



(51) МПК
C07C 203/04 (2006.01)
A61K 31/04 (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011118522/04, 23.01.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.01.2007

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
03.02.2006 US 60/764.755

Номер и дата приоритета первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:

2008135153 03.02.2006

(43) Дата публикации заявки: 20.11.2012 Бюл. № 32

(45) Опубликовано: 20.08.2015 Бюл. № 23

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: WO 2004000273 A1, 31.12.2003 . WO
03013499 A2, 20.02.2003 . RU 2248348 C2,
20.03.2005

Адрес для переписки:

121087, Москва, а/я 33, В.В. Курышеву

(72) Автор(ы):

КЛЕМЕНТИ Эмилио (IT),
КОССУ Джулио (IT),
БРУНЕЛЛИ Сильвия (IT),
ОНГИНИ Эннио (IT)

(73) Патентообладатель(и):

Никокс Сайенс Ирландия (IE)

RU 2 560 144 C2

RU 2 560 144 C2

RUSSIAN FEDERATION



(19) RU⁽¹¹⁾ 2 560 144⁽¹³⁾ C2

(51) Int. Cl.
C07C 203/04 (2006.01)
A61K 31/04 (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2011118522/04, 23.01.2007

(24) Effective date for property rights:
23.01.2007

Priority:

(30) Convention priority:
03.02.2006 US 60/764.755

Number and date of priority of the initial application,
from which the given application is allocated:
2008135153 03.02.2006

(43) Application published: 20.11.2012 Bull. № 32

(45) Date of publication: 20.08.2015 Bull. № 23

Mail address:

121087, Moskva, a/ja 33, V.V. Kuryshhev

(72) Inventor(s):

KLEMENTI Ehmilio (IT),
KOSSU Dzhulio (IT),
BRUNELLI Sil'vija (IT),
ONGINI Ehnnio (IT)

(73) Proprietor(s):

Nikoks Sajens Irlandija (IE)

R U 2 5 6 0 1 4 4 C 2

(54) NITROGEN OXIDE-RELEASING COMPOUNDS

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceutics.

SUBSTANCE: claimed invention relates to nitrogen oxide-releasing compounds, applied for retardation of development or complete reversion of muscular dystrophy, such as Duchenne dystrophy or Becker

dystrophy.

EFFECT: obtaining compounds for retardation of development or complete reversion of muscular dystrophies.

4 cl, 2 tbl, 1 ex

Настоящее изобретение относится к выделяющим оксид азота соединениям, применяемым для задержки развития или полной реверсии мышечных дистрофий, типа дистрофий Дюшенна-Беккера.

Мышечные дистрофии вызываются прогрессирующей дегенерацией волокон

5 скелетной мускулатуры. Нехватка одного из нескольких белков, локализованных в клеточной мембране или во внутренних мембранах, увеличивает вероятность повреждения при сокращении и, в конечном счете, приводит к дегенерации волокон, сопровождающейся серьезным местным воспалением с инфильтрацией иммунокомпетентных клеток.

10 Мышечные дистрофии охватывают группу наследственных, прогрессирующих мышечных расстройств, клинически отличающиеся селективным распространением слабости скелетной мускулатуры. Двумя самыми общими формами мышечной дистрофии являются дистрофия Дюшенна и дистрофия Беккера, каждая являющаяся результатом наследственной мутации гена, отвечающего за дистрофию, который 15 локализован в локусе Хр21. Другие дистрофии включают, но не ограничиваются ими, мышечную дистрофию пояса нижних конечностей, плече-лопаточно-лицевую миопатию (Ландузи-Дежерина), врожденную мышечную дистрофию, миотоническую дистрофию и мышечную дистрофию Эмери-Дрейфуса.

20 В самой серьезной форме, типа мышечной дистрофии Дюшенна, регенерация иссякает и скелетная мышца прогрессирующе заменяется жировой и фиброзной тканью. Это состояние приводит пациента к состоянию прогрессирующей слабости и в конечном счете к смерти в результате нарушения дыхания и/или сердечной недостаточности.

25 Симтомы мышечной дистрофии Дюшенна встречаются почти исключительно у мужчин и обнаруживаются приблизительно в 3-7-летнем возрасте, а с 10-12 лет большая часть пациентов связана с инвалидным креслом и многие умирают приблизительно в 20-летнем возрасте из-за осложнений дыхания.

30 Из различных медикаментов, которые исследовались в качестве потенциальных средств для лечения мышечной дистрофии Дюшенна, только кортикоステроиды, типа преднизона, преднизолона и дефлазакорта оказались способны обеспечить временное улучшение. Это улучшение является главным образом результатом замедления скорости развития заболевания или стабилизации мышечной силы и мышечной функции. Терапия кортикостероидами также приводит к побочным эффектам; пока еще нет согласия относительно их использования как эталона при лечении.

35 Кортикостероиды, типа преднизона, как полагают, действуют, блокируя иммунную клеточную активацию и инфильтрацию, которые ускоряются повреждением мышечных волокон в результате болезни.

40 Длительное лечение кортикостероидами в качестве средств от мышечной дистрофии связано с неблагоприятными эффектами, такими как остеопороз, гипертония и синдром Кушинга, увеличение веса, катаракта, недостаточный рост, симптомы со стороны желудочно-кишечной системы, изменение поведения в случае преднизолона и увеличения веса и катаракта в случае дефлазакорта.

45 Bredt D.S. в Proc. Natl. Acad. Sci. US 95 (1998), 14592-14593 сообщает, что оксид азота (NO), генерируемый мышечной NO синтазой, которая структурно и функционально связана с комплексом дистрофина в сарколемме, участвует в физиологическом развитии и функционировании скелетной мускулатуры, регулируя вазодилатацию и таким образом поставляя кислород при физической нагрузке, увеличивая поглощение глюкозы в миофибрах и регулируя деятельность ферментов, связанную с энергетическим метаболизмом клетки.

EP 759899 описывает нитрооксипроизводные нестероидных противовоспалительных средств (NSAID_s). Приведенные в документе фармакологические данные показывают, что эти соединения обладают хорошей противовоспалительной, болеутоляющей и антитромботической активностями и улучшенной желудочной переносимостью, чем
5 соответствующие исходные препараты. В документе не сообщается, что эти соединения являются активными для лечения мышечных дегенеративных заболеваний.

WO 2004/105754 описывает нитропроизводные статинов, которые проявляют сильное противовоспалительное, антитромботическое и антиагрегантное действие. В документе указано, что нитропроизводные статинов могут использоваться для лечения или
10 предотвращения сердечно-сосудистых заболеваний и заболеваний периферических сосудов и всех расстройств, связанных с эндотелиальной дисфункцией, таких как сосудистые осложнения при диабете и атеросклерозе. В этом документе также не сообщается об активности этих соединений при лечении дегенеративных мышечных заболеваний.

15 WO 00/53191 раскрывает применение оксида азота (NO), доноров NO, ингибиторов NO активности или регуляторов продукции NO для лечения мышечных заболеваний, которые включают дистрофию Дюшенна, дистрофию Беккера, мышечную дистрофию пояса нижних конечностей, плече-лопаточно-лицевую миопатию (Ландузи-Дежерина), врожденную мышечную дистрофию, миотоническую дистрофию и мышечную
20 дистрофию Эмери-Дрейфуса.

В особенности документ описывает результаты исследования дистрофичных мышей mdx, обработанных дефлазакортом, дефлазакортом плюс L-NAME (ингибитор фермента синтазы оксида азота (NOS)) или дефлазакортом плюс L-аргинин (донор NO). У обработанных мышей забирали мышечную ткань передней большеберцовой мышцы и мышечную ткань диафрагмы и оценивали индекс центральной нуклеации (CNI), который является удобным показателем индекса повреждения мышцы. Результаты показывают, что добавление к дефлазакорту донора NO не улучшает мышечный статус у мышей mdx и что L-NAME увеличивает полезное действие дефлазакорта только на диафрагме.
25 Автор заключает, что данные результаты показывают, что L-NAME и другие ингибиторы NOS могут использоваться для улучшения действия стероидов при использовании *in situ*.

Таким образом, остается потребность в идентификации терапевтических агентов, которые замедляют повреждение мышечных волокон и задерживают начало хронической инвалидности у пациентов, страдающих мышечными дистрофиями, но вызывают меньшую степень атрофии скелетной мускулатуры, чем используемые в настоящее время способы лечения.
35

Неожиданно установлено, что высвобождающие оксид азота соединения формулы M-X-Y-ONO₂, где M - остаток лекарственного средства, представляющего собой NSAID или статин, эффективны для задержки или полной реверсии хронических (лечения) мышечных дистрофий. Кроме того, они вызывают меньше неблагоприятных побочных эффектов, их хорошо переносят пациенты, и поэтому они могут использоваться в курсах длительной терапии.
40

Объектом настоящего изобретения являются высвобождающие оксид азота соединения, применяемые для получения лекарственных средств формулы (Ia)

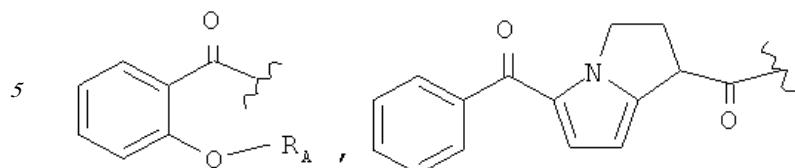


(Ia)

или их энантиомеров или диастереомеров для лечения мышечных дистрофий, где в

общей формуле (Ia) M, X и Y имеют следующие значения:

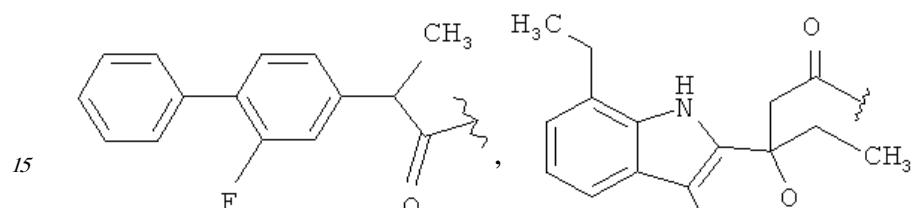
M - остаток, выбранный из:



(I)

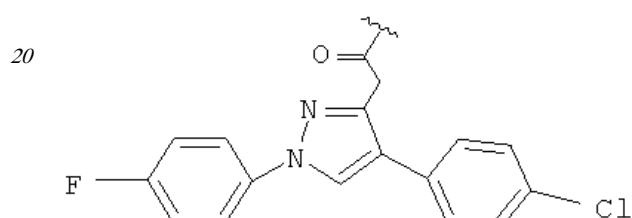
(II)

10 где R_A - атом водорода или -C(O)CH₃,

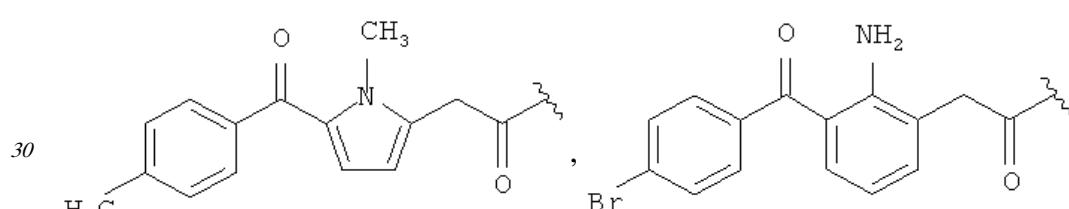


(III)

(IV)

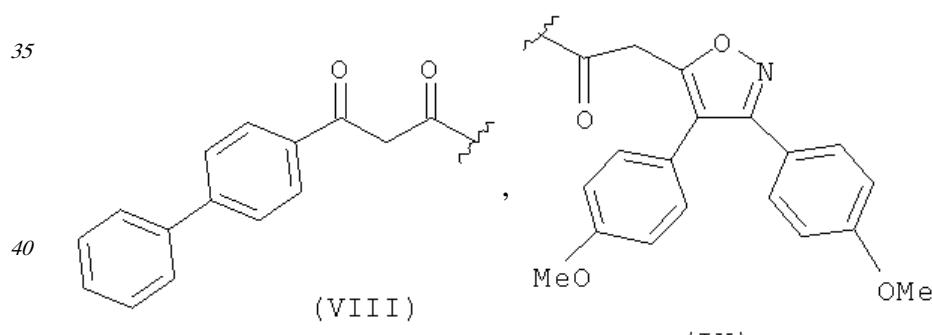


(V)



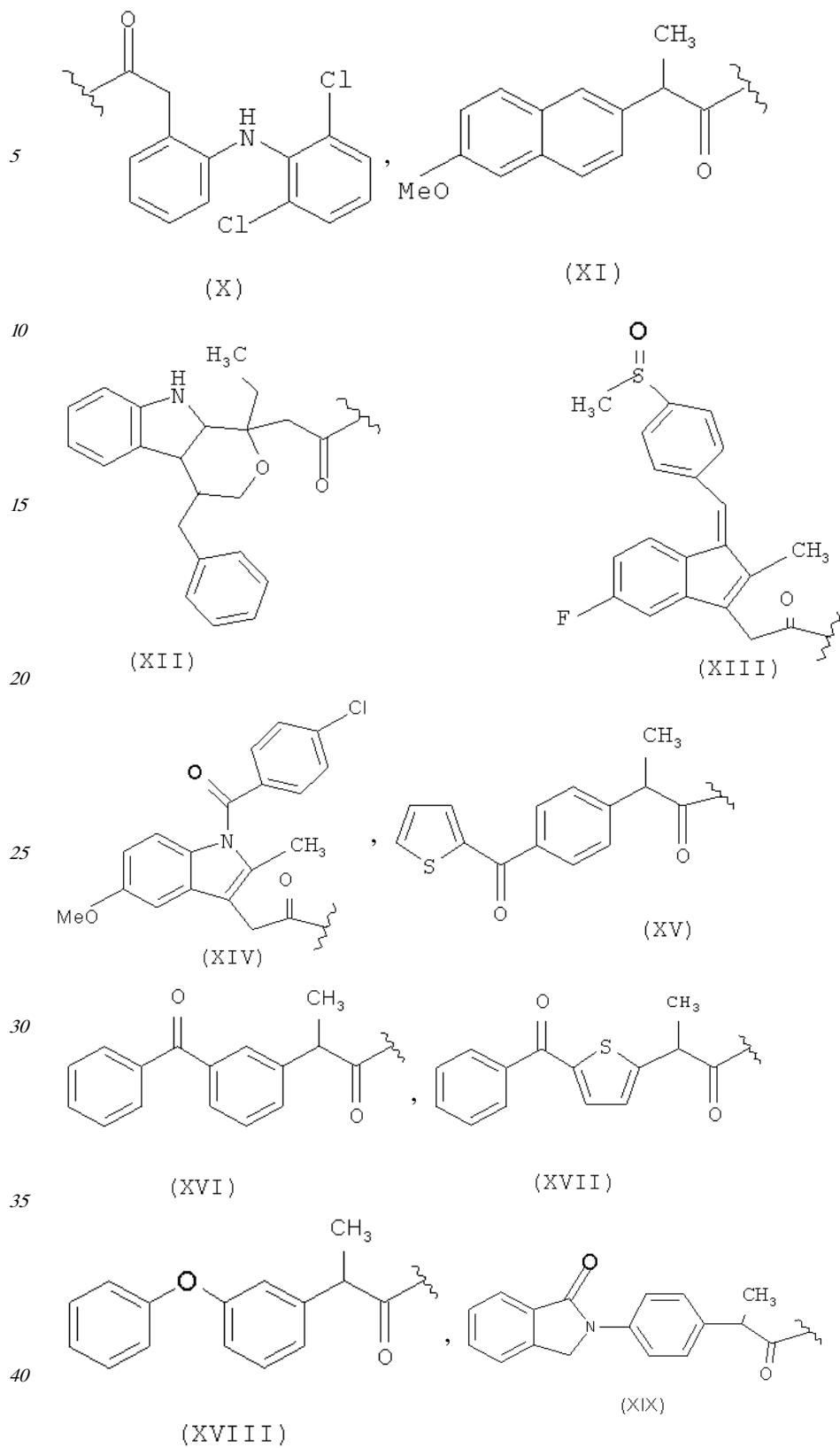
(VI)

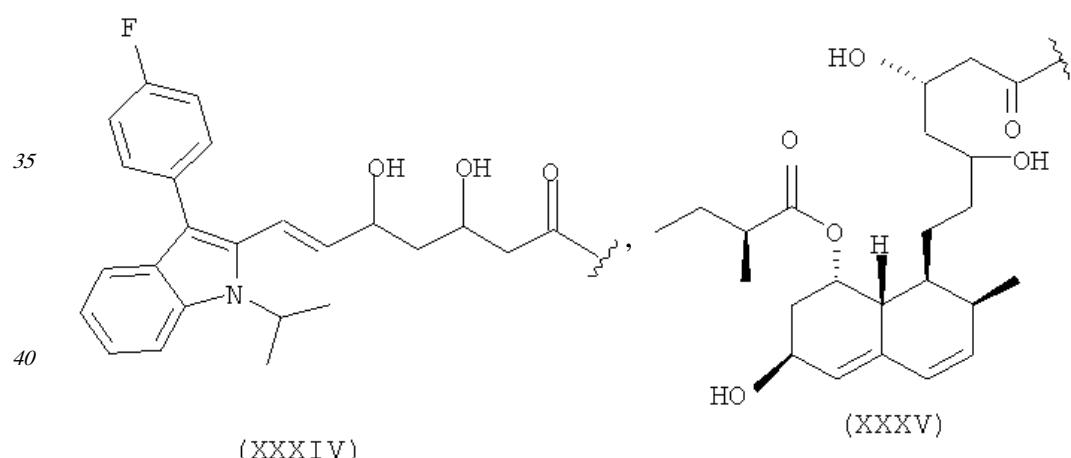
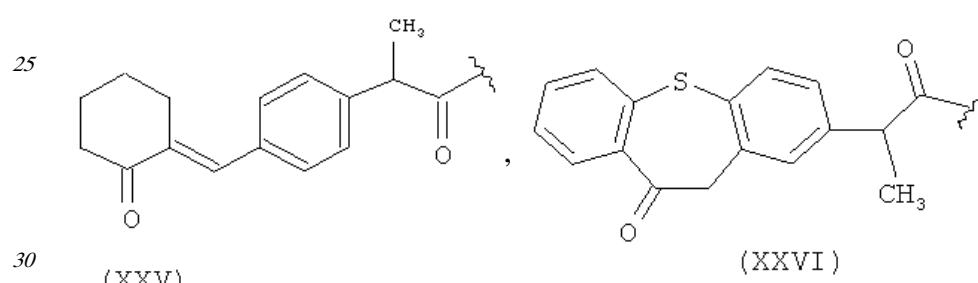
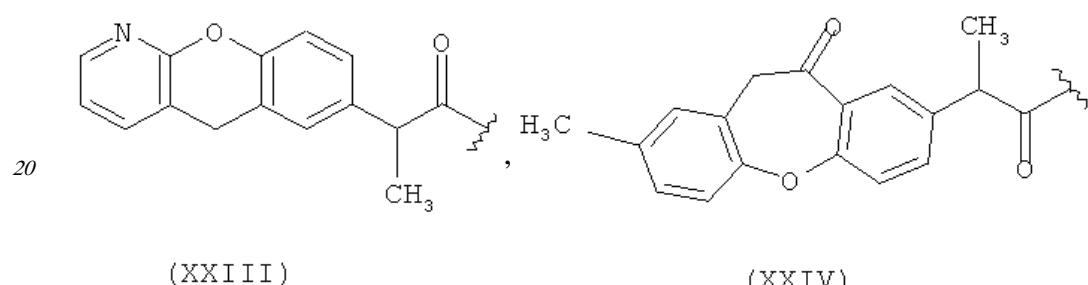
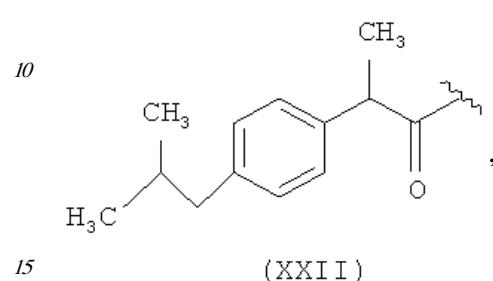
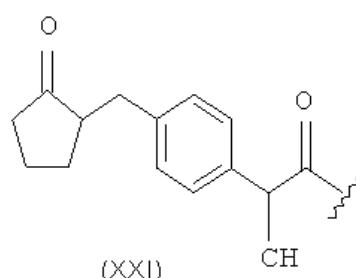
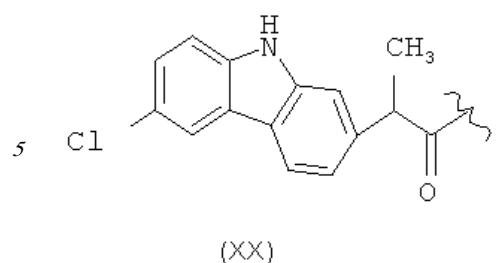
(VII)

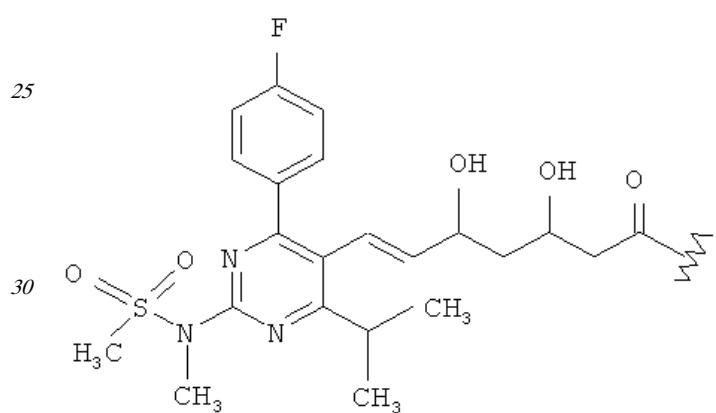
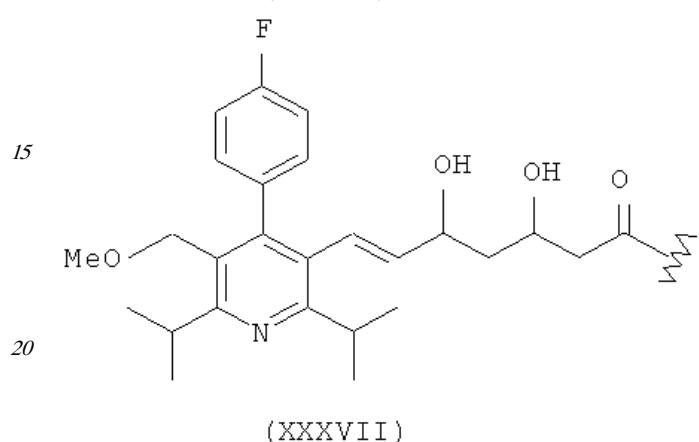
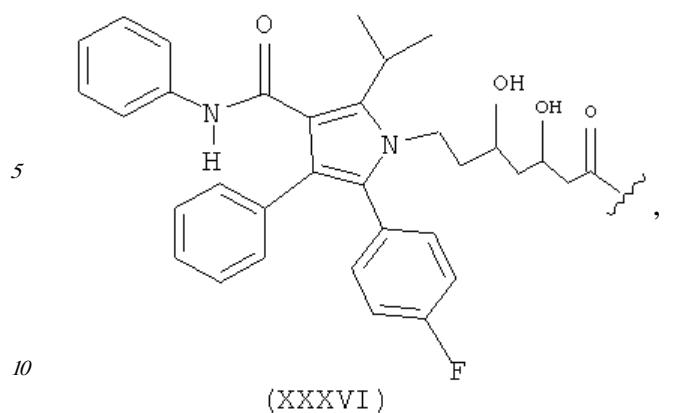


(VIII)

(IX)





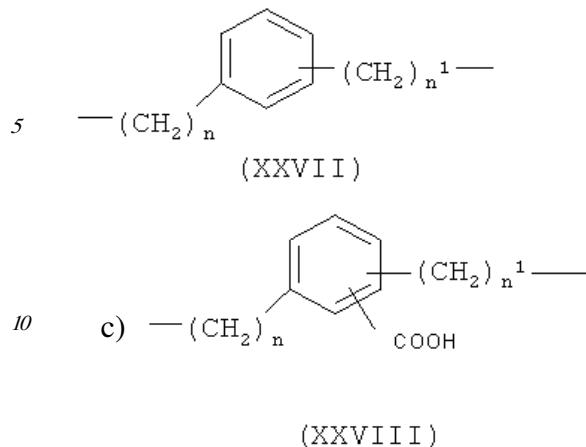


X - представляет собой -O-, -S- или -NR¹-, где R¹ - представляет Н или линейный или разветвленный С₁-С₆ алкил;

Y - двухвалентный радикал, имеющий следующие значения:

- 40 a)
- прямой или разветвленный С₁-С₂₀ алкилен, преимущественно С₁-С₁₀, необязательно замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из: атомы галогена, гидрокси, -ONO₂ или Т, где Т представляет собой -OC(O)(C₁-C₁₀ алкил) -ONO₂ или -O(C₁-C₁₀ алкил)-ONO₂; более предпочтительно Y представляет собой -С₁-С₁₀ алкилен;
 - 45 - С₅-С₇ циклоалкилен, необязательно замещенный линейной или разветвленной группой С₁-С₁₀ алкил, предпочтительно СН₃;

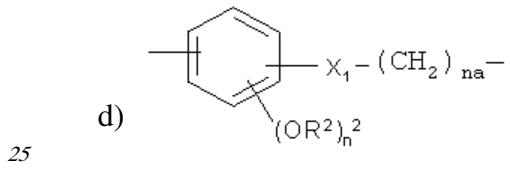
b)



где n - целое число от 0 до 20, предпочтительно n - целое число от 0 до 5, более
 15 предпочтительно n равно 0;

n¹ - целое число от 1 до 20, предпочтительно n¹ - целое число от 1 до 5, более
 предпочтительно n¹ равно 1;

при условии, что когда Y выбран из двухвалентных радикалов, указанных под b) и
 20 c), тогда группа -ONO₂ в формуле (I) связана с -(CH₂)_n¹-;

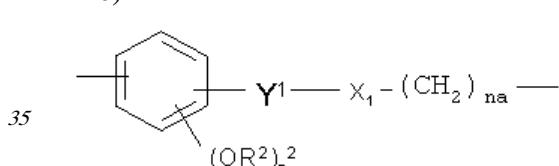


где X₁=-OCO- или -COO-, и R² означает H или CH₃;

30 na - целое число от 0 до 20; предпочтительно n - целое число от 1 до 5;

n² - целое число от 0 до 2;

e)



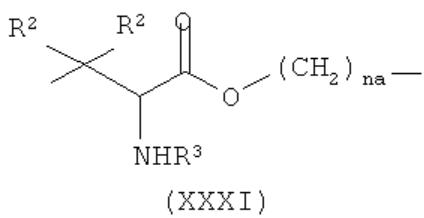
где

40 Y¹ - означает -CH₂-CH₂-(CH₂)_n²- ; или -CH=CH-(CH₂)_n²- ;

X₁, na, n² и R² как указано выше;

f)

45

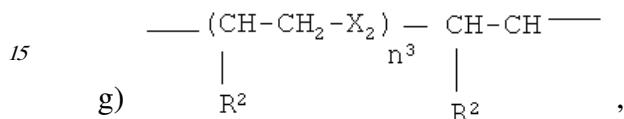


где

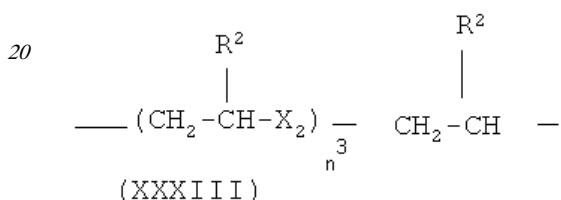
на и R² как указано выше, R³ означает H или -COCH₃;

10 при условии, что когда Y выбран из двухвалентных радикалов, указанных под d) и f), тогда группа -ONO₂ в формуле (I) связана с -(CH₂)_{na}-;

при условии, что когда X - означает -NR₁, где R¹ как указано выше, Y не может быть f);



(XXXII)



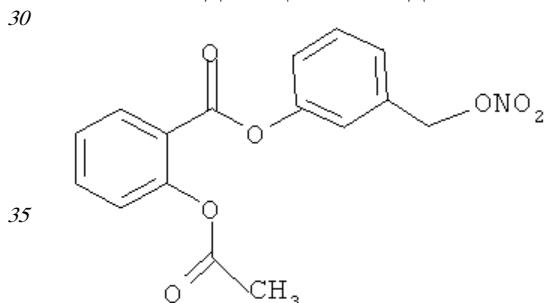
(XXXIII)

где

X₂ означает -O- или -S-;

n³ - целое число от 1 до 6, предпочтительно от 1 до 4, и R² как определено выше.

Одно предпочтительное воплощение изобретения включает применение высвобождающего оксид азота лекарственного средства формулы (Ib)

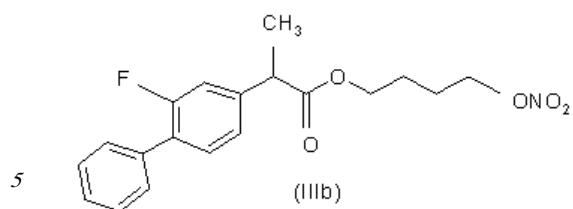


(Ib)

40 для лечения мышечных дистрофий; соединение формулы (Ib) известно как 3-(нитрооксиметил)фениловый эфир 2-(ацетилокси)бензойной кислоты.

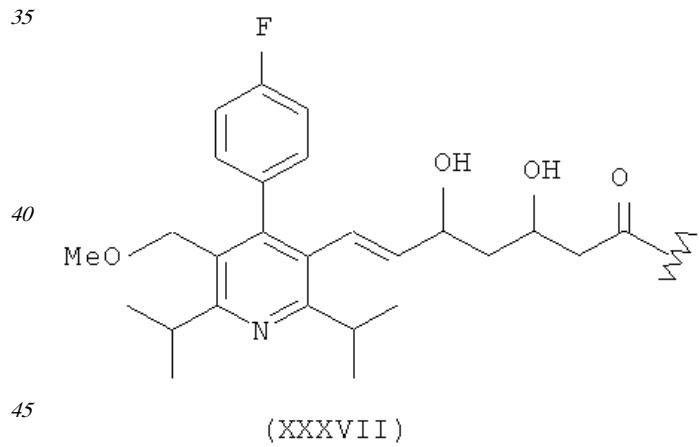
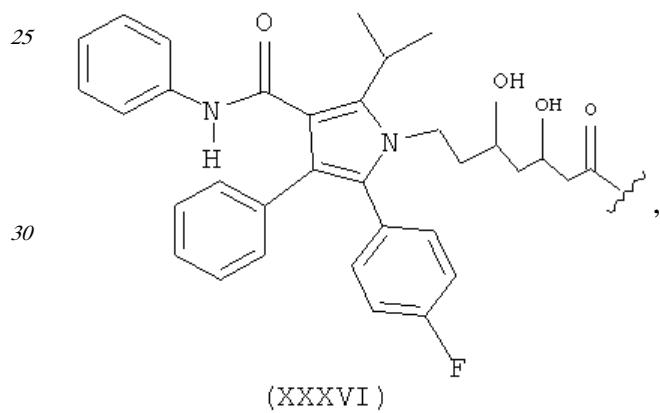
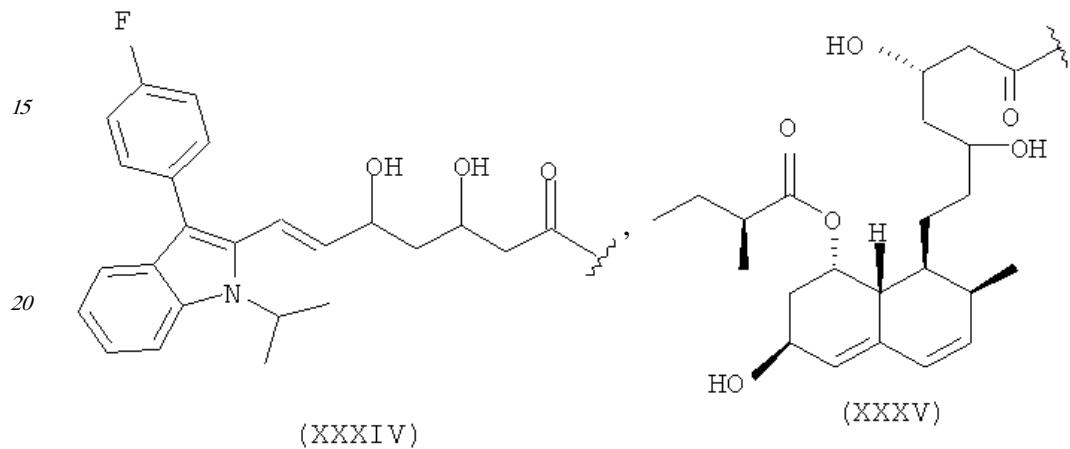
Другое предпочтительное воплощение изобретения включает применение высвобождающего оксид азота лекарственного средства формулы (IIIb) или его энантиомеров

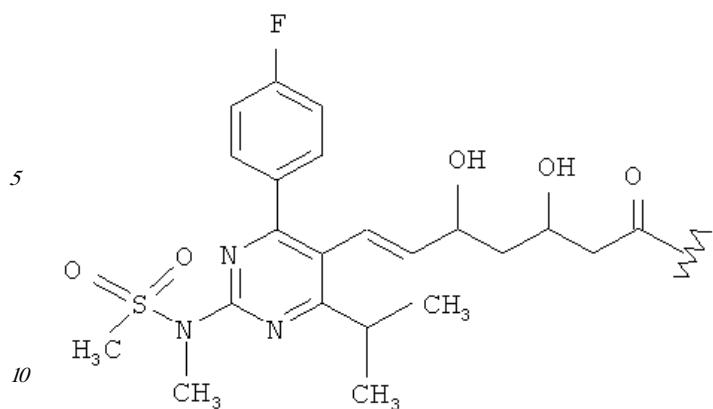
45



для задержания или полной реверсии мышечных дистрофий; соединение формулы (IIIb) известно как 4-нитрооксибутиловый эфир 2-фтор-альфа-метил-4[1,1' - бифенил] 4-уксусной кислоты.

10 Другое предпочтительное воплощение изобретения включает применение высвобождающего оксид азота лекарственного средства формулы (Ia) для лечения мышечных дистрофий, где в формуле (Ia) M выбирают из группы, состоящей из:

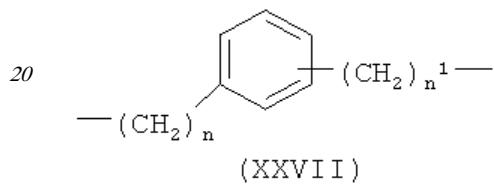




(XXXIX)

Х представляет атом кислорода,

- 15 Y выбирают из:
- прямой C₁-C₁₀ алкидлен;
b)

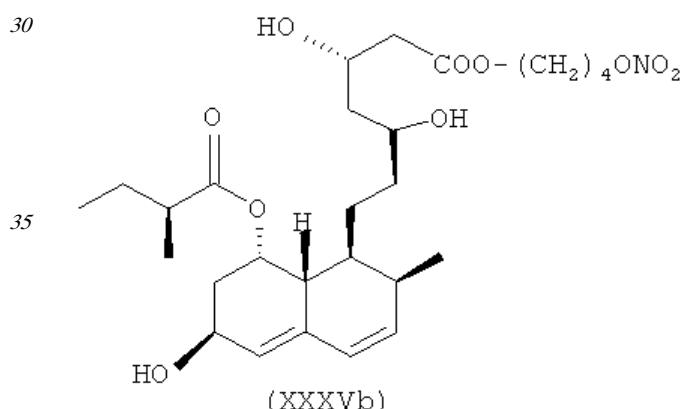


где

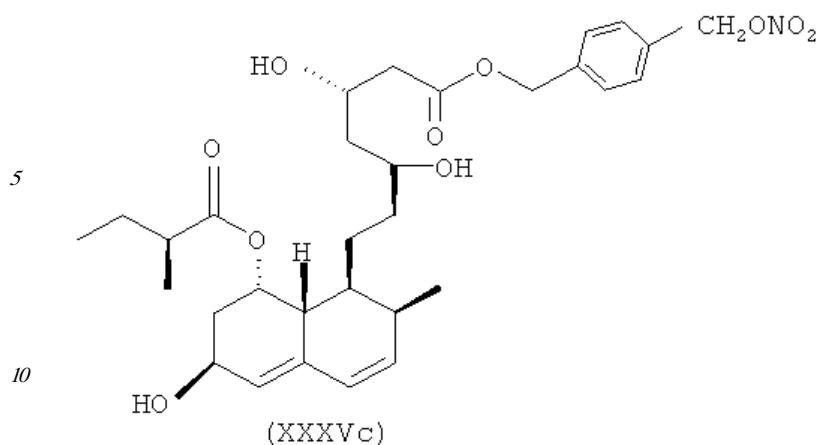
n - целое число от 0 до 5; и

n¹ - целое число от 1 до 5, более предпочтительно n¹ равно 1.

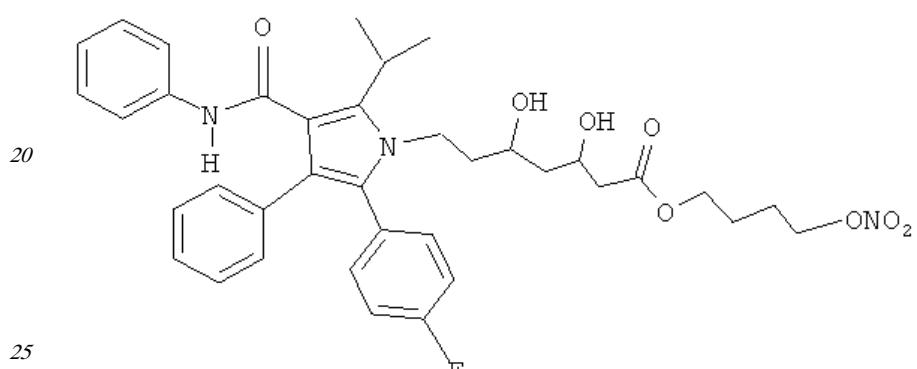
Другое предпочтительное воплощение изобретения представляет собой применение для лечения мышечных дистрофий высвобождающего оксид азота лекарственного средства, выбранного из группы, состоящей из:



известного как 4-(нитрооксиметил)бензиловый эфир [1S-[1 α (δ S*, δ S*), 2 α , 6 α , 8 δ -(R*), 8 α α]-1,2,6,7,8,8 α -гексагидро- β , δ , 6-тригидрокси-2-метил-8-(2-метил-1-оксобутокси)-1-нафталенгептановой кислоты или как 4-(нитрооксиметил)бензиловый эфир правастатина,

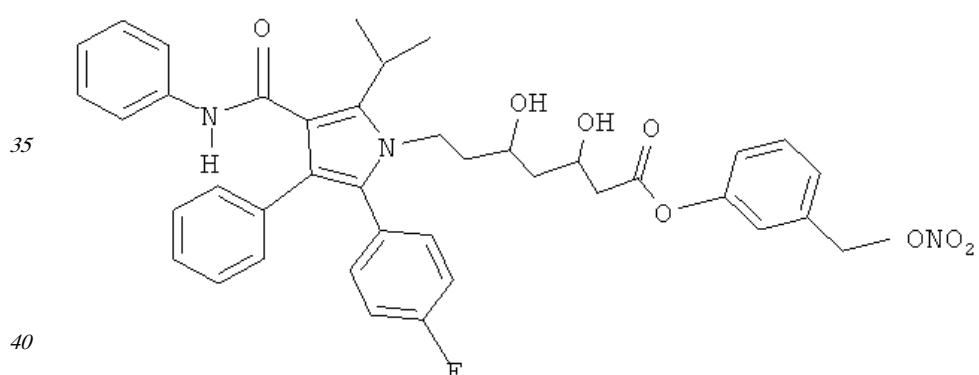


известного как 4-(нитрооксиметил)бензиловый эфир [1S-[1 α (β S*, δ S*), 2 α ,6 α , 8 β -(R*)
8 α a]]-1,2,6,7,8,8a-гексагидро - β , δ , 6-тригидрокси-2-метил-8-(2-метил-1-оксобутилки)-
1-нафталенгептановой кислоты или как 4-(нитрооксиметил)бензиловый эфир
правастатина,
15



(XXXVII lb)

известного как 3-(нитроокси)бутиловый эфир (β R, δ R)-2-(4-фторфенил)- β , δ -
30 дигидрокси-5-(1-метилэтил)-3-фенил-4-[фениламино]карбон-ил]-1Н-пиррол-1-
гептановой кислоты или как 3-(нитроокси)бутиловый эфир аторвастатина;



(XXXVII lc)

известного как 3-(нитрооксиметил)бензиловый эфир (β R, δ R)-2-(4-фторфенил)- β , δ -
дигидрокси-5-(1-метилэтил)-3-фенил-4-[фениламино]карбон-ил]-1Н-пиррол-1-
45 гептановой кислоты или 3-(нитрооксиметил)бензиловый эфир аторвастатина.

Предназначенные для введения дозы определяются в зависимости от, например, возраста, массы тела, симптомов, желательного терапевтического эффекта, способа введения и продолжительности лечения. Для взрослого человека одноразовые дозы

составляют от 1 мг до 1000 мг при пероральном введении до нескольких раз в день, и от 1 мг до 100 мг при парентеральном введении (предпочтительно внутривенном введении) до нескольких раз в день или при непрерывном введении в течении от 1 до 24 часов.

⁵ Как упомянуто выше, используемые дозы зависят от различных факторов. Поэтому возможны случаи, когда могут использоваться дозы ниже или выше, чем указанных выше диапазонов.

¹⁰ Соединения настоящего изобретения могут вводиться в форме, например, твердых композиций, жидких композиций или других композиций для перорального введения, инъекций, жидких мазей или суппозиториев для парентерального введения.

Общий синтез высвобождающего оксид азота лекарственного средства формулы (Ia), где М выбирают из остатков формул (I)-(XXIV) и X как указано выше, описан в EP 7559899.

¹⁵ Способ получения 3-(нитрооксиметил)фенилового эфира 2-(ацетилокси) бензойной кислоты формулы (Ib) описан в EP 1194397.

Общий синтез высвобождающего оксид азота лекарственного средства формулы (Ia), где М выбирают из остатков формул (XXXIV)-(XXXIX), и синтез 4-(нитроокси)бутилового эфира правастатина, описан в WO 2004/105754.

Пример 1

²⁰ Модель мышечной дистрофии (α -саркогликан-дефицитная мышь).

Ссылка для модели животных: Duclos F. и др. J Cell Biol. 1998 Sep 21; 142 (6):1461-71.

Тестируемыми соединениями являются:

- 3-(нитрооксиметил) бензоат 2-ацетил бензойной кислоты формулы (Ib);

- 4-(нитроокси) бутиловый эфир правастатина формулы (XXXVb);

²⁵ - 4-нитрооксибутиловый эфир 2-фтор-альфа-метил-4[1,1'-бифенил] 4-уксусной кислоты формулы (IIIb);

- преднизолон, как кортикостероидное лекарственное средство в качестве препарата сравнения.

Четыре группы α -саркогликан (SG)-нуль C57BL/6 мышей обрабатывали 3-

³⁰ (нитрооксиметил)бензоатом 2-ацетил бензойной кислоты (соединение Ib) (100 мг/кг), 4-(нитроокси)бутиловым эфиром правастатина (соединение XXXVb) (12 мг/кг), 4-нитрооксибутиловым эфиром 2-фтор-альфа-метил-4[1,1'-бифенил] 4-уксусной кислоты (соединение IIIb) (30 мг/кг), преднизолоном (3 мг/кг) или носителем, которые вводили ежедневно вместе с пищей.

³⁵ В указанные моменты времени (в пределах от 20 до 80 дней) проверяли функционирование скелетной мышцы в тесте свободного колеса. Через 24 часа животных забивали, ткань изолировали и исследовали гистологические характеристики.

Инфильтраты оценивали после окрашивания азаном по методу Маллори;

Некротические волокна оценивали в окрашенных гематоксилином срезах;

⁴⁰ креатинкиназу (КК) измеряли, используя коммерчески доступный набор на образцах крови, полученных за 24 часа до теста колеса. (Sampaoli M., et al, Science 301, 487-492, 2003). Данные приведены в таблице 1.

Тест свободно врачающегося колеса: Свободно врачающееся колесо использовалось как пример физической нагрузки, чтобы избежать любых физиологических изменений, которые могут произойти из-за стресса принудительного бега. Мышей помещали по отдельности на 24 часа в поликарбонатное врачающееся колесо, оборудованное

магнитным детектором, сигнал с которого подавали на спидометр, позволяющий определять количество числа оборотов в день. Данные приведены в таблице 2.

Измерение креатинкиназной активности: количественное и кинетическое определение активности креатинкиназы в сыворотке контрольных и обработанных лекарственным средством животных осуществляли, используя креатинкиназный реагент (Sigma) согласно инструкциям изготовителя. Кровь забирали из хвоста 2-7-месячных мышей и полученную после центрифугирование при 13.000 об/мин в течение 10 минут сыворотку перед измерениями хранили при -80°C. Данные приведены в таблице 1.

Гистология: У необработанных и обработанных лекарственным средством мышей извлекают диафрагму и переднюю большеберцовую мышцу и помещают в среду для замораживания, быстро замораживают и разрезают на срезы толщиной 8 мкм с

поперечно ориентированными мышечными волокнами, используя криостат. Срезы окрашивали или гематоксилином и эозином или азаном по Маллори и оценивали число воспалительных инфильтратов и некротических волокон (18-10 срезов для ткани).

Данные приведены в таблице 1.

Результаты показывают, что тестируемые соединения (Ib), (XXXVb) и (IIIb)

значительно эффективнее в снижении гистологических, функциональных и биохимических изменений, которые обычно происходят у этих животных. В частности, у обработанных животных наблюдается значительное снижение воспалительных инфильтратов и почти не обнаруживаемые некротические волокна. (Таблица 1)

Уровень креатинкиназы, признак мышечного повреждения, значительно ниже у обработанных лекарственным средством животных; соответственно, они значительно лучше выполнили тест свободно вращающегося колеса (таблица 2).

В целом данные показывают, что соединения настоящего изобретения имеют лучший профиль по сравнению с преднизолоном, который является препаратом против этой патологии.

25

Таблица 1

Соединение	Число дней обработки	Данные гистологии	
		№ воспалительных Инфильтратов/срез	№ некротических волокон/срез
Контроль (n=3)	80	192,6±46,5	263,2±43
(XXXVb) (n=3)	80	54,2±8,05**	35±2,1**
(Ib) (n=5)	80	91,3±34,5**	124,1±33**
(IIIb) (n=5)	80	84,2±22,5**	48,4±2,3**
Преднизолон	80	59,4±7,00**	197,1±23**

** P<0,01; * P<0,05 vs. контроль

35

Таблица 2

Соединение	Число дней обработки	Уровень КК в плазме (U/мл)	Тест свободного колеса (км/24 час)
Контроль (n=3)	20	595.2±87	0.34±0.02
	40	892.0±96	0.06±0.03
	60	844.3±50	0.11±0.02
	80	979.8±91	0.14±0.05
(XXXVb) (n=5)	20	440.6±33**	0.55±0.03**
	40	488.2±96.5*	0.58±0.01**
	60	627.4±69.3**	0.54±0.03**
	80	614.8±37**	0.65±0.05**
(Ib) (n=5)	20	665.6±51	
	40	944.0±95.5	0.65±0.07**
	60	444.2±20.2**	0.42±0.08**
	80	494.6±56.1**	0.31±0.1*
(IIIb) (n=5)	20	662.6±41	
	40	824.0±90.5	
	60	648.2±25.2**	
		482.3±51.2**	0.95±0.1**

Преднизолон	20	440.6±33**	
	40	488.2±96.5*	
	60	711.3±69.3**	
	80	440.6±33.1**	0.55±0.1**
** P<0,01; * P<0,05 vs. контроль			

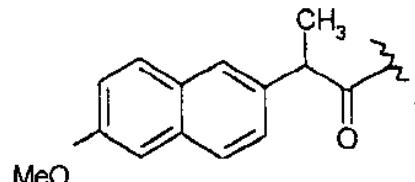
5

Формула изобретения

1. Применение высвобождающего оксид азота соединения формулы Ia



10 для лечения мышечных дистрофий, где в общей формуле Ia M, X и Y имеют следующие значения: M - остаток:



X представляет -O-,

Y представляет прямой или разветвленный C₁-C₂₀ алкилен.

20 2. Применение высвобождающего оксид азота соединения по п. 1, где Y представляет прямой или разветвленный C₁-C₂₀ алкилен, для лечения мышечных дистрофий.

3. Применение высвобождающего оксид азота соединения по п. 1 или 2 для лечения дистрофии Дюшенна или дистрофии Беккера.

25

30

35

40

45