



УКРАЇНА

(19) UA (11) 94044 (13) C2

(51) МПК (2011.01)

A61K 31/403

A61K 31/404 (2011.01)

A61P 29/00

A61P 35/00

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

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

(54) ЗАСТОСУВАННЯ БЕНЗОЇЛЬНОЇ ПОХІДНОЇ 3-АМІНОКАРБАЗОЛУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПОРУШЕННЯ, ПОВ'ЯЗАНОГО З ВИРОБЛЕННЯМ ПРОСТАГЛАНДИНУ E2 (PGE2)

1

2

(21) а200713598

(22) 03.05.2006

(24) 11.04.2011

(86) РСТ/ЕР2006/004348, 03.05.2006

(31) MI2005A000909

(32) 19.05.2005

(33) IT

(46) 11.04.2011, Бюл.№ 7, 2011 р.

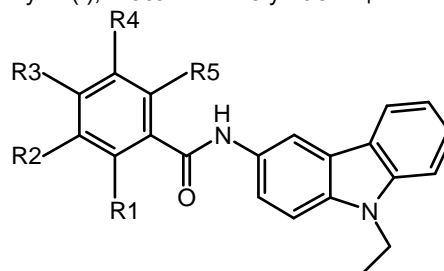
(72) ПОЛЕНЦАНІ ЛОРЕНЦО, ІТ, МАНГАНО ДЖОРДЖИНА, ІТ, КОЛЕТТА ІЗАБЕЛЛА, ІТ, АЛІСІ МА-РІЯ АЛЕССАНДРА, ІТ, КАЦЦОЛЛА НІКОЛА, ІТ, ФУРЛОТТІ ГВІДО, ІТ, МАУДЖЕРІ КАТЕРІНА, ІТ

(73) АЦЬЄНДЕ КІМІКЕ РІУНІТЕ АНДЖЕЛІНІ ФРА-НЧЕСКО А.ЧІ.Р.А.Ф. С.П.А., ІТ

(56) WO 2002096902 A1, 05.12.2002

US 6399631 B1, 04.06.2002

(57) 1. Застосування сполуки, вибраної з групи, яка включає бензоїльні похідні 3-амінокарбазолу формули (I), вказані нижче у Таблиці 1



(I)

Таблиця 1

Сполука	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
1	Cl	H	H	H	H
2	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H
3	Br	H	H	H	H
4	I	H	H	H	H
5	NO <sub>2</sub>	H	H	H	H
6	Cl	H	H	H	Cl
7	Cl	H	H	NO <sub>2</sub>	H
8	Cl	H	H	Cl	H

для одержання медикаменту для профілактичного або терапевтичного лікування порушення, вибраного з групи, яка включає запальні процеси, запальний біль, лихоманку, пухлини, хворобу Альцгеймера та атеросклероз.

2. Застосування за п. 1, яке **відрізняється** тим, що запальний процес є вибраним з групи, яка включає набряк, еритему, запалення суглобів, ревматоїдний артрит та артроз.

3. Застосування за п. 1, яке **відрізняється** тим, що пухлина є вибраною з групи, яка включає карци-

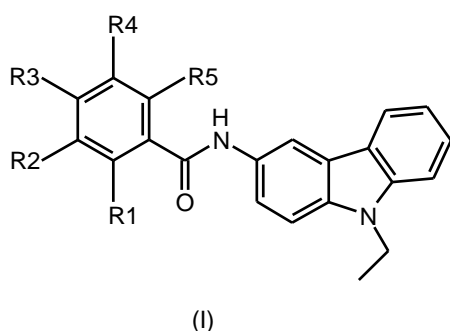
номи та аденокарциноми ободової та прямої кишки і легенів.

4. Спосіб профілактичного або терапевтичного лікування порушення, вибраного з групи, яка включає запальні процеси, запальний біль, лихоманку, пухлини, хворобу Альцгеймера та атеросклероз, який **відрізняється** тим, що суб'єктові вводять терапевтично ефективну кількість сполуки, вибраної з групи, яка включає бензоїльні похідні 3-амінокарбазолу формули (I), вказані нижче у Таблиці 1

(13) C2

(11) 94044

(19) UA



Таблиця 1

Сполука	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
1	Cl	H	H	H	H
2	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H
3	Br	H	H	H	H
4	I	H	H	H	H
5	NO <sub>2</sub>	H	H	H	H
6	Cl	H	H	H	Cl
7	Cl	H	H	NO <sub>2</sub>	H
8	Cl	H	H	Cl	H

5. Спосіб за п. 4, який **відрізняється** тим, що запальний процес є вибраним з групи, яка включає набряк, еритему, запалення суглобів, ревматоїдний артрит та артроз.

6. Спосіб за п. 4, який **відрізняється** тим, що пухлина є вибраною з групи, яка включає карциноми та аденокарциноми ободової та прямої кишки і легенів.

Цей винахід стосується застосування бензоїльної похідної 3-амінокарбазолу, вказаної нижче у Таблиці 1, для одержання фармацевтичної композиції, корисної для лікування порушень, пов'язаних з виробленням простагландину E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), наприклад, запальних процесів, болю, лихоманки, пухлин, хвороби Альцгеймера та атеросклерозу.

Інтерес до простагландинів E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) виникає через їхню роль, яку вони виконують як біорегулятори, разом з іншими простааноїдами, які виробляються на шляху метаболізму арахідонової кислоти, а також як посередники запалення.

Як відомо, простааноїди являють собою клас сполук, до яких належать простагландини, тромбоксани та простацикліни. Простааноїди є ліпідними посередниками які діють як місцеві гормони на клітинах, прилеглих до місця їх вивільнення. Простааноїди здебільшого утворюються з арахідонової кислоти через активоване циклооксигеназою окиснення ферментів. Циклооксигенази (простагландин G/H синтази) каталізують послідовне утворення PGG<sub>2</sub> та PGH<sub>2</sub> з арахідонової кислоти. PGH<sub>2</sub> після цього перетворюється на різні простааноїди через специфічні ферменти. У такий спосіб утворюються простагландини D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), простагландини E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), простагландини F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), простагландини I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) та тромбоксани A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>).

Простааноїди не накопичуються, за винятком сім'яної рідини. Після різних видів стимулювання (запального, імунологічного, гормонального сти-

мулювання, ультрафіолетового опромінення, пухлинних агентів, а також механічного струшування) вони синтезуються і вивільнюються у позаклітинний простір, з якого вони переходять у плазму, сечу та інші біологічні рідини.

Простааноїди відіграють важливу роль у механізмах, які захищають функцію органа та цілісність організму. Вона виявляється в їхній цитопротекторній функції у шлунково-кишковому тракті, регулюванні ними функції нирок та мікроциркуляції, регулюванні ними агрегації тромбоцитів та коагуляції крові, їхній участі у диференціації імунних клітин та загоєнні ран, а також у метаболізмі кісток та овуляції.

Зокрема, слід відзначити вазопротекторну дію PGI<sub>2</sub>, яка є суттєвою для підтримання судинного тонуусу і для профілактики тромбоемболії та атеросклерозу на ендотеліальному рівні, і протизапальну та антипроліферативну дію PGD<sub>2</sub>, метаболіт якого, 15d-PGJ<sub>2</sub>, може мати протизапальний вплив через активацію ядерних PPAR<sub>γ</sub> рецепторів (активованих проліфератором пероксисом рецепторів-гамма) [Inoue et al., "Feedback control of cyclooxygenase-2 expression through PPARgamma", J. Biol. Chem. 2000, 275 (36): 28028-28032].

Таким чином, простааноїди є біорегуляторами, але вони також є важливими посередниками запалень та інших хвороб.

Зокрема, PGE<sub>2</sub> у великій кількості містяться в місцях запалення і відповідають за різні патологіч-

ні аспекти гострих та хронічних запалень, таких, як набряк, утворення еритеми, запальний біль, запалення суглобів та лихоманка.  $\text{PGE}_2$  фактично є сильними прозапальними агентами та альгогенами. Антитіла проти  $\text{PGE}_2$  мають протизапальну активність, і тварини, позбавлені рецепторів для  $\text{PGE}_2$ , демонструють знижену реакцію на запальні стимули [Portanova et al., "Selective neutralization of prostaglandin E2 blocks inflammation, hyperalgesia, and interleukin 6 production in vivo", J. Exp. Med. 1996, 184(3):883; Ueno et al., "Major roles of prostanoid penenrops IP and EP (3) in endotoxin-induced enhancement of pain perception", Biochem. Pharmacol. 2001, 62(2): 157-160] та відсутність піретичної реакції на пірогенні стимули [Ushikubi et al., "Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3", Nature 1998, 395:281-284]. Через їхню інгібіторну дію на циклооксигенази 1 та 2 [FitzGerald and Patrono, "The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2", N. Engl. J. Med. 2001, 345(6):433-442] нестероїдні протизапальні (NSAI) медикаменти та COX-2-селективні медикаменти, які застосовуються у даний час, знижують симптоми, пов'язані з запаленням, через неселективне інгібування вироблення ейкозаноїдів ( $\text{PGE}_2$ ,  $\text{PGD}_2$ ,  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ,  $\text{PGI}_2$  та  $\text{TXA}_2$ ).

Зокрема, селективні медикаменти COX-2, які є доступними на ринку в даний час, мають знижену шлунково-кишкову токсичність порівняно з традиційними нестероїдними протизапальними (NSAI) медикаментами. Однак ці селективні медикаменти COX-2 знижують вироблення судинного простагліну ( $\text{PGI}_2$ , який, головним чином, виробляється з COX-2), змінюючи нормальну рівновагу між протромботичними та антитромботичними ейкозаноїдами на користь протромботичних ( $\text{TXA}_2$ , який здебільшого виробляється з COX-1) і викликають підвищений ризик тромботично-серцево-судинних явищ [S. Malhotra, MD, DM; N. Shafiq, MD; P. Pandhi, MD, Medscape General Medicine 6(1), 2004; D. Mukherjee and E.J. Topol, Cardiovascular risk and COX-2 inhibitors, Arthritis Res. Ther. 2003, 5:8-11-2002].

Патентні заявки WO 01/07409 A1 та WO 02/096902 A1 стосуються численних похідних карбазолу, представлених широкою загальною формулою, які включають основну групу 3-амінокарбазолу, заміщеного у будь-якій позиції, включаючи атом азоту, одним або кількома аліфатичними та/або ароматичними органічними групами або залишками. Згідно з цими документами, вищезгадані похідні карбазолу можуть вибірково зв'язуватися з людським рецептором  $\text{Y}_5$  і модулювати його активність. Внаслідок цього такі похідні карбазолу можуть застосовуватися при лікуванні від голоду та метаболічних порушень, таких, як ожиріння, нейрогенна булімія, нервова анорексія, порушення сну, морфінізм та епілептичні напади.

Короткий опис винаходу

Несподівано було виявлено, що деякі бензоільні похідні 3-амінокарбазолу здатні вибірково інгібувати вироблення простагландину  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ).

Корисні сполуки згідно з цим винаходом можуть знижувати вироблення  $\text{PGE}_2$  і, таким чином, є активними при всіх патологічних станах, коли

$\text{PGE}_2$  діє як посередник (наприклад, таких, як біль, лихоманка та запальна реакція).

Корисні сполуки згідно з цим винаходом вибірково інгібують синтез  $\text{PGE}_2$ . Вибіркове інгібування  $\text{PGE}_2$  має перевагу, яка полягає в тому, що воно інгібує сильний посередник запалення, болю та лихоманки, водночас залишаючи незмінним вироблення інших простаноїдів, які виробляються у каскаді від арахідонової кислоти, таких, як  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ,  $\text{TXA}_2$ ,  $\text{PGI}_2$  та  $\text{PGD}_2$ . Усі механізми захисту функцій органа та цілісності організму, які є типовими для активності інших простаноїдів, таким чином, не зазнають впливу.

Так само, як і традиційні нестероїдні протизапальні засоби, корисні сполуки згідно з цим винаходом мають протизапальні, жарознижувальні та анальгетичні властивості, а отже, є активними при таких хворобах, як запалення, біль, лихоманка, ревматоїдний артрит та артроз. Крім того, враховуючи, що вплив  $\text{PGE}_2$  на пухлини, хворобу Альцгеймера та атеросклероз є відомим з літератури, корисні сполуки згідно з цим винаходом також можуть застосовуватися для профілактики та лікування цих хвороб.

Перевагою є те, що корисні сполуки згідно з цим винаходом все ж мають менше несприятливих ефектів порівняно з NSAI та селективними медикаментами COX-2, які при інгібуванні циклооксигеназ не розрізняють різні простаноїди. Зокрема, корисні сполуки згідно з цим винаходом мають знижену шлунково-кишкову, ниркову та судинну токсичність.

Детальний опис винаходу

Таким чином, у першому аспекті цей винахід стосується застосування сполуки, вибраної з групи, яка складається з бензоільних похідних 3-амінокарбазолу, які показано нижче у Таблиці 1, для одержання медикаменту для профілактичного або терапевтичного лікування порушення, вибраного з групи, яка включає запальні процеси, біль, лихоманку, пухлини, хворобу Альцгеймера та атеросклероз.

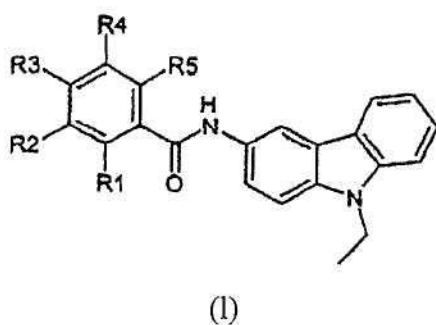
Крім того, у другому аспекті цей винахід стосується способу профілактичного або терапевтичного лікування порушення, вибраного з групи, яка включає запальні процеси, біль, лихоманку, пухлини, хворобу Альцгеймера та атеросклероз, при якому суб'єктові вводять терапевтично ефективну кількість сполуки, вибраної з групи, яка включає бензоільні похідні 3-амінокарбазолу, показані нижче у Таблиці 1.

Типовими прикладами запальних процесів, при яких може бути корисним цей винахід, є набряк, еритема, запалення суглобів, ревматоїдний артрит, артроз та інші.

Типовими прикладами пухлин, при яких може бути корисним цей винахід, є карциноми та аденокарциноми ободової та прямої кишки і легенів.

Зазвичай бензоільні похідні 3-амінокарбазолу згідно з цим винаходом вводять ссавцям. В оптимальному варіанті їх вводять людині.

Корисну сполуку згідно з цим винаходом вибирають з групи, яка включає бензоільні похідні 3-амінокарбазолу формули (I), вказані нижче у Таблиці 1:



Таблиця 1

Сполука	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
1	Cl	H	H	H	H
2	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H
3	Br	H	H	H	H
4	I	H	H	H	H
5	NO <sub>2</sub>	H	H	H	H
6	Cl	H	H	H	Cl
7	Cl	H	H	NO <sub>2</sub>	H
8	Cl	H	H	Cl	H

Корисні сполуки згідно з цим винаходом одержують згідно зі способами, відомими з літератури, наприклад, як описано у патентній заявці WO 02/096902 A1.

В оптимальному варіанті сполуку згідно з цим винаходом одержують у формі прийнятних дозованих форм.

Прикладами прийнятних дозованих форм є таблетки, капсули, вкриті таблетки, гранули, розчини та сиропи для перорального введення, креми, мазі та медичні пластри для місцевого застосування, супозиторії для ректального введення та стерильні розчини для введення шляхом ін'єкції, аерозолі або засоби для очного введення.

В оптимальному варіанті ці дозовані форми рецептують таким чином, щоб забезпечувалося контрольоване вивільнення вказаної в Таблиці 1 сполуки у часі. Фактично, залежно від характеру лікування, необхідний час вивільнення може бути дуже коротким, нормальним або тривалим.

Дозовані форми також можуть містити інші традиційні інгредієнти, такі, як консерванти, стабілізатори, поверхнево-активні речовини, буфери, солі для регулювання осмотичного тиску, емульгатори, підсолоджувачі, барвники, ароматизатори і т. ін.

Також, якщо це вимагається конкретним режимом лікування, дозовані форми згідно з цим винаходом можуть включати інші фармакологічно активні інгредієнти, які можуть бути застосовані для одночасного введення.

Кількість сполуки згідно з цим винаходом у вищезгаданих дозованих формах може бути різною в широких межах, залежно від таких відомих чинників, як, наприклад, тип порушення, яке піддають лікуванню, тяжкість порушення, маса тіла пацієнта, дозована форма, вибраний шлях введення, кількість введень на день та ефективність вибраної сполуки. Однак оптимальна кількість мо-

же бути легко визначена спеціалістом у даній галузі традиційним шляхом.

Зазвичай кількість сполуки в дозованих формах згідно з цим винаходом є такою, щоб забезпечувати рівень введення від 0,0001 до 100 мг/кг/день. У ще кращому варіанті - від 0,01 до 10 мг/кг/день.

Дозовані форми фармацевтичної композиції згідно з цим винаходом одержують, застосовуючи способи, які є загальновідомими серед спеціалістів у галузі фармацевтики, включаючи змішування, гранулювання, пресування, розчинення, стерилізацію і т. ін.

Представлені далі експерименти пояснюють винахід більш детально, однак жодним чином його не обмежують.

#### Експерименти

##### In-vitro випробування активності

Це випробування застосовують для визначення здатності до інгібування вироблення PGE<sub>2</sub> та селективності по відношенню до вироблення PGF<sub>2α</sub> для кожної з досліджуваних сполук.

Використовували лінію клітин A549, аденокарцинома легенів людини, яка є особливо чутливою до стимулювання прозапальними цитокінами, такими, як IL-1β, і у відповідь на це стимулювання, є особливо активною щодо вироблення та вивільнення двох простаноїдів: PGE<sub>2</sub> та PGF<sub>2α</sub> [Thoren S., Jakobsson P.J. "Coordinate up- and down-regulation of glutathione-dependent prostaglandin E synthase and cyclooxygenase-2 in A549 cells. Inhibition by NS-398 and leukotriene C4", Eur. J. Biochem. 2000,267(21):6428-6434].

Клітини стимулювали за допомогою IL-1β (1 нг/мл) і водночас обробляли випробуваними сполуками протягом 18 годин у відповідному культуральному середовищі (DMEM - модифікованому Дульбекко середовищі Ігла), збагаченому 5% ембріональною сироваткою великої рогатої худоби та

L-глутаміном (4 мМ кінцев.) в інкубаторі при 37°C і з концентрацією CO<sub>2</sub> 5%.

Після інкубації кількість PGE<sub>2</sub> та PGF<sub>2α</sub>, які вироблялись і вивільнювались у супернатант, визначали, застосовуючи комплект EIA (який виробляється й продається компанією Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI, USA).

Метиндол (Sigma-Aldrich), нестероїдний протизапальний засіб, який демонструє таке саме

інгібування щодо обох вимірюваних простаноїдів, використовували як контрольну сполуку.

Сполуки А, В та С, які мають однакову загальну формулу (I), як описано вище, та замісники, вказані у Таблиці 2, використовували як сполуки для порівняння. Композиція цих сполук для порівняння є подібною до сполук згідно з винаходом.

Таблиця 2

Сполука	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
A	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H
B	H	H	H	H	H
C	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H

Результати, показані у Таблиці 3, виражено як відсоток інгібування вироблення PGE<sub>2</sub> та PGF<sub>2α</sub> при концентрації 10 мкМ.

Таблиця 3

Сполука	% інгібування при 10 мкМ	
	PGE <sub>2</sub>	PGF <sub>2α</sub>
1	82	16
2	83	44
3	81	0
4	84	0
5	27	0
6	89	51
7	70	0
8	93	37
A	98	95
B	46	40
C	43	49
Метиндол	100	100

У Таблиці 4 на прикладі показано значення pIC<sub>50</sub> для деяких сполук згідно з винаходом, причому pIC<sub>50</sub> представляє обернену величину логарифма IC<sub>50</sub>, який, у свою чергу, представляє кон-

центрацію сполуки, яка інгібує 50% вироблення PGE<sub>2</sub> або PGF<sub>2α</sub> у клітинах, які були стимульованими, але не оброблялися цією сполукою.

Таблиця 4

Сполука	pIC <sub>50</sub>	
	PGE <sub>2</sub>	PGF <sub>2α</sub>
1	5,7	4,1
2	5,3	4,3
3	5,5	<4
4	5,4	<4
Метиндол	8,3	8,6

#### In-vivo випробування активності

Це випробування дозволяє визначити активність сполук згідно з цим винаходом у ноцицептивному випробуванні запального походження. Сполуку 1 використовували з цією метою в експериментальній моделі, яка викликає спричинену болем поведінку, яка викликається дією оцтової кислоти на мишей [Stock, J.L. et al., J. Clin. Inv. 2001, 107:325-331]. Для випробування використовували самиць мишей CD-1 масою 25-30 г.

Тваринам перорально давали сполуку 1 (30 мг/кг), суспендовану у метилцелюлозі (МТС). Контрольним мишам перорально вводили лише носій (МТС).

Через одну годину після введення випробуваної сполуки тваринам здійснювали внутрішньочеревинну ін'єкцію оцтової кислоти (0,7% (маса/маса) у фізіологічному розчині, 16 мкл/г маси тіла) для викликання запального болю та перевірки ефекту лікування на ноцицептивну реакцію.

Кількість витягувань тіла, яка представляє параметр оцінки для ноцицептивної реакції, вимірювали відразу після введення оцтової кислоти і протягом наступних 20 хвилин. Одержані результати (середнє значення  $\pm$  SD) показано нижче у Таблиці 5.

Таблиця 5

Сполука	Кількість витягувань за 20 хв
МТС	58 $\pm$ 5
МТС + Сполука 1	40 $\pm$ 5

Випробування на людських первинних ендотеліальних клітинах (HUVEC)

Це випробування застосовували для визначення здатності сполук з Таблиці 2 до інгібування вироблення PGI<sub>2</sub>.

Відсутність інгібіторної активності на цих простаноїдах може напевно свідчити про підтримання вазопротекторної дії PGI<sub>2</sub> та забезпечення потрібної фармакологічної інформації про відсутність небажаного впливу на ендотелій.

У випробуванні застосовували Сполуку 1.

Дію випробуваної сполуки оцінювали у клітинах HUVEC за базових умов та за умов стимулювання [J. Immunol. 1989 June 1; 142(11):3993-9].

Результати показано у Таблиці 6 і виражено як відсоток інгібування порівняно з активністю контрольного ферменту.

Як контрольну сполуку використовували метиндол.

Таблиця 6

Сполука (10 мкМ)	Випробування на секрецію PGI <sub>2</sub>	% інгібування
1	Базові (HUVEC)	0
1	Стимульовані (HUVEC)	0
Метиндол	Стимульовані (HUVEC)	100