

### Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к применению бензоильного производного 3-аминокарбазола, указанного ниже в табл. 1, для получения фармацевтического средства, пригодного для лечения расстройств, связанных с продукцией простагландина E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), таких как, например, воспалительные процессы, боль, лихорадка, опухоли, болезнь Альцгеймера и атеросклероз.

### Предпосылки создания изобретения

Интерес к простагландинам E<sub>2</sub> определяется их ролью биорегуляторов, которую они исполняют совместно с другими простаноидами, производимыми на метаболическом пути арахидоновой кислоты, и их ролью медиаторов воспаления.

Как известно, простаноиды являются классом соединений, который включает простагландины, тромбоксаны и простаглицлины. Простаноиды - это липидные медиаторы, которые действуют как локальные гормоны на клетки, находящиеся по соседству с тем местом, где они выделяются. Простаноиды производятся главным образом из арахидоновой кислоты посредством ферментативного окисления, активируемого циклооксигеназой. Циклооксигеназа (простагландин-G/H-синтаза) катализируют последовательное образование PGG<sub>2</sub> и PGH<sub>2</sub> из арахидоновой кислоты. Затем PGG<sub>2</sub> превращается специфическими ферментами в различные простаноиды. Таким путем образуются простагландины D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), простагландины E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), простагландины F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), простагландины I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) и тромбоксаны A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>).

Простаноиды не накапливаются нигде, кроме семенной жидкости. Под действием различных стимулов (воспалительных, иммунологических, гормональных стимулов, ультрафиолетового света, опухолевых агентов и механического раздражения) они синтезируются и выделяются во внеклеточное пространство, из которого они попадают в плазму, мочу и другие биологические жидкости.

Простаноиды играют важную роль в механизмах, защищающих функции органов и целостность тела. Это продемонстрировано их цитопротекторной функцией в желудочно-кишечном тракте, регуляцией функции почки и микроциркуляции, регуляцией агрегации тромбоцитов и свертывания крови, их участием в дифференцировке иммунных клеток и заживлении ран, в метаболизме костной ткани и в овуляции.

Особо следует подчеркнуть вазопротекторное действие PGI<sub>2</sub>, которое необходимо для поддержания сосудистого тонуса и для предотвращения тромбозов и атеросклероза на эндотелиальном уровне, и противовоспалительное и антипролиферативное действие PGD<sub>2</sub>, метаболит которого 15d-PGJ<sub>2</sub> способен проявлять противовоспалительные эффекты, активируя ядерные PPAR<sub>γ</sub>-рецепторы (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma; гамма-рецепторы, активируемые пероксисомальным пролифератором) (Inoue et al., "Feedback control of cyclooxygenase-2 expression through PPARgamma", J. Biol. Chem. 2000, 275 (36): 28028-28032).

Следовательно, простаноиды являются биорегуляторами; но они также являются важными медиаторами воспаления и других заболеваний.

В очагах воспаления особенно высок уровень PGE<sub>2</sub>, которые отвечают за различные патологические аспекты острого и хронического воспаления, такие как отек, образование эритемы, воспалительная боль, воспаление суставов и лихорадка. Фактически PGE<sub>2</sub> являются мощными провоспалительными и альгогенными агентами. Анти-PGE<sub>2</sub>-антитела обладают противовоспалительной активностью, а животные, лишенные рецепторов к PGE<sub>2</sub>, демонстрируют ослабленную реакцию на воспалительные стимулы (Portanova et al., "Selective neutralization of prostaglandin E<sub>2</sub> blocks inflammation, hyperalgesia, and interleukin 6 production in vivo", J. Exp. Med. 1996, 184(3):883; Ueno et al., "Major roles of prostanoid receptors IP and EP (3) in endotoxin-induced enhancement of pain perception", Biochem. Pharmacol. 2001, 62 (2) : 157-160) и отсутствие лихорадочной реакции на пирогенные стимулы (Ushikubi et al., "Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3", Nature 1998, 395:281-284). Вследствие их ингибирующего действия на циклооксигеназы 1 и 2 (FitzGerald and Patrono, "The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2", N. Engl. J. Med. 2001, 345 (6) : 433-442) нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (НПВС) и COX-2-селективные лекарственные средства, используемые в настоящее время, ослабляют симптомы, связанные с воспалением, посредством неселективного ингибирования образования эйкозаноидов (PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub> и TXA<sub>2</sub>).

COX-2-селективные лекарственные средства, доступные на рынке в настоящее время, обладают особенно низкой желудочно-кишечной токсичностью по сравнению с обычными нестероидными противовоспалительными средствами (НПВС). Однако эти COX-2-селективные лекарственные средства снижают продукцию сосудистого простаглицлина (PGI<sub>2</sub>, который продуцируется главным образом из COX-2), изменяя нормальное равновесие между протромботическими и антипротромботическими эйкозаноидами в пользу протромботических (TXA<sub>2</sub>, который продуцируется главным образом из COX-1) и повышают риск тромботических сердечно-сосудистых явлений (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).

Патентные заявки WO 01/07409 A1 и WO 02/096902 A1 относятся ко многим производным карбазола, представленным пространной общей формулой, содержащей основную группу 3-аминокарбазола,

замещенную в любом положении, включая атом азота, одной или более алифатическими и/или ароматическими органическими группами или остатками. В соответствии с этими документами, вышеуказанные производные карбазола способны селективно связываться с человеческим Y5-рецептором и модулировать его активность. Вследствие этого эти производные карбазола, вероятно, могли бы оказаться полезными для лечения голодовых и метаболических расстройств, таких как ожирение, нейрогенная булимия, нейрогенная анорексия, расстройства сна, морфиновая зависимость и эпилептические припадки.

### Сущность изобретения

В настоящее время с удивлением было обнаружено, что некоторые бензоильные производные 3-аминокарбазола способны селективно ингибировать продукцию простагландина  $E_2$  ( $PGE_2$ ).

Полезные соединения, соответствующие настоящему изобретению, способны снижать продукцию  $PGE_2$ , и поэтому они активны при всех патологических состояниях, при которых  $PGE_2$  действует в качестве медиатора (например, при боли, лихорадке и воспалительной реакции).

Полезные соединения, соответствующие настоящему изобретению, селективно ингибируют синтез  $PGE_2$ . Селективное ингибирование  $PGE_2$  выгодно тем, что при этом ингибируется мощный медиатор воспаления, боли и лихорадки, оставляя неизменной продукцию других простаноидов, таких как  $PGF_{2\alpha}$ ,  $TXA_2$ ,  $PGI_2$  и  $PGD_2$ , которые одновременно продуцируются в каскаде из арахидоновой кислоты. Поэтому все механизмы защиты функций органов и целостности тела, которые характерны для активности других простаноидов, остаются неизменными.

Подобно обычным нестероидным противовоспалительным средствам, полезные соединения, соответствующие настоящему изобретению, обладают противовоспалительными, антипиретическими и анальгетическими свойствами, и поэтому они активны при таких заболеваниях, как воспаление, боль, лихорадка, ревматоидный артрит и артроз. Кроме того, с учетом известных из литературы эффектов  $PGE_2$  при опухолях, болезни Альцгеймера и атеросклерозе, вероятно, полезные соединения настоящего изобретения могли бы найти применение и для предотвращения и лечения этих заболеваний.

Выгодной особенностью полезных соединений, соответствующих настоящему изобретению, является то, что они при этом обладают меньшими неблагоприятными эффектами, чем НПВС и COX-2-селективные лекарственные средства, которые при ингибировании циклооксигеназы неселективны в отношении других простаноидов. Особенностью полезных соединений, соответствующих настоящему изобретению, является пониженная желудочно-кишечная, почечная и сосудистая токсичность.

### Подробное описание изобретения

Поэтому в первом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения, выбранного из группы, состоящей из бензоильных производных 3-аминокарбазола, указанных ниже в табл. 1, для получения лекарственного средства для предотвращения и лечения расстройств, выбранных из группы, включающей воспалительные процессы, боль, лихорадку, опухоли, болезнь Альцгеймера и атеросклероз.

Кроме того, во втором аспекте, это изобретение относится к способу предотвращения и лечения расстройства, выбранного из группы, включающей воспалительные процессы, боль, лихорадку, опухоли, болезнь Альцгеймера и атеросклероз, в котором вводят индивидууму терапевтически эффективное количество соединения, выбранного из группы, состоящей из бензоильных производных 3-аминокарбазола, указанных ниже в табл. 1.

Типичные примеры воспалительных процессов, при которых это изобретение может оказаться эффективным: отек, эритема, воспаление суставов, ревматоидный артрит, артроз и т.п.

Типичные примеры опухолей, при которых это изобретение может оказаться эффективным: карциномы и аденокарциномы толстой и прямой кишки и легких.

Как правило, бензоильные производные 3-аминокарбазола в соответствии с настоящим изобретением вводятся млекопитающему. Предпочтительно они вводятся человеку.

Полезные соединения в соответствии с этим изобретением выбирают из группы, содержащей бензоильные производные 3-аминокарбазола формулы (I), приведенные ниже в табл. 1.

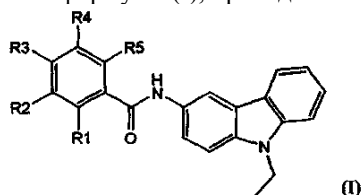


Таблица 1

Соединение	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

Полезные соединения в соответствии с настоящим изобретением можно приготовить способами, известными из литературы, например, описанными в патентной заявке WO 02/096902 A1.

Предпочтительно лекарственное средство в соответствии с этим изобретением готовят в виде пригодных лекарственных форм.

Примерами пригодных лекарственных форм являются таблетки, капсулы, таблетки, покрытые оболочкой, гранулы, растворы и сиропы для перорального введения, кремы, мази и медицинские пластыри для местного применения, суппозитории для ректального введения и стерильные растворы для инъекций, аэрозоли или офтальмологические средства.

Благоприятным является то обстоятельство, что лекарственные формы готовят в виде, обеспечивающем контролируемое во времени выделение соединения, указанного в табл. 1. Фактически, в зависимости от природы способа лечения необходимая длительность выделения может быть очень короткой, нормальной или пролонгированной.

Лекарственные формы могут также содержать другие обычные ингредиенты, такие как консерванты, стабилизаторы, поверхностно-активные вещества, буферы, соли, регулирующие осмотическое давление, эмульгаторы, подсластители, красящие агенты, ароматизаторы и т.п.

Кроме того, если это требуется при особом способе лечения, лекарственные формы в соответствии с этим изобретением включают другие фармакологически активные ингредиенты, которые применимы при одновременном введении.

Количество соединения, соответствующего этому изобретению, в вышеуказанных лекарственных формах можно менять в широком интервале в зависимости от известных факторов, таких как, например, тип того расстройства, которое требуется лечить, тяжесть этого расстройства, масса тела пациента, лекарственная форма, выбранный путь введения, дневное количество доз и эффективность выбранного соединения. Несмотря на это, оптимальные количества могут быть легко и нормальным образом определены квалифицированными специалистами.

В типичном случае количество соединения в лекарственных формах, соответствующих этому изобретению, таково, чтобы обеспечить вводимый уровень между 0,0001 и 100 мг/кг/день. Более предпочтительно между 0,01 и 10 мг/кг/день.

Лекарственные формы фармацевтической композиции, соответствующей этому изобретению, можно приготовить, используя способы, хорошо известные фармацевтическим химикам; они включают смешивание, гранулирование, прессование, растворение, стерилизацию и т.п.

Следующая экспериментальная часть проиллюстрирует изобретение более подробно, не ограничивая его ни в каком аспекте.

#### Экспериментальная часть

##### Испытание активности in vitro

Это испытание используют для оценки способности ингибировать продукцию PGE<sub>2</sub> и селективности по отношению к продукции PGF<sub>2α</sub> для каждого проверяемого соединения.

Использовали линию клеток A549 аденокарциномы легких человека, которая особенно чувствительна к стимуляции провоспалительными цитокинами, такими как IL-1<sub>β</sub>, и, в ответ на эту стимуляцию, особенно активна в продуцировании и выделении двух простагландин, PGE<sub>2</sub> и 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).

Клетки стимулировали IL-1<sub>β</sub> (1 нг/мл) и одновременно обрабатывали проверяемым соединением в течение 18 ч в подходящей культуральной среде (DMEM - Dulbecco's Modified Eagle Medium), обогащен-

ной 5% телячьей фетальной сыворотки и L-глутамином (с конечной концентрацией 4 мМ) в инкубаторе при 37°C и при концентрации CO<sub>2</sub> 5%.

После инкубации определяли количества произведенных и выделенных в супернатант PGE<sub>2</sub> и PGF<sub>2α</sub>; для этих анализов использовали иммуноферментный набор (производимый и выпускаемый на рынок Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI, USA).

В качестве референсного соединения использовали индометацин (Sigma-Aldrich), нестероидное противовоспалительное средство, которое показало такое же ингибирование обоих измеряемых проста-ноидов.

Соединения А, В и С, обладающие одной и той же общей формулой (I), описанной выше, и заместителями, указанными в табл. 2, использовали в качестве соединений сравнения. Приготовление этих соединений сравнения сходно с приготовлением соединений в соответствии с этим изобретением.

Таблица 2

Соединение	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
А	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H
В	H	H	H	H	H
С	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H

Результаты, показанные в табл. 3, выражены в процентах ингибирования продукции PGE<sub>2</sub> и PGF<sub>2α</sub> при концентрации 10 мкМ.

Таблица 3

Соединение	% ингибирования 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
А	98	95
В	46	40
С	43	49
Индометацин	100	100

В виде примера табл. 4 показывает значения pIC<sub>50</sub> для некоторых соединений, соответствующих настоящему изобретению, где pIC<sub>50</sub> представляет обратную величину логарифма IC<sub>50</sub>, которая в свою очередь представляет такую концентрацию соединения, которая ингибирует 50% продукции PGE<sub>2</sub> или PGF<sub>2α</sub> в стимулированных клетках, которые, однако, не обрабатывали этим соединением.

Таблица 4

Соединение	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
Индометацин	8,3	8,6

#### Испытание активности in vivo

Это испытание позволяет оценить активность соединений настоящего изобретения в ноцицептивном тесте воспалительного происхождения. Для этой цели использовали соединение 1 в экспериментальной модели, которая провоцирует болевое поведение, индуцированное уксусной кислотой у мышей (Stock, J.L. et al., J. Clin. Inv. 2001, 107:325-331). В этом тесте использовали самок мышей CD-1 с массой тела 25-30 г.

Животным перорально вводили соединение 1 (30 мг/кг), суспендированное в метилцеллюлозе (МТС). Контрольным животным перорально вводили только носитель (МТС).

Через один час после этого введения животным внутривенно инъецировали уксусную кислоту (0,7% по объему в физиологическом растворе, 16 мкл/г массы тела) для индукции воспалительной боли и проверяли эффекты этого введения по ноцицептивной реакции.

Количество растяжений, которое представляет оценочный параметр ноцицептивной реакции, измеряли непосредственно после введения уксусной кислоты и в течение последующих 20 мин. Полученные результаты (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение) показаны ниже в табл. 5.

Таблица 5

Соединение	Количество растяжений за 20 мин
МТС	58 $\pm$ 5
МТС + соединение 1	40 $\pm$ 5

#### Испытание на первичных эндотелиальных клетках человека (HUVEC)

Это испытание используют для оценки способности соединений, указанных в табл. 2, ингибировать продукцию PGI<sub>2</sub>.

Отсутствие ингибиторной активности по отношению к этому простаноиду может свидетельствовать о сохранении вазопротекторного действия PGI<sub>2</sub>; оно также дает полезную фармакологическую информацию об отсутствии неблагоприятных побочных эффектов в эндотелии.

В этом тесте использовали соединение 1.

Действие испытываемого соединения оценивали в клетках HDVEC в базальных условиях и при стимуляции (J. Immunol. 1989 June 1; 142(11):3993-9).

Результаты показаны в табл. 6 в процентах ингибирования в сравнении с контрольной ферментативной активностью.

В качестве референсного соединения использовали индометацин.

Таблица 6

Соединение (10 мкМ)	Тест на секрецию PGI <sub>2</sub>	% ингибирования
1	Базальные условия (HUVEC)	0
1	Стимуляция (HUVEC)	0
Индометацин	Стимуляция (HUVEC)	100

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения, выбранного из группы, включающей бензоильные производные 3-аминокарбазола формулы (I), указанные ниже в табл. 1:

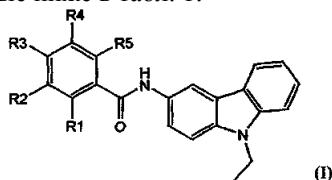


Таблица 1

Соединение	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 получения лекарственного средства для предотвращения или лечения расстройства, выбранного

из группы, включающей воспалительные процессы, воспалительную боль, лихорадку, опухоли, болезнь Альцгеймера и атеросклероз.

2. Применение по п.1, в котором воспалительный процесс выбран из группы, включающей отек, эритему, воспаление суставов, ревматоидный артрит и артроз.

3. Применение по п.1, в котором опухоль выбрана из группы, включающей карциномы и аденокарциномы толстой и прямой кишки и легких.

4. Способ предотвращения и лечения расстройства, выбранного из группы, включающей воспалительные процессы, воспалительную боль, лихорадку, опухоли, болезнь Альцгеймера и атеросклероз, в котором индивидууму вводят терапевтически эффективное количество соединения, выбранного из группы, включающей бензоильные производные 3-аминокарбазола формулы (I), указанные ниже в табл. 1:

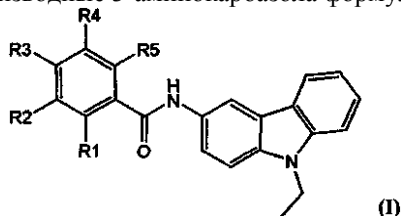


Таблица 1

Соединение	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. Способ по п.4, в котором воспалительный процесс выбран из группы, включающей отек, эритему, воспаление суставов, ревматоидный артрит и артроз.

6. Способ по п.4, в котором опухоль выбрана из группы, включающей карциномы и аденокарциномы толстой и прямой кишки и легких.

