

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 021840

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2015.09.30

(21) Номер заявки

201270399

(22) Дата подачи заявки

2010.09.13

(51) Int. Cl. A61K 31/56 (2006.01)

A61K 31/575 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 21/04 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ СТЕРОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

(31) 0916020.1; 1009342.5

(56) WO-A2-2007103162

(32) 2009.09.11; 2010.06.03

WO-A2-2008155534

(33) GB

WO-A2-2007025780

(43) 2012.10.30

US-A-4900725

(86) PCT/GB2010/001727

EP-A1-0162330

(87) WO 2011/030116 2011.03.17

US-A-4243586

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

БИОНЕЙЧЭ Е.А. ЛТД. (CY)

(72) Изобретатель:

Паноутсакопоулоу Василики,
Ангелакопоулоу Мария,
Калогеропоулоу Теодора, Граванис
Ахиллес, Лазаридис Лаковос (GR),
Неофиту Константинос (CY)

(74) Представитель:

Липатова И.И., Новоселова С.В.,
Рыбаков В.М., Дощечкина В.В.,
Хмара М.В. (RU)

021840
B1

(57) Данное изобретение относится к способу профилактики или лечения воспалительного состояния, включающему введение пациенту эффективного количества соединения, выбранного из следующих: 17 β -спиро[5-андростен-17,2'-оксиран]-3 β -ол; (20S)-3 β ,21-дигидрокси-17 β ,20-эпокси-5-прегнен; (20S)-3 β -гидрокси-17 β ,20-эпокси-20-(2-бромэтинил)-5-андростен; 3 β ,21-дигидрокси-17 α ,20-эпокси-5-прегнен и их фармацевтически приемлемых эфиров и фармацевтически приемлемых солей, а также к применению указанных соединений для профилактики или лечения воспалительного состояния.

B1

021840

Область изобретения

Это изобретение относится к применению стероидных соединений, включая спиростероидные аналоги, в лечении, профилактике или смягчении симптомов воспалительных состояний, например астмы. Механизм действия на иммунную систему показывает, что стероидные соединения могут быть полезны для лечения целого ряда воспалительных состояний, в том числе, но не ограничиваясь ими, астмы, воспаления легких, воспалительных состояний сетчатки, аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, рассеянный склероз и системная красная волчанка, воспалительные заболевания кишечника и миопатии.

Уровень техники

Воспаление является адаптивным ответом, вызванным различными вредными стимулами и условиями. Воспаление вызывает привлечение лейкоцитов и белков плазмы крови к пораженному участку ткани. Оно лежит в основе многих заболеваний человека, связанных с иммунной системой. Список воспалительных заболеваний продолжает расширяться и включает распространенные заболевания, которые изначально считали не воспалительными, а дегенеративными. Воспаление классифицируется на экзогенное, вызывающее экзогенные связанные с воспалением заболевания (инфекции, аллергены, токсические воздействия, препараты, химические вещества, курение, загрязнение окружающей среды, глютен, холестерин, глюкоза) и эндогенное (автовоспаление в отличие от аутоиммунного воспаления). Аутовоспалительные заболевания (FMF, HIDS, TRAPS) являются заболеваниями врожденного иммунитета, в то время как аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, миастения гравис, апластическая анемия, аутоиммунная гемолитическая анемия, рефрактерная склеродермия, дерматит, приобретенная пузырчатка, болезнь Грейвса, аутоиммунный гепатит, псориаз, болезнь Крона, язвенный колит) являются заболеваниями врожденного и адаптивного иммунитета.

Иммунитет против патогенов опосредован индукцией антиген-специфических Т-хелперных (Th) лимфоцитов, Th1, Th2 и Th17. Th1-иммунитет обеспечивает защиту от внутриклеточных патогенов и при усилении может привести к аутоиммунному заболеванию. Наруженная активация клеток Th1 и Th17 может привести к аутоиммунному заболеванию, в то время как чрезмерная активация Th2-клеток против антигенов окружающей среды может вызвать аллергию и астму. Th1-клетки продуцируют IFN- γ и активируют МФ для борьбы с внутриклеточными патогенами. Th2-клетки вырабатывают цитокины, такие как IL-4, IL-5 и IL-13, которые стимулируют тучные клетки и эозинофилы и повышают продукцию IgE В-клетками. Th17-клетки координируют врожденный и адаптивный иммунный ответ против патогенов, таких как грибы и бактерии. Другая субпопуляция Т-клеток, Т-регуляторные клетки (Treg), ограничивает иммунную патологию, вызванную избыточными Th1-, Th2- или Th17-клетками. Активация и дифференциация Th-иммунитета зависит от взаимодействия Th-клеток с антиген-представляющими клетками, такими как дендритные клетки (DC, dendritic cell), и цитокины играют ключевую роль в этом процессе.

Избыточные Th1-, Th2- или Th17-иммунные ответы ограничены механизмами супрессии (иммуносупрессии). Эти механизмы включают местную секрецию цитокинов, таких как TGF- β , и прямой клеточный контакт через связывание молекул клеточной поверхности, таких как CTLA-4 на супрессорных Т-клетках, с молекулами CD80 и CD86 на эффекторных Т-клетках. Супрессия требует соответствующей колокализации супрессорных и эффекторных Т-клеток в различных тканях и может включать вмешательство Т-клеточной рецепторной передачи сигнала, которая запускает транскрипционные факторы, важные для регулирования эффекторной функции клеток. Treg-клетки демонстрируют важную супрессорную активность. Treg-клетки играют незаменимую роль в поддержании иммунологической невосприимчивости к аутоантигенам и в подавлении чрезмерных иммунных реакций, вредных для хозяина. Treg производятся в тимусе как функционально зрелая субпопуляция Т-клеток, а также могут быть индуцированы из наивных (не вступавших в иммунный ответ) Т-клеток на периферии. Недавние исследования показывают клеточные и молекулярные основы развития и функционирования Treg и подразумевают нарушение регуляции Treg при иммунологических заболеваниях.

Глюкокортикоиды, которые являются эндогенными стероидами, вероятно, являются одними из самых мощных противовоспалительных лекарственных препаратов; тем не менее, эти препараты могут вызывать множество нежелательных побочных эффектов (например, центральное ожирение, гипергликемию, остеопороз), и их применение должно проходить под жестким контролем.

Было показано, что синтетические производные дегидроэпиандростерона (DHEA), такие как 5-андростен-16 α -фтор-17-он (HE2500), и некоторые природные метаболиты обеспечивают преимущества на различных животных моделях аутоиммунных и метаболических заболеваний. Но, как и DHEA, низкая эффективность и низкая пероральная биодоступность этих соединений позволяет предположить, что они будут иметь ограниченную пользу для людей. HE3286, новое 17-этинил-производное DHEA, демонстрирует пероральную биодоступность до 25% у мышей и на модели мышей DBA с коллаген-индуцированным артритом (CIA, collagen-induced arthritis); у животных, получавших перорально HE3286 (50 мг/кг) с начала болезни, показано значительное сокращение оценки пиков CIA и ежедневной оценки тяжести артрита. HE3286 не был установлен как иммуносупрессивный ни на одной из классических тестируемых моделей, включая митоген-индуцированную пролиферацию, гиперчувствительность замед-

ленного типа или реакцию смешанной культуры лимфоцитов. Вместо этого, польза была связана с увеличением числа и функции CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺CD127⁻-регуляторных Т-клеток (Treg).

Существует постоянная необходимость разработки новых способов лечения воспалительных состояний. Природные стероиды, такие как DHEA, обладают важными иммуносупрессивными свойствами у экспериментальных животных. Тем не менее, природные стероиды метаболизируются в организме человека в эстрогены, андрогены или прогестины, которые оказывают генерализованные и важные эндокринные побочные эффекты, в том числе гормонависимые новообразования (Front. Neuroendocrinol. 21, 1 (2000)), что ограничивает их клиническое применение.

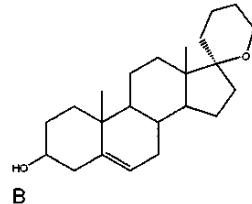
Патент US 3365475 (1968) описывает процесс изготовления 17 α -(3'-гидроксипропил)-4-андростен-3 β ,17 β -диола, который используется в изготовлении стероидных 17-спиротетрагидрофуранов, которые обладают полезными терапевтическими свойствами, например ингибиторов альдостерона.

Патент US 4026918 (1977) описывает изготовление некоторых D-гомостероидов, которые обладают противовоспалительной активностью. (3 β ,11 α ,17 α)-Спиро[андрост-5-ен-17,2'-оксиран]-3,11-диол раскрыт в качестве промежуточного химического вещества.

Патент US 4054563 (1977) раскрывает процесс изготовления некоторых 17-спиро(2'-оксациклопентан)стериодных соединений, которые используются в качестве промежуточных веществ в изготовлении антагонистов альдостерона.

Патент WO 98/33506 раскрывает применение некоторых соединений для ингибирования синтеза андрогенов, которые используются в лечении рака предстательной железы и доброкачественной гиперплазии предстательной железы. 17 β 20 β -азиридинил-прегн-5-ен-3 β -ол является одним из перечисленных сравниваемых соединений.

В Journal of Medicinal Chemistry 10(4), 546-551 (1967), стероидный циклический эфир формулы B, приведенный ниже, упоминается как промежуточный продукт в изготовлении стероидных соединений, обладающих антиэстрогенными свойствами



Патент WO 2008/155534 раскрывает нейростериодные соединения и их применение в лечении нейродегенеративных состояний, связанных с апоптозом нейронов и повреждением нейронов, в том числе болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона.

Сущность изобретения

В первом аспекте настоящего изобретения предложен способ профилактики или лечения воспалительного состояния, включающий введение пациенту эффективного количества соединения, выбранного из следующих:

17 β -спиро[5-андростен-17,2'-оксиран]-3 β -ол;
 (20S)-3 β ,21-дигидрокси-17 β ,20-эпокси-5-прегнен;
 (20S)-3 β -гидрокси-17 β ,20-эпокси-20-(2-бромэтил)-5-андростен;
 3 β ,21-дигидрокси-17 α ,20-эпокси-5-прегнен
 и их фармацевтически приемлемых эфиров и фармацевтически приемлемых солей.

В другом аспекте настоящего изобретения фармацевтически приемлемые соли являются кислотно-аддитивными.

В другом аспекте настоящего изобретения воспалительное состояние выбрано из группы, состоящей из астмы, воспаления легких, воспалительных состояний сетчатки.

В другом аспекте настоящего изобретения воспалительное состояние является аутоиммунным заболеванием.

В другом аспекте настоящего изобретения аутоиммунное заболевание является ревматоидным артритом, сахарным диабетом I типа, системной красной волчанкой, язвенным колитом, воспалительным заболеванием кишечника или миопатией.

В другом аспекте настоящего изобретения аутоиммунное заболевание является миастенией гравис, апластической анемией, аутоиммунной гемолитической анемией, рефракторной склеродермией, дерматитом, приобретенной пузырчаткой, болезнью Грейвса, аутоиммунным гепатитом, псориазом или болезнью Крона.

В ещё одном аспекте настоящего изобретения предложено применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемого эфира, соли или кислотно-аддитивной соли для изготовления лекарства для профилактики или лечения воспалительного состояния.

В ещё одном аспекте настоящего изобретения предложено применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемого эфира, соли или кислотно-аддитивной соли для изготовления

лекарства для профилактики или лечения астмы, воспаления легких или воспалительного состояния слизистой.

В ещё одном аспекте настоящего изобретения предложено применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемого эфира, соли или кислотно-аддитивной соли для изготовления лекарства для профилактики или лечения аутоиммунного заболевания.

В ещё одном аспекте настоящего изобретения предложено применение вышеуказанного соединения, где аутоиммунное заболевание является ревматоидным артритом, сахарным диабетом I типа, системной красной волчанкой, язвенным колитом, воспалительным заболеванием кишечника или миопатией.

В ещё одном аспекте настоящего изобретения предложено применение вышеуказанного соединения, где аутоиммунное заболевание является миастенией гравис, апластической анемией, аутоиммунной гемолитической анемией, рефракторной склеродермией, дерматитом, приобретенной пузырчаткой, болезнью Грейвса, аутоиммунным гепатитом, псориазом или болезнью Крона.

В ещё одном аспекте настоящего изобретения предложено применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемого эфира, соли или кислотно-аддитивной соли для контроля или подавления иммунного ответа организма человека или животного.

В ещё одном аспекте настоящего изобретения предложено применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемого эфира, соли или кислотно-аддитивной соли для контроля или подавления Т-клеточной активности в организме человека или животного.

Для лучшего понимания изобретения далее приведены следующее подробное описание статьи и желаемые функции, свойства, характеристики и отношение элементов, а также этапы процесса, один по отношению к каждому из остальных, и даны примеры в описании и иллюстративных воплощениях.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на стимулированные культурируемые клетки мышиных лимфатических узлов в экспериментальном исследовании.

Фиг. 2 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на некоторые интактные очищенные культурируемые мышиные CD4⁺ T-клетки (фиг. 2а), а также их влияние на пролиферацию и секрецию IL-2 и IFN-γ (фиг. 2б и 2с соответственно).

На фиг. 3 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на стимулированные очищенные культурируемые мышиные CD4⁺ T-клетки в экспериментальном исследовании.

На фиг. 4 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на множество CD4⁺ 7AAD⁻клеток в культурах после анализа проточной цитометрии в экспериментальном исследовании.

На фиг. 5 схематически показана временная шкала экспериментального протокола исследования способности ряда стероидных соединений защищать от индуцированного пептидом MOG экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (EAE, experimental autoimmune encephalomyelitis).

На фиг. 6 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку EAE мышей в экспериментальном исследовании в соответствии с протоколом, показанным на фиг. 5.

Фиг. 7 включает результаты экспериментального исследования в соответствии с протоколом, показанным на фиг. 5, в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения заболеваемости EAE (фиг. 7а), средней максимальной клинической оценки (фиг. 7б) и дня начала болезни (фиг. 7с).

Фиг. 8 включает окрашенные срезы, показывающие влияние ряда стероидных соединений на воспаление в спинном мозге мышей в экспериментальном исследовании в соответствии с протоколом, показанным на фиг. 5.

Фиг. 9 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатических узлов ряда мышей, у которых было индуцировано развитие EAE, с точки зрения клеточной пролиферации в ответ на пептид MOG₃₅₋₅₅ (фиг. 9а), количества продуцированного IFN-γ и IL-10 (фиг. 9б и 9с), секреции цитокина IL-17 (фиг. 9д) и соотношения IFN-γ/IL-17 (фиг. 9е).

На фиг. 10 схематически показана временная шкала экспериментального протокола исследования защитного влияния ряда стероидных соединений после начала экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (EAE).

На фиг. 11 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку EAE у мышей в экспериментальных исследованиях в соответствии с протоколом, показанным на фиг. 10.

На фиг. 12 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения средней максимальной клинической оценки, в экспериментальном исследовании в соот-

вествии с протоколом, показанным на фиг. 10.

Фиг. 13 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатических узлов ряда мышей, у которых было индуцировано развитие ЕАЕ, с точки зрения количества продуцированного IL-10 (фиг. 13а), а также секреции IFN- γ (фиг. 13б) и цитокина IL-17 (фиг. 13с).

Фиг. 14 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на количество различных типов лейкоцитов в бронхоальвеолярном лаваже (фиг. 14а), лейкоцитарную инфильтрацию легких (фиг. 14б) и OVA-специфическую Т-клеточную пролиферацию (фиг. 14с).

На фиг. 15 схематически показана временная шкала экспериментального протокола для исследования способности ряда стероидных соединений подавлять установленный экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЕАЕ), индуцированный пептидом MOG.

На фиг. 16 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку ЕАЕ мышей в экспериментальных исследованиях в соответствии с протоколом, показанным на фиг. 15.

На фиг. 17 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения средней максимальной клинической оценки в экспериментальном исследовании в соответствии с протоколом, показанным на фиг. 15.

Фиг. 18 включает окрашенные срезы, показывающие влияние ряда стероидных соединений на воспаление в спинном мозге мышей в экспериментальном исследовании в соответствии с протоколом, показанным на фиг. 15.

Фиг. 19 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатических узлов ряда мышей, у которых было индуцировано развитие ЕАЕ, с точки зрения клеточной пролиферации в ответ на пептид MOG₃₅₋₅₅ (фиг. 19а), количества продуцированного IFN- γ и IL-17 (фиг. 19б и 19с) и секреции цитокина IL-10 (фиг. 19д).

На фиг. 20 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на множество CD3⁺CD4⁺IL10⁺ Т-клеток в культурах после анализа проточной цитометрии в экспериментальном исследовании.

На фиг. 21 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку ЕАЕ у мышей в экспериментальном исследовании.

На фиг. 22 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения средней максимальной клинической оценки в экспериментальном исследовании.

Фиг. 23 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатических узлов ряда мышей, у которых было индуцировано развитие ЕАЕ, с точки зрения клеточной пролиферации в ответ на пептид MOG₃₅₋₅₅ (фиг. 23а) и количества продуцированного IFN- γ и IL-17 (фиг. 23б и 23с).

На фиг. 24 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку ЕАЕ у мышей в экспериментальном исследовании.

На фиг. 25 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения средней максимальной клинической оценки в экспериментальном исследовании.

Фиг. 26 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатических узлов ряда мышей, у которых было индуцировано развитие ЕАЕ, с точки зрения клеточной пролиферации в ответ на пептид MOG₃₅₋₅₅ (фиг. 26а) и количества продуцированного IFN- γ и IL-17 (фиг. 26б и 26с).

Фиг. 27 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые показывают влияние ряда стероидных соединений на множество CD11c⁺ (фиг. 27а), CD3⁺CD4⁺IL17⁺ Т-клеток (фиг. 27б) и CD4⁺ Foxp3⁺ Т-клеток в культурах после анализа проточной цитометрии в экспериментальном исследовании.

На фиг. 28 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку ЕАЕ у мышей в экспериментальном исследовании.

На фиг. 29 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения средней максимальной клинической оценки в экспериментальном исследовании.

На фиг. 30 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатических узлов ряда мышей, у которых было индуцировано развитие ЕАЕ, с точки зрения клеточной пролиферации в ответ на пептид MOG₃₅₋₅₅.

На фиг. 31 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку ЕАЕ у мышей в экспериментальном исследовании.

На фиг. 32 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения средней максимальной клинической оценки в экспериментальном исследовании.

Фиг. 33 включает результаты экспериментального исследования в виде гистограмм, которые пока-

зывают влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатических узлов ряда мышей, у которых было индуцировано развитие ЕАЕ, с точки зрения клеточной пролиферации на пептид МОG₃₅₋₅₅ (фиг. 33а) и количества продуцированного IFN-γ и IL-17 (фиг. 33б и 33с).

На фиг. 34 приведен график, показывающий влияние с течением времени ряда стероидных соединений на среднюю клиническую оценку ЕАЕ у мышей в экспериментальном исследовании.

На фиг. 35 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на мышей с точки зрения средней максимальной клинической оценки в экспериментальном исследовании.

На фиг. 36 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на множество CD4⁺IL17⁺ Т-клеток в культурах после анализа проточной цитометрии в экспериментальном исследовании.

На фиг. 37 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на множество CD4⁺IL10⁺ Т-клеток в культурах после анализа проточной цитометрии в экспериментальном исследовании.

Фиг. 38 включает выходные диаграммы, полученные с помощью проточной цитометрии и показывающие влияние ряда стероидных соединений на множество клеток CD25 и Foxp3⁺ в культурах в экспериментальном исследовании.

На фиг. 39 приведена гистограмма, показывающая влияние ряда стероидных соединений на множество наивных CD4⁺-клеток, которые были культивированы в экспериментальном исследовании.

На фиг. 40 приведена гистограмма, которая показывает влияние ряда стероидных соединений на клетки лимфатического узла ряда мышей, у которых было индуцировано развитие ЕАЕ, которым вводили стероидные соединения, а затем иммунизировали OVA/CFA (полный адьювант Фрейнда).

Более подробное описание графических материалов появится в примерах 1-8 ниже.

Подробное описание изобретения

Соединения по настоящему изобретению и их фармацевтически приемлемые эфиры, соли или кислотно-аддитивные соли можно применять для лечения, предотвращения или улучшения симптомов воспалительных состояний, в частности тех, которые связаны с иммунной системой. Состояния, которые можно лечить, включают, только в качестве примера, астму, воспаление легкого, воспалительные состояния сетчатки, аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит, сахарный диабет I типа, системную красную волчанку, миастению гравис, апластическую анемию, аутоиммунную гемолитическую анемию, рефрактерную склеродермию, дерматит, приобретенную пузырчатку, болезнь Грейвса, аутоиммунный гепатит, псориаз, болезнь Крона, язвенный колит и воспалительные заболевания кишечника и миопатии. Рассеянный склероз является еще одним состоянием, которое можно лечить в соответствии с изобретением.

Предпочтительными являются воплощения изобретения, где соединение по настоящему изобретению выбрано из следующих, включая их фармацевтически приемлемые эфиры, соли и кислотно-аддитивные соли:

17β-спиро[5-андростен-17,2'-оксиран]-3β-ол;
(20S)-3β,21-дигидрокси-17β,20-эпокси-5-прегнен;
(20S)-3β-гидрокси-17β,20-эпокси-20-(2-бромэтинил)-5-андростен и
3β,21-дигидрокси-17α,20-эпокси-5-прегнен.

Также настоящее изобретение включает фармацевтически приемлемые эфиры и соли соединений по настоящему изобретению, включая кислотно-аддитивные соли.

Некоторыми конкретными соединениями настоящего изобретения являются:

- 1) 17β-спиро[5-андростен-17,2'-оксиран]-3β-ол ("BNN-50");
- 2) (20S)-3β,21-дигидрокси-17β,20-эпокси-5-прегнен ("BNN-124");
- 3) (20S)-3β-гидрокси-17β,20-эпокси-20-(2-бромэтинил)-5-андростен и
- 4) 3β,21-дигидрокси-17α,20-эпокси-5-прегнен ("BNN-93").

Соединения настоящего изобретения можно получить из имеющихся в продаже стероидных соединений, используя традиционные реакции синтеза, хорошо известные квалифицированным специалистам в данной области. Предпочтительные воплощения изобретения, где X представляет собой атом кислорода, можно получить из важного промежуточного соединения (20S)-3β-(трет-бутилдифенилсилилокси)-21-гидрокси-17β,20-эпокси-5-прегнена, используя ряд стадий синтеза в соответствующем порядке, включая, но не ограничиваясь этим, окисление, реакцию Виттига, восстановление, гидрирование, образование оксима, галогенирование, реакции связывания углерод-углерод и удаление защитной группы в С3. Можно использовать подходящие гидроксил-защитные группы, за исключением трет-бутилдифенилсилилокси. Патент WO 2008/155534 описывает некоторые препаративные методики, и его раздел примеры включает подробное описание препаративных методик для BNN-50, BNN-93, BNN-124, (20S)-3β-гидрокси-17β,20-эпокси-20-(2-бромэтинил)-5-андростена, 3β,22-дигидрокси-17β,21-оксестанил-5-прегнена и 17β-спиро[3β-гидрокси-5-андростен-17,2'-оксиран-7-илиденаминоокси]уксусной кислоты.

В соответствии с настоящим изобретением составы можно вводить общепринятым для лечения указанных заболеваний способом, включая, но не ограничиваясь этим, пероральное, парентеральное,

сублингвальное, трансдермальное, ректальное введение, или введение посредством ингаляции, или букальное введение. Кроме того, композиции могут быть разработаны для парентерального введения посредством инъекции или непрерывного вливания. Композиции могут быть разработаны в виде формы с замедленным высвобождением или в виде препарата пролонгированного действия. Путь введения может представлять собой любой путь, которым активное соединение эффективно доставляется до требуемого участка, чтобы проявить свои противовоспалительные эффекты. Любой специалист в данной области может распространить вышеупомянутое описание на любой другой способ введения, не причиняя вреда человеку, получающему лечение.

Используемый здесь термин "лечить" или "лечение" включает профилактику. Фармацевтические композиции для применения в данном изобретении получают в виде традиционных единичных форм дозирования, включающих активное соединение или смесь таких соединений с нетоксичным фармацевтическим носителем согласно принятым процедурам в нетоксичном количестве, достаточном, чтобы получить требуемую фармакодинамическую активность у объекта, животного или человека. Композиция предпочтительно содержит активный компонент в активном, но нетоксичном количестве, которое зависит от требуемой конкретной биологической активности и состояния пациента.

Используемый фармацевтический носитель может быть, например, либо твердым веществом, либо жидкостью. Типичными твердыми носителями являются лактоза, каолин, сахароза, тальк, желатин, агар, пектин, гуммиарабик, стеарат магния, стеариновая кислота, микрокристаллическая целлюлоза, полимерные гидрогели и т.п. Типичными жидкими носителями являются пропиленгликоль, водные растворы β-циклогексстринов, сироп, арахисовое масло, оливковое масло и подобные эмульсии. Подобным образом носитель или разбавитель может включать любое хорошо известное в данной области вещество временной задержки, такое как глицерол моностеарат или глицерол дистеарат отдельно или с воском, микрокапсулами, микросферами, липосомами и/или гидрогелями.

В случае твердого носителя препарат можно просто размолоть, измельчить до микро- или наноразмера, в масле, таблетировать, поместить в твердую желатиновую или покрытую энтеросолюбильной оболочкой капсулу в тонкоизмельченной порошкообразной или таблетированной форме, или в форме таблетки, пастилки или суппозитория. В случае жидкого носителя препарат может находиться в форме жидкости, например в ампуле, или в виде водной или безводной жидкой суспензии, смешанной с фармацевтически приемлемыми консервантами и т.п. Когда требуются низкие дозировки, то также подходящими фармацевтическими формами для местного применения являются назальный спрей, препарат для сублингвального введения и трансдермальные пластиры с регулируемым во времени высвобождением.

Экспериментальная часть

Следующие примеры предназначены для лучшего понимания изобретения, и их не следует рассматривать как ограничение объема изобретения в любом случае.

В следующих примерах было проверено, действительно ли дегидроэпиандростерон (DHEA) и родственные ему спиро соединения BNN-50, BNN-93 и BNN-124 (определенные выше) подавляют Т-клеточные ответы *ex vivo*, а также опосредованные иммунной системой заболевания и ответы *in vivo*, во время экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита и аллергического воспаления дыхательных путей.

Пример 1

Активность синтетических спиростероидов в супрессии Т-клеточных реакций *ex vivo*

Культивировали клетки лимфатических узлов (LN, lymph node) от непримированных мышей DO11.10 TCR Tg (которые отвечают на OVA-пептид 323-339), стимулируя OVA в присутствии DHEA или спиро соединений BNN-50, BNN-93 и BNN-124 или контроля RPMI. Обработка DHEA и спироаналогами приводила к значительному снижению пролиферации Т-клеток, которые реагировали на антиген (фиг. 1).

Для того чтобы проверить, оказывали ли DHEA и аналоги свое иммунодепрессивное действие непосредственно на CD4⁺ Т-клетки, очищенные CD4⁺ Т-клетки от непримированных мышей DO11.10 TCR Tg культивировали с обработанными митомицином С спленоцитами и OVA-пептидом 323-339. Опять же, обработка DHEA и спиро соединениями приводила к значительному снижению пролиферации и секреции IL-2 и IFN-γ (фиг. 2). Такое же супрессивное действие DHEA и спиро соединений наблюдалось, когда очищенные CD4⁺ Т-клетки от непримированных мышей BALB/c стимулировали α-CD3/α-CD28 (неантителенспецифическими) (фиг. 3). Снижение пролиферативного ответа CD4⁺ Т-клеток не было связано с увеличением клеточной смерти, что очевидно из одинакового числа CD4⁺7AAD⁻ клеток во всех культурах после анализа проточной цитометрии (фиг. 4).

В целом, DHEA и спиро соединения BNN-93, BNN-124, BNN-50, по-видимому, обладают иммуносупрессивным действием на Т-клеточные реакции в целом.

Пример 2

Способность синтетических спиростероидов защищать от экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (EAE), индуцированного MOG-пептидом

Для оценки иммуносупрессивного влияния DHEA и спиро соединений *in vivo* было проведено исследование, которое устанавливало, защищают ли DHEA и его спироаналоги от экспериментального ау-

тоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ). ЕАЕ представляет собой аутоиммунное заболевание центральной нервной системы (ЦНС) и возникает в результате инфильтрации центральной нервной системы деструктивными аутореактивными Т-лимфоцитами и последующей демиелинизации и аксональной и нейрональной дегенерации.

Острый ЕАЕ вызывали у мышей C57BL/6 путем их иммунизации против патогенного пептида миelin-олигодендроцитарного гликопротеина (MOG) (аминокислоты 35-55). BNN-93, BNN-124, BNN-50 или DHEA (2 мг/мышь) или PBS (контроль) вводили внутрибрюшинно ежедневно со дня индукции ЕАЕ до 26 дня, когда мышей подвергали эвтаназии (фиг. 5). Мышей наблюдали ежедневно слепым способом по клиническим симптомам (паралич). Ткани (мозг, спинной мозг, дренирующие лимфоузлы) собирали для проведения гистологической оценки (окрашивание с помощью H&E срезов головного и спинного мозга) и ex vivo культивировали для измерения Т-клеточных реакций и высвобождения цитокинов.

Введение DHEA и спироединений приводило к снижению степени паралича. В целом, наблюдалось улучшение клинического течения и снижение средней максимальной оценки (фиг. 6 и 7). Снижение клинической оценки было связано с задержкой начала и низкой заболеваемостью по сравнению с контролем (фиг. 7). Защитный эффект DHEA и спироединений был также связан с уменьшением воспаления спинного мозга (фиг. 8).

В целом, спироединения, а также DHEA, обеспечивали защиту от MOG-пептид-индуцированного ЕАЕ и способствовали снижению клинической оценки и заболеваемости, задержке начала заболевания и уменьшению воспаления в ЦНС.

Также были протестированы пролиферативный ответ и секреция цитокинов в ответ на MOG₃₅₋₅₅-пептид лимфоидными клетками (Т-клетками) от мышей, у которых индуцировали развитие ЕАЕ. Клетки из дренирующих лимфатических узлов от мышей, получавших DHEA и спироединения, демонстрировали значительное снижение пролиферации в ответ на MOG₃₅₋₅₅-пептид (фиг. 9а) и продуцировали значительно большее количество IFN-γ и IL-10 (фиг. 9б и 9с), которые, по-видимому, обладают регуляторными свойствами, как указано в нескольких недавних исследованиях. Кроме того, была увеличена секреция воспалительного цитокина IL-17 (фиг. 9д), но ее абсолютный прирост был крайне низким по сравнению с приростом IFN-γ. На самом деле, DHEA и спироединения значительно увеличивали соотношение IFN-γ/IL-17 (фиг. 9е), что согласуется с защитным действием от ЕАЕ. Таким образом, DHEA и спироединения могут подавлять ЕАЕ, сдвигая баланс высоко патогенного Th17-ответа в сторону менее патогенного Th1-ответа.

В целом, эти результаты показывают, что введение DHEA и спироаналогов приводит к значительному подавлению патогенной иммунной реакции.

Также были проведены испытания для того, чтобы выяснить, действительно ли DHEA и спироаналоги являются защитными после начала экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ). Для этих испытаний у мышей C57BL/6 вызывали острый ЕАЕ, как описано выше. BNN-93 BNN-124, BNN-50 или DHEA (2 мг/мышь) или PBS вводили внутрибрюшинно ежедневно со дня начала ЕАЕ до 26 дня, когда мышей подвергали эвтаназии (фиг. 10). Мышей наблюдали ежедневно слепым способом по клиническим симптомам (параличу). Ткани (мозг, спинной мозг, дренирующие лимфоузлы) собирали для проведения гистологической оценки (окрашивание с помощью H&E срезов головного и спинного мозга) и ex vivo культивировали для измерения Т-клеточных реакций и высвобождения цитокинов.

Введение DHEA и спироединений привело к снижению степени паралича. В целом, наблюдалось улучшение/изменение клинического течения и снижение средней максимальной оценки (фиг. 11 и 12).

Также была проанализирована секреция цитокинов в ответ на MOG₃₅₋₅₅-пептид лимфоидными клетками (Т-клетками) от мышей, у которых индуцировали развитие ЕАЕ. Клетки из дренирующих лимфатических узлов от мышей, получавших DHEA и спироединения, продуцировали значительно большее количество IL-10 (фиг. 13а). Кроме того, секреция IFN-γ, а также воспалительного цитокина IL-17, была существенно снижена (фиг. 13б и 13с). Таким образом, DHEA и спироединения могут защищать после начала ЕАЕ, сдвигая баланс высоко патогенного Th17-ответа в сторону ответа регуляторных Т-клеток, который характеризуется, главным образом, секрецией IL-10.

Пример 3

Активность синтетических спиростероидов в подавлении Th2-иммунного ответа и в защите от аллергического воспаления дыхательных путей

Эффекты DHEA и спироединений in vivo исследовали во время Th2-опосредованных иммунных ответов и дальнейшего развития заболеваний с помощью установленной мышью модели аллергической астмы. Мышей BALB/c сенсибилизовали путем внутрибрюшинного введения 0,01 мг овальбумина курицы (OVA) в 0,2 мл раствора гидроксида алюминия в 0 и 12 дни и подвергали воздействию аэрозольного OVA (5% на 20 мин) в 18-20 дни. Мыши вводили 2 мг/мышь DHEA или спироединений (BNN-93, или BNN-124, или BNN-50) или PBS в 0, 1, 2, 12, 13, 14, 18, 19 и 20 дни.

У мышей, получавших либо DHEA, либо спироединения, значительно уменьшилось количество зозинофильных и лимфомононуклеарных клеток в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) по сравнению с мышами, которым вводили PBS (фиг. 14а). Лейкоцитарная инфильтрация легких была значительно сни-

жена у мышей, получавших DHEA и спиро соединения (фиг. 14b). Более того, при рассмотрении иммунных ответов из дренирующих лимфатических узлов было установлено, что введение DHEA или спиро соединений приводило к значительному снижению OVA-специфической Т-клеточной пролиферации (фиг. 14c). Кроме того, уровни OVA-специфических IgE, IgG1 и IgG2a были значительно снижены у мышей, получавших DHEA и спиро соединения. Кроме того, у мышей, получавших либо DHEA, либо спиро соединения, значительно увеличилось количество CD3⁺CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Т-клеток (T-регуляторных клеток) и супрессивных CD11c⁺PDCA-1⁺ плазматоидных дендритных клеток (pDC). В целом, эти результаты свидетельствуют о том, что DHEA и спиро соединения подавляют аллергическое воспаление дыхательных путей, Th2-реакции и В-клеточные реакции с сопутствующей индукцией регуляторных иммуноклеточных субпопуляций.

Пример 4

Активность синтетических спиростероидов в подавлении установленного индуцированного MOG-пептидом EAE

Исследование было проведено для установления, эффективны ли DHEA и спироаналоги в подавлении EAE, который уже установлен в популяции мышей.

Острый EAE индуцировали у мышей C57BL/6 путем иммунизации животных против патогенного пептида миелинового гликопротеина олигодендроцитов (MOG) (аминокислоты 35-55). Мышей не лечили до тех пор, пока симптомы заболевания не становились очевидными (оценка 1-2), примерно до 12-го дня. BNN-93, BNN-124, BNN-50 или DHEA (2 мг/мышь) или PBS (контроль) вводили внутрибрюшинно ежедневно, с 13-го дня после индукции EAE до 26-28 дня, когда мышей подвергали эвтаназии (фиг. 15). Мышей наблюдали ежедневно слепым способом на предмет клинических симптомов (паралич). Собирали ткани (мозг, спинной мозг, дренирующие лимфоузлы) для проведения гистологической оценки (окрашивание с помощью H&E срезов головного и спинного мозга) и культивировали их *in vivo* для измерения Т-клеточных реакций и высвобождения цитокинов.

Введение DHEA и спиро соединений с начала заболевания приводило к значительному снижению степени паралича. В целом, наблюдалось значительное улучшение клинического течения и снижение средней максимальной оценки (фиг. 16 и 17). Защитный эффект DHEA и спиро соединений был также связан с уменьшением воспаления спинного мозга (фиг. 18).

В целом спиро соединения, а также DHEA, подавляли текущий индуцированный MOG-пептидом EAE и способствовали снижению клинической оценки и уменьшению воспаления в ЦНС.

Также были протестированы пролиферативный ответ и секреция цитокинов лимфоидными клетками (T-клетками) в ответ на пептид MOG₃₅₋₅₅ у мышей, у которых индуцировали развитие EAE. Клетки дренирующих лимфатических узлов от мышей, получавших DHEA и спиро соединения, демонстрировали значительное снижение пролиферации в ответ на пептид MOG₃₅₋₅₅ (фиг. 19a) и продуцировали значительно меньшее количество IFN-γ и IL-17 (фиг. 19b и 19c), которые, как считается, имеют провоспалительные свойства. Это сопровождалось значительным сокращением числа клеток Th17 и Th1 в дренирующих лимфатических узлах и в головном мозге. Кроме того, повышалась секреция иммунорегуляторного цитокина IL-10 (фиг. 19d). Кроме того, DHEA и спиро соединения значительно увеличивали число IL-10⁺ Treg-клеток, что подтверждало защитное действие на EAE (фиг. 20). Таким образом, DHEA и спиро соединения могут подавлять текущий EAE за счет уменьшения патогенного Th1 и Th17 иммунного ответа, при этом увеличивая количество Treg-клеток. Аналогичные результаты были получены, когда мышей подвергали эвтаназии на пике заболевания (день 17) (фиг. 21, 22 и 23a, b, c).

В целом, эти результаты показывают, что введение DHEA и спироаналогов мышам с текущим EAE приводит к значительному подавлению патогенного иммунного ответа и симптомов.

Пример 5

Активность синтетических спиростероидов в подавлении заболевания в переносимых иммунных клетках

Эксперимент был предпринят с целью исследовать вопрос о том, будут ли клетки иммунной системы, в которых EAE подавляли с помощью DHEA и спироаналогов, проявлять активность в отношении EAE при адаптивном переносе от одной мышевой популяции к другой.

Клетки дренирующих лимфатических узлов (DLN), полученные от мышей с EAE, которым вводили DHEA или BNN-93 сразу же после начала заболевания (12-17 дней), адаптивно переносили реципиентам с текущим EAE (примерно на 12 день). Было обнаружено, что эти DLN-клетки вызывали подавление развития EAE и приводили к быстрому восстановлению и значительному снижению средней максимальной оценки заболевания по сравнению с мышами с EAE, которым адаптивно переносили DLN-клетки доноров, которым вводили PBS (фиг. 24 и 25). Донорские DLN-клетки получали на 17 день, который был пиком заболевания у контрольных мышей. Эта защита наблюдалась до 28-30 дня, когда мышей подвергали эвтаназии. DLN-клетки, полученные от мышей с адаптивным переносом DLN-клеток от доноров с EAE, получавших DHEA или BNN-93, демонстрировали значительное снижение пролиферации *in vivo* в ответ на MOG₃₅₋₅₅ и снижение уровней продукции IFN-γ и IL-17 в супернатанте (фиг. 26a, b, c). Кроме того, в дренирующих лимфатических узлах было существенно снижено привлечение CD11c⁺-дендритных кл-

ток, которые играют доминирующую роль в дифференциации и активации Th-ответов, а также сильно воспалительных Т-клеток, секретирующих IL-17, в то время как привлечение CD4⁺Foxp3⁺ регуляторных Т-клеток было увеличено (фиг. 27а, б, с).

Приведенные выше результаты показывают, что мыши, получавшие DHEA и спироединения, приобретают иммунные клетки, которые "несут" иммуномодулирующий потенциал, который может уменьшать текущее заболевание при переносе реципиенту.

Также было проведено исследование для определения того, могут ли CD4⁺ Т-клетки (Т-хелперные лимфоциты) от мышей с индуцированным ЕАЕ, получавших DHEA, BNN-93 или PBS, передавать подавление болезни. Адаптивно перенесенные CD4⁺ Т-клетки от мышей с индуцированным ЕАЕ, получавших DHEA или BNN-93, реципиентам с текущими ЕАЕ, вызывали значительное снижение средней максимальной оценки ЕАЕ (фиг. 28 и 29). Напротив, адаптивный перенос CD4⁺ Т-клеток от мышей с ЕАЕ, получавших PBS, не уменьшал заболевание. Соответственно, DLN-клетки и спленоциты, полученные от мышей с адаптивным переносом DLN-клеток от доноров с ЕАЕ, получавших DHEA или BNN-93, демонстрировали значительное сокращение пролиферации в ответ на MOG₃₅₋₅₅ ex vivo (фиг. 30).

Эти результаты показывают, что введение DHEA и спироединений при ЕАЕ приводит к развитию CD4⁺ Т-клеток, которые могут в одиночку подавлять текущий ЕАЕ.

Адаптивный перенос CD4⁺ Т-клеток от мышей с индуцированным ЕАЕ, получавших DHEA или BNN-93, реципиентным мышам, которые не имеют Т- и В-клеток (C57BL/6 Rag-/-), индуцировал очень низкие оценки ЕАЕ вплоть до отсутствия болезни (BNN-93) после инъекций токсина коклюша (фиг. 31 и 32). Напротив, адаптивный перенос CD4⁺ Т-клеток от мышей с ЕАЕ, получавших PBS, приводил к развитию болезни у реципиентов C57BL/6 Rag-/. DLN-клетки, полученные от реципиентных мышей с адаптивным переносом CD4⁺ Т-клеток от доноров с ЕАЕ, получавших DHEA или BNN-93, демонстрировали значительное сокращение пролиферации в ответ на MOG₃₅₋₅₅ ex vivo и уменьшение продукции IFN-γ и IL-17 (фиг. 33а, б, с). Эти результаты показывают, что CD4⁺ Т-клетки от леченных мышей являются значительно менее патогенными.

Пример 6

Активность синтетических спиростероидов в подавлении заболевания после прекращения лечения

Эксперимент был предпринят с целью исследовать вопрос о том, будут ли клетки иммунной системы, в которых ЕАЕ был подавлен с помощью DHEA и спироаналогов, сохраняться в популяции мышей даже после прекращения лечения.

У мышей C57BL/6 вызывали развитие ЕАЕ таким же образом, как описано выше, после чего им вводили DHEA, BNN-93 или PBS сразу после начала заболевания (примерно на 13-й день) в течение 15 дней, после чего лечение прекращали. После этого в течение 45 дополнительных дней продолжали ежедневный контроль за клиническими признаками ЕАЕ у мышей. Мыши, которые ранее получали DHEA или BNN-93, только в течение 15 дней оставались защищены от развития ЕАЕ, и их оценка заболевания оставалась неизменной, без ухудшения, по сравнению с контрольными мышами, которые по-прежнему демонстрировали высокую оценку течения заболевания (фиг. 34 и 35).

Пример 7

Влияние синтетических спиростероидов на дифференциацию клеток Th17 и образование Foxp3⁺ Treg-клеток

Наивные CD4⁺ Т-клетки культивировали in vitro в условиях для поляризации Th17-клеток (с rTGF-β1 и rIL-6) и обрабатывали DHEA, BNN-93, BNN-124, BNN-50 или RPMI (культуральная среда для контроля) в течение 4 дней. Обработка DHEA и спироаналогами приводила к увеличению числа CD4⁺ IL17-секретирующих Т-клеток (фиг. 36), а также к значительному увеличению числа CD4⁺ IL-10-секретирующих Т-клеток среди Th17-дифференцирующихся клеток, которые, по-видимому, имеют важные иммунорегуляторные свойства (фиг. 37).

Кроме того, наивные CD4⁺ Т-клетки культивировали in vitro в условиях для образования Treg-клеток (с rTGF-β1 и rIL-2) и обрабатывали DHEA или BNN-93, BNN-124, BNN-50 или RPMI в течение 5 дней. Обработка DHEA и спироаналогами, с или даже без rTGF-β1, приводила к значительному увеличению числа Foxp3⁺ Treg-клеток и увеличению пролиферации (фиг. 38 и 39).

Эти результаты показывают, что DHEA и спироединения влияют на дифференциацию и образование субпопуляции CD4⁺ Т-клеток с иммуносупрессивной способностью.

Пример 8

Эксперимент, определяющий ответы на другой (отличный от MOG) антиген

Эксперимент был предпринят с целью исследовать реакцию клеток иммунной системы, в которых ЕАЕ был подавлен с помощью DHEA и спироаналогов, на различные антигены, участвующие в развитии ЕАЕ.

У мышей C57BL/6 индуцировали развитие ЕАЕ и вводили DHEA, BNN-93 или RPMI (контроль) в течение 15 дней, начиная сразу после начала заболевания. Лечение прекращали и затем мышам вводили OVA/CFA (полный адьювант Фрейнда). Продолжали ежедневный контроль за клиническими признаками ЕАЕ у мышей, и те, которые получали DHEA или BNN-93, были явно защищены от ЕАЕ, имели ста-

бильный фенотип без ухудшения по сравнению с контрольными мышами.

После OVA/CFA-иммунизации мыши, получавшие DHEA или BNN93, демонстрировали существенное увеличение Т-клеточного ответа на OVA ex vivo (показано как встраивание ^3H -тимицина) (фиг. 40), а также увеличение продукции IFN- γ . Результаты показывают, что нейростероиды подавляют ЕАЕ, но не предотвращают реакцию иммунных клеток против антигенов, отличных от тех, которые участвуют в развитии ЕАЕ. Вместо этого, ответ на новый антиген, который мыши представляют, усиливается.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ профилактики или лечения воспалительного состояния, включающий введение пациенту эффективного количества соединения, выбранного из следующих:

17 β -спиро[5-андростен-17,2'-оксиран]-3 β -ол;
 (20S)-3 β ,21-дигидрокси-17 β ,20-эпокси-5-прегнен;
 (20S)-3 β -гидрокси-17 β ,20-эпокси-20-(2-бромэтинил)-5-андростен;
 3 β ,21-дигидрокси-17 α ,20-эпокси-5-прегнен,

и их фармацевтически приемлемых эфиров и фармацевтически приемлемых солей.

2. Способ по п.1, где фармацевтически приемлемые соли являются кислотно-аддитивными.

3. Способ по п.1, где состояние выбрано из группы, состоящей из астмы, воспаления легких, воспалительных состояний сетчатки.

4. Способ по п.1, где состояние является аутоиммунным заболеванием.

5. Способ по п.4, где аутоиммунное заболевание является ревматоидным артритом, сахарным диабетом I типа, системной красной волчанкой, язвенным колитом, воспалительным заболеванием кишечника или миопатией.

6. Способ по п.4, где аутоиммунное заболевание является миастенией гравис, апластической анемией, аутоиммунной гемолитической анемией, рефракторной склеродермией, дерматитом, приобретенной пузырчаткой, болезнью Грейвса, аутоиммунным гепатитом, псориазом или болезнью Крона.

7. Применение соединения, определенного в п.1, или его фармацевтически приемлемого эфира или фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарства для профилактики или лечения воспалительного состояния.

8. Применение соединения, определенного в п.1, или его фармацевтически приемлемого эфира или фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарства для профилактики или лечения астмы, воспаления легких или воспалительного состояния сетчатки.

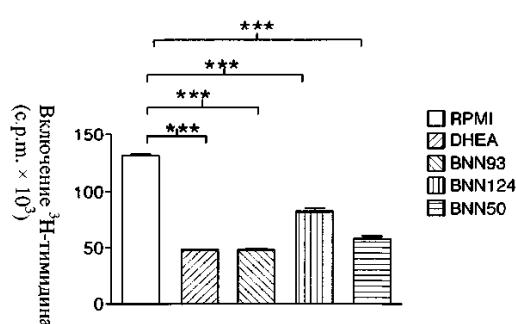
9. Применение соединения, определенного в п.1, или его фармацевтически приемлемого эфира или фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарства для профилактики или лечения аутоиммунного заболевания.

10. Применение по п.9, где аутоиммунное заболевание является ревматоидным артритом, сахарным диабетом I типа, системной красной волчанкой, язвенным колитом, воспалительным заболеванием кишечника или миопатией.

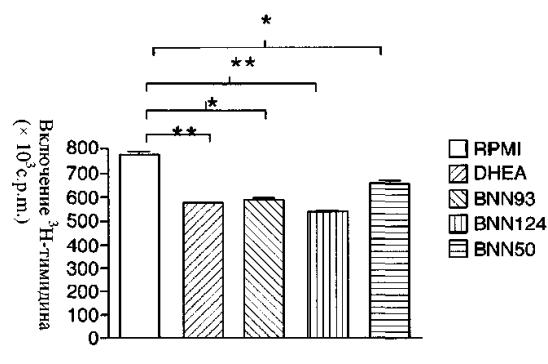
11. Применение по п.9, где аутоиммунное заболевание является миастенией гравис, апластической анемией, аутоиммунной гемолитической анемией, рефракторной склеродермией, дерматитом, приобретенной пузырчаткой, болезнью Грейвса, аутоиммунным гепатитом, псориазом или болезнью Крона.

12. Применение соединения, определенного в п.1, или его фармацевтически приемлемого эфира или фармацевтически приемлемой соли для контроля или подавления иммунного ответа организма человека или животного.

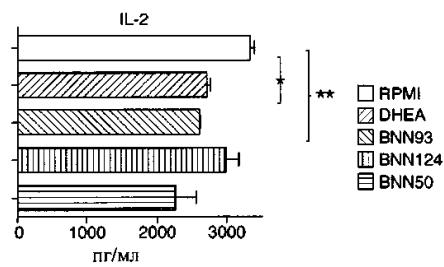
13. Применение соединения, определенного в п.1, или его фармацевтически приемлемого эфира или фармацевтически приемлемой соли для контроля или подавления Т-клеточной активности в организме человека или животного.



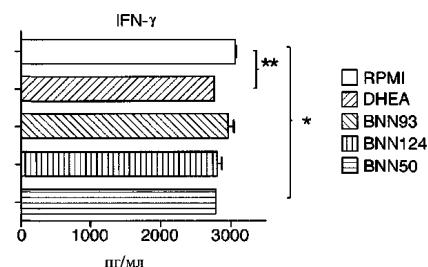
Фиг. 1



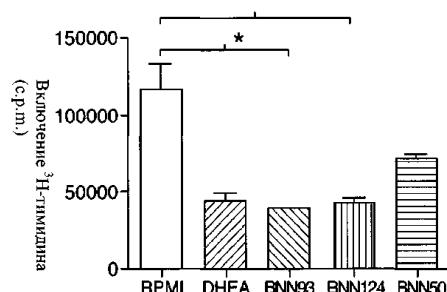
Фиг. 2а



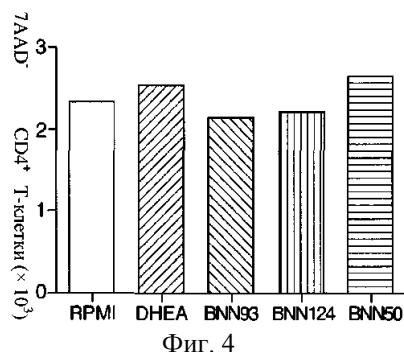
Фиг. 2б



Фиг. 2с



Фиг. 3



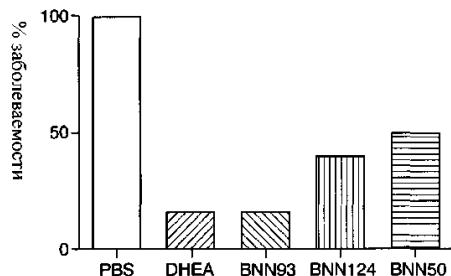
Фиг. 4



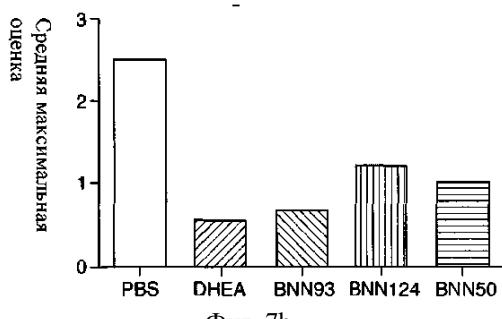
Фиг. 5



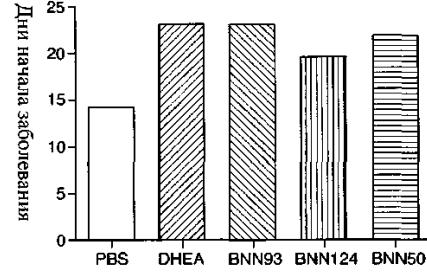
Фиг. 6



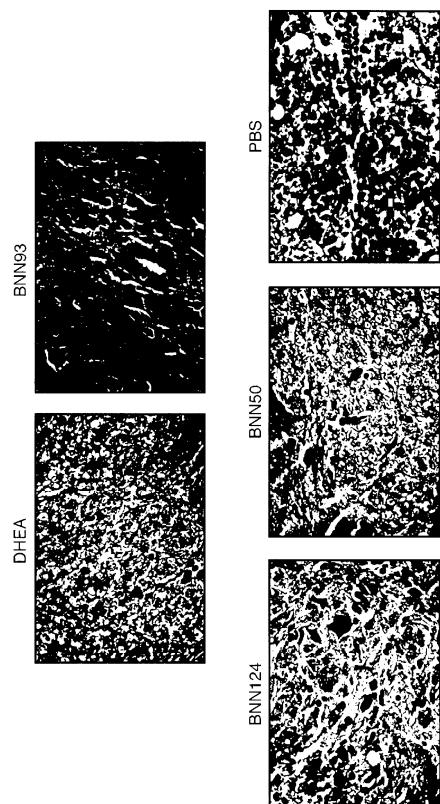
Фиг. 7а



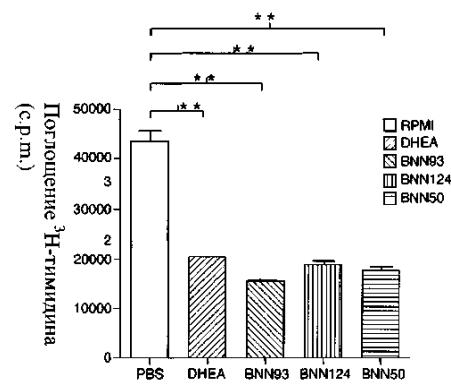
Фиг. 7б



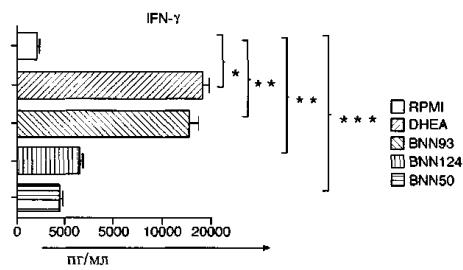
Фиг. 7с



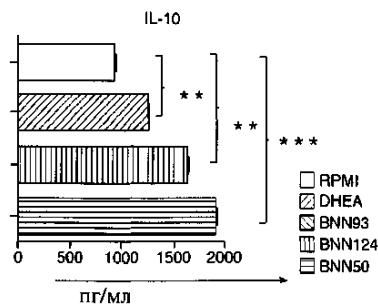
Фиг. 8



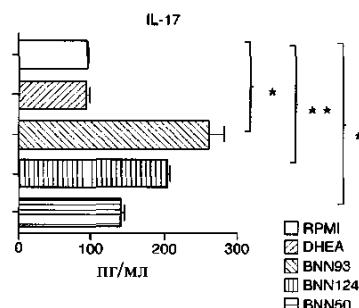
Фиг. 9а



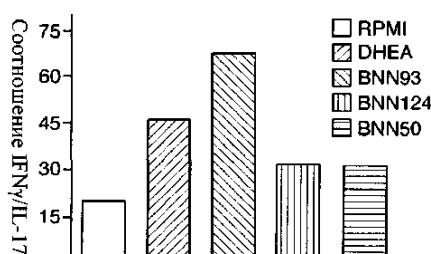
Фиг. 9б



Фиг. 9с



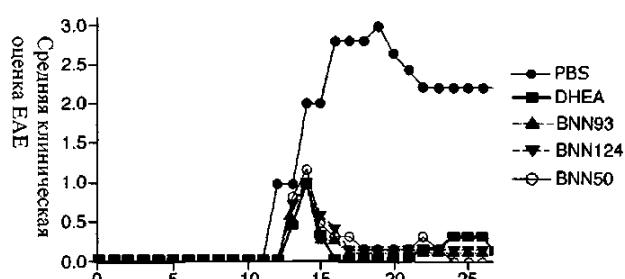
Фиг. 9д



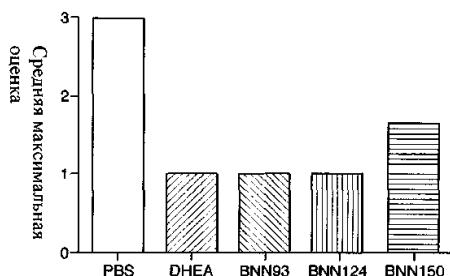
Фиг. 9е



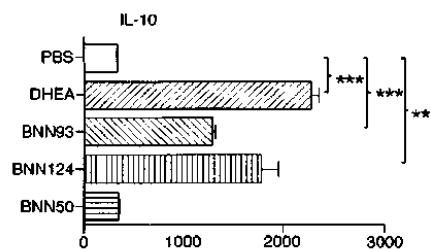
Фиг. 10



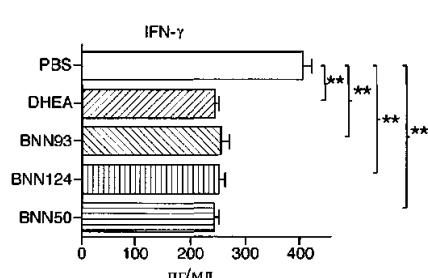
Фиг. 11



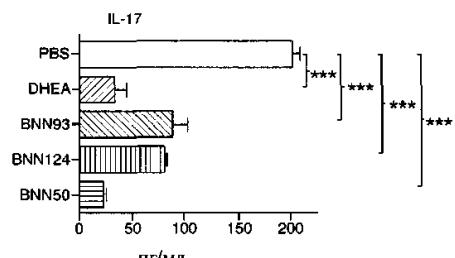
Фиг. 12



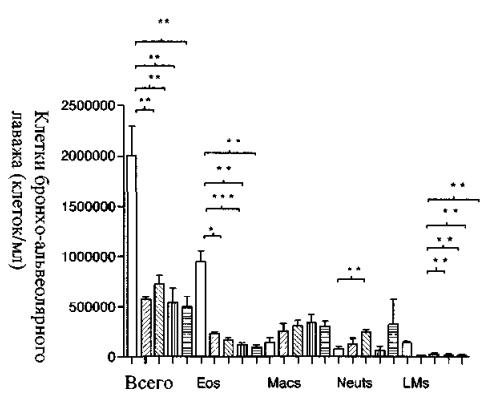
Фиг. 13а



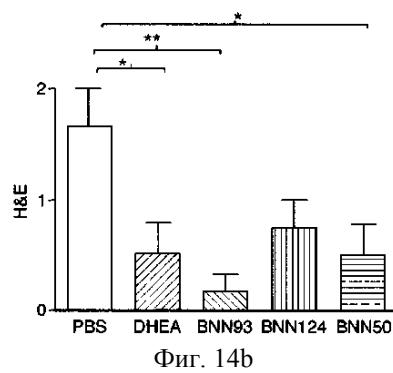
Фиг. 13б



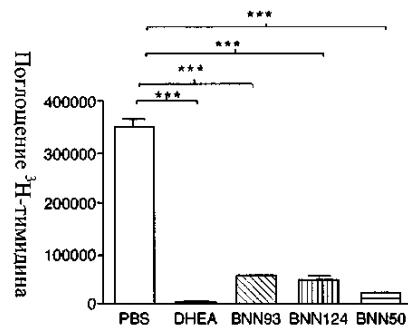
Фиг. 13с



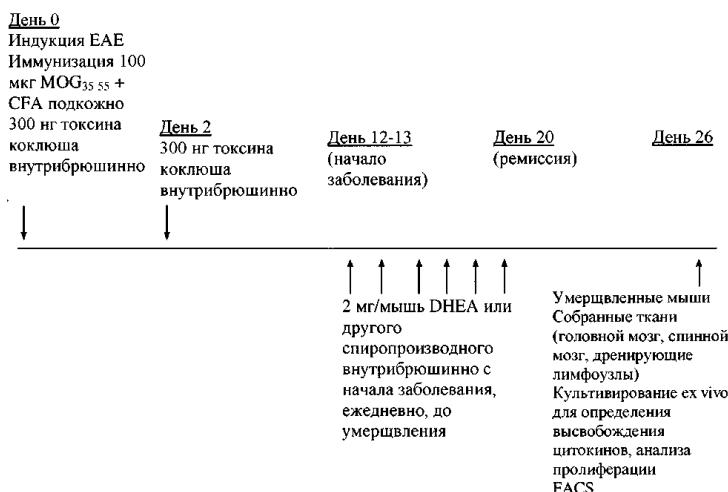
Фиг. 14а



Фиг. 14б



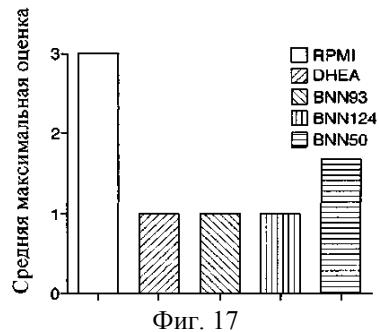
Фиг. 14с



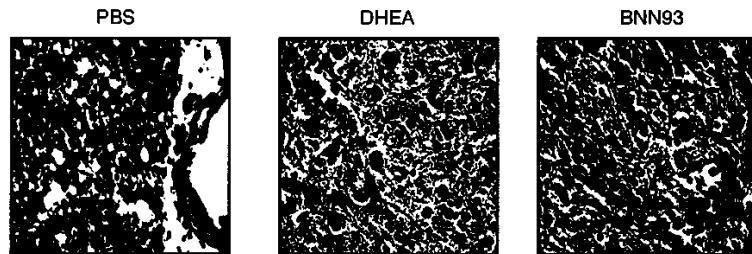
Фиг. 15



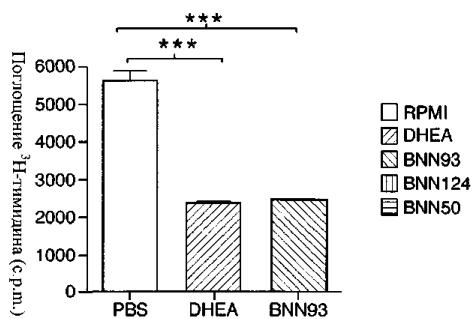
Фиг. 16



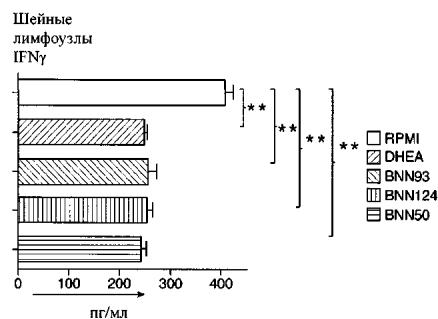
Фиг. 17



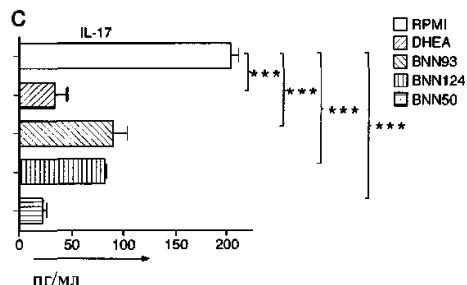
Фиг. 18



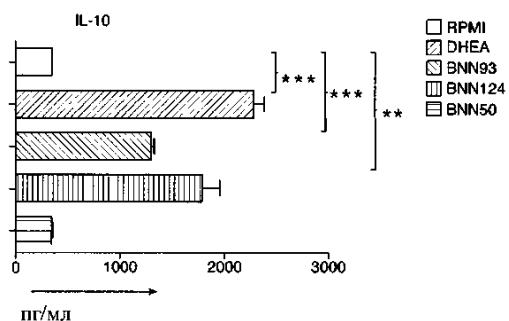
Фиг. 19а



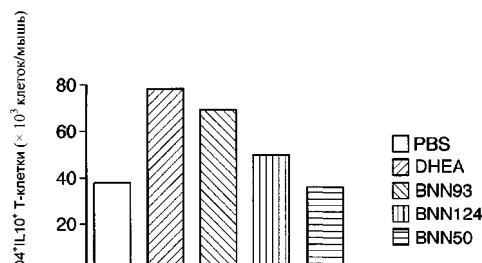
Фиг. 19б



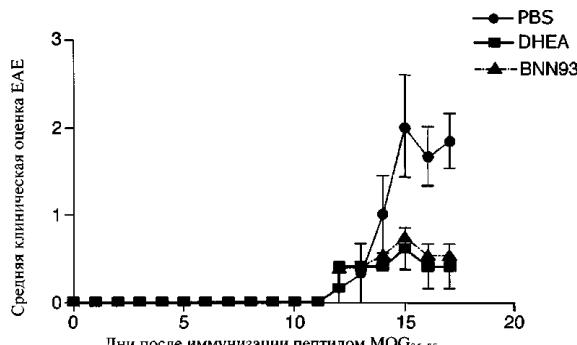
Фиг. 19с



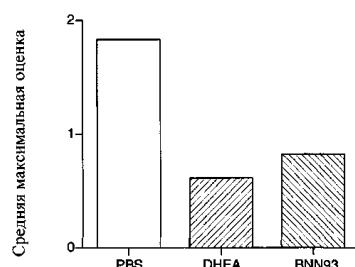
Фиг. 19d



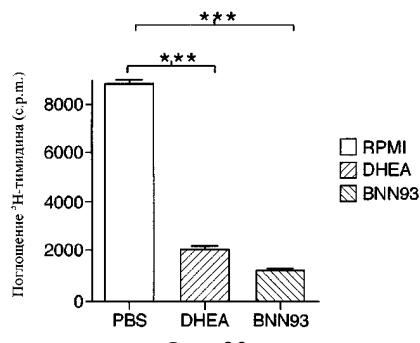
Фиг. 20



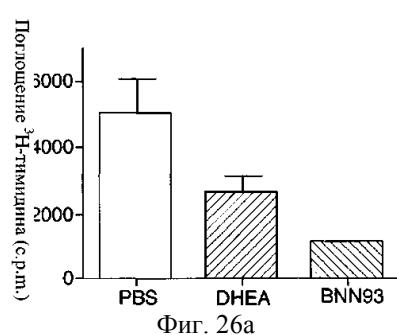
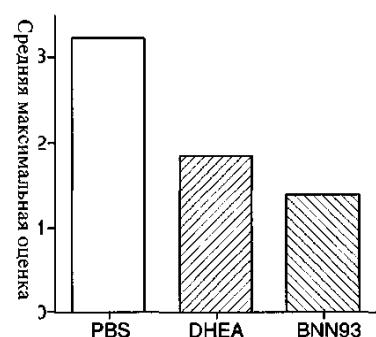
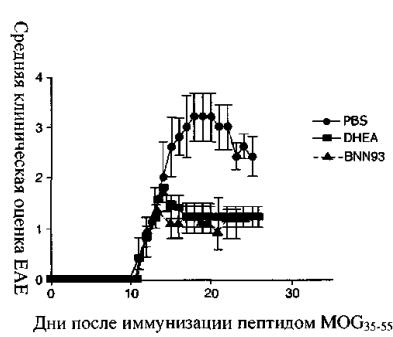
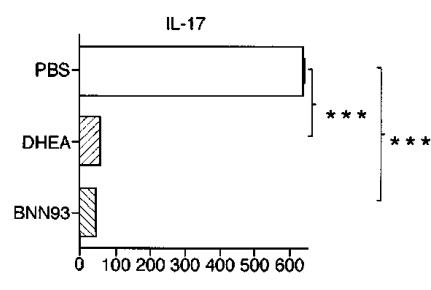
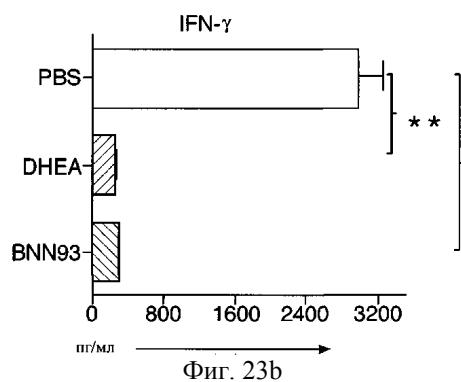
Фиг. 21



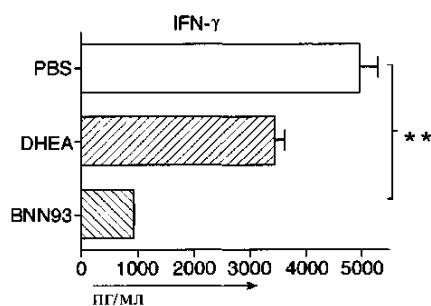
Фиг. 22



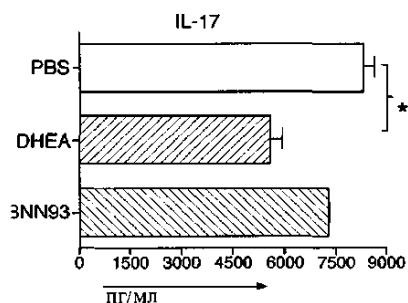
Фиг. 23а



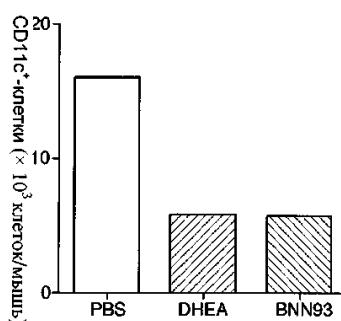
021840



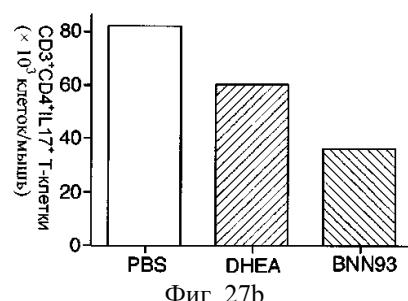
Фиг. 26б



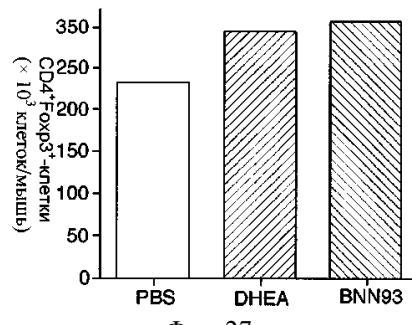
Фиг. 26с



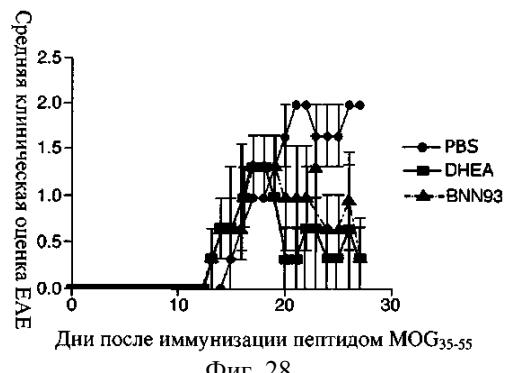
Фиг. 27а



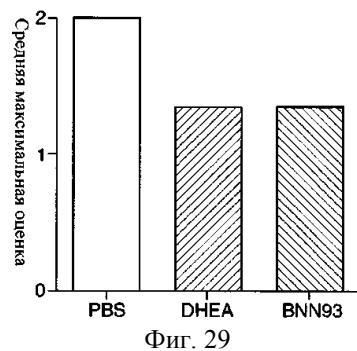
Фиг. 27б



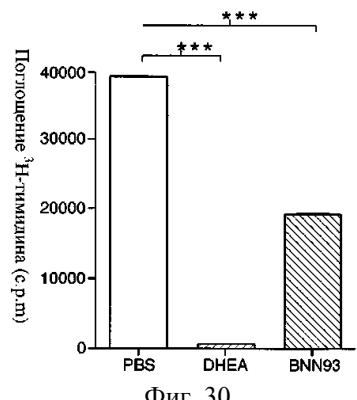
Фиг. 27с



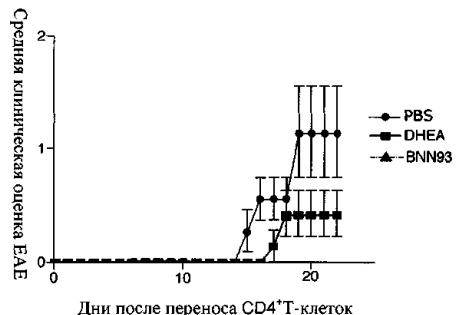
Фиг. 28



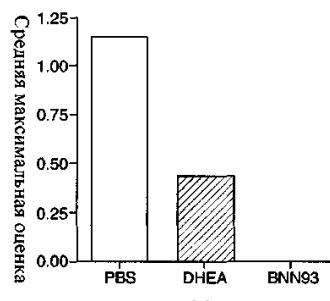
Фиг. 29



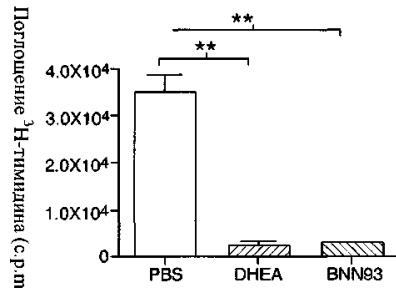
Фиг. 30



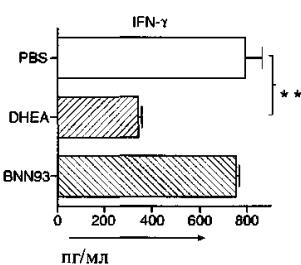
Фиг. 31



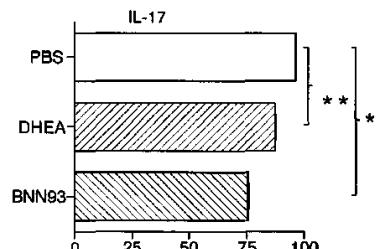
Фиг. 32



Фиг. 33а



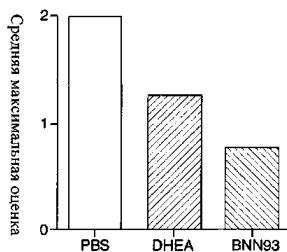
Фиг. 33б



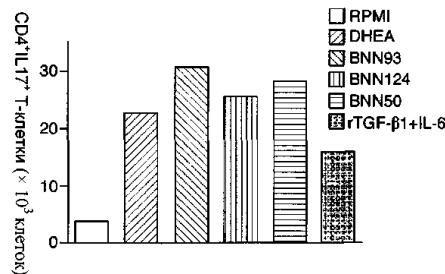
Фиг. 33с



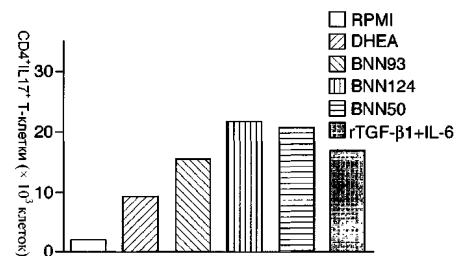
Фиг. 34



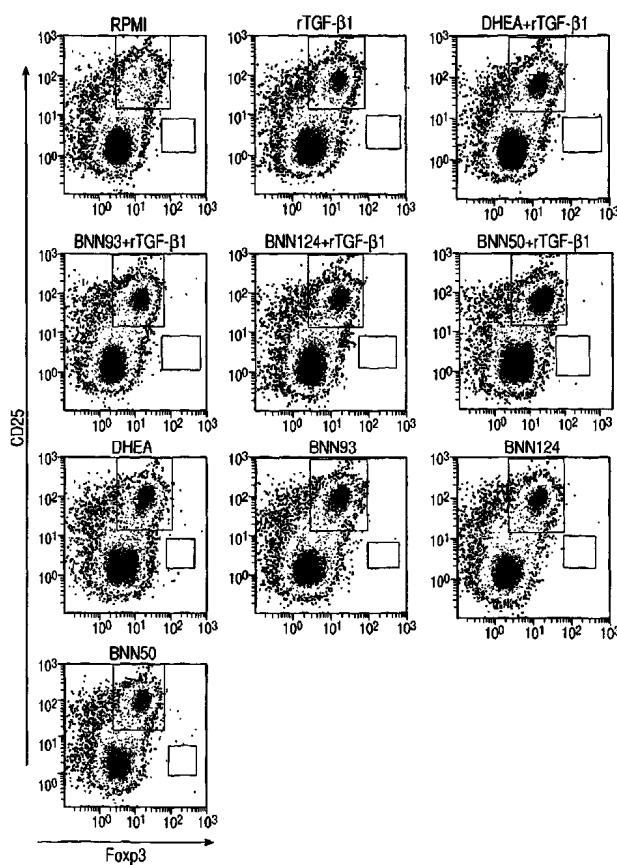
Фиг. 35



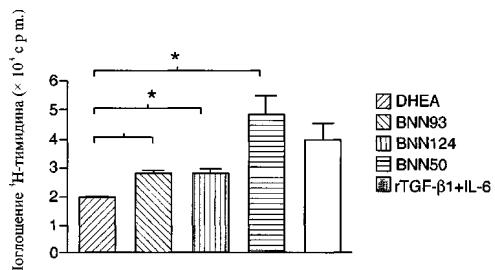
Фиг. 36



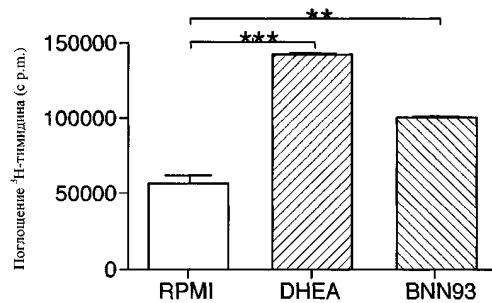
Фиг. 37



Фиг. 38



Фиг. 39



Фиг. 40

