокампу ембріонів щурів, культивувались *in vitro* від 14 до 21 діб в умовах, які сприяли розвитку численних синаптичних контактів і дозволяли досягти високої щільності клітин. Для вивчення електричних властивостей мембран нейронів використовували методику накладання електродів і формування пор в клітинній стінці. При цій методиці контакт між реєструючим електродом і внутрішньоклітинною рідиною досягався завдяки амфотеріцину В, який використовувався для формування пор в клітинній стінці. Здатність клітини утворювати трансмембранний потенціал або пропускати струм через клітинну мембрану чітко реєструвалась. Канат, топірамат та інші досліджувані сполуки наносили на поверхню нейронів за допомогою багатоканальної тейфонові концентраційної піпетки з фіксатором. Топірамат (який попередньо розчиняли в 1 молі $DMCO$, а потім додавали до середовища, в якому відбувалась інкубація нейронів) застосовували в концентраціях 0.01, 0.1, 1, 10 або 100 мілімоль, а канат застосовували в концентраціях 0.1 або 1 мілімоль.

На початковому етапі експериментів антагоністичний вплив топірамату на канат-залежні струми визначали як функцію мембранного потенціалу В експериментах, де канат-індуковані мембранні струми реєстрували як потенціали фіксованого напруження у діапазоні від $-60mV$ до $60mV$ з приростом у $20mV$, визначили, що сила антагоністичного впливу топірамату знижується по мірі деполяризації мембрани. Отже, найбільший вплив топірамату на мембранний потенціал спостерігали, коли його стан був близьким до стану спокою.

Тривалість антагоністичної активності топірамату оцінювали на другому етапі експериментів.

Каінат подавали в омиваючу рідину в переривчастому режимі протягом 3 секунд під час кожного одноквилинного інтервалу, одразу після встановлення умов для виникнення каінат-індукованого струму застосовували топірамат, який наносили в постійному режимі. Тривалість періоду нанесення становила від декількох хвилин до 20 хвилин. Частковий блок каінат-індукованого струму спостерігався вже протягом першої хвилини після початку застосування топірамату, але навіть насичуючі концентрації топірамату знижували каінат-індукований струм тільки на 20 - 40%. Цей ефект легко зникав, якщо топірамат вилучали (змивали) протягом 5 хвилин з початку його застосування. Але якщо топірамат застосовували постійно протягом більш, ніж 10 хвилин, ступінь антагоністичного впливу топірамату на каінат-індукований трансмембранний струм значно зростає і, коли топірамат вилучають, каінат-індукований струм залишається зниженим. Криві "концентрація - відповідь" відтворювали для обох фаз блокуючої дії топірамату. EC_{50} становила приблизно 1 мікромоль для кожної фази. Однак концентрація, яка була необхідною для максимальної відповіді, становила приблизно 0.1 ммоль для першої фази (фаза I блокади) і тільки приблизно 0.010 ммоль - для другої (фаза II блокади).

Виходячи з даних про те, що функціональний стан глутаматових рецепторів частково регулюється протеїнкіназами та фосфатазами (L. Y. WAANG, F. A. TAVERNA, X. P. HUANG, J. F. MACDONALD, and D. R. HAMPSON, Science 259, 1173 - 1175, 1993), механізм блокуючого ефекту під час II фази можна пояснити дефосфорильованими рецепторами, що активуються каінатом. Враховуючи, що цАМФ-залежна протеїнкіназа (ПКА) здатна справляти модулюючий вплив на рецептори, що активуються каінатом (L. Y. WAANG, F. A. TAVERNA, X. P. HUANG, J. F. MACDONALD, and D. R. HAMPSON, Science 259, 1173-1175, 1993), була розпочата наступна стадія експериментів, яка мала на меті вивчити, чи може дибутирил-циклічна АМФ відновлювати стимулюючу активність каінату після II фази топіраматової блокади, тобто чи може "незворотний" процес набуття зворотності ці експерименти виявили, що дибутирил-циклічна АМФ частково або повністю відновлює каінат-індукований струм. В іншій серії експериментів окадієву кислоту - неспецифічний інгібітор фосфатази - використовували у кількості 1 мікромоль перед початком і під час нанесення топірамату. Метою цих експериментів було виявити, чи може пригнічення процесів дефосфорильованості каінату запобігти розвитку II фази блокуючого ефекту топірамату. Окадієва кислота спричиняла незначний вплив на каінат-індукований струм до нанесення топірамату і не впливала на первинний антагоністичний ефект топірамату (фаза I блокади), однак, як і очікувалося, II фаза блокади не розвинулась, ці результати вказують на те, що топірамат, прямо чи непрямо, інгібує здатність протеїнкінази (ПКА) фосфорильовати рецептори, що активуються каінатом, який переводить їх в дефосфорильований стан, в якому вони втрачають чутливість (не можуть бути активовані).

Незалежно від механізму, завдяки якому топірамат спричиняє на глутаматові рецептори дію, протилежну дії каінату, цей антагоністичний ефект приводить до зменшення активації рецепторів. При патологічних станах, коли має місце надмірна активація, наприклад, при БЛС, препарат-індуковане зменшення активності глутаматових рецепторів приводить до відповідного зменшення загибелі нервових клітин.

Для лікування бічного аміотрофічного склерозу (БЛС) сполуку, що має формулу (I), використовують у добовій дозі від 100 до 800 мг, розрахованій на середньостатистичну дорослу людину і звичайно поділений на два прийоми. Разова доза становить від 25 до 200 мг активної речовини.

Для виготовлення фармацевтичної композиції, згідно з цим винаходом, одна або більше сульфаматових сполук, що мають формулу (I), ретельно змішуються з фармацевтичними формоутворюючими речовинами згідно з стандартними фармацевтичними технологіями, деформоутворюючі речовини утворюють широке розмаїття форм, в залежності від шляху введення - перорального, парентерального або у вигляді супозиторіїв. При виготовленні композиції в пероральній добовій формі можуть бути використані будь-які фармацевтичні середовища - для рідких форм для перорального застосування - таких як, наприклад, суспензії, еліксири, розчини найбільш прийнятними формоутворюючими і додатковими речовинами є вода, глюкоза, олії, спирти, консерванти, ароматизуючі та фарбуючі речовини і тому подібне, для твердих форм для перорального застосування - таких як, наприклад, порошки, капсули, таблетки - найбільш прийнятними формоутворюючими і додатковими речовинами є крохмалі, цукри, розчинники, гранулюючі агенти, зв'язуючі та розділяючі агенти, ліубриканти і тому подібне. Зважаючи на зручність застосування, капсули та таблетки є найбільш привабливою пероральною ліцевою формою, в якій, як правило, використовують, таблетки, що, при необхідності, можуть бути покриті за стандартними методиками цукровою оболонкою або оболонкою, яка розсмоктується у кишечнику. При виготовленні супозиторіїв як формоутворюючу речовину використовують масло какао. Носіями для парентеральних форм є звичайно стерильна вода та інші речовини, які використовують, наприклад, для додаткового розчинення або збереження. Ін'єкційні суспензії виготовляють з використанням рідких носіїв, суспензуючих агентів і тому подібне. Зараз топірамат може бути застосований в формах для перорального призначення у вигляді круглих таблеток, які містять 25, 100 і 200 мг активної речовини. Таблетки містять наступні неактивні компоненти: мікрокристалічну целюлозу, водну лактозу, желатинізований крохмаль, натрієвий гліколят крохмалю, стеарат магнію, очищену воду, карнаубовий віск, метилцелюлозу гідроксипропіл, двоокис титану, поліетиленгліколь, синтетичний окис заліза та полісорбат 80.

Фармацевтична композиція, яка представлена тут, містить в одній дозовій одиниці, тобто таблетці, капсулі, порошку для ін'єкцій, чайній ложці, супозиторію і т.п., від 50 до 200 мг активної речовини.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)
вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна
(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»
вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна
(044) 216 – 32 – 71