

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **034135**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2020.01.09

(21) Номер заявки

201591598

(22) Дата подачи заявки

2014.03.13

(51) Int. Cl. *A61K 31/7072* (2006.01)

A61K 31/7064 (2006.01)

A61K 31/7068 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

C07H 19/067 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

C07D 405/04 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

**(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ
УРИДИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ В КАЧЕСТВЕ АГОНИСТОВ P_2Y_6 РЕЦЕПТОРОВ**

(31) 61/780,219; 61/883,604

(32) 2013.03.13; 2013.09.27

(33) US

(43) 2016.03.31

(86) PCT/US2014/026865

(87) WO 2014/160502 2014.10.02

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ТАФТС ЮНИВЕРСИТИ (US)

(72) Изобретатель:

Хейдон Филип Дж., Ли Цзиньбо (US)

(74) Представитель:

**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В. (RU)**

(56) KIMURA, T. et al., "Metabolism of a novel hypnotic, N³-phenacyluridine, and hypnotic and sedative activities of its enantiomer metabolites in mouse", *Xenobiotica* (2000), Vol. 30, No. 6, pages 643-653, see Abstract section 6; table 2; figure 6

BANERJEE, D. et al., "Efficient and Convenient Palladium-Catalyzed Amination of Allylic Alcohols with N-Heterocycles", *Angewandte Chemie International Edition* (2012), Vol. 51, No. 46, pages 11556-11560, see compound 3r, scheme 3

CAS RN 106362-71-4

CAS RN 110104-24-0

CAS RN 114766-52-8

CAS RN 129141-73-7

CAS RN 166190-75-6

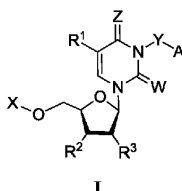
CAS RN 166190-76-7

CAS RN 50908-28-6

CAS RN 51172-66-8

WO-A1-2013049686

(57) Изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим производные уридинных нуклеозидов формулы I, где значения радикалов такие, как указано в описании изобретения, и к способам использования этих композиций в лечение нарушений, которые чувствительны к лигандам, таким как агонисты рецептора P_2Y_6 , например нейрональных нарушений, включая нейродегенеративные нарушения (например, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона) и воспалительные состояния.



B1

034135

034135

B1

Родственные заявки

В данной заявке заявлены преимущества и приоритет предварительных патентных заявок США 61/780219, поданной 13 марта 2013 г., и 61/883604, поданной 27 сентября 2013 г. Каждая из предшествующих заявок включена в данное описание изобретения посредством ссылки во всей их полноте.

Область изобретения

Данное описание изобретения относится к соединениям, композициям и к способам лечения нейрональных нарушений, включая нейродегенеративные нарушения (например, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона) и травматическое повреждение ЦНС, боль, синдром Дауна (DS), глаукому и воспалительные состояния.

Предшествующий уровень техники

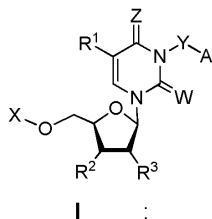
Рецепторы P_2Y представляют собой рецепторы, сопряженные с белком G (GPCR), которые селективно активируются природными внеклеточными нуклеотидами, включая, например, адениновые и пиримидиновые нуклеотиды. Существуют два кластера P_2Y рецепторов: G_q -сопряженные P_2Y_1 -подобные рецепторы, включая подтипы $P_2Y_{1,2,4,6,11}$; и G_i -сопряженные P_2Y_{12} -подобные рецепторы, включая подтипы $P_2Y_{12,13,14}$. Из четырех P_2Y рецепторов, т.е. подтипов $P_2Y_{2,4,6,14}$, которые могут быть активированы пиримидиновыми нуклеотидами, подтипы P_2Y_2 и P_2Y_4 активируются уридин-трифосфатом (UTP), рецептор P_2Y_6 активируется уридин-дифосфатом (UDP) и P_2Y_{14} активируется UDP или UDP-глюкозой.

Рецептор P_2Y_6 вовлечен в ряд нарушений, включая, например, нейродегенерацию, остеопороз, последствия ишемии в скелетной мышце и диабет. Сообщалось, что агонисты P_2Y_6 рецептора противодействуют апоптозу, индуцируемому фактором некроза опухоли- α в клетках астроцитомы и индуцируют защиту в модели ишемической скелетной мышцы задней конечности. Сообщалось, что рецептор P_2Y_6 также играет роль в фагоцитозе в микроглиальных клетках, когда активируется своим эндогенным агонистом UDP; смотри, например, Malmjö et al., BMC Pharmacol. 2003, 3, 4; Balasubramanian et al., Biochem. Pharmacol. 2010, 79, 1317-1332; Kim et al., Cell. Mol. Neurobiol. 2003, 23, 401-418; Mamedova et al., Pharmacol. Res. 2008, 58, 232-239; Korcok et al., J. Biol. Chem. 2005, 58, 232-239 и Koizumi et al., Nature, 2007, 446, 1091-1095. Эти отчеты свидетельствуют о том, что лиганды P_2Y_6 рецептора интересны в поиске нового лечения состояний, имеющих отношение к P_2Y_6 рецептору.

Следовательно, существует потребность в новых лигандах, таких как агонисты, активности P_2Y_6 рецептора, которые полезны в терапевтических препаратах для лечения нарушений, опосредованных этим рецептором, включая нейродегенерацию, травматическое повреждение головного мозга и боль.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее описание изобретения направлено на указанную выше потребность путем предложения фармацевтических композиций для проявления агонистического действия в отношении P_2Y_6 рецепторов, содержащих соединение формулы I



или его соль,

где A представляет собой 9-10-членное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее вплоть до 3 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S, где бициклическое ароматическое кольцо независимо и необязательно замещено одним или более R^7 ;

X представляет собой -H;

Y представляет собой связь или (C_1-C_5) алифатическую группу;

Z и W, каждый независимо, выбраны из =O и =S;

R^1 представляет собой -H;

R^2 и R^3 , каждый независимо, выбраны из $-OR^5$ или $-SR^5$;

в каждом случае R^5 независимо выбран из следующих: H-, (C_1-C_{12}) алифатическая группа-, группы (C_3-C_{10}) циклоалкил-, $[(C_3-C_{10})$ циклоалкил]- (C_1-C_{12}) алифатическая группа-;

в каждом случае R^7 независимо выбран из галогена, $-OR^8$, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-R^8$ или $-SR^8$;

в каждом случае R^8 независимо выбран из H- и (C_1-C_6) алифатической группы-,

и приемлемый носитель, вспомогательное вещество или эксципиент. Соединения, описанные здесь, являются агонистами P_2Y_6 рецептора, которые непосредственно или опосредованно активируют P_2Y_6 рецептор. Соединения формулы I (включая формулу I-A и формулу I-B) можно использовать для лечения состояний, описанных в данном описании изобретения.

В настоящем описании также предложен способ лечения воспалительного состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

Предпочтительно воспалительное состояние выбрано из любого из следующих: аутоиммунное со-

стояние, ревматоидное состояние, воспалительное состояние кожи, воспалительные состояние кишечника, воспалительное состояние сустава, воспалительное состояние глаза, воспалительное состояние легких, воспалительное состояние почек, воспалительное состояние, вызванное аллергической реакцией, или воспалительное состояние, вызванное инфекционным агентом.

В другом аспекте предложен способ уменьшения уровней цитокинов в плазме субъекта, имеющего воспалительное состояние, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

В предпочтительном воплощении вышеуказанных способов воспалительное состояние представляет собой одно или более из аутоиммунного состояния, воспалительного состояния легких, воспалительного состояния суставов, воспалительного состояния соединительной ткани, воспалительного состояния кишечника, воспалительного состояния почек, воспалительного состояния печени, воспалительного состояния кожи, воспалительного состояния сосудистой системы, воспалительного состояния сердца, воспаления, опосредованного IgE антителами, или аллергической реакции.

В более предпочтительном воплощении воспалительное состояние представляет собой эндометриоз.

Также в предпочтительном воплощении воспалительное состояние представляет собой аутоиммунное заболевание или ревматоидный артрит или псориатический артрит.

Также в предпочтительном воплощении воспалительное состояние представляет собой ревматоидный артрит, псориаз, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ювенильный ревматоидный артрит или атеросклероз.

В предпочтительном воплощении воспалительное состояние представляет собой состояние, характеризующееся повышенным уровнем в плазме одного или более из IL-4, IL-10 или IL-12.

Более предпочтительно воспалительное состояние представляет собой состояние, характеризующееся повышенным уровнем в плазме IL-12.

В предпочтительных воплощениях вышеуказанные способы включают уменьшение уровней в плазме одного или более из следующих цитокинов: IL-4, IL-10 или IL-12.

В предпочтительном воплощении воспалительное состояние представляет собой ревматоидный артрит, псориатический артрит, псориаз, рассеянный склероз, атеросклероз, болезнь Крона, язвенный колит, воспалительное заболевание кишечника или синдром раздраженного кишечника.

В более предпочтительном воплощении воспалительное состояние представляет собой состояние, характеризующееся повышенными уровнями в плазме IL-7, IL-13, IL-17, TNF-альфа (фактор некроза опухоли альфа), MIP-1a (макрофагальный воспалительный белок-1a) или MIP-1b.

В еще более предпочтительном воплощении вышеуказанные способы по изобретению включают уменьшение уровней в плазме одного или более следующих цитокинов: IL-7, IL-13, IL-17, TNF-альфа, MIP-1a или MIP-1b.

В другом аспекте предложен способ уменьшения провоспалительных цитокинов в брюшной полости субъекта, имеющего эндометриоз, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

В еще одном аспекте предложен способ лечения нейродегенеративного нарушения у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение фармацевтической композиции по изобретению.

В предпочтительном воплощении нейродегенеративное нарушение выбрано из болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, умеренного когнитивного ухудшения (MCI), болезни Хантингтона, рассеянного склероза и острых нарушений мозгового кровообращения.

Более предпочтительно нейродегенеративное нарушение представляет собой болезнь Альцгеймера.

В более предпочтительном воплощении при осуществлении способа лечения болезни Альцгеймера введение фармацевтической композиции улучшает когнитивную функцию, предупреждает или задерживает когнитивное ухудшение, уменьшает нагрузку амилоидных бляшек или усиливает бета-амилоидный клиренс у субъекта с болезнью Альцгеймера.

В еще одном аспекте предложен способ проявления агонистического действия в отношении P_2Y_6 рецепторов в клетке, включающий приведение клетки в контакт с фармацевтической композицией по изобретению.

Описание изобретения охватывает комбинации любых аспектов и/или воплощений, описанных в данном описании изобретения. Например, любые фармацевтические композиции по изобретению можно использовать в лечении любого из состояний, описанных в данном описании изобретения.

Подробное описание графических материалов

На фиг. 1 показаны двухфотонные микроскопические изображения амилоидных бляшек, меченных метоксиX04 в колончатой коре живых PSAPP мышей: (A) изображение на 1 сутки; (B) увеличенный вид части изображения, находящейся в белом прямоугольнике на фиг. 1A, где плазма крови помечена родамин декстраном; (C) увеличенный вид части изображения, находящейся в белом прямоугольнике на фиг. 1A, где стрелки указывают бляшки с плотным ядром; (D) изображение той же области визуализации на 4 сутки после инъекции UDP; (E) увеличенный вид части изображения, находящейся в белом прямоугольнике на фиг. 1D, где плазма крови помечена родамин декстраном; и (F) увеличенный вид части изобраа-

жения, находящейся в белом прямоугольнике на фиг. 1D, где стрелки указывают бляшки с плотным ядром.

На фиг. 2 показан количественный анализ числа бляшек, нагрузка бляшек и размер поперечного сечения отдельных бляшек в колончатой коре у PSAPP мышей после лечения UDP или искусственной спинномозговой жидкостью (ACSF): (A) количественный анализ числа бляшек; (B) количественный анализ нагрузки бляшек; (C) количественный анализ размера поперечного сечения бляшек; (D) UDP лечение уменьшает нагрузку бляшек, что показано посредством значительных уменьшений соотношений нагрузки бляшек в сутки 4/сутки 1; и (E) UDP лечение уменьшает число бляшек, как показано посредством значительных уменьшений соотношений нагрузки бляшек в сутки 4/сутки 1.

На фиг. 3 показан посмертный иммуногистохимический анализ нагрузки бляшек в коре и гиппокампе PSAPP мышей после лечения UDP. В этом иммуногистохимическом анализе использовали антитела β 1-40 и β 1-42, специфические к β -амилоидному пептиду: (A) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-40 в 1 сутки; (B) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-40 на 4 сутки после лечения UDP; (C) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-42 в 1 сутки и (D) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-42 на 4 сутки после лечения UDP.

На фиг. 4 показано количественное определение нагрузки бляшек (%) в коре и гиппокампе PSAPP мышей после лечения UDP или ACSF. В количественном определении использовали антитела β 1-40 и β 1-42, специфические к β -амилоидному пептиду. (A) Нагрузка бляшек (%) в коре с использованием β 1-40 окрашивания; (B) нагрузка бляшек (%) в гиппокампе с использованием β 1-40 окрашивания; (C) нагрузка бляшек (%) в коре с использованием β 1-42 окрашивания; (D) нагрузка бляшек (%) в гиппокампе с использованием β 1-42 окрашивания; (E) лечение UDP уменьшало уровень растворимого A β 40, обнаруживаемый посредством ELISA; и (F) лечение UDP уменьшало уровень растворимого A β 42, обнаруживаемый посредством ELISA.

На фиг. 5 показан посмертный иммуногистохимический анализ нагрузки бляшек в коре и гиппокампе PSAPP мышей после внутрибрюшинной (в.б.) инъекции 3-фенацил-UDP в течение 2, 4 и 6 последовательных суток. В анализе использовали антитело β 1-40, специфичное к β -амилоиду. (A) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-40 без лечения 3-фенацил-UDP; (B) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-40 после внутрибрюшинной инъекции 3-фенацил-UDP в течение 2 последовательных суток; (C) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-40 после внутрибрюшинной инъекции 3-фенацил-UDP в течение 4 последовательных суток; и (D) иммуногистохимический анализ с использованием β 1-40 после внутрибрюшинной инъекции 3-фенацил-UDP в течение 6 последовательных суток.

На фиг. 6 показано количественное определение нагрузки бляшек (%) в коре (Cx) и гиппокампе (Hr) PSAPP мышей после лечения 3-фенацил-UDP или контролем-носителем в течение 2, 4, 6 последовательных суток и в течение 6 суток + 2 недели. Контролями-носителями, используемыми для интрацеребровентрикулярного (icv) и внутрибрюшинного (ip) введения соединений, были ACSF и солевой раствор соответственно. В количественном определении использовали антитело β 1-40, специфичное к β -амилоиду. (A) Нагрузка бляшек (%) в коре с использованием β 1-40 окрашивания; (B) нагрузка бляшек (%) в гиппокампе с использованием β 1-40 окрашивания; (C) нагрузка бляшек A β 40 (%) в гиппокампе после одной недели ежедневного лечения 3-фенацил-UDP (PSB0474) в трех дозах; (D) нагрузка бляшек A β 42 (%) в гиппокампе после одной недели ежедневного лечения 3-фенацил-UDP (PSB0474) в трех дозах; (E) нагрузка бляшек A β 40 (%) в коре после одной недели ежедневного лечения 3-фенацил-UDP (PSB0474) в трех дозах и (F) нагрузка бляшек A β 42 (%) в коре после одной недели ежедневного лечения 3-фенацил-UDP (PSB0474) в трех дозах.

На фиг. 7 показано замирание (% замирания) PASPP мышей в исследовании условно-рефлекторного замирания после лечения ACSF или UDP: (A) замирание (% замирания) PASPP мышей через 5 мин после лечения ACSF и UDP; (B) анализ общего процента замирания PSAPP мышей, которых лечили ACSF или UDP; и (C) при использовании теста контекстуального условно-рефлекторного замирания PSAPP мыши, которых лечили ACSF (белый прямоугольник), показали значительно меньшее время замирания по сравнению с диким типом соответствующего возраста (заштрихованный прямоугольник), что свидетельствовало о дефиците памяти у PS1/APP; 3 суток лечения UDP до тестирования значительно улучшали замирание (черный прямоугольник) по сравнению с лечением ACSF.

На фиг. 8 показано длительное потенцирование гиппокампа (LTP), регистрируемое как % полевого возбуждающего постсинаптического потенциала (fEPSP) у PSAPP мышах, с высокочастотной стимуляцией (HFS), 100 пульсов при 100 Гц, четыре раза с 20-секундными интервалами: (A) подавленное LTP (% fEPSP) на синапсе коллатералей Шаффера в области CA1 гиппокампа у старых PSAPP мышей (PSAPP+/+) по сравнению с однопометными животными (PSAPP-/-); (B) повышенное LTP (% fEPSP) у PSAPP мышей после лечения UDP или ACSF; (C) анализ последних 15 мин потенцирования в виде наклона fEPSP (%) у PSAPP мышей.

На фиг. 9 показано замирание (в виде % замирания) PASPP мышей в исследованиях условно-

рефлекторного замирания после лечения 3-фенацил-UDP (PSB0474). (А) Замирание (% замирания) контрольных однопометных животных (PSAPP-/-) и PASPP мышей через 5 мин после лечения солевым раствором, являющимся контролем-носителем, или 3-фенацил-UDP (PSB0474) в двух разных дозировках, т.е. 1 мкг/мл и 1 мг/мл; (В) анализ общего процента замирания PSAPP мышей и (С) при использовании теста контекстуального условно-рефлекторного замирания PSAPP мыши, которых лечили ACSF (белый прямоугольник), показали значительно меньшее время замирания по сравнению с диким типом соответствующего возраста (заштрихованный прямоугольник), демонстрируя дефицит памяти у PS1/APP; лечение в течение одной недели 1 мкг/кг 3-фенацил-UDP (PSB0474) (серый прямоугольник) лечило дефицит памяти по сравнению с обработкой носителем (белый прямоугольник).

На фиг. 10 показана кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием соединений по настоящему описанию изобретения, где соединения тестировали в отношении активации P_2Y_6 рецептора путем измерения рецептор-индуцированных изменений Ca^{2+} с флуоресцентным Ca^{2+} индикатором fluo-4: (А) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 6; (В) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 3; (С) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 4; (D) кривая дозозависимой активации с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 1; (Е) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 5; (F) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 32; (G) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 33; (H) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 34; (I) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 35; (J) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 36 и (K) кривая дозозависимой активации P_2Y_6 рецептора с использованием натриевой соли дифосфатного производного соединения 37.

На фиг. 11 показано замирание (% замирания) PASPP мышей в исследованиях условно-рефлекторного замирания после лечения контролем-носителем или дифосфатным производным соединения 5; при использовании теста контекстуального условно-рефлекторного замирания PSAPP мыши, которых лечили контролем-носителем (черный прямоугольник) показали значительно меньшее время замирания по сравнению с диким типом соответствующего возраста (белый прямоугольник), что свидетельствовало о дефиците памяти у PSAPP; введение дифосфатного производного соединения 5 перед тестом значительно улучшало замирание (заштрихованный прямоугольник) по сравнению с лечением контролем, указывая на то, что дифосфатное производное соединения 5 восстанавливает память.

На фиг. 12 показана нагрузка бляшек в коре (Cx) и гиппокампе (Hr) PSAPP мышей после лечения дифосфатным производным соединения 5 или контролем-носителем. (А) Нагрузка Аβ-бляшек (%) в коре после лечения дифосфатным производным соединения 5 или контролем-носителем; (В) нагрузка Аβ-бляшек (%) в гиппокампе после лечения дифосфатным производным соединения 5 или контролем-носителем и (С) посмертный иммуногистохимический анализ нагрузки Аβ42-бляшек в коре и гиппокампе PSAPP мышей после лечения дифосфатным производным соединением 5 или контролем-носителем. В анализе использовали антитело β1-42, специфичное к β-амилоиду.

На фиг. 13 показано количественное определение нагрузки бляшек (%) в коре PSAPP мышей после лечения нуклеозидным соединением 5. В количественном определении использовали антитела β1-40 и β1-42, специфичные к β-амилоидному пептиду. (А) Нагрузка бляшек (%) в коре с использованием окрашивания β1-40; (В) нагрузка бляшек (%) в коре с использованием окрашивания β1-42.

На фиг. 14 обобщены уровни цитокинов в плазме (пг/мл) у мышей дикого типа и PSAPP мышей, которых лечили в течение 7 суток (в.б.) носителем или дифосфатным производным соединения 5 (1 мкг/кг). Уровни цитокинов в плазме измеряют в пг/мл. На оси х графика показаны различные исследованные цитокины и на оси у представлены концентрации. Для каждого цитокина, показанного на оси х, график содержит четыре прямоугольника, показывающих результаты для различных групп лечения, которые представляют собой, слева направо: нелеченные животные дикого типа, животные дикого типа, которых лечили дифосфатным производным соединения 5, нелеченные PSAPP животные и PSAPP животные, которых лечили дифосфатным производным соединения 5.

На фиг. 15 обобщены результаты анализа условно-рефлекторного замирания. PSAPP мышей лечили ежедневно в течение 100 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг; обозначен на чертеже как "соединение"). Соединение или носитель вводили внутривентрикулярно (в.б.). Мышей затем оценивали в задаче на формирование памяти в тесте условно-рефлекторного замирания.

На фиг. 16 обобщены результаты, иллюстрирующие уменьшение объема бляшек после 100 суток лечения соединением 5.

На фиг. 17 обобщены уровни цитокинов в плазме (пг/мл) у PSAPP мышей, которых лечили ежедневно в течение 100 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг). Соединение или носитель вводили

внутрибрюшинно (в.б.). Концентрации уровней цитокинов в плазме измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Для каждого исследованного цитокина показаны уровни в плазме у животных, которых лечили носителем или соединением, как представлено на оси х. Данные представлены для следующих цитокинов: IL-4, IL-9, IL-5, IL-10, IL-6, IL-12, и IL-7. Для IL-12 анализировали уровни именно субъединицы p40 (p40), а также уровни гетеродимерного цитокина (p70).

На фиг. 18 обобщены уровни цитокинов в плазме (пг/мл) у PSAPP мышей, которых лечили в течение 100 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг). Соединение или носитель вводили внутрибрюшинно (в.б.). Концентрации уровней цитокинов в плазме измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Для каждого исследованного цитокина показаны уровни в плазме у животных, которых лечили носителем или соединением, как представлено на оси х. Представлены данные для следующих цитокинов: эотаксин, IL-1 α , G-CSF, IL-1 β , GM-CSF, IL-2, IFN- γ , IL-3.

На фиг. 19 обобщены уровни цитокинов в плазме (пг/мл) у PSAPP мышей, которых лечили в течение 100 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг). Соединение или носитель вводили внутрибрюшинно (в.б.). Концентрации уровней цитокинов в плазме измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Для каждого исследованного цитокина показаны уровни в плазме у животных, которых лечили носителем или соединением, как представлено на оси х. Представлены данные для следующих цитокинов: IL-13, KC, IL-15, LIF, IL-17, LIX (CXC хемокин, индуцируемый липополисахаридом), IP-10 и MCP-1.

На фиг. 20 обобщены уровни цитокинов в плазме (пг/мл) у PSAPP мышей, которых лечили в течение 100 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг). Соединение или носитель вводили внутрибрюшинно (в.б.). Концентрации уровней цитокинов в плазме измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Для каждого исследованного цитокина показаны уровни в плазме у животных, которых лечили носителем или соединением, как представлено на оси х. Представлены данные для следующих цитокинов: M-CSF (макрофагальный колониестимулирующий фактор), MIP2 (макрофагальный воспалительный белок 2), MIG (монокин, индуцированный гамма-интерфероном), RANTES (хемокин, регулируемый при активации, экспрессируемый и секретируемый нормальными Т-клетками), MIP-1 α и MIP-1 β , TNF α .

На фиг. 21 обобщены уровни цитокинов в плазме (пг/мл) у PSAPP мышей, которых лечили в течение 100 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг), где лечение начинали в возрасте примерно 3 месяца. Соединение или носитель вводили внутрибрюшинно (в.б.). Концентрации уровней цитокинов в плазме измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Для каждого исследованного цитокина показаны уровни в плазме у животных, которых лечили носителем или соединением, как представлено на оси х. Представлены данные для следующих цитокинов: IL-12, IL-13, IL-17, IL-10, MIP-1 α , MIP-1 β , IL-2, и IL-4. * означает p менее 0,05; ** означает p менее 0,01.

На фиг. 22 обобщены дополнительные данные, полученные как часть того же исследования, что и на фиг. 21, где PSAPP мышей лечили в течение 100 суток носителем или соединением 5, и лечение начинали в возрасте примерно 3 месяца. Нагрузку бляшек оценивали в коре (фиг. 22A) или гиппокампе (фиг. 22B). Мышей также оценивали в тесте условно-рефлекторного замирания памяти (фиг. 22C). На фиг. 22A *** означает p менее 0,01. На фиг. 22B и 22C * означает p менее 0,02.

На фиг. 23 обобщены уровни цитокинов в плазме (пг/мл) у PSAPP мышей, которых лечили в течение 7 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг), где лечение начинали в возрасте примерно 6 месяцев после появления симптомов у этих PSAPP мышей. Соединение или носитель вводили внутрибрюшинно (в.б.). Концентрации уровней цитокинов в плазме измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Для каждого исследованного цитокина показаны уровни в плазме у животных, которых лечили носителем или соединением, как представлено на оси х. Представлены данные для следующих цитокинов: IL-12, IL-13, IL-17, IL-10, MIP-1 α и TNF α . * Означает p менее 0,05; ** означает p менее 0,005; *** означает p менее 0,0005.

На фиг. 24 обобщены дополнительные данные, полученные как часть того же исследования, что и на фиг. 23, где PSAPP мышей лечили в течение 7 суток носителем или соединением 5 (10 мкг/кг), где лечение начинали в возрасте примерно 6 месяцев после начала симптомов у этих PSAPP мышей. Нагрузку бляшек оценивали в коре (фиг. 24A, верхняя панель) и гиппокампе (фиг. 24A, нижняя панель). Кроме нагрузки бляшек, оценивали размер бляшек (фиг. 24B). * Означает p менее 0,05.

На фиг. 25 обобщены данные, оценивающие высвобождение цитокинов из THP-1 клеток человека, обработанных *in vitro* носителем или антагонистом P₂Y₆ MRS 2578 (номер CAS 711019-86-2). Концентрации цитокинов, секретированных в культуральную среду, измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Для каждого исследованного цитокина показаны уровни цитокина, высвобожденного в культуральную среду после лечения носителем или MRS 2578, как представлено на оси х. Изображены результаты для следующих цитокинов: фракталкин (фиг. 25A), PDGF-BB (фиг. 25B) и IL-7 (фиг. 25C). Лечение MRS 2578 повышало высвобождение каждого из этих трех цитокинов из THP-1 клеток человека по сравнению с лечением контролем-носителем. Повышенное высвобождение анализируют путем измерения концентрации цитокина в супернатанте клеточной культуры после лечения. * Означает p менее 0,05; ** означает p менее 0,02; *** означает p менее 0,002.

На фиг. 26 обобщены данные оценки концентрации цитокина (IL-7), высвобожденного из THP-1

клеток человека, обработанных *in vitro* носителем, соединением 5, антагонистом P_2Y_6 MRS 2578 или двумя соединениями 5 и MRS 2578. Концентрацию цитокина, секретированного в культуральную среду, измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Обработка MRS 2578 повышала высвобождение IL-7 из THP-1 клеток человека. Обработка соединением 5 уменьшала высвобождение IL-7 из THP-1 клеток человека, и этот эффект был аннулирован посредством совместной обработки MRS 2578. * Означает p менее 0,05.

Подробное описание изобретения

А. Определения.

Если в данном описании изобретения не указано иное, научные и технические термины, используемые в данной заявке, имеют значения, которые обычно подразумеваются специалистами в данной области. В общем случае, наименования, используемые в связи с химическими процессами, клеточной и тканевой культурой, молекулярной биологией, биологией клеток и раковых заболеваний, нейробиологией, нейрохимией, вирусологией, иммунологией, микробиологией, фармакологией, генетикой и химией белка и нуклеиновых кислот, а также соответствующие методики, описанные в данном описании изобретения, хорошо известны и обычно используются в данной области техники.

Способы и методики по настоящему описанию изобретения в общем случае, если не указано иное, выполняют традиционным образом, хорошо известным в данной области и как описано в различных общих и более конкретных документах, которые указаны и обсуждаются в тексте данной заявки; смотри, например, "Principles of Neural Science", McGraw-Hill Medical, New York, N.Y. (2000); Motulsky, "Intuitive Biostatistics", Oxford University Press, Inc. (1995); Lodish et al., "Molecular Cell Biology, 4th ed.", W.H. Freeman & Co., New York (2000); Griffiths et al., "Introduction to Genetic Analysis, 7th ed.", W.H. Freeman & Co., N.Y. (1999) и Gilbert et al., "Developmental Biology, 6th ed.", Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA (2000).

Химические термины, используемые в данном описании изобретения, используются согласно традиционному применению в данной области, как приведено в качестве примера в "The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms", Parker S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco, C.A. (1985).

Все вышеуказанное и любые другие публикации, патенты и опубликованные патентные заявки, упоминаемые в данной заявке, конкретно включены в данное описание изобретения посредством ссылки. В случае конфликта будет применяться настоящее описание изобретения, включая его конкретные определения.

Термин "агент" используют в данном описании изобретения для обозначения химического соединения (такого как органическое или неорганическое соединение, смесь химических соединений), биологической макромолекулы (такой как нуклеиновая кислота, антитело, включая их части, а также гуманизированное, химерное и человеческое антитело и моноклональное антитело, белок или его часть, например, пептида, липида, углевода) или экстракта, полученного из биологических материалов, таких как бактерии, растения, грибы и клетки или ткани животных (в частности, млекопитающих). Агенты включают, например, агентов, структура которых известна, и агентов, структура которых неизвестна. P_2Y_6 рецептор-модулирующая активность (например, прямая или опосредованная агонистическая активность) таких агентов может сделать их подходящими в качестве "терапевтических агентов" в способах и композициях по данному описанию изобретения.

"Пациент", "субъект" или "индивидуум" используются взаимозаменяемо и относятся к человеку или животному, не являющемуся человеком. Эти термины включают млекопитающих, таких как люди, приматы, домашние животные (включая коров, свиней, и т.д.), животных-компаньонов (например, собак, кошек, и т.д.) и грызунов (например, мышей и крыс).

"Лечение" состояния или пациента относится к принятию мер для получения полезных или нужных результатов, включая клинические результаты. Полезные или нужные клинические результаты включают, без ограничения ими, облегчение, улучшение или замедление развития одного или более симптомов, ассоциированных с нейрональным нарушением, включая нейродегенерацию и травматическое повреждение головного мозга, а также с болью. В некоторых воплощениях лечение может быть профилактическим. Типичные полезные клинические результаты описаны в данном описании изобретения.

"Введение" вещества, соединения или агента субъекту может быть осуществлено с использованием одного из множества различных способов, известных специалистам в данной области. Например, соединение или агент могут быть введены внутривенно, артериально, внутрикочно, внутримышечно, внутрибрюшинно, подкожно, в глаз, подъязычно, перорально (путем проглатывания), интраназально (посредством ингаляции), интраспинально, интрацеребрально и чрескожно (посредством абсорбции, например, через кожный канал). Соединение или агент можно также подходящим образом ввести при помощи пезаряжаемых или биоразлагаемых полимерных устройств или других устройств, например пластырей и помп, или композиций, которые обеспечивают длительное, медленное или контролируемое высвобождение соединения или агента. Введение можно также выполнять, например, однократно, многократно и/или в течение одного или более продолжительных периодов. В некоторых аспектах введение включает как прямое введение, включая самовведение, так и опосредованное введение, включая акт предписывания лекарственного средства. Например, при использовании в данном описании изобретения врач, который инструктирует пациента самостоятельно вводить лекарственное средство или обеспечить введение

лекарственного средства другим субъектом и/или который обеспечивает пациента предписанием лекарственного средства, вводит это лекарственное средство пациенту.

Подходящие способы введения вещества, соединения или агента субъекту также будут зависеть, например, от возраста субъекта, является этот субъект активным или неактивным во время введения, имеет ли субъект когнитивное нарушение во время введения, степени ухудшения и химических и биологических свойств соединения или агента (например, растворимости, усваиваемости, биодоступности, стабильности и токсичности). В некоторых воплощениях соединение или агент вводят перорально, например субъекту путем проглатывания. В некоторых воплощениях перорально введенное соединение или агент находится в композиции с длительным высвобождением или замедленным высвобождением, или введено с использованием устройства для такого медленного или длительного высвобождения.

"Терапевтически эффективное количество" или "терапевтически эффективная доза" лекарственного средства или агента представляет собой количество лекарственного средства или агента, которое при введении субъекту будет оказывать нужное терапевтическое действие. Полный терапевтический эффект не обязательно будет иметь место при введении одной дозы, и может иметь место только после введения ряда доз. Таким образом, терапевтически эффективное количество может быть введено за одно или более введений. Точное эффективное количество, необходимое для субъекта, будет зависеть, например, от величины субъекта, его состояния здоровья и возраста, характера и степени когнитивного нарушения или других симптомов состояния, которое лечат, такого как нейродегенерация (например, болезнь Альцгеймера), боль и травматическое повреждение головного мозга, терапевтических средств или комбинации терапевтических средств, выбранных для введения и способа введения. Специалист может легко определить эффективное количество для данной ситуации посредством рутинного экспериментирования.

"Лиганд" при использовании в данном описании изобретения относится к любой молекуле, которая способна специфически связываться с другой молекулой, такой как рецептор P_2Y_6 . Термин "лиганд" включает и агонистов, и антагонистов. "Агонист" означает агента, которые, при взаимодействии, либо непосредственно, либо опосредованно, с биологически активной молекулой (например, ферментом или рецептором) вызывает увеличение его биологической активности. "Антагонист" означает агент, который при взаимодействии либо непосредственно, либо опосредованно с биологически активной(ыми) молекулой(ами) (например, ферментом или рецептором) вызывает уменьшение его биологической активности. В некоторых воплощениях соединения по настоящему описанию изобретения модулируют активность P_2Y_6 рецептора либо непосредственно, либо опосредованно. В некоторых воплощениях соединения проявляют агонизм в отношении активности P_2Y_6 рецептора, например, непосредственно, например посредством прямого взаимодействия с P_2Y_6 рецептором, или опосредованно, например, через метаболит, который взаимодействует с P_2Y_6 рецептором. В некоторых воплощениях соединения по описанию изобретения (такие как соединения формул I (включая соединения формулы I-A и формулы I-B) и их фармацевтически приемлемые соли, а также отдельные соединения, раскрытые в данном описании изобретения) используют непосредственно или опосредованно в качестве агонистов P_2Y_6 рецептора или P_2Y_6 рецептор-модулирующих соединений, и их можно использовать в любом из *in vitro* и/или *in vivo* способов, раскрытых в данном описании изобретения. В некоторых воплощениях соединения, раскрытые в данном описании изобретения, сами являются P_2Y_6 рецептор-модулирующими соединениями, и описание изобретения охватывает эти соединения, а также их и/или соли в качестве агонистов по описанию изобретения. Другие соединения и соли, описанные в данном описании изобретения, сами не являются активными, но они превращаются *in vivo* в соединения, которые являются активными P_2Y_6 рецептор-модулирующими соединениями. В описании изобретения предполагается, что все такие соединения или соли по описанию изобретения, которые активны сами по себе либо превращаются в активные соединения *in vivo*, можно использовать для лечения любого из состояний, описанных в данном описании изобретения.

Термин "алифатический" при использовании в данном описании изобретения, означает алкил, алкенил или алкинил с прямой или разветвленной цепью. Очевидно, что для воплощений алкенил или алкинил требуется по меньшей мере два углеродных атома в алифатической цепи. Алифатическая группа обычно содержит от 1 (или 2) до 12 атомов углерода, например от 1 (или 2) до 4 атомов углерода.

Термин "гетероарил" при использовании в данном описании изобретения означает моноциклическую или бициклическую ароматическую кольцевую систему, имеющую от 1 до 3 гетероатомов или групп гетероатомов в каждом кольце, выбранных из O, N, NH или S, в химически стабильном расположении. В таком воплощении "гетероарила" с бициклической ароматической кольцевой системой оба кольца могут быть ароматическими; и одно или оба кольца могут содержать указанный гетероатом или группу гетероатомов.

Примеры гетероарильного кольца включают 2-фуранил, 3-фуранил, N-имидазолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, 5-имидазолил, бензимидазолил, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил, 2-оксазолил, 4-оксазолил, 5-оксазолил, N-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 2-пиримидинил, 4-пиримидинил, 5-пиримидинил, пиридазинил (например, 3-пиридазинил), 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, тетразолил (например, 5-тетразолил), триазолил (например, 2-триазолил и 5-триазолил), 2-тиенил, 3-тиенил, бензофурил, бензотиофенил, индолил (например, 2-

индолил), пиразолил (например, 2-пиразолил), изотиазолил, 1,2,3-оксадиазолил, 1,2,5-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, 1,2,3-триазолил, 1,2,3-тиадиазолил, 1,3,4-тиадиазолил, 1,2,5-тиадиазолил, пуринил, пиразинил, 1,3,5-триазинил, хинолинил (например, 2-хинолинил, 3-хинолинил, 4-хинолинил) и изохинолинил (например, 1-изохинолинил, 3-изохинолинил или 4-изохинолинил).

Термин "циклоалкил или циклоалкенил" относится к моноциклической, или конденсированной, или мостиковой бициклической углеводородной кольцевой системе, которая не является ароматической. Циклоалкенильные кольца имеют одну или более единиц ненасыщенности. Типичные циклоалкильные или циклоалкенильные группы включают циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклогептенил, норборнил, адамантил и декалинил.

При использовании в данном описании изобретения обозначения атома углерода могут иметь указанное целое значение и любое промежуточное целое значение. Например, количество углеродных атомов в (C₁-C₄)алкильной группе составляет 1, 2, 3 или 4. Следует понимать, что это обозначение относится к общему количеству атомов в соответствующей группе. Например, в (C₃-C₁₀)гетероцикле общее количество углеродных атомов и гетероатомов равно 3 (как в азиридине), 4, 5, 6 (как в морфолине), 7, 8, 9 или 10.

"Фармацевтически приемлемая соль" или "соль" при использовании в данном описании изобретения относится к агенту или соединению согласно описанию изобретения, который является терапевтически активным, нетоксичным основанием и кислотнo-солевой формой соединений. Форма соли присоединения кислоты соединения, которое существует в своей свободной форме в виде основания, может быть получена путем обработки указанной формы свободного основания подходящей кислотой, такой как неорганическая кислота, например галогенводородная, такая как соляная или бромистоводородная, серная, азотная, фосфорная и подобные; или органическая кислота, такая как, например, уксусная, гидроксидуксусная, пропановая, молочная, пировиноградная, малоновая, янтарная, малеиновая, фумаровая, яблочная, винная, лимонная, метансульфоновая, этансульфоновая, бензолсульфоновая, паратолуолсульфоновая, циклическая, салициловая, пара-аминосалициловая, памовая и подобные; смотри, например, WO 01/062726.

Соединения, содержащие кислотные протоны, могут быть превращены в их терапевтически активные, нетоксичные солевые формы присоединения оснований, например соли металлов или аминные соли, посредством обработки подходящими органическими и неорганическими основаниями. Подходящие солевые формы оснований включают, например, соли аммония, соли щелочных и щелочноземельных металлов, например соли лития, натрия, калия, магния, кальция и подобные, соли органических оснований, например N-метил-D-глюкамина, соли гидабамина и соли аминокислот, таких как, например, аргинин, лизин и подобные. Наоборот, указанные солевые формы могут быть превращены в свободные формы посредством обработки подходящим основанием или кислотой. Соединения и их соли могут находиться в форме сольвата, который включен в объем настоящего описания изобретения. Такие сольваты включают, например, гидраты, алкоголяты и подобные; смотри, например, WO 01/062726.

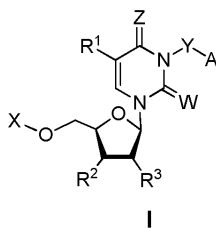
Многие соединения, которые полезны в способах и композициях по описанию изобретения, имеют по меньшей мере один стереогенный центр в своей структуре. Этот стереогенный центр может присутствовать в R- или S-конфигурации, где указанное R- и S- обозначение используют в соответствии с правилами, описанными в Pure Appl. Chem. (1976), 45, 11-30. К описанию изобретения также относятся все стереоизомерные формы, такие как энантиомерные и диастереоизомерные формы соединений или их смеси (включая все возможные смеси стереоизомеров); смотри, например, WO 01/062726.

Кроме того, некоторые соединения, которые содержат алкенильные группы, могут существовать в виде Z- (zusammen) или E- (entgegen) изомеров. В каждом случае описание изобретения включает как смесь, так и отдельные индивидуальные изомеры. Многие заместители на пиперидинильном или азепанильном кольце также могут находиться либо в цис-, либо в транс-положении друг к другу относительно плоскости пиперидинильного или азепанильного кольца. Некоторые соединения могут также существовать в таутомерных формах. Предполагается, что такие формы, хотя они не прямо не указаны в формулах, описанных в данном описании изобретения, включены в объем настоящего описания изобретения. Что касается способов и композиций по настоящему описанию изобретения, ссылку на соединение или соединения следует понимать как включающую соединение в каждой из его возможных изомерных форм и их смеси, если отдельная изомерная форма не упоминается конкретно; смотри, например, WO 01/062726.

В описании изобретения также раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая одно или более соединений по описанию изобретения вместе с фармацевтически приемлемым носителем или эксципиентом. Соединения или фармацевтические композиции по описанию изобретения можно использовать *in vitro* или *in vivo*.

В. Производные уридиновых нуклеозидов и композиции.

В настоящем описании изобретения предложено соединение формулы I



или его соль,

где А представляет собой 9-10-членное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее вплоть до 3 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S, где бициклическое ароматическое кольцо независимо и необязательно замещено одним или более R⁷;

X представляет собой -H;

Y представляет собой связь или (C₁-C₅)алифатическую группу;

Z и W, каждый независимо, выбраны из =O и =S;

R¹ представляет собой -H;

R² и R³, каждый независимо, выбраны из -OR⁵ или -SR⁵;

в каждом случае R⁵ независимо выбран из H-, (C₁-C₁₂)алифатической группы-, группы (C₃-C₁₀)циклоалкил-, [(C₃-C₁₀)циклоалкил]-(C₁-C₁₂)алифатической группы-;

в каждом случае R⁷ независимо выбран из галогена, -OR⁸, -CF₃, -OCF₃, -R⁸ или -SR⁸;

в каждом случае R⁸ независимо выбран из H- и (C₁-C₆)алифатической группы-.

Согласно некоторым воплощениям в настоящем описании изобретения предложено соединение формулы I, где Y представляет собой C₁-алифатическую группу. Например, Y представляет собой -CH₂-.

В некоторых воплощениях, когда Y представляет собой  А не является .

В некоторых воплощениях условия или исключения, указанные выше для формулы I, представляют собой воплощения формулы I-A или I-B. Другими словами, в некоторых воплощениях в описании изобретения предложено соединение формулы I-A или I-B, ограниченное любым одним или более негативными условиями, изложенными выше для формулы I.

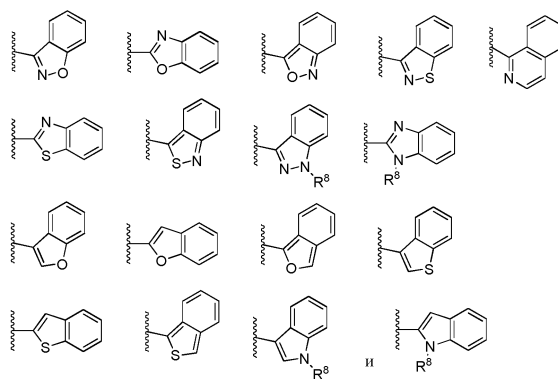
Относительно формул I, I-A или I-B следует понимать, что, когда этого требует контекст, термин "кольцо" применительно к переменной А можно использовать как относящееся к "кольцевой системе".

В некоторых воплощениях соединения формулы I, Y представляет собой связь или (C₂-C₅)алифатическую группу. В некоторых воплощениях Y представляет собой C₂-алифатическую группу, например -CH₂-CH₂-.

В некоторых воплощениях соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль соединения формулы I, такую как натриевую соль. В некоторых воплощениях соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль соединения формулы I-A или I-B, такую как натриевая соль.

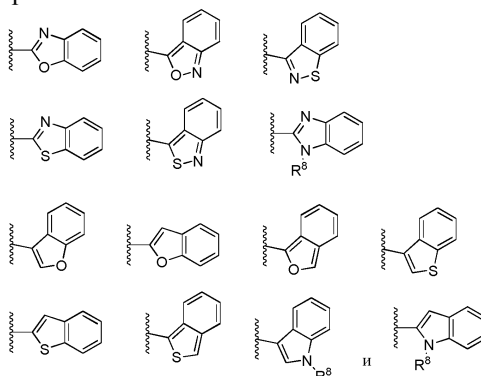
В некоторых воплощениях А представляет собой бициклический гетероарил, такой как бициклический гетероарил, содержащий, по меньшей мере, N (например, содержащий по меньшей мере один гетероатом, который представляет собой N, например содержащий от одного до трех гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой N). В некоторых воплощениях А представляет собой необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо (например, ароматическую кольцевую систему), содержащее по меньшей мере один N. В некоторых воплощениях А представляет собой необязательно замещенный бициклический гетероарил, такой как бициклический гетероарил, содержащий по меньшей мере один N (например, содержащий по меньшей мере один гетероатом, который представляет собой N, например содержащий от одного до трех гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой N).

В некоторых воплощениях А представляет собой необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее два конденсированных 6-членных ароматических кольца, где необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо может содержать вплоть до 3 атомов азота. В некоторых воплощениях А представляет собой необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее одно 6-членное ароматическое кольцо, конденсированное с одним 5-членным ароматическим кольцом, где необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо может содержать вплоть до 3 гетероатомов, выбранных из N, O и S. Приведены примеры кольцевых систем. Например, А может представлять собой бициклическую ароматическую группу (например, бициклический гетероарил), выбранную из

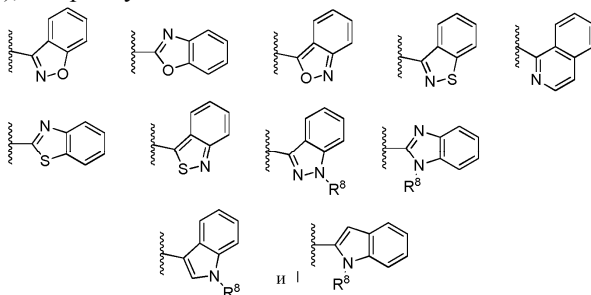


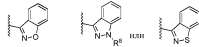
где А необязательно дополнительно замещен одним или более R^7 .

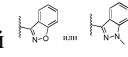
В некоторых воплощениях А представляет собой бициклическое ароматическое кольцо (например, бициклический гетероарил), выбранное из



где А необязательно дополнительно замещено одним или более R^7 . В некоторых воплощениях А представляет собой бициклическую ароматическую группу (например, кольцевую систему) (например, бициклический гетероарил), выбранную из



где А необязательно дополнительно замещен одним или более R^7 . В некоторых воплощениях А выбран из  где А необязательно дополнительно замещен одним или более R^7 .

В некоторых воплощениях А представляет собой , необязательно дополнительно замещенный одним или более R^7 .

В некоторых воплощениях А представляет собой , необязательно дополнительно замещенный одним или более R^7 .

В некоторых воплощениях А представляет собой , необязательно дополнительно замещенный одним или более R^7 , где R^8 не является метилом.

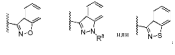
В других воплощениях А представляет собой , необязательно замещенный одним или более R^7 . В некоторых из указанных выше воплощений А в каждом случае независимо R^7 выбран из галогена, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-C_1-C_4$ алифатической группы (такой как $-C_1-C_4$ алкил) и $-O(C_1-C_4$ алифатическая группа) (например, $-O(C_1-C_4$ алкил)).

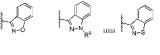
В некоторых воплощениях Z представляет собой $=O$.

В некоторых воплощениях W представляет собой $=O$.

В некоторых воплощениях в настоящем описании изобретения предложено соединение формулы I, где каждый из R^2 и R^3 независимо представляет собой $-OR^5$. В некоторых воплощениях R^2 представляет

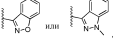
собой -ОН. В другом воплощении R^3 представляет собой -ОН.

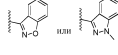
Описание изобретения также включает различные комбинации A, X, Y, Z, W, R^1 , R^2 и R^3 , описанных выше. Эти комбинации можно, в свою очередь, комбинировать с любыми или всеми значениями других переменных, описанных выше. Например, в некоторых воплощениях Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу. В другом воплощении Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу и Z представляет собой =O. В другом воплощении Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу; Z представляет собой =O и W представляет собой =O. В другом воплощении Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу; Z представляет собой =O и W представляет собой =O. В дополнительном воплощении Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу; Z представляет собой =O и W представляет собой =O; и A представляет собой , где A необязательно дополнительно замещен одним или более R^7 .

В дополнительном воплощении Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу; Z представляет собой =O; W представляет собой =O и A выбран из следующих групп: , где A необязательно дополнительно замещен одним или более R^7 ; и R^2 и R^3 , каждый независимо, представляют собой -OR⁵, например R^2 и R^3 , каждый независимо, представляют собой -ОН.

В некоторых из указанных выше воплощений A представляет собой , необязательно дополнительно замещенный одним или более R^7 .

В некоторых из указанных выше воплощений A представляет собой , необязательно дополнительные замещенный одним или более R^7 , где R^8 не является метилом.

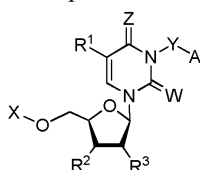
В другом воплощении Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу; Z представляет собой =O; W представляет собой =O и A выбран из следующих групп: , где A необязательно дополнительно замещен одним или более R^7 .

В еще одном воплощении Y представляет собой C_1 - или C_2 -алифатическую группу; Z представляет собой =O; W представляет собой =O и A выбран из следующих групп: , где A необязательно дополнительно замещен одним или более R^7 ; и каждый из R^2 и R^3 независимо представляет собой -OR⁵, например R^2 и R^3 , каждый независимо, представляют собой -ОН.

В некоторых из указанных выше воплощений, когда Y представляет собой , A не является .

В некоторых из указанных выше воплощений Y представляет собой C_2 -алифатическую группу. В некоторых из указанных выше воплощений в каждом случае независимо R^7 выбран из галогена, -CF₃, -OCF₃, -C₁-C₄алифатической группы (например, группы -C₁-C₄алкил) и -O(C₁-C₄алифатической группы) (например, группы -O(C₁-C₄алкил)).

В настоящем описании изобретения также предложено соединение формулы I-A



или его соль,

где A представляет собой 9-10-членное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее вплоть до 3 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S, где бициклическое ароматическое кольцо независимо и необязательно замещено одним или более R^7 ;

X представляет собой -H;

Y представляет собой связь или (C₁-C₅)алифатическую группу;

Z и W, каждый независимо, выбран из =O и =S;

R^1 представляет собой -H;

R^2 и R^3 , каждый независимо, представляют собой -OR⁵ или -SR⁵;

в каждом случае R^5 независимо выбран из H-, (C₁-C₁₂)алифатической группы-, группы (C₃-C₁₀)циклоалкил-, [(C₃-C₁₀)циклоалкил]-(C₁-C₁₂)алифатической группы-;

в каждом случае независимо R^7 выбран из галогена, -OR⁸, -CF₃, -OCF₃, -R⁸ или -SR⁸;

в каждом случае независимо R^8 выбран из H- и (C₁-C₆)алифатической группы-;

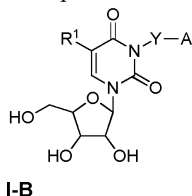
при условии, что A не является .

В некоторых воплощениях в настоящем описании изобретения предложены соединения формулы

I-A, где определение одной или более переменных A, X, Y, Z, W и R¹-R⁸ такое, как определено в воплощениях, описанных выше для формулы I, включая любые их комбинации, а также условия, представленные для формулы I.

Согласно некоторым воплощениям в настоящем описании изобретения предложено соединение формулы I-A, где Y представляет собой C₁-алифатическую группу. Например, Y представляет собой -CH₂-.

В настоящем описании изобретения также предложено соединение формулы I-B



или его соль,

где A выбран из 9-10-членной бициклической гетероарильной группы, содержащей вплоть до 3 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S; и

A необязательно дополнительно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидроксильной, (C₁-C₆)алкильной и (C₁-C₆)алкоксильной;

Y представляет собой (C₁-C₅)алкилен и

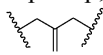
R¹ представляет собой -H.

В некоторых воплощениях A не является



Согласно некоторым воплощениям в настоящем описании изобретения предложено соединение формулы I-B, где Y представляет собой группу C₁-алкилен (например, Y представляет собой -CH₂-).

В некоторых воплощениях, когда Y представляет собой



A не является



В некоторых воплощениях формулы I-A и I-B A представляет собой необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее два конденсированных 6-членных ароматических кольца, где необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо может содержать вплоть до 3 атомов азота. В некоторых воплощениях A представляет собой необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее одно 6-членное ароматическое кольцо, конденсированное с одним 5-членным ароматическим кольцом, где необязательно замещенное бициклическое ароматическое кольцо может содержать вплоть до 3 гетероатомов, выбранных из N, O и S.

В некоторых воплощениях A представляет собой



необязательно дополнительно замещенный одним или более R⁷.

В некоторых воплощениях A представляет собой



необязательно дополнительно замещенный одним или более R⁷.

В некоторых других воплощениях A представляет собой

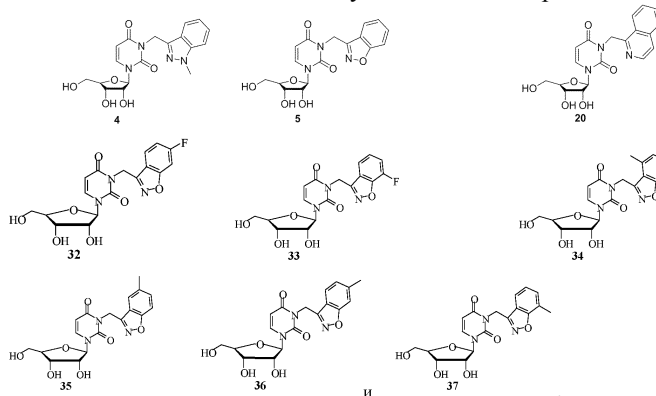


В некоторых других воплощениях A не является



В некоторых воплощениях A содержит по меньшей мере один N.

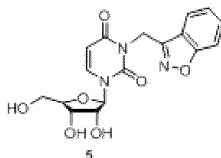
Примеры конкретных соединений по настоящему описанию изобретения включают



или их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых воплощениях фармацевтически приемле-

мая соль представляет собой натриевую соль.

В других воплощениях в настоящем описании изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и соединение формулы I (включая формулу I-A и формулу I-B) или их фармацевтически приемлемые солевые формы. В других воплощениях в настоящем описании изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и любое из соединений 4, 5, 20 или 32-37 или их фармацевтически приемлемых солевых форм. В некоторых воплощениях в настоящем описании изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель, и следующее соединение или его фармацевтически приемлемую солевую форму



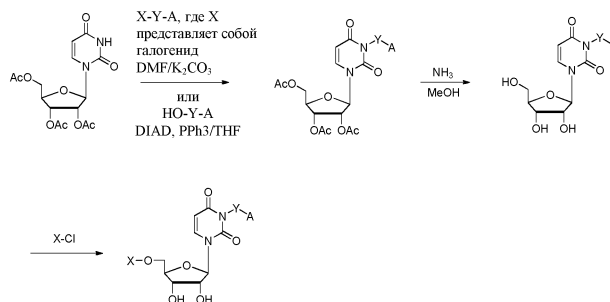
В другом воплощении в настоящем описании изобретения предложено соединение, описанное в данном описании изобретения, в выделенной форме, т.е. в виде выделенного соединения. Типичные воплощения представляют собой выделенное соединение формулы I (включая формулу I-A и формулу I-B), или любое из соединений 4, 5, 20 или 32-37 в выделенной форме. Термин "выделенный" относится к веществу, которое удалено из своего первоначального окружения (например, из естественного окружения, если это природная смесь, или из синтетической смеси, если вещество синтезируют *in vitro* или *ex vivo*). Выделенное соединение желательно является по существу чистым, например имеющим чистоту по меньшей мере примерно 80, 85, 90, 95 или 99 мас. %.

Очевидно, что соединения по изобретению (например, соединения 4, 5, 20 и 32-37), включая их фармацевтически приемлемые соли и фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение по изобретению (например, соединения 4, 5, 20 и 32-37), можно использовать в каждом из способов, описанных в данном описании изобретения ниже.

С. Общая методология синтеза.

Соединения по данному описанию изобретения могут быть получены в общем случае способами, известными специалистам в данной области. На схеме 1 ниже показан общий путь синтеза соединений по настоящему описанию изобретения. Другие эквивалентные схемы, которые очевидны специалисту по органической химии обычной квалификации, можно альтернативно использовать для синтеза различных частей молекул, показанных на общей схеме ниже.

Схема 1



В другом воплощении в настоящем описании изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и соединение, описанное в данном описании изобретения, такое как соединение формулы I.

В описании изобретения предполагается, что любой один или более из ранее указанных аспектов и воплощений (включая соединения всех ранее указанных формул, а также их соли) можно объединять друг с другом и/или с любым из воплощений или аспектов, предложенных ниже.

Типичные применения.

1. Нейрональные заболевания/нарушения.

В некоторых аспектах соединения и композиции, описанные здесь, можно использовать для лечения пациентов, страдающих от состояний, имеющих отношение к P_2Y_6 рецептору, или состояний, которые можно облегчить путем проявления агонистического действия в отношении P_2Y_6 рецепторной активности, такие как нейродегенеративные заболевания и травматическое или механическое повреждение центральной нервной системы (ЦНС), спинного мозга или периферической нервной системы (PNS). Любое из соединений и композиций, включая фармацевтические композиции по описанию изобретения, можно использовать *in vitro* или *in vivo*, включая любой один или более из *in vivo* или *in vitro* способов, описанных в данном описании изобретения. Например, любое из соединений и композиций по описанию изобретения можно использовать *in vitro* или *in vivo*, например, для модулирования P_2Y_6 рецепторной активности и/или для лечения любого одного или более заболеваний или состояний, описанных в данном

описании изобретения. Более того, любое из соединений и композиции по описанию изобретения можно использовать *in vitro* или *in vivo*, например, для модулирования активности P_2Y_6 рецептора, и/или для ингибирования высвобождения и/или уменьшения повышенных уровней провоспалительных цитокинов, и/или для уменьшения уровней провоспалительных цитокинов, например, в плазме или секретированных из клетки. В описании изобретения предполагается, что любое из соединений по описанию изобретения, включая их соли, можно использовать в любом из *in vitro* или *in vivo* способов, описанных в данном описании изобретения, например, для лечения любого одного или более заболеваний или состояний, описанных в данном описании изобретения. Аналогично, любое из соединений по описанию изобретения можно использовать *in vitro*, например, для модулирования активности P_2Y_6 рецептора. Более того, любое из соединений по описанию изобретения можно приготовить в виде фармацевтической композиции, содержащей соединение и один или более приемлемый носитель и/или эксципиент. Композиции, такие как фармацевтическая композиции, можно использовать в любом из *in vitro* или *in vivo* способов, описанных в данном описании изобретения, например, для лечения любого одного или более заболеваний или состояний, описанных в данном описании изобретения.

Соответственно в описании изобретения раскрыты способы лечения (уменьшения частоты или тяжести, или облегчения иным образом одного или более симптомов состояния) у субъекта, нуждающегося в этом (например, субъекта, имеющего любое из состояний, описанных в данном описании изобретения, включая любое из нейродегенеративных или нейрональных состояний, описанных в данном описании изобретения), путем введения соединения по описанию изобретения. Многие из этих, а также других состояний, описанных в данном описании изобретения, характеризуются некоторым уровнем ухудшения когнитивной способности и/или некоторым уменьшением или потерей когнитивной функции. Термины когнитивная функция и когнитивное ухудшение используют, как это понимается в данной области. Например, когнитивная функция в общем случае относится к умственным процессам, посредством которых субъект воспринимает, осознает или постигает идеи. Когнитивная функция включает все аспекты восприятия, мышления, обучения, соображения, памяти, понимания и способности к оценке. Когнитивное ухудшение в общем случае относится к состояниям или симптомам, включающим проблемы с мыслительными процессами. Оно может проявляться в одном или более симптомах, указывающих на уменьшение когнитивной функции, таких как ухудшение или уменьшение высшей мыслительной деятельности, забывчивость, ухудшения памяти, неспособность к обучению, сложности в концентрации внимания, уменьшение интеллекта и другие уменьшения мыслительных функций.

Нейродегенеративное заболевание обычно включает уменьшение массы и объема головного мозга человека, что может быть вызвано атрофией и/или смертью клеток головного мозга, которые являются значительно более глубокими, чем у здорового субъекта, что свойственно старению. Нейродегенеративные заболевания могут развиваться постепенно, после длительного периода нормального функционирования головного мозга, из-за прогрессирующей дегенерации (например, дисфункции и смерти нервных клеток) конкретных областей головного мозга. Альтернативно, нейродегенеративные заболевания могут иметь быстрое начало, например заболевания, ассоциированные с травмой или токсинами. Фактическое начало дегенерации головного мозга может предшествовать клиническому проявлению в течение многих лет. Примеры нейродегенеративных заболеваний включают, без ограничения ими, болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Паркинсона (PD), болезнь Хантингтона (HD), амиотрофический боковой склероз (ALS; болезнь Лу Герига), болезнь диффузных телец Леви, хорея-акантоцитоз, первичный боковой склероз, глазные заболевания (глазной неврит), индуцируемые химиотерапией невропатии (например, от винкристина, паклитаксела, бортезомиба), индуцируемые диабетом невропатии и атаксия Фридрейха. P_2Y_6 рецептор-модулирующие соединения по настоящему описанию изобретения можно использовать для лечения этих нарушений и других, описанных ниже.

AD представляет собой нарушение ЦНС, которое приводит к потере памяти, необычному поведению, изменению личности и уменьшению мыслительных способностей. Эти потери связаны со смертью конкретных типов клеток головного мозга и разрывом связей и их поддерживающей сети (например, глиальных клеток) между ними. Самые ранние симптомы включают потерю кратковременной памяти, ошибочность суждений и изменения личности. Без связи с теорией, эти изменения головного мозга и симптомы, ассоциированные с когнитивным ухудшением, включающие ухудшение памяти и обучения, вызваны, в целом или отчасти, аккумуляцией β -амилоида и результирующим отложением амилоидных бляшек. PD представляет собой нарушение ЦНС, которое приводит к неконтролируемым движениям тела, ригидности, тремору и дискинезии, и ассоциировано с гибелью клеток головного мозга в области головного мозга, которая продуцирует дофамин. ALS (заболевание двигательных нейронов) представляет собой нарушение ЦНС, которое поражает двигательные нейроны, компоненты ЦНС, которые соединяют головной мозг со скелетными мышцами.

HD представляет собой еще одно нейродегенеративное заболевание, которое вызывает неконтролируемые движения, потерю умственных способностей и эмоциональное нарушение. Болезнь Тея-Сакса и болезнь Сандгоффа представляют собой заболевания, обусловленные гликолипидными отложениями, где GM2 ганглиозид и родственные гликолипидные субстраты β -гексозаминидазы аккумулируются в

нервной системе и инициируют острую нейродегенерацию.

Хорошо известно, что апоптоз играет некоторую роль в патогенезе СПИД в иммунной системе. Однако ВИЧ-1 также индуцирует неврологическое заболевание, которое можно лечить P_2Y_6 рецептор-модулирующими соединениями по описанию изобретения.

Потери нейронов также являются характерным признаком прионного заболевания, такого как болезнь Крейтцфельда-Якоба у человека, BSE (коровий губчатый энцефалит) у крупного рогатого скота, болезнь скрепи у овец и коз, и кошачья губчатая энцефалопатия (FSE) у кошек. P_2Y_6 рецептор-модулирующие соединения, описанные здесь, могут быть полезны для лечения или предупреждения потери нейронов из-за этих прионных заболеваний.

В других воплощениях соединения, описанные здесь, можно использовать для лечения или предупреждения любого заболевания или нарушения, включающего аксонопатию. Дистальная аксонопатия представляет собой тип периферической невропатии, которая приводит к некоторым метаболическим или токсическим нарушениям нейронов периферической нервной системы (PNS). Это является наиболее распространенным ответом нервов на метаболические или токсические нарушения, и как таковые могут быть вызваны метаболическими заболеваниями, такими как диабет, почечная недостаточность, синдромы дефицита, такие как недоедание и алкоголизм, или эффекты токсинов или лекарственных средств. Заболевания с дистальными аксонопатиями обычно присутствуют с симметричными, по типу "чулок и перчаток" сенсорнодвигательными нарушениями. В пораженных областях также утеряны или уменьшены глубокие сухожильные рефлексы и функции автономной нервной системы (ANS).

Диабетические невропатии представляют собой невропатические нарушения, которые ассоциированы с сахарным диабетом. Относительно распространенные состояния, которые могут ассоциироваться с диабетическими невропатиями, включают паралич третьего черепно-мозгового нерва; мононевропатию; множественный мононеврит; диабетическую амиотрофию; болезненную полиневропатию; автономную невропатию и торакоабдоминальную невропатию.

Периферическая невропатия является медицинским термином, обозначающим повреждение нервов периферической нервной системы, которое может быть вызвано либо заболеваниями нервов, либо является побочными эффектами системного заболевания. Главные причины периферической невропатии включают судороги, пищевую недостаточность и ВИЧ, хотя диабет является наиболее вероятной причиной.

В типичном воплощении P_2Y_6 рецептор-модулирующие соединения, описанные здесь, можно использовать для лечения или предупреждения рассеянного склероза (MS), включая возвратный MS и моносимптоматический MS, и других демиелинизирующих состояний, таких как, например, хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (CIDP) или симптомы, ассоциированные с ней.

В другом воплощении соединения по настоящему описанию изобретения можно использовать для лечения травмы нервов, включая травму из-за заболевания, повреждения (включая хирургическое вмешательство) или травму, вызванную окружающей средой (например, нейротоксинами, алкоголизмом и т.д.). В некоторых воплощениях соединения по настоящему описанию изобретения можно использовать для лечения травматического повреждения головного мозга, например для улучшения когнитивной функции у субъекта, страдающего травматическим повреждением головного мозга. Без связи с теорией, часто после травматических повреждений головного мозга наблюдается увеличение β -амилоида. В настоящем описании изобретения предложены способы, подходящие для усиления клиренса β -амилоида или уменьшения иным образом β -амилоида и/или объема бляшек у субъекта.

Соединения по настоящему описанию изобретения могут также быть полезными для предупреждения, лечения и облегчения симптомов различных PNS нарушений. Термин "периферическая невропатия" охватывает широкий ряд нарушений, при которых повреждены нервы вне головного мозга и спинного мозга - периферические нервы. Периферическая невропатия может также упоминаться как периферический неврит или, если вовлечены многие нервы, могут быть использованы термины полиневропатия или полиневрит.

PNS заболевания, которые можно лечить P_2Y_6 рецептор-модулирующими соединениями, описанными здесь, включают диабет, проказу, болезнь Шарко-Мари-Тута, синдром Гийена-Барре и невропатии плечевого сплетения (заболевания шейного и первого грудного корешков, нервных стволов, хорд и периферических нервных компонентов плечевого сплетения).

В другом воплощении соединения по настоящему описанию изобретения можно использовать для лечения или предупреждения полиглутаминового заболевания. Типичные полиглутаминовые заболевания включают мышечную атрофию спинного и продолговатого мозга (болезнь Кеннеди), болезнь Хантингтона (HD), дентаторубро-паллидолюисову атрофию (Haw River синдром), спинозжечковая атаксия 1 типа, спинозжечковая атаксия 2 типа, спинозжечковая атаксия 3 типа (болезнь Мачадо-Джозефа), спинозжечковая атаксия 6 типа, спинозжечковая атаксия 7 типа и спинозжечковая атаксия 17 типа.

В некоторых воплощениях в описании изобретения раскрыт способ лечения клеток центральной нервной системы для предупреждения повреждения в ответ на уменьшение притока крови к клетке.

Обычно тяжесть повреждения, которое можно предупредить, будет зависеть в большой степени от степени уменьшения притока крови к клетке и длительности этого уменьшения. В некоторых воплощениях апоптическую или некротическую клеточную смерть можно предупредить. В еще одном воплощении можно предупредить ишемически-опосредованное повреждение, такое как цитотоксический отек или аноксемия ткани центральной нервной системы. В каждом воплощении клетка центральной нервной системы может быть клеткой спинного мозга или клеткой головного мозга.

Другой аспект охватывает введение соединения, описанного здесь, субъекту для лечения ишемического состояния центральной нервной системы. Ряд ишемических состояний центральной нервной системы можно лечить соединениями, описанными в данном описании изобретения.

В некоторых воплощениях ишемические состояния представляют собой инсульт, который приводит к какому-либо типу ишемического повреждения центральной нервной системы, такому как апоптическая или некротическая клеточная смерть, цитотоксический отек или тканевая аноксия центральной нервной системы. Инсульт может воздействовать на любую область головного мозга или может быть вызван любой этиологией, которая, как общеизвестно, вызывает инсульт. В одной альтернативе данного воплощения инсульт представляет собой инсульт ствола головного мозга. В другой альтернативе этого воплощения инсульт представляет собой мозжечковый инсульт. В еще одном воплощении инсульт представляет собой эмболический инсульт. В еще одной альтернативе инсульт может представлять собой геморрагический инсульт. В еще одном воплощении инсульт представляет собой тромботический инсульт.

В другом аспекте соединения по описанию изобретения могут быть введены для уменьшения размера инфаркта ишемической зоны после ишемического состояния центральной нервной системы. Более того, соединения по настоящему описанию изобретения можно также с пользой вводить для уменьшения размера ишемической пенумбры или переходной зоны после ишемического состояния центральной нервной системы.

В некоторых воплощениях комбинированный лекарственный режим может включать лекарственные средства или соединения для лечения или предупреждения нейродегенеративных нарушений или вторичных состояний, ассоциированных с этими состояниями. Таким образом, комбинированный лекарственный режим может включать одно или более соединений, описанных здесь, и один или более агентов против нейродегенерации.

В конкретном воплощении, в описании изобретения раскрыты способы осуществления одного или более из уменьшения объема бляшек, улучшения когнитивной функции, уменьшения или задержки когнитивного ухудшения или улучшения продолжительного потенцирования гиппокампа путем введения субъекту, нуждающемуся в этом, соединения по описанию изобретения. Эти способы можно также использовать для одного или более из усиления β -амилоидного клиренса, увеличения синаптической пластичности или улучшения или восстановления памяти. Вышеназванное представляет собой примеры полезных результаты, которые помогут облегчить (например, лечить) один или более симптомов состояний, ассоциированных с когнитивным нарушением. Типичные состояния включают AD, травматическое повреждение головного мозга и синдром Дауна, а также другие неврологические и нейродегенеративные заболевания. Более того, в описании изобретения предполагается облегчение симптомов состояний и развития деменций, ассоциированных с более мягкими формами когнитивного нарушения, таких как возрастная деменция, умеренное когнитивное ухудшение, и даже для улучшения памяти и когнитивной функции, которая обычно ухудшается, даже у относительно здоровых субъектов, как часть нормального процесса старения. Примеры таких агонистов описаны в данном описании изобретения, и в описании изобретения предполагается, что любые такие соединения можно использовать в лечение любого из состояний, описанных в данном описании изобретения. Независимо от того, используется ли один из агонистов, описанных в данном описании изобретения, или используется другой агонист, в описании изобретения предполагается, что этот агонист можно приготовить в виде препарата в фармацевтически приемлемом носителе и вводить любым подходящим путем введения. Эти способы особенно применимы, когда субъект, нуждающийся в этом, имеет болезнь Альцгеймера. Специалисту в данной области техники очевидно, что заключительный диагноз болезни Альцгеймера затруднен и может требоваться посмертное исследование. Таким образом, в данном контексте и в контексте настоящего описания изобретения термин "имеющие болезнь Альцгеймера" используют как относящийся к субъектам, у которых диагностирована болезнь Альцгеймера или у которых врач подозревает наличие болезни Альцгеймера. Однако эти способы также особенно полезны, когда субъект, нуждающийся в этом, имеет любое другое состояние, ассоциированное с когнитивным ухудшением, например состояние, при котором ухудшение сопровождается увеличением β -амилоида, уменьшением скорости клиренса β -амилоида, и/или увеличением отложения амилоидных бляшек.

Когнитивную функцию и когнитивное ухудшение можно легко оценить, используя тесты, хорошо известные в данной области. Выполнение этих тестов можно сравнить с течением времени, чтобы определить, имеет ли субъект, которого лечат, улучшение, или остановилось или замедлилось ли дальнейшее ухудшение по сравнению с предыдущей скоростью ухудшения у того же пациента или по сравнению со средней скоростью ухудшения. Типичные тесты, используемые в исследованиях на животных, предло-

жены, например, в *Animal Models of Cognitive Impairment*, Levin E.D., Buccafusco J.J., editors. Boca Ration (FL): CRC Press; 2006. Тесты когнитивной функции, включая память и обучение, для оценки пациентов-людей хорошо известны в данной области и регулярно используются для оценки и мониторинга субъектов, имеющих когнитивные нарушения или с подозрением на когнитивные нарушения, такие как AD. Даже у здоровых субъектов, эти и другие стандартные тесты когнитивной функции можно легко использовать для оценки полезных эффектов во времени.

Соединения по описанию изобретения также полезны в лечении болезни Паркинсона. Например, соединения по описанию изобретения можно использовать для улучшения двигательных нарушений, являющихся симптомами болезни Паркинсона. Кроме того, соединения по описанию изобретения полезны в лечении ухудшения памяти, являющегося симптомами болезни Паркинсона. Без связи с теорией, ухудшение микроглиального фагоцитоза, как предполагается, является механизмом действия, лежащим в основе аккумуляции α -синуклеина и образования телец Леви (и результирующей нейродегенерации) при болезни Паркинсона. Соединения по описанию изобретения можно использовать для увеличения клиренса или уменьшения иным образом внеклеточного α -синуклеина, для уменьшения внутриклеточной аккумуляции α -синуклеина, и/или для уменьшения или предупреждения образования телец Леви у субъекта, нуждающегося в этом. В некоторых воплощениях соединения по описанию изобретения усиливают фагоцитоз, например микроглиальный фагоцитоз.

Соединения по описанию изобретения, включая соли, можно исследовать в животных моделях болезни Паркинсона. Типичные модели включают мышей, которые сверхэкспрессируют α -синуклеин, экспрессируют человеческие мутантные формы α -синуклеина, мышей, которые экспрессируют LRKK2 мутации, а также мышей, которых лечат МТТР (микросомальный белок переноса триглицеридов). Дополнительную информацию относительно этих животных моделей можно легко получить в Jackson Laboratories (смотри также веб-сайт research.jax.org/grs/parkinsons.html), а также в многочисленных публикациях, раскрывающих использование этих признанных моделей.

2. Синдром Дауна.

Соединения по настоящему описанию изобретения могут также быть полезными для предупреждения, лечения и облегчения симптомов синдрома Дауна (DS). Синдром Дауна (DS) представляет собой генетическое состояние, характеризующее трисомией хромосомы 21. DS названа в честь Dr. John Langdon Down, английского врача, который первым описал характеристики DS в 1866. И лишь в 1959 Jerome Lejeune и Patricia Jacobs независимо первыми определили, что причиной является трисомия 21-й хромосомы.

Недавно стало очевидным, что существует связь между болезнью Альцгеймера (AD) и DS. Более конкретно, продуцирование избыточных β -амилоидных бляшек и амилоидная ангиопатия происходят и при DS, и при болезни Альцгеймера (AD) (Delabar et al., (1987) "Beta amyloid gene triplication in Alzheimer's disease and karyotypically normal Down Syndrome, *Science* 235: 1390-1392). Без связи с теорией, при том что и AD, и синдром Дауна оба характеризуются β -амилоидными бляшками и когнитивным нарушением, способы и композиции, которые уменьшают объем бляшек и/или усиливают β -амилоидный клиренс, полезны в лечении AD и синдрома Дауна (например, обеспечивая полезный эффект и/или уменьшая один или более симптомов AD или синдрома Дауна). Типичные полезные эффекты включают, без ограничения ими, улучшение когнитивной функции, уменьшение когнитивного нарушения, уменьшение объема бляшек, усиление β -амилоидного клиренса, улучшение памяти и подобные.

3. Боль.

В некоторых аспектах соединения, описанные здесь, можно использовать для лечения пациентов с болью. Боль представляет собой сложный физиологический процесс, который включает ряд сенсорных и нейронных механизмов. Соединения, используемые согласно настоящему описанию изобретения, подходят для введения субъекту для лечения (включая предупреждение и/или облегчение) хронической и/или острой боли, в частности невоспалительной скелетно-мышечной боли, такой как боль в спине, фибромиалгия и миофасциальная боль, более конкретно для уменьшения ассоциированной мышечной гипералгезии или мышечной аллодинии. Неограничивающие примеры типов боли, которые можно лечить соединениями, композициями и способами по настоящему описанию изобретения, включают хронические состояния, такие как скелетно-мышечная боль, включая фибромиалгию, миофасциальную боль, боль в спине, боль при менструации, боль при остеоартрите, боль при ревматоидном артрите, боль при желудочно-кишечном воспалении, боль при воспалении сердечной мышцы, боль при рассеянном склерозе, боль при неврите, боль при СПИД, боль при химиотерапии, опухолевая боль, головная боль, CPS (хронический болевой синдром), центральная боль, невропатическая боль, такая как невралгия тройничного нерва, опоясывающий лишай, боль от ушиба, фантомная боль, нарушение височно-нижнечелюстного сустава, повреждение нервов, мигрень, постгерпетическая невралгия, невропатическая боль, встречающаяся как следствие повреждений, ампутационных инфекций, метаболических нарушений или дегенеративных заболеваний нервной системы, невропатическая боль, ассоциированная с диабетом, фантомные ощущения, гипотиреоз, уремия, витаминная недостаточность или алкоголизм; и острую боль, такую как боль после повреждений, послеоперационная боль, боль при острой подагре или боль во

время операций, таких как хирургия нижней челюсти.

Острая боль обычно представляет собой физиологический сигнал, указывающий на потенциальное или фактическое повреждение. Хроническая боль может быть соматогенной (органической) или психогенной. Хроническая боль часто сопровождается вегетативными симптомами или за ней следуют вегетативные симптомы, такие как, например, усталость или нарушение сна. Острую боль можно лечить соединениями, описанными здесь.

Соматогенная боль может иметь ноцицептивное, воспалительное или невропатическое происхождение. Ноцицептивная боль связана с активацией соматических или висцеральных чувствительных к боли нервных волокон, обычно посредством физического или химического повреждения тканей. Воспалительная боль является результатом воспаления, например воспалительного ответа живых тканей на любой стимул, включая повреждение, инфекцию или раздражение. Невропатическая боль является результатом дисфункции нервной системы. Невропатическая боль, по-видимому, поддерживается аберрантными соматосенсорными механизмами в периферической нервной системе, центральной нервной системе (ЦНС) или в обоих. Согласно одному аспекту описания изобретения соматогенную боль можно лечить соединениями, описанными здесь.

Невоспалительная скелетно-мышечная боль является конкретной формой хронической боли, которая в общем случае не прослеживается до конкретной структурной или воспалительной причины и которая в общем случае, по-видимому, не индуцирована повреждением ткани и макрофагальной инфильтрацией (приводящей к отеку), как происходит при классическом ответе иммунной системы. Хотя невоспалительная скелетно-мышечная боль, по-видимому, является результатом периферической и/или центральной сенсibilизации, причина в настоящее время полностью не ясна. Она часто ассоциирована с физическим или эмоциональным стрессом, отсутствием достаточного или спокойного сна, или с воздействием холода или влажности. Невоспалительная скелетно-мышечная боль также, по-видимому, ассоциирована с или провоцируется системными нарушениями, такими как вирусные или другие инфекции. Примеры невоспалительной скелетно-мышечной боли включают боль и спазмы шеи и плеча, поясничную боль и больные грудные или бедренные мышцы, которые можно лечить соединением по настоящему описанию изобретения. Невоспалительная скелетно-мышечная боль может быть генерализованной или локализованной.

Согласно дополнительному аспекту описания изобретения соединение, описанное здесь, может быть введено субъекту для лечения синдрома фибромиалгии (FMS) и синдрома миофасциальной боли (MPS). FMS и MPS представляют собой медицинские состояния, характеризующиеся фибромиалгией и миофасциальной болью соответственно, которые представляют собой два типа невоспалительной скелетно-мышечной боли. FMS представляет собой сложный синдром, ассоциированный со значительным ухудшением качества жизни и может приводить к существенным финансовым затратам. Фибромиалгия представляет собой системный процесс, который обычно является причиной возникновения болезненных точек (локальные болезненные области в нормально выглядящих тканях) в конкретных областях тела и часто ассоциирована с картиной плохого сна и/или стрессовым окружением. Диагноз фибромиалгии обычно основан на широко распространенной боли в анамнезе (например, билатеральной, верхней и нижней части тела и/или спинномозговой боли) и наличии чрезмерной болезненности при приложении давления к ряду (иногда более точно определенному как по меньшей мере 11 из 18) конкретных мышечно-болезненных участков. FMS обычно представляет собой хронический синдром, который вызывает боль и ригидность тканей, поддерживающих и двигающих кости и суставы. Синдром миофасциальной боли (MPS) представляет собой хроническое недегенеративное, невоспалительное состояние скелетно-мышечной системы, часто ассоциированное со спазмом или с болью в жевательных мышцах. Отдельные области в мышцах или их тонкое покрытие из соединительной ткани (фасция) становятся аномально толстыми или тугими. Когда миофасциальные ткани становятся тугими и теряют свою эластичность, способность нейротрансмиттеров посылать и получать сообщения между головным мозгом и телом нарушена. Конкретные отдельные области мышц могут быть болезненными при приложении крепкого нажатия кончиком пальца; эти области называют болезненными или триггерными точками. Симптомы MPS включают мышечную ригидность, и ноющие боли, и острые боли или покалывание и нечувствительность в областях, отдаленных от триггерной точки. Дискомфорт может стать причиной нарушения сна, усталости и депрессии. Наиболее часто триггерные точки находятся в области челюсти (височно-нижнечелюстная), шеи, спины или ягодиц. Миофасциальная боль отличается от фибромиалгии: MPS и FMS представляют собой два отдельных состояния, каждое из которых имеет свою собственную патологию, но совместно используют мышцы как общий путь для боли. Миофасциальная боль обычно является более локализованным или региональным (вдоль мышцы и окружающих фасциальных тканей) болевым процессом, который часто ассоциирован с болезненностью триггерных точек. Миофасциальную боль можно лечить множеством способов (иногда в комбинации) включая вытягивание, ультразвук, ледяные спреи с вытягиванием, физические упражнения и инъекции анестетика.

Еще одним невоспалительным скелетно-мышечным болевым состоянием является боль в спине, особенно поясничная боль, которую также можно лечить соединением по настоящему описанию изобретения. Это состояния также можно лечить путем введения соединения по настоящему описанию изобре-

тения субъекту, нуждающемуся в этом. Боль в спине представляет собой распространенный скелетно-мышечный симптом, который может быть острым или хроническим. Она может быть вызвана многими заболеваниями и нарушениями, которые влияют на поясничный отдел позвоночника. Поясничная боль часто сопровождается ишиасом, который представляет собой боль, которая захватывает седалищный нерв и ощущается в пояснице, ягодицах и в задней части бедра.

4. Глаукома и внутриглазное давление.

В другом аспекте в описании изобретения раскрыты способы лечения глаукомы у субъекта, нуждающегося в этом. Соединения по описанию изобретения, такие как любое из соединений, описанных в данном описании изобретения, можно использовать для лечения глаукомы. Например, соединения по описанию изобретения можно использовать для уменьшения внутриглазного давления (IOP), такого как повышенное внутриглазное давление, наблюдаемое в большинстве случаев глаукомы. Также предложены способы лечения глазной гипертензии у субъекта, нуждающегося в этом. Без связи с теорией, соединения по описанию изобретения можно использовать для уменьшения IOP (внутриглазного давления), и тем самым лечения глазной гипертензии. Для любого из предыдущего в описании изобретения предлагается введение эффективного количества агониста P_2Y_6 рецептора, такого как любой из агонистов, описанных в данном описании изобретения, субъекту, нуждающемуся в этом, для уменьшения внутриглазного давления, такого как повышенное внутриглазное давление, и/или для лечения глаукомы (например, для улучшения, или остановки, или замедления развития одного или более симптомов этого состояния).

Глаукома относится к группе глазных состояний, которые приводят к повреждению зрительного нерва. Этот нерв несет визуальную информацию из глаза в головной мозг. В большинстве случаев повреждение зрительного нерва вызвано повышенным давлением в глазу, также известным как внутриглазное давление (IOP). С течением времени повышенное внутриглазное давление и повреждение зрительного нерва приводит к потере поля зрения, и может привести к слепоте. Глазная гипертензия представляет собой внутриглазное давление больше нормального без повреждения зрительного нерва или потери поля зрения. В настоящее время офтальмологи в общем случае определяют нормальное внутриглазное давление как от 10 до 21 мм рт. ст., и внутриглазное давление выше 21 мм рт. ст. считается глазной гипертензией или повышенным внутриглазным давлением. Глазная гипертензия считается значительным фактором риска развития глаукомы, и, таким образом, пациентов с глазной гипертензией следует внимательно контролировать в отношении глаукомы.

Глаукома является второй по распространенности причиной слепоты в Соединенных Штатах. Неврологическое повреждение в характеристичной картине включает потери ганглиозных клеток сетчатки. Все из многочисленных разных подтипов глаукомы можно считать являющимися некоторым типом невропатии зрительного нерва. Повышенное внутриглазное давление (выше 21 мм рт. ст. или 2,8 кПа) является наиболее важным и единственным модифицируемым фактором риска для глаукомы. Однако у некоторых пациентов может быть высокое глазное давление в течение многих лет и никогда не развиться повреждение, в то время как у других может развиться повреждение нервов при относительно низком давлении. Нелеченная глаукома может привести к постоянному повреждению зрительного нерва и результирующей потере поля зрения, которая с течением времени может развиться в слепоту.

Двумя основными типами глаукомы, каждый из которых отмечен повышенным внутриглазным давлением, являются открытоугольная и закрытоугольная глаукома. Открытоугольная и закрытоугольная глаукома также включает следующие варианты: (1) вторичная глаукома; (2) пигментная глаукома; (3) псевдоэкзофиативная глаукома; (4) травматическая глаукома; (5) неоваскулярная глаукома и (6) иридокорнеальный эндотелиальный синдром (ICE).

Открытоугольная глаукома, наиболее распространенная форма глаукомы, составляет по меньшей мере 90% всех случаев глаукомы.

Открытоугольную глаукому также называют первичной или хронической глаукомой и в общем случае она имеет следующие характеристики: (1) вызвана медленным закупориванием дренажных каналов, что приводит к повышенному глазному давлению; (2) имеет широкий и открытый угол между радужной оболочкой и роговицей и (3) развивается медленно и представляет собой пожизненное состояние. Закрытоугольная глаукома, менее распространенная форма глаукомы, также называется острой глаукомой или узкоугольной глаукомой. В отличие от открытоугольной глаукомы, закрытоугольная глаукома является результатом закрытия угла между радужной оболочкой и роговицей, и закрытоугольная глаукома в общем случае имеет следующие характеристики: (1) вызвана заблокированными дренажными каналами, приводящими к неожиданному повышению внутриглазного давления; (2) имеет закрытый или узкий угол между радужной оболочкой и роговицей; (3) развивается очень быстро и (4) требует немедленного медицинского внимания.

В описании изобретения раскрыты способы лечения открытоугольной и/или закрытоугольной глаукомы, включая способы лечения вариантов открытоугольной и/или закрытоугольной глаукомы. В некоторых воплощениях введение соединения по описанию изобретения пациенту, имеющему открытоугольную и/или закрытоугольную глаукому, уменьшает внутриглазное давление и тем самым лечит глаукому у пациента. В некоторых воплощениях уменьшение внутриглазного давления замедляет или останавливает дальнейшее повреждение зрительного нерва (например, предупреждает возникновение даль-

нейшего повреждения зрительного нерва). В некоторых воплощениях уменьшение внутриглазного давления замедляет или останавливает дальнейшую потерю или повреждение зрения или поля зрения. Кроме того, в описании изобретения раскрыты способы лечения зрительной невропатии у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения по описанию изобретения.

Кроме открытоугольной и закрытоугольной глауком, еще одним типом глаукомы является врожденная глаукома. В некоторых воплощениях в описании изобретения раскрыты способы лечения врожденной глаукомы у субъекта, нуждающегося в этом. Этот тип глаукомы присутствует у детей, когда имеет место неправильное или неполное развитие глазных дренажных каналов во время пренатального периода.

Четвертый тип глаукомы упоминается как вторичная глаукома. Вторичная глаукома является следствием травмы, системного заболевания или побочным эффектом некоторых лекарственных средств (например, кортикостероидов). В некоторых воплощениях в описании изобретения раскрыты способы лечения вторичной глаукомы у субъекта, нуждающегося в этом. Системные заболевания, которые могут привести к глаукоме или обострить ее, включают гипертензию и диабет.

Кроме того, хотя в основном глаукома характеризуется повышенным внутриглазным давлением, которое приводит к повреждению зрительного нерва, имеются случаи глаукомы, упоминаемые как глаукома низкого давления или нормального давления. В этих случаях зрительный нерв повреждается, несмотря на то, что глазное давление не является очень высоким. В некоторых воплощениях в описании изобретения раскрыты способы лечения глаукомы низкого давления или нормального давления. В некоторых воплощениях глаукома, которую лечат с использованием способов по описанию изобретения, характеризуется повышенным внутриглазным давлением и/или глазной гипертензией (например, глаукома не является глаукомой низкого давления или нормального давления).

Кроме повышенного внутриглазного давления, которое приводит к повреждению зрительного нерва, различные типы глаукомы характеризуются конкретными симптомами. В описании изобретения предполагается, что введение соединений по данному описанию изобретения можно использовать для облегчения одного или более симптомов глаукомы, включая облегчение одного или более симптомов любого из конкретных типов глаукомы, описанных в данном описании изобретения.

При открытоугольной глаукоме фактически присутствуют несколько явных симптомов. Пациенты имеют повышенное внутриглазное давление или, по меньшей мере, периоды повышенного внутриглазного давления. Однако внутриглазное давление медленно повреждает зрительный нерв, и, таким образом, потеря зрения является медленной и обычно не сопровождается болью. Действительно, заметная потеря зрения, которая обычно проявляется как медленная потеря периферического зрения, приводящая к туннельному зрению, является симптомом относительно прогрессирующего и тяжелого заболевания. В итоге, открытоугольная глаукома может привести к слепоте.

При закрытоугольной глаукоме пациенты испытывают один или более из следующих симптомов, и эти симптомы могут появляться и исчезать или постоянно ухудшаются. Типичные симптомы включают внезапную, сильную боль (обычно только в одном глазу), ухудшенное или замутненное зрение (также известное как "затуманенное" зрение), тошноту, рвоту, радужные ореолы вокруг источников света, красные глаза и ощущение, что глаз набухает.

При врожденной глаукоме симптомы обычно замечают, когда возраст ребенка составляет несколько месяцев. Типичные симптомы включают один или более из следующих: помутнение передней части глаза, увеличение одного или обоих глаз, красные глаза, чувствительность к свету и избыточное слезоотделение.

В настоящее время существует несколько тестов, которые используют для измерения внутриглазного давления, для определения повышенного внутриглазного давления и для диагностики глаукомы. В некоторых воплощениях один или более из этих тестов используют для диагностики глаукомы и/или внутриглазной гипертензии до начала лечения соединением по описанию изобретения. Типичные тесты, которые можно использовать, по отдельности или в комбинации, включают тонометрию, гониоскопию, визуализацию зрительного нерва, исследование со щелевой лампой, исследование сетчатки, измерения остроты зрения и измерения поля зрения. Эти тесты также можно использовать для мониторинга пациента после начала лечения. Например, эти тесты можно использовать для определения, замедлило или остановило ли данное лечение развитие заболевания, уменьшило ли повышенное внутриглазное давление (например, восстановило нормальное внутриглазное давление), и улучшилось ли зрение пациента или прекратилось дальнейшее ухудшение.

Кроме того, в описании изобретения раскрыты способы уменьшения повышенного внутриглазного давления у субъекта, нуждающегося в этом.

Подходящие субъекты включают, как подробно обсуждается выше, субъектов с глаукомой (любой формой глаукомы, описанной в данном описании изобретения) или субъектов с глазной гипертензией. Уменьшение внутриглазного давления, такого как повышенное внутриглазное давление, у этих субъектов (например, путем введения эффективного количества соединения по описанию изобретения, включая любое из соединений, описанных в данном описании изобретения), таких как пациенты-люди, помогает облегчить один или более симптомов состояния, помогают замедлить или остановить повреждение зри-

тельного нерва и зрения, и может даже обеспечить возможность улучшения состояния пациента, в частности, в случаях, когда нет значительного повреждения. Установлено, что повышенное внутриглазное давление при глазной гипертензии является главным фактором риска развития глаукомы, уменьшение повышенного IOP у таких пациентов может помочь в уменьшении риска развития глаукомы у пациента.

Соединения по описанию изобретения, включая соли, можно исследовать в животных моделях глаукомы и глазной гипертензии. Типичные модели известны в данной области техники и описаны, например, в Bouhenni et al., *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Volume 2012, Article ID 692609, 11 страниц, doi: 10.1155/2012/692609.

Агонисты по описанию изобретения могут быть введены с использованием любого подходящего пути введения, описанного в данном описании изобретения, включая пероральное, внутривенное или локальное введение в глаз (например, глазные капли, глазные инъекции или имплантация устройства, элюирующего лекарственное средство).

В других воплощениях в описании изобретения раскрыты способы уменьшения внутриглазного давления (например, уменьшения повышенного внутриглазного давления) у субъекта, нуждающегося в этом, где субъект, нуждающийся в этом, имеет состояние, отличное от глаукомы, или дополнительное к глаукоме. Типичные состояния, вызванные или обострившиеся из-за повышенного IOP, которые можно лечить, включают синдром Риза-Элсворта, гидрофтальм и офтальмогерпес.

5. Воспалительные состояния.

В другом аспекте соединения и/или их соли и композиции, описанные здесь, можно использовать для лечения пациентов, страдающих от P_2Y_6 рецептор-ассоциированных состояний или состояний, которые можно облегчить путем модулирования, например проявления агонистического действия в отношении активности P_2Y_6 рецептора, таких как воспалительные состояния. Соответственно в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния у субъекта, нуждающегося в этом. Для лечения воспалительных состояний можно использовать соединения по описанию изобретения, такие как любое из соединений или солей, описанных в данном описании изобретения. При использовании в данном описании изобретения воспалительное состояние представляет собой заболевание или состояние, характеризующееся, в целом или отчасти, воспалением или воспалительным ответом у пациента. Обычно один или более симптомов воспалительного заболевания или состояния вызваны или обостряются неподходящим, неправильно регулируемым или сверхактивным воспалительным ответом. Воспалительные заболевания или состояния могут быть хроническими или острыми. В некоторых воплощениях воспалительные заболевания или состояния представляют собой аутоиммунное нарушение. В некоторых воплощениях соединения по описанию изобретения используют для уменьшения воспаления, для уменьшения экспрессии одного или более воспалительных цитокинов и/или для уменьшения сверхактивного воспалительного ответа у субъекта, имеющего воспалительное состояние. Таким образом, в описании изобретения раскрыт способ уменьшения воспаления, способ уменьшения экспрессии одного или более воспалительных цитокинов и/или способ уменьшения сверхактивного воспалительного ответа у субъекта, нуждающегося в этом.

Воспалительные состояния, которые можно лечить, используя соединения по описанию изобретения, могут быть охарактеризованы, например, на основании первичной пораженной ткани, механизма действия, лежащего в основе этого состояния, или части иммунной системы, которая неправильно регулируется или сверхактивна. Примеры воспалительных состояний, а также категории заболевания и состояний представлены в данном описании изобретения. В описании изобретения предложены способы лечения (например, посредством уменьшения воспаления, уменьшения экспрессии одного или более воспалительных цитокинов, и/или уменьшения сверхактивного воспалительного ответа) воспалительных состояний, в общем случае, а также способы лечения любой из категорий состояний или любого из конкретных состояний, описанных в данном описании изобретения.

В некоторых воплощениях примеры воспалительных состояний, которые можно лечить, включают воспаления легких, суставов, соединительной ткани, глаз, носа, кишечника, почек, печени, кожи, центральной нервной системы, сосудистой системы, сердца или жировой ткани. В некоторых воплощениях воспалительные состояния, которые можно лечить, включают воспаления из-за инфильтрации лейкоцитов или других иммунных эффекторных клеток в пораженную ткань. В некоторых воплощениях воспалительные состояния, которые можно лечить, включают воспаления, опосредованные IgE антителами. Другие релевантные примеры воспалительных состояний, которые можно лечить согласно настоящему описанию изобретения, включают воспаления, вызванные инфекционными агентами, включая, но без ограничения ими, вирусы, бактерии, грибы и паразиты. В некоторых воплощениях воспалительные состояния, которые лечат, представляют собой аллергическую реакцию. В некоторых воплощениях воспалительные состояния представляют собой аутоиммунное заболевание. В описании изобретения предполагается, что некоторые воспалительные состояния включают воспаление во многих тканях. Кроме того, в описании изобретения предполагается, что некоторые воспалительные состояния могут попасть в несколько категорий. Например, состояние может быть описано и классифицировано как аутоиммунное состояние и/или оно может также быть описано и классифицировано на основании пораженной(ых) первичной(ых) ткани(ей) (например, воспалительные состояния кожи или суставов). В некоторых воплоще-

ниях воспалительное состояние, которое можно лечить способами, описанными в данном описании изобретения, попадает более чем в одну категорию состояния.

Воспалительные состояния легких включают астму, респираторный дистресс-синдром взрослых, бронхит, легочное воспаление, легочный фиброз и муковисцидоз (в которые могут также или альтернативно быть включены желудочно-кишечный тракт или другие ткани). В некоторых воплощениях легочное воспаление представляет собой аллерген-индуцированное легочное воспаление. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния легких у пациента, нуждающегося в этом (например, пациента, имеющего воспалительное состояние легких), путем введения эффективного количества соединения или соли по описанию изобретения. В некоторых воплощениях лечение воспалительного состояния легких включает уменьшения воспаления в легких пациента, уменьшение неправильной регуляции воспалительных цитокинов у пациента и/или уменьшение одного или более симптомов воспалительного состояния легких у субъекта. В качестве примера симптомы воспалительного состояния легких, которые могут быть улучшены, локально или системно, путем уменьшения воспаления или воспалительного ответа, включают, без ограничения ими: насыщение кислородом (пациенты имеют улучшенное насыщение кислородом после лечения), легкость дыхания (пациенты ощущают большую легкость при дыхании и уменьшение затрудненного дыхания), зависимость от внешнего кислорода (уменьшалась зависимость пациента от внешнего снабжения кислородом) и зависимость от ингаляторов или небулайзеров (зависимость пациента от других лекарственных средств уменьшалась). Улучшение у пациента (например, уменьшение симптомов) можно измерять непосредственно путем оценки воспаления или рубцевания в легких или путем оценки экспрессии цитокинов в жидкостях в легких. Улучшение можно также оценить путем оценки улучшения уровней активности пациента, состояния и скорости ходьбы и уменьшения зависимости от снабжения кислородом.

Воспалительные состояния суставов включают ревматоидный артрит, ревматоидный спондилит, ювенильный ревматоидный артрит, остеоартрит, подагрический артрит и другие артритические состояния. В некоторых воплощениях воспалительное состояние суставов представляет собой ревматоидный артрит или псориатический артрит. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния суставов у пациента, нуждающегося в этом, например лечения любого из ранее указанных состояний, путем введения эффективного количества соединения и/или соли по описанию изобретения. В некоторых воплощениях лечение воспалительных состояний суставов включает уменьшение воспаления в суставах пациента, уменьшение уровней одного или более циркулирующих цитокинов, например IL-4, IL-10 и/или IL-12, в плазме пациента, уменьшение неправильной регуляции воспалительных цитокинов у пациента и/или уменьшение одного или более симптомов воспалительного состояния суставов у субъекта. В качестве примера симптомы воспалительного состояния суставов, которые можно улучшить путем уменьшения воспаления или воспалительного ответа, локально и/или системно, включают, без ограничения ими: опухание одного или более суставов, болезненность и/или боль в одном или более суставах, уменьшение подвижности и/или использования одного или более суставов, нарушенная способность выполнять ежедневные задачи (например, улучшена способность выполнять ежедневные задачи, включая задачи ухода за собой) и зависимость в поддержке при ходьбе (уменьшалась зависимость пациента от шагающего механизма, трости или кресла-качалки). Улучшение у пациентов (например, уменьшение симптомов) можно измерять непосредственно путем оценки воспаления в суставах или путем оценки экспрессии цитокинов в суставной жидкости. Улучшение можно также оценить путем оценки улучшения уровней активности пациента и измерений качества жизни, расстояния и скорости ходьбы, амплитуды движений, подвижности и уменьшения зависимости от средств для передвижения. В некоторых воплощениях воспалительное состояние суставов также представляет собой аутоиммунное состояние, и описание изобретения предполагает лечение таких состояний.

Воспалительные состояния глаз включают увеит (включая ирит), конъюнктивит, склерит и сухой кератоконъюнктивит. В некоторых воплощениях в описании изобретения предлагается лечение воспалительного состояния глаз у пациента, нуждающегося в этом, включающее введение соединения и/или соли по описанию изобретения системно или локально в глаз, например, посредством глазных капель.

Воспалительные состояния кишечника включают болезнь Крона, язвенный колит, воспалительное заболевание кишечника, синдром воспаленного кишечника и дистальный проктит. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния кишечника у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения и/или соли/или соли по описанию изобретения. В некоторых воплощениях лечение воспалительного состояния кишечника включает уменьшения воспаления в желудочно-кишечном тракте пациента, уменьшение неправильной регуляции воспалительных цитокинов у пациента, уменьшение циркулирующих уровней одного или более цитокинов, например IL-4, IL-10 и/или IL-12, в плазме пациента и/или уменьшение одного или более симптомов воспалительного состояния кишечника у субъекта. В качестве примера симптомы воспалительного состояния кишечника, которые могут быть улучшены путем уменьшения воспаления или воспалительного ответа, локально и/или системно, включают, без ограничения ими: диарею, запор, пачкание, боль, метеоризм, кровь в стуле, потерю массы (лечение стабилизирует массу и/или предупреждает

дальнейшую потерю массы; лечение помогает стимулировать улучшенное питание и прирост массы, когда это необходимо), нарушение всасывания и недоедание. Улучшение у пациентов (например, уменьшение симптомов) можно измерять непосредственно путем оценки воспаления в желудочно-кишечном тракте или путем оценки экспрессии цитокинов или уровней цитокинов в плазме пациентов. Улучшение можно также оценить путем оценки улучшения любого из ранее указанных симптомов, оценки самостоятельно предоставленных пациентом сведений о качестве жизни и уменьшении симптомов, оценки массы и пищевого статуса пациента. В некоторых воплощениях воспалительное состояние кишечника, которое лечат, представляет собой также аутоиммунное состояние, такое как язвенный колит.

Воспалительные состояния кожи включают состояния, ассоциированные с клеточной пролиферацией, такие как псориаз, экзема и дерматит (например, экзематозный дерматит, топический и себорейный дерматит, аллергический или ирритантный контактный дерматит, экзематозные трещины, фотоаллергический дерматит, фототоксический дерматит, фитофотодерматит, радиационный дерматит и застойный дерматит). Другие воспалительные состояния кожи включают, без ограничения ими, язвы и эрозии в результате травмы, ожоги, буллезные нарушения или ишемию кожи или слизистых оболочек, некоторые формы икhtiоза, буллезный эпидермолиз, гипертрофические рубцы, келоиды, кожные изменения при старении, вызванном внутренним состоянием организма, фотостарение, образование волдырей при трении, вызванное механическим сдвигом кожи, и кожную атрофию в результате местного применения кортикостероидов. Дополнительные воспалительные состояния кожи включают воспаление слизистых оболочек, такое как хейлит, назальное раздражение, мукозит и вульвовагинит. Другие воспалительные состояния кожи включают акне, розацеа, пузыри, карбункулы, пузырчатку, целлюлит, болезнь Гровера, гнойный гидраденит и плоский лишай. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния кожи у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения и/или и/или соли по описанию изобретения. В некоторых воплощениях лечение воспалительного состояния кожи включает уменьшение воспаления кожи у пациента, уменьшение неправильной регуляции воспалительных цитокинов у пациента, уменьшение уровней одного или более циркулирующих цитокинов, например IL-4, IL-10 и/или IL-12, в плазме пациента и/или уменьшение одного или более симптомов воспалительного состояния кожи у субъекта. В качестве примера симптомы воспалительного состояния кожи, которые можно улучшить путем уменьшения воспаления или воспалительного ответа, локально и/или системно, включают, без ограничения ими: вздутие кожи, красноту, зуд, шелушение, пузырение, кровотечение, болезненность при касании и чувствительность к свету или солнцу. Улучшение у пациентов (например, уменьшение симптомов) можно измерить непосредственно путем оценки воспаления или путем оценки экспрессии цитокинов у пациентов. Улучшение можно также оценить путем оценки улучшения любого из ранее указанных симптомов или путем оценки самостоятельно предоставленных пациентом сведений о качестве жизни и уменьшению симптомов. В некоторых воплощениях воспалительное состояние кожи представляет собой также аутоиммунное состояние, такое как псориаз. В описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния кожи.

Воспалительные состояния эндокринной системы включают, без ограничения ими, аутоиммунный тиреоидит (болезнь Хашимото), диабет I типа, воспаление печени и жировой ткани, ассоциированные с диабетом II типа, и острое и хроническое воспаление коры надпочечников. Воспалительные состояния сердечно-сосудистой системы включают, без ограничения ими, повреждение из-за инфаркта миокарда, заболевание периферических сосудов, миокардит, васкулит, реваскуляризацию стеноза, атеросклероз, и сосудистое заболевание, ассоциированное с диабетом II типа. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного эндокринного состояния или сердечно-сосудистого состояния у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения и/или и/или соли по описанию изобретения. В некоторых воплощениях лечение воспалительного эндокринного состояния или сердечно-сосудистого состояния включает уменьшение воспаления у пациента, уменьшение неправильной регуляции воспалительных цитокинов у пациента, уменьшение уровней одного или более циркулирующих цитокинов, например IL-4, IL-10 и/или IL-12, в плазме пациента, и/или уменьшение одного или более симптомов воспалительного эндокринного состояния или воспалительного сердечно-сосудистого состояния у субъекта. Как указано выше, эндокринные нарушения оказывают воздействие на различные группы органов и, таким образом, симптомы нарушений варьируются в зависимости от пораженной ткани. В качестве примера симптомы воспалительного сердечно-сосудистого состояния, которые можно улучшить путем уменьшения воспаления или воспалительного ответа, локально и/или системно, включают, без ограничения ими: грудную боль, нерегулярный ритм сердца, стенокардию, одышку, головокружение, пониженный уровень активности и усталость. Улучшение у пациентов (например, уменьшение симптомов) можно измерить непосредственно путем оценки воспаления или путем оценки экспрессии цитокинов у пациентов.

Улучшение можно также оценивать путем оценки улучшения любого из ранее указанных симптомов, оценки самостоятельно предоставленных пациентом сведений о качестве жизни и уменьшении симптомов и оценки улучшения в уровнях активности.

Воспалительные состояния почек включают, без ограничения ими, гломерулонефрит, интерстици-

альный нефрит, волчаночный нефрит, нефрит, вторичный по отношению к болезни Вегенера, острую почечную недостаточность, вторичную по отношению к острому нефриту, синдром Гудпасчура, постобструктивный синдром и тубулярную ишемию. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния почек у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения по описанию изобретения. В некоторых воплощениях лечение воспалительного состояния почек включает уменьшение воспаления в почках пациента, уменьшения неправильной регуляции воспалительных цитокинов у пациента, уменьшения уровней одного или более циркулирующих цитокинов, например IL-4, IL-10 и/или IL-12, в плазме пациента и/или уменьшения одного или более симптомов воспалительного состояния почек у субъекта. В качестве примера симптомы воспалительного состояния почек, которые можно улучшить путем уменьшения воспаления или воспалительного ответа, локально и/или системно, включают, без ограничения ими: увеличение или уменьшение частоты мочеиспускания, затрудненность мочеиспускания, аномальные уровни белка в моче, неправильную регуляцию уровней соли, кровь в моче, почечную недостаточность и зависимость от диализа (лечение используют для уменьшения или ликвидации зависимости от диализа). Улучшение у пациентов (например, уменьшение симптомов) можно измерять непосредственно путем оценки воспаления или путем оценки экспрессии цитокинов у пациентов. Улучшение можно также оценивать путем оценки улучшения любого из ранее указанных симптомов, оценки самостоятельно предоставленных пациентом сведений о качестве жизни и уменьшении симптомов или оценки уменьшения зависимости от диализа (или увеличения периода времени между диагнозом и началом времени, когда пациенту потребовался диализ). Улучшение можно также оценить по увеличению периода времени между диагнозом и развитием конечной стадии почечного заболевания (ESRD) и/или по задержке или ликвидации необходимости в почечном трансплантате. В некоторых воплощениях воспалительное состояние почек представляет собой аутоиммунное состояние, и в описании изобретения предложены способы лечения такого состояния.

Воспалительные состояния печени включают, без ограничения ими, гепатит (возникший в результате вирусной инфекции, аутоиммунных ответов, лечения лекарственными средствами, токсинов, агентов из окружающей среды или в качестве вторичных следствий первичного нарушения), ожирение, билиарную атрезию, первичный билиарный цирроз и первичный склерозирующий холангит. Воспалительные заболевания жировой ткани включают, без ограничения им, ожирение. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния печени у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения по описанию изобретения. В некоторых воплощениях лечение воспалительного состояния печени включает уменьшение воспаления в печени пациента, уменьшение неправильной регуляции воспалительных цитокинов у пациента, уменьшение уровней одного или более циркулирующих цитокинов, например IL-4, IL-10 и/или IL-12, в плазме пациента и/или уменьшение одного или более симптомов воспалительного состояния печени у субъекта. В качестве примера симптомы воспалительного состояния печени, которые можно улучшить путем уменьшения воспаления или воспалительного ответа, локально и/или системно, включают, без ограничения ими: желтуху, вздутие живота, черную мочу, светлый стул, кровавистый стул, усталость, тошноту и потерю аппетита. Улучшение у пациентов (например, уменьшение симптомов) можно измерять непосредственно путем оценки воспаления или путем оценки экспрессии цитокинов у пациентов. Улучшение также можно оценивать путем оценки улучшения любого из ранее указанных симптомов, оценки самостоятельно предоставленных пациентом сведений о качестве жизни и уменьшении симптомов. Улучшение также можно оценивать по задержке или ликвидации необходимости в трансплантации печени.

Воспалительные состояния центральной нервной системы включают, без ограничения ими, рассеянный склероз и нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или деменция, ассоциированная с ВИЧ-инфекцией. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния у субъекта, нуждающегося в этом, при условии, что субъект не имеет и/или не лечится от болезни Альцгеймера или болезни Паркинсона. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения воспалительного состояния у субъекта, нуждающегося в этом, при условии, что субъект не имеет и/или не лечится от воспалительного состояния центральной нервной системы и/или нейрональных или нейродегенеративных состояний, характеризующихся воспалительным компонентом. В некоторых воплощениях воспалительное состояние, которое лечат способами по описанию изобретения, не является воспалительным состоянием центральной нервной системы. В некоторых воплощениях воспалительное состояние, которое лечат способами по описанию изобретения, не является воспалительным состоянием периферической нервной системы.

В некоторых воплощениях воспалительное состояние представляет собой аутоиммунное заболевание. Типичные аутоиммунные заболевания включают, без ограничения ими, ревматоидный артрит, псориаз (включая бляшковидный псориаз), псориатический артрит, анкилозирующий спондилит, язвенный колит, рассеянный склероз, волчанку, алопецию, аутоиммунный панкреатит, целиакию, болезнь Бехчета, синдром Кушинга и диффузный токсический зоб. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения аутоиммунных заболеваний у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения, и/или соли по описанию изобретения.

В некоторых воплощениях воспалительное состояние представляет собой ревматоидное нарушение. Типичное ревматоидное нарушение включает, без ограничения ими, ревматоидный артрит, ювенильный артрит, бурсит, спондилит, подагру, склеродермию, болезнь Стилла и васкулит. Авторы изобретения отмечают, что некоторые категории состояний перекрываются. Например, ревматоидный артрит представляет собой воспалительное ревматоидное нарушение, воспалительное нарушение суставов и аутоиммунное нарушение. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения ревматоидного нарушения у пациента, нуждающегося в этом, путем введения эффективного количества соединения или соли по описанию изобретения.

Другие воспалительные состояния включают периодонтальное заболевание, некроз ткани при хроническом воспалении, эндотоксический шок, нарушения пролиферации гладких мышц, повреждение ткани после реперфузионного повреждения при ишемии и отторжение ткани после трансплантационной хирургии.

В некоторых воплощениях соединения и/или композиции по описанию изобретения не предназначены для применения в лечении болезни Альцгеймера или болезни Паркинсона. В некоторых воплощениях соединения и/или композиции по описанию изобретения не предназначены для применения в лечении пациента, у которого диагностирована или имеется подозрение на болезнь Альцгеймера или болезнь Паркинсона. В некоторых воплощениях соединения и/или композиции по описанию изобретения не предназначены для применения в лечении неврологического или нейродегенеративного заболевания или нарушения. В некоторых воплощениях соединения и/или композиции по описанию изобретения не предназначены для применения в лечении воспалительной боли. В некоторых воплощениях соединения и/или композиции по описанию изобретения не предназначены для применения в лечении боли. В некоторых воплощениях любого из предыдущего, термин "не предназначены для применения в лечении" означает, что соединение не используется для лечения состояния и/или не используется с целью лечения состояния. Другими словами, в некоторых воплощениях воспалительное состояние, которое лечат, не является болезнью Альцгеймера, или не является болезнью Паркинсона, или не является нейродегенеративным заболеванием (другими словами представляет собой не-нейродегенеративное, воспалительное состояние). Аналогично, в некоторых воплощениях субъект, нуждающийся в лечении воспалительного состояния, включающего любое из воспалительных нарушений, указанных в данном описании изобретения, не является субъектом, у которого диагностирована или имеется подозрение на болезнь Альцгеймера и/или болезнь Паркинсона. В некоторых воплощениях субъект, нуждающийся в лечении воспалительного состояния, включая любое из воспалительных нарушений, указанных в данном описании изобретения, не является субъектом, у которого лечат неврологическое состояние или нейродегенеративное состояние.

В настоящем описании изобретения также раскрыт способ лечения или предупреждения воспаления, ассоциированного с послеоперационным ранозаживлением у пациента.

Следует отметить, что воспалительные состояния и категории состояний, указанные выше, как подразумевается, являются типичными, но не исчерпывающими. Специалистам в данной области очевидно, что дополнительные воспалительные заболевания (например, системный или локальный иммунный дисбаланс или дисфункцию из-за повреждения, инфекции, инсульта, наследственного нарушения, или интоксигирующего агента из окружающей среды, или нарушение физиологии субъекта) можно лечить способами согласно настоящему описанию изобретения.

Воспалительные состояния можно классифицировать по первичной пораженной ткани. Иллюстративные примеры воспалительных состояний, классифицированных таким образом, представлены выше. В данном описании изобретения предполагается лечение любых таких категорий воспалительных состояний путем введения эффективного количества соединения, и/или соли по описанию изобретения пациенту, нуждающемуся в этом. Кроме того, воспалительные состояния могут быть дополнительно классифицированы на основании механизма действия, лежащего в основе состояния. Например, воспалительные состояния можно классифицировать как аутоиммунные, как хронические по сравнению с острыми, на основании той части иммунной системы, которая гиперактивирована или активирована в этом состоянии, или на основании цитокинов или категории цитокинов, неправильно регулируемых в этом состоянии. В некоторых воплощениях воспалительное состояние представляет собой аллергическую реакцию или другой воспалительный ответ, опосредованный IgE антителами. В некоторых воплощениях воспалительное состояние опосредовано неправильной регуляцией воспалительных цитокинов, таких как интерлейкины (IL) или фактор некроза опухоли альфа (TNF).

Воспалительные состояния, подходящие для лечения соединением или солью по описанию изобретения, можно также классифицировать на основании одного или более цитокинов, которые повышены у пациентов (например, в жидкости ткани или тела (например, в крови, сыворотке или плазме) пациента), имеющих эти состояния, и/или которые опосредуют, в целом или отчасти, симптомы этого состояния. В некоторых воплощениях воспалительные состояния, подходящие для лечения, представляют собой состояния, характеризуемые, в целом или отчасти, повышенными уровнями (например, повышенными уровнями в плазме и/или в ткани, где симптомы присутствуют) одного или более следующих цитокинов: IL-4, IL-10 и/или IL-12. Следует отметить, что дополнительные цитокины также могут быть повышенными. Однако в некоторых воплощениях воспалительное состояние характеризуется повышенными кон-

центрациями, такими как повышенные концентрации в плазме, по меньшей мере, IL-4, IL-10 и/или IL-12. Типичные состояния, которые могут в некоторых воплощениях характеризоваться повышенными уровнями IL-4, IL-10 и/или IL-12, включают, без ограничения ими, ревматоидный артрит, псориаз (включая бляшковидный псориаз), псориатический артрит, атеросклероз, болезнь Крона, синдром раздраженного кишечника, язвенный колит, рассеянный склероз, аутоиммунное воспаление суставов и иммуноопосредованные воспалительные расстройства. В описании изобретения предложены способы, в которых субъекта, нуждающегося в лечении любого из ранее указанных состояний или любого состояния, характеризуемого повышенными уровнями IL-4, IL-10 и/или IL-12, можно лечить путем введения эффективного количества соединения по описанию изобретения (например, соединения или соли). В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, не является болезнью Альцгеймера и/или субъект, нуждающийся в этом, не имеет и/или не лечится от, и/или у него не диагностирована и/или у него нет подозрения на болезнь Альцгеймера. В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, не является болезнью Паркинсона и/или субъект, нуждающийся в этом, не лечится от, и/или у него не диагностирована, и/или он не имеет подозрения на болезнь Паркинсона. В некоторых воплощениях состояние характеризуется повышенными уровнями, по меньшей мере, IL-12, и в описании изобретения предложены способы уменьшения уровней IL-12, например, в плазме пациентов, имеющих любое из ранее указанных состояний или другое состояние, опосредованное в целом или отчасти, неправильной регуляцией IL-12. В тексте описания изобретения ссылка на повышенный (увеличенный) уровень или концентрацию одного или более цитокинов, например IL-12, у субъекта (например, в образце жидкости из ткани или тела субъекта) с определенным состоянием, например воспалительным состоянием, относится к повышенному (увеличенному) уровню или концентрации цитокина у субъекта с этим состоянием по сравнению с субъектом, не имеющим этого состояния.

В некоторых воплощениях соединение или соль по описанию изобретения вводят с целью уменьшения уровней одного или более цитокинов у субъекта, нуждающегося в этом (например, субъекта с воспалительным состоянием). В некоторых воплощениях уровни цитокинов уменьшены в плазме субъекта, которого лечат. Типичные цитокины, которые могут уменьшаться, например уменьшаться у субъекта, нуждающегося в этом, включают, без ограничения ими, IL-15, IL-1b, IL-2, IL-7, IL-9, IL-10, IL-17, MIG и MIP1a. Дополнительные типичные цитокины, которые могут уменьшаться, например уменьшаться в плазме субъекта, которого лечат, включают, без ограничения ими, IL-3, IL-4, IL-10, IL-12, IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-13 и MIP1b. В некоторых воплощениях по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять цитокинов понижены после лечения. В некоторых воплощениях, по меньшей мере, IL-4, IL-10 и/или IL-12 понижены у субъектов, которых лечат, например в плазме субъектов, которых лечат. Другими словами, в некоторых воплощениях в описании изобретения предложен способ уменьшения уровня одного или более из IL-4, IL-10 и/или IL-12 у субъекта, нуждающегося в этом, например уменьшения уровней цитокинов в плазме субъекта. В некоторых воплощениях, по меньшей мере, IL-4, IL-10, и IL-12 понижены у субъектов, которых лечат, и в описании изобретения предложен способ уменьшения уровней IL-4, IL-10 и IL-12 у субъекта, нуждающегося в этом. В некоторых воплощениях, по меньшей мере, IL-12 уменьшен у субъектов, которых лечат. В любом из предыдущего, в описании изобретения предполагается, что один или более (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) дополнительных цитокинов также могут быть уменьшены после лечения. В описании изобретения предполагается, что в некоторых воплощениях введение соединения или соли по описанию изобретения может приводить к статистически значимому уменьшению уровней конкретного цитокина или одного или более цитокинов в плазме у субъекта, по сравнению с уровнями до одной или более обработок. Однако в описании изобретения также предполагается, что уровни таких цитокинов или других цитокинов, хотя и уменьшенные после одной или более обработок, могут быть уменьшены в меньшей степени (например, средний уровень может уменьшаться, даже если общее изменение не является статистически значимым). Как это обычно бывает с введением соединений, для нужного эффекта (например, уменьшения уровней некоторых цитокинов в плазме) может потребоваться несколько обработок в течение некоторого периода времени. Таким образом, в описании изобретения предполагается, что уменьшение уровней цитокинов в плазме или любые другие эффекты могут наблюдаться после одной обработки или после нескольких обработок.

Без связи с теорией, уменьшение циркулирующих цитокинов в плазме может быть опосредовано воздействиями на макрофаги и моноциты, тем самым указывая на применимость лечения соединением или солью по описанию изобретения многочисленных воспалительных состояний. В некоторых воплощениях воспалительное состояние опосредовано, в целом или отчасти, повышенными интерлейкинами.

Без связи с теорией, в общем случае подавление иммунной системы может приводить к нежелательным побочным эффектам. Таким образом, в некоторых воплощениях введение соединения или соли по описанию изобретения пациенту для лечения воспалительного состояния уменьшает уровни одного или более цитокинов, но в общем случае не уменьшает уровни всех цитокинов. Таким образом, в некоторых воплощениях введение соединения или соли по описанию изобретения не вызывает общую иммуносупрессию. Например, в некоторых воплощениях, хотя уровни одного или более цитокинов уменьшены,

уровни одного или более из следующего неизменны, по существу неизменны или даже слегка повышены после введение соединения или соли по описанию изобретения: M-CSF, GM-CSF, G-CSF, MCP-1, IP-10 (интерферон-индуцируемый белок 10), MIG, эотаксин, MIP-2 или LIX. В некоторых воплощениях введение соединения или соли по описанию изобретения субъекту не приводит к статистически значимому увеличению риска оппортунистической инфекции по сравнению с субъектами, имеющими такое же состояние, но которых не лечат таким образом. В некоторых воплощениях введение соединения или соли по описанию изобретения субъекту не приводит к нейтропении.

В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, включает ревматоидный артрит. В некоторых воплощениях пациент имеет повышенные уровни IL-12, такие как повышенные уровни в плазме и/или в синовиальной ткани. Ревматоидный артрит представляет собой аутоиммунное заболевание и является хроническим, системным воспалительным нарушением. Ревматоидный артрит главным образом воздействует на суставы, в частности на синовиальные суставы, но он также может влиять на многие другие ткани и органы, включая легкие, перикард и склеру. Это состояние может привести к нетрудоспособности и быть болезненным, и пациенты, чье заболевание не достаточно лечат, могут иметь значительные потери подвижности и существенные ухудшения ежедневных функций. Многочисленные животные модели ревматоидного артрита существуют и могут быть использованы, например, для оптимизации режимов лечения. Эти модели включают модель коллаген-индуцированного артрита, модель коллаген-антитело-индуцированного артрита, модель зимозан-индуцированного артрита, и модель с метилированным BSA (бычьим сывороточным альбумином). Кроме того, существуют генетически измененные трансгенные мышиные линии, и они обеспечивают подходящие модели. Обзор многочисленных моделей смотри в Asquith et al., 2009, *European Journal of Immunology* 39(8): 2040-4.

В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, включает псориаз, такое как бляшковидный. В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, включает псориатический артрит. Существует собой пять типов псориаза: бляшковидный, каплевидный, псориаз складок, пустулезный и эритродермический. Наиболее распространенная форма, бляшковидный псориаз, обычно наблюдается в виде красных и белых оттенков чешуйчатых пятен, появляющихся на эпидермисе. В некоторых воплощениях состояние, которое лечат в данном описании изобретения, представляет собой бляшковидный псориаз. Псориаз также может являться причиной воспаления суставов, которое известно как псориатический артрит. Примерно 10-30% пациентов с псориазом также имеют псориатический артрит. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения псориатического артрита. В некоторых воплощениях пациент, нуждающийся в лечении псориаза, такого как бляшковидный псориаз, или псориатического артрита, имеет повышенные уровни IL-12. Имеются животные модели псориаза и их можно использовать, например, для оптимизации режимов лечения; смотри, например, Congrad, 2006, *Современное Rheumatology Report* 8(5): 342-347.

В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, включает атеросклероз. Атеросклероз представляет собой состояние, при котором стенка артерий утолщается в результате аккумуляции жировых веществ, таких как холестерин и триглицерид. Он воздействует на артериальные кровеносные сосуды и включает хронический воспалительный ответ, например в стенках артерий. Имеются животные модели и их можно использовать, например, для оптимизации режимов лечения; смотри, например, Getz, 2012, *Arterioscler Thromb Vase Biol.* 32(5): 1104-15.

В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, представляет собой воспалительное заболевание кишечника, такое как болезнь Крона или язвенный колит. Болезнь Крона представляет собой тип воспалительного заболевания кишечника, которое может влиять на любую часть желудочно-кишечного тракта (например, от ротовой полости до ануса), приводя к различным ЖК-симптомам. Примерно в 50% случаев поражаются и подвздошная кишка, и толстая кишка. Первичные симптомы включают абдоминальную боль, диарею, рвоту и/или потерю массы. Кроме того, пациенты могут ощущать симптомы и осложнения в других тканях и органах, такие как анемия, кожная сыпь, артрит, воспаление глаз и усталость. В некоторых случаях неконтролируемое заболевание может приводить к обструкции, фистуле или абсцессу. Язвенный колит воздействует на ободочную кишку и характеризуется язвами или открытыми ранами. Главный симптом активного заболевания включает постоянную диарею с примесью крови и/или слизи. Частота и тяжесть диареи варьируются в зависимости от тяжести заболевания, и кровотечение в ЖК-тракте может приводить к анемии. Так же как и при болезни Крона, могут также присутствовать не-ЖК симптомы. Тяжелый язвенный колит может приводить к перфорации и может быть смертельным. Имеются многочисленные животные модели, например, для исследования воспалительного заболевания кишечника и/или оптимизации лечения; смотри, например, Mizoguchi, 2012, *Prog Mol Biol Transl Sci.*, 105: 263-320.

В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, включает синдром раздраженного кишечника. Синдром раздраженного кишечника в общем случае включает сенсibilлизацию нервов, ответственных за перистальтику. В результате, мышцы, контролируемые этими нервами, сжимаются в ответ на умеренный стимул, такой как некоторые продукты питания или стресс. Симптомы включают боль, диарею и/или запор.

В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, такое как воспалительное состояние, которое

лечат, представляет собой эндометриоз. Например, субъекта, более конкретно субъекта-самку, имеющую или с подозрением на эндометриоз, лечат соединением или солью по описанию изобретения. Эндометриоз представляет собой гинекологическое состояние, при котором клетки из выстилки матки (эндометрия) оказываются и размножаются вне полости матки, наиболее часто на оболочке, которая ограничивает абдоминальную полость, брюшине. Симптомами эндометриоза является боль, в частности тазовая боль, и бесплодие. Боль часто усиливается с менструальным циклом. Эндометриоз обычно наблюдается в репродуктивном возрасте, и по оценкам имеет место у примерно 6-10% женщин. Современное лечение представляют собой главным образом лечение боли, лечение гормонами и хирургию.

Кроме бесплодия, другим первичным симптомом эндометриоза является рекуррентная тазовая боль. Боль может варьироваться от умеренной до тяжелой спастической или острой боли, которая возникает на обеих сторонах таза, в пояснице и ректальной области, и даже внизу ног. Сила боли, которую женщина чувствует, слабо соответствует степени или стадии (от 1 до 4) эндометриоза, при этом некоторые женщины чувствуют незначительную боль или не чувствуют никакой боли несмотря на имеющийся обширный эндометриоз или эндометриоз с рубцеванием, в то время как другие женщины могут иметь тяжелую боль, даже если они имеют только несколько небольших областей эндометриоза. Таким образом, боль является плохим индикатором степени состояния. Симптомы боли включают дисменорею (болезненные спазмы во время менструаций); хроническую тазовую боль; диспареунию (болезненные половые сношения) и дизурию (частое и иногда болезненное мочеиспускание).

Эндометриозные поражения могут кровоточить и набухать. Это может инициировать как воспалительный ответ, так и боль. Однако патофизиология состояния является многофакторной и аспекты этой патофизиологии широко включают лежащие в основе предрасполагающие факторы, воспаление, метаболические изменения, образование эктопического эндометрия и образование боли. Могут образоваться спайки, тем самым вызывая и боль, и дополнительные осложнения, такие как неправильное расположение органов. Недавно было показано что в супернатанте брюшинных макрофагов от субъектов с эндометриозом наблюдаются повышенные уровни IL-10, IL-12(p70), MIP1a, MIP1b и TNF α . Кроме того, сообщалось, что субъекты с эндометриозом имеют повышенные уровни IL-10 в сыворотке. Эти сведения подчеркивают воспалительные компоненты эндометриоза.

В некоторых воплощениях соединение или соль по описанию изобретения используют для лечения эндометриоза, например для уменьшения воспаления, ассоциированного с эндометриозом. В некоторых воплощениях соединение или соль по описанию изобретения используют для уменьшения повышенных уровней IL-10, IL-12(p70), MIP1a, MIP1b и/или TNF α у субъектов, имеющих эндометриоз, например для уменьшения концентрации провоспалительных цитокинов в брюшной полости и/или в плазме, например в циркулирующей плазме.

В некоторых воплощениях в описании изобретения предложен способ уменьшения концентрации провоспалительных цитокинов (например, уменьшения повышенных концентраций; уменьшения повышенных уровней), таких как уменьшение уровней в плазме, путем введения соединения или соли по описанию изобретения. В некоторых воплощениях провоспалительный цитокин выбран из одного или более из следующих: IL-4, IL-12(p70), MIPa, MIPb, TNF α , IL-7, IL-13, IL-17 или IL-10. В некоторых воплощениях способ осуществляют *in vitro* или *in vivo*. В некоторых воплощениях способ осуществляют на субъекте (например, на человеке или животном, не являющемся человеком), имеющем воспалительное состояние или иммуноопосредованное нарушение, например любое одно или более из заболеваний и состояний, описанных в данном описании изобретения.

В некоторых воплощениях соединение и соль по описанию изобретения вводят местно, например, для уменьшения воспаления при воспалительном нарушении кожи. В некоторых воплощениях соединение и/или соль по описанию изобретения вводят локально, например инъецируют в пространство вокруг воспаленного сустава у субъекта с ревматоидным артритом. В некоторых воплощениях соединение и соль по описанию изобретения вводят системно, например перорально или внутривенно. Это лишь типичные примеры. Подходящий путь введения может быть выбран на основании конкретного показания, которое лечат, и состояния пациента, и многочисленные типичные пути введения описаны в данном описании изобретения и известны в данной области. В некоторых воплощениях соединение или соль по описанию изобретения вводят перорально (например, является перорально биодоступным).

В некоторых воплощениях любой из способов, описанных в данном описании изобретения, включает предоставление композиции (например, фармацевтической композиции), содержащей соединение или соль по описанию изобретения, или предоставление соединения по описанию изобретения, где композиция приготовлена с приемлемым носителем и/или эксципиентом, и высвобождение или введение этой композиции или соединения иным образом субъекту или пациенту, нуждающемуся в этом. В некоторых воплощениях композиция предназначена для перорального введения субъекту или пациенту, и введение субъекту или пациенту, нуждающемуся в этом, включает пероральное введение этой композиции субъекту или пациенту.

В описании изобретения предложены способы лечения любого одного или более из ранее указанных заболеваний или состояний (включая категории заболевания или состояний) с использованием со-

единения или соли по описанию изобретения. Аналогично, в описании изобретения предложены способы лечения любого одного или более из ранее указанных заболеваний или состояний (включая категории заболеваний или состояний) с использованием композиции, такой как фармацевтическая композиция по описанию изобретения (например, фармацевтическая композиция, содержащая соединение или соль по описанию изобретения). В описании изобретения предложены способы лечения любого одного или более из ранее указанных заболеваний или состояний (например, лечения субъекта или пациента, нуждающегося в лечении любого одного или более из ранее указанных заболеваний или состояний) с использованием любого из соединений или композиций (например, фармацевтических композиций) по описанию изобретения. В некоторых воплощениях в описании изобретения предложены способы лечения субъекта или пациента, нуждающегося в лечении любого одного или более из ранее указанных заболеваний и состояний (например, пациента, имеющего или с подозрением на конкретное заболевание или состояние), где субъект или пациент не имеет, и/или у него не диагностировано, и/или у нет подозрения на любое одно или более из ранее указанных заболеваний и состояний.

Е. Композиции и способы введения.

Следует понимать, что соединения и агенты, используемые в композициях и способах по настоящему описанию изобретения, предпочтительно должны легко проникать через гематоэнцефалический барьер при периферическом введении. Соединения, которые не могут проникать через гематоэнцефалический барьер, однако все же могут быть эффективно введены непосредственно в центральную нервную систему, например, внутривентрикулярным путем.

В некоторых воплощениях этого описания изобретения соединение по настоящему описанию изобретения приготовлено в виде препарата с фармацевтически приемлемым носителем. В других воплощениях не используют никакого носителя. Например, соединение, описанное здесь, может быть введено само по себе или как компонент фармацевтической композиции (терапевтической композиции; фармацевтической композиции). Соединение может быть приготовлено для введения любым удобным образом для применения в медицине человека. Любое соединение по описанию изобретения или его соль могут быть предложены в виде композиции, такой как фармацевтическая композиция, такой как композиция, имеющая любой из признаков, описанных в данном описании изобретения. Любое такое соединение по описанию изобретения или композицию по описанию изобретения можно использовать в любом из *in vitro* или *in vivo* способов, описанных в данном описании изобретения.

Фармацевтически приемлемые носители, которые можно использовать в этих композициях, включают, без ограничения ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, калия сорбат, неполный глицерид смеси насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как протамина сульфат, динатрия гидрофосфат, калия гидрофосфат, натрия хлорид, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, магния трисиликат, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрия карбоксиметилцеллюлоза, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропилен-блокполимеры, полиэтиленгликоль и ланолин.

В некоторых воплощениях терапевтические способы по описанию изобретения включают введение композиции соединения местно, системно или локально. Например, терапевтические композиции соединений по описанию изобретения можно приготовить для введения посредством, например, инъекции (например, внутривенно, подкожно или внутримышечно), ингаляции или инсуффляции (либо через рот, либо через нос) или перорального, трансбуккального, сублингвального, трансдермального, назального или парентерального введения. Композиции соединений, описанные в данном описании изобретения, можно приготовить в виде части имплантата или устройства или приготовить в виде препарата для медленного или длительного высвобождения. При парентеральном введении терапевтическая композиция соединений для применения в этом описании изобретения предпочтительно находится в апиrogenной, физиологически приемлемой форме. Методики и композиции в общем случае можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., Easton, PA.

В некоторых воплощениях фармацевтические композиции, подходящие для парентерального введения, могут содержать соединения по настоящему описанию изобретения в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями или стерильными порошками, которые могут быть восстановлены стерильными инъекционными растворами или дисперсиями непосредственно перед применением, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические агенты, растворенные вещества, которые делают композицию изотонической крови нужного реципиента, или суспендирующие или загущающие агенты. Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно использовать в фармацевтической композиции по описанию изобретения, включают воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и подобные) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Подходящая текучесть может поддерживаться, например, путем применения покрывающих материалов, таких как лецитин, путем поддержания нужного размера частиц в случае дисперсий, и путем применения поверхностно-активных веществ.

Композиция, содержащая соединение по настоящему описанию изобретения, может также содержать вспомогательные вещества, такие как консерванты, увлажняющие агенты, эмульгирующие агенты и диспергирующие агенты. Предотвращение действия микроорганизмов можно гарантировать путем включения различных противобактериальных и противогрибковых агентов, например парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и подобных. Также может быть желательно включить в композицию изотонические агенты, такие как сахара, натрия хлорид и подобные. Кроме того, пролонгированное поглощение инъекционной фармацевтической формы можно обеспечить, например, путем включения агентов, которые задерживают поглощение, таких как алюминия моностеарат и желатин.

В некоторых воплощениях по описанию изобретения композиции, содержащие соединение по настоящему описанию изобретения, могут быть введены перорально, например в форме капсул, саше, пилюль, таблеток, леденцов (с использованием ароматизированной основы, обычно сахарозы и гуммиарабика или трагаканта), порошков, гранул или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле, или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертного основания, такого как желатин и глицерин, или сахарозы и гуммиарабика) и подобных, каждый из которых содержит заданное количество соединения по настоящему описанию изобретения в качестве активного ингредиента. В некоторых воплощениях соединения по настоящему изобретению имеют хорошую пероральную доступность, например пероральную доступность по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60% или даже по меньшей мере примерно 70%.

В твердых лекарственных формах для перорального введения (капсулах, таблетках, пилюлях, драже, порошках, гранулах и подобных) одна или более композиций, содержащих соединение по настоящему описанию изобретения, могут быть смешаны с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, такими как натрия цитрат или дикальция фосфат, и/или с любым из следующего: (1) наполнители или эксципиенты, таких как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связывающие вещества, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или гуммиарабик; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) разрыхлители, такие как агар-агар, кальция карбонат, крахмал картофельный или тапиоки, альгиновая кислота, некоторые силикаты, и натрия карбонат; (5) агенты, замедляющие растворение, такие как парафин; (6) ускорители поглощения, такие как четвертичные аммониевые соединения; (7) увлажняющие агенты, такие как, например, цетиловый спирт и глицерина моностеарат; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) смазывающие вещества, такие как тальк, кальция стеарат, магния стеарат, твердые полиэтиленгликоли, натрия лаурилсульфат и их смеси; и (10) красящие агенты. В случае капсул, таблеток и пилюль, фармацевтические композиции могут также содержать буферные агенты. Твердые композиции аналогичного типа можно также использовать в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием таких эксципиентов, как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и подобные.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Кроме соединения по настоящему описанию изобретения, жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт (этанол), изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, масло зародышей, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и жирнокислотные сложные эфиры сорбитана и их смеси. Кроме инертных разбавителей пероральная композиция также может включать вспомогательные вещества, такие как увлажняющие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подслащающие, вкусоароматизирующие, красящие, ароматизирующие и консервирующие агенты.

Суспензии, в дополнение к активным соединениям могут содержать суспендирующие агенты, такие как этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбитол и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, алюминия метагидрат, бентонит, агар-агар и трагакант, и их смеси.

Специалист обычной квалификации в данной области техники, такой как врач, способен легко определить нужное количество соединения по настоящему описанию изобретения для лечения субъекта с использованием композиции и способов по данному описанию изобретения. Очевидно, что режим дозирования будет определен для субъекта, с учетом, например, различных факторов, которые модифицируют действие соединения по настоящему описанию изобретения, тяжести или стадии заболевания, пути введения, и характеристик, уникальных для субъекта, таких как возраст, масса, размер и степень когнитивного ухудшения.

В данной области техники хорошо известно, что нормализация по отношению к площади поверхности тела является подходящим способом для экстраполяции доз между видами. Для расчета человеческой эквивалентной дозы (HED) из дозы, используемой в лечении возрастного когнитивного ухудшения у крыс, можно использовать формулу $HED (mg/kg) = \text{доза для крысы} (mg/kg) \times 0,16$ (смотри Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, December 2002, Center

for Biologics Evaluation and Research). Например, при использовании этой формулы, доза 10 мг/кг для крыс эквивалентна 1,6 мг/кг для людей. Этот перевод основан на более общей формуле $HED = \text{доза для животного в мг/кг} \times (\text{масса животного в кг} / \text{масса человека в кг})^{0,33}$. Аналогично, для расчета HED из дозировки, используемой в лечении мышей, можно использовать формулу $HED (\text{мг/кг}) = \text{мышинная доза} (\text{мг/кг}) \times 0,08$ (смотри Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, December 2002, Center for Biologics Evaluation and Research).

В некоторых воплощениях по описанию изобретения доза соединения или композиции по настоящему описанию изобретения составляет от 0,00001 до 100 мг/кг/сутки (что составляет от 0,0007 до 7000 мг/сутки для данного типичного субъекта-человека массой 70 кг). Нужную длительность введения соединения, описанного в данном описании изобретения, может определить посредством рутинного экспериментирования любой специалист в данной области техники. Например, соединение по настоящему описанию изобретения может быть введено в течение периода 1-4 недель, 1-3, 3-6, 6-12 месяцев, 1-2 лет или более, вплоть до всей продолжительности жизни пациента. Например, предполагается ежедневное введение соединений в течение этого периода.

Кроме соединения по настоящему описанию изобретения, композиции и способы согласно данному описанию изобретения могут также включать другие терапевтически полезные агенты. Эти другие терапевтически полезные агенты могут быть введены в одной композиции, одновременно или последовательно с соединением по настоящему описанию изобретения согласно способам по описанию изобретения.

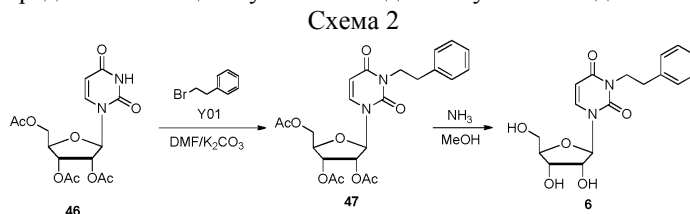
Специалисту в данной области техники очевидно, что композиции и способы, описанные в данном описании изобретения, могут быть адаптированы и модифицированы подходящим для адресуемого применения образом, и что композиции и способы, описанные в данном описании изобретения, можно использовать в других подходящих применениях, и что такие другие добавления и модификации не будут отклоняться от его объема. Например, соединения по описанию изобретения также полезны в качестве агентов для проявления агонистического действия в отношении активности P_2Y_6 рецептора, и их можно использовать *in vitro* или *in vivo* для исследования нормальной и аномальной функции P_2Y_6 рецептора. В некоторых воплощениях соединения по описанию изобретения используют, непосредственно или опосредованно, для проявления агонистического действия в отношении активности P_2Y_6 рецептора, и их можно использовать в любом из *in vitro* и/или *in vivo* способов, раскрытых в данном описании изобретения. В некоторых воплощениях соединения, раскрытые в данном описании изобретения, сами по себе представляют P_2Y_6 рецептор-модулирующие соединения, и описание изобретения охватывает эти соединения, а также их и/или соли в качестве агонистов по описанию изобретения. Другие соединения и соли, описанные в данном описании изобретения, не являются активными сами по себе, но превращаются *in vivo* в соединения, которые являются активными P_2Y_6 рецептор-модулирующими соединениями. В описании изобретения предполагается, что все такие соединения или соли по описанию изобретения, как активные сами по себе, так и превращающиеся в активные соединения *in vivo*, можно использовать для лечения любого из состояний, описанных в данном описании изобретения.

Данное описание изобретения можно будет лучше понять из подробностей экспериментов, которые следуют далее. Однако специалисту в данной области техники понятно, что конкретные обсуждаемые способы и результаты лишь иллюстрируют описание изобретения, описанное более полно в воплощениях, которые следуют далее.

Примеры

Пример 1. Получение соединения 6.

На схеме 2 ниже представлен общий путь синтеза для получения соединения 6.



Стадия 1. Синтез соединения 47.

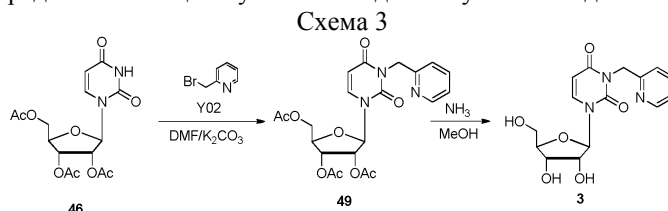
К раствору соединения 46 (3,0 г, 8,11 ммоль) в DMF (90 мл) добавляли Y01 (3,0 г, 16,22 ммоль) и K_2CO_3 (4,47 г, 16,22 ммоль), полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 1 ч. После охлаждения смесь разбавляли 250 мл воды, экстрагировали этилацетатом (ЕА) (250 мл×3), органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , концентрировали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали на колонке (элюировали PE/EA=3:1) с получением 3,61 г 47 в виде бесцветного масла, выход: 94%. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 7.36 (d, J=8,1 Гц, 1H), 7.32-7.27 (m, 4H), 7.25-7.18 (m, 1H), 5.98 (d, J=4,0 Гц, 1H), 5.81 (d, J=8,1 Гц, 1H), 5.34 (d, J=2,4 Гц, 2H), 4.35 (s, 3H), 4.13 (m, 2H), 3.01-2.84 (m, 2H), 2.14 (dd, J=12,1, 4,2 Гц, 9H), 1.26 (t, J=7,1 Гц, 1H).

Стадия 2. Синтез соединения 6.

3,61 г соединения 47 растворяли в 150 мл 5н. смеси NH_3 /метанол, затем перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. После окончания реакции метанол удаляли под вакуумом с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт перекристаллизовывали из ЕА с получением 1,94 г соединения 6 в виде белого твердого вещества, выход: 73%. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 7.95 (d, $J=8,1$ Гц, 1H), 7.37-7.11 (m, 5H), 5.77 (m, 2H), 5.42 (d, $J=5,4$ Гц, 1H), 5.12 (m, 1H), 4.06-3.88 (m, 4H), 3.84 (m, 1H), 3.64 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 2.80 (t, $J=9,0$ Гц, 2H).

Пример 2. Получение соединения 3.

На схеме 3 ниже представлен общий путь синтеза для получения соединения 3.



Стадия 1. Синтез соединения 49.

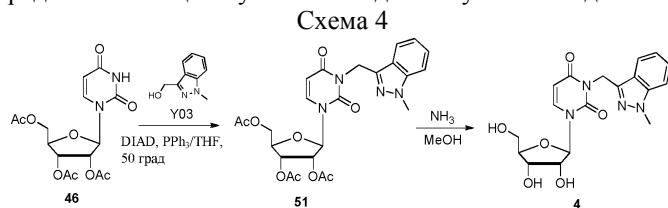
Соединение 49 получали из соединения 46 согласно методике, описанной на стадии 1 примера 1. 2,98 г соединения 49 получали из 3,0 г соединения 46, выход: 79,7%. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8.47 (d, $J=4,7$ Гц, 1H), 7.58 (m, 1H), 7.43 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 7.19-7.07 (m, 2H), 6.01 (d, $J=4,8$ Гц, 1H), 5.85 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 5.36-5.26 (m, 2H), 5.20 (s, 2H), 4.31 (s, 3H), 2.05 (t, $J=10,5$ Гц, 9H).

Стадия 2. Синтез соединения 50.

Соединение 3 получали из соединения 49 согласно методике, описанной на стадии 2 примера 1. 1,79 г соединения 3 получали из 2,98 г соединения 49, выход: 82,7%. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 8.42 (d, $J=3,5$ Гц, 1H), 8.03 (d, $J=8,1$ Гц, 1H), 7.76-7.67 (m, 1H), 7.26-7.18 (m, 2H), 5.81 (dd, $J=14,9, 6,5$ Гц, 2H), 5.44 (d, $J=5,7$ Гц, 1H), 5.23-5.01 (m, 4H), 4.03 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 3.70-3.59 (m, 1H), 3.53 (m, 1H).

Пример 3. Получение соединения 4.

На схеме 4 ниже представлен общий путь синтеза для получения соединения 4.



Стадия 1. Синтез соединения 51.

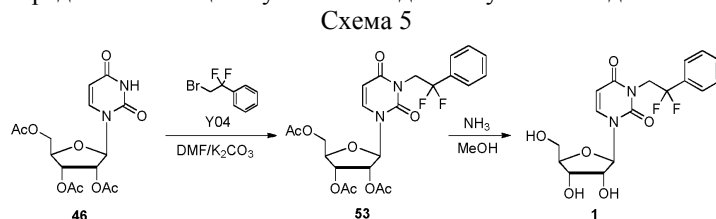
К раствору соединения 46 (1,061 г, 1,87 ммоль), Y03 (930 мг, 5,73 ммоль) и PPh_3 (1,501 г, 5,73 ммоль) в 25 мл THF добавляли по каплям раствор DIAD (1,159 г, 5,73 ммоль) в 5 мл THF в течение 30 мин, полученную смесь перемешивали при 50°C в течение 3 ч. После окончания реакции THF удаляли с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали на колонке (элюировали ЕА) с получением 1,37 г соединения 51 в виде масла, выход: 88,8%.

Стадия 2. Синтез соединения 4.

Соединение 4 получали из соединения 51 согласно методике, описанной на стадии 2 примера 1. 0,8 г соединения 4 получали из 1,37 г соединения 51, выход: 77,4%. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 7.99 (d, $J=8,1$ Гц, 1H), 7.73 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 7.55 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 7.36 (t, $J=7,7$ Гц, 1H), 7.09 (t, $J=7,5$ Гц, 1H), 5.87-5.76 (m, 2H), 5.38 (d, $J=5,7$ Гц, 1H), 5.30 (d, $J=4,0$ Гц, 2H), 5.12-5.06 (m, 1H), 4.01 (t, $J=5,2$ Гц, 1H), 3.94 (s, 4H), 3.84 (d, $J=3,6$ Гц, 1H), 3.68-3.46 (m, 2H).

Пример 4. Получение соединения 1.

На схеме 5 ниже представлен общий путь синтеза для получения соединения 1.



Стадия 1. Синтез соединения 53.

Соединение 53 получали из соединения 46 согласно методике, описанной на стадии 1 примера 1. Неочищенное соединение 53 было получено из 1,14 г соединения 46. Неочищенный продукт использовали на следующей стадии непосредственно без дополнительной очистки.

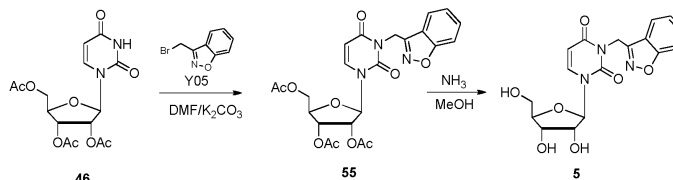
Стадия 2. Синтез соединения 1.

Соединение 1 получали из соединения 53 согласно методике, описанной на стадии 2 примера 1. 700 мг соединения 1 получали из 1,14 г соединения 53, выход: 59,2%. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 7.99 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 7.46-7.52 (m, 5H), 5.72-5.82 (m, 2H), 5.07-5.10 (m, 1H), 4.45-4.55 (m, 2H), 3.92-4.00 (m, 2H), 3.86 (s, 1H), 3.54-3.64 (m, 2H), 3.30-3.32 (m, 1H).

Пример 5. Получение соединения 5.

На схеме 5 ниже представлен общий путь синтеза для получения соединения 5.

Схема 5



Стадия 1. Синтез соединения 55.

Соединение 55 получали из соединения 46 согласно методике, описанной на стадии 1 примера 1. 4,2 г соединения 55 получали из 3,0 г соединения 46, выход: 100%. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 7.79 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7.53 (dd, $J=3,7, 1,6$ Гц, 2H), 7.45 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 7.30 (m, 1H), 6.04 (d, $J=4,7$ Гц, 1H), 5.89 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 5.50 (d, $J=1,7$ Гц, 2H), 5.33 (m, 2H), 4.34 (d, $J=4,3$ Гц, 3H), 2.10 (d, $J=6,6$ Гц, 6H), 2.04 (s, 3H).

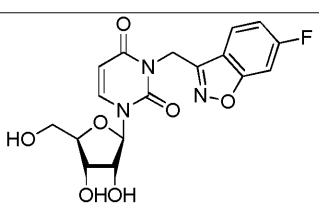
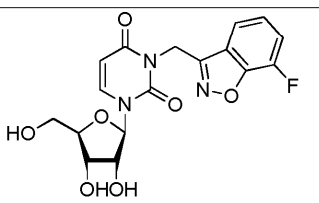
Стадия 2. Синтез соединения 5.

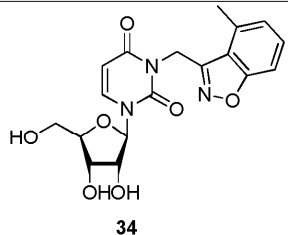
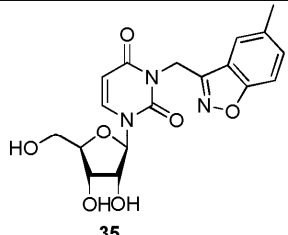
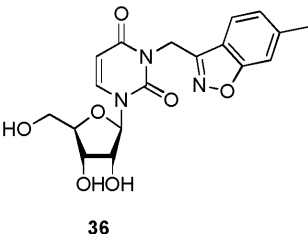
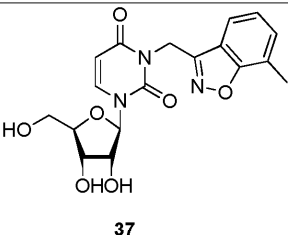
Соединение 5 получали из соединения 55 согласно методике, описанной на стадии 2 примера 1. 2,36 г соединения 5 получали из 4,2 г соединения 55, выход: 75,6%. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 8.06 (d, $J=8,2$ Гц, 2H), 7.86 (d, $J=8,0$ Гц, 2H), 7.76-7.61 (m, 4H), 7.39 (t, $J=7,4$ Гц, 2H), 5.89 (d, $J=7,9$ Гц, 2H), 5.80 (m, 2H), 5.38-5.42 (m, 3H), 5.16 (m, 1H), 3.85-4.04 (m, 2H), 3.50-3.66 (m, 2H).

Соединения 32-37 получали согласно методикам синтеза, аналогичным используемым для получения соединения 5 (смотри схему 5 выше). Характеристики их натриевых солей обобщены в табл. 1 ниже.

Таблица 1

Характеристики соединений 32-37

Соединение	Характеристики
 32	Выход: 97% в виде твердого вещества ТСХ информация: (DCM/MeOH=10/1) Вещество: $R_f = 0,5$ Продукт: $R_f = 0,2$ ^1H ЯМР(400 МГц, MeOD): δ 8.15 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.93-7.89 (1H, m), 7.43 (1H, d, $J = 8.8$ Гц), 7.30-7.26 (1H, m), 7.23-7.18 (1H, m), 5.94 (1H, d, $J = 4,0$ Гц), 5.87 (1H, d, $J = 8$ Гц), 5.51 (2H, s), 4.19-4.17 (1H, m), 3.88 (1H, d, $J = 8.8$ Гц), 3.78-3.75 (1H, m), 3.33-3.15 (1H, m).
 33	Выход: 64% в виде твердого вещества ТСХ информация: (DCM/MeOH=10/1) Вещество: $R_f = 0,5$ Продукт: $R_f = 0,2$ ^1H ЯМР (400 МГц, MeOD): δ 8.15 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.69 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.45-7.37 (2H, m),

	5.94 (1H, d, $J = 4,0$ Гц), 5.86 (1H, d, $J = 8$ Гц), 5.54 (2H, s), 4.20-4.17 (1H, m), 4.03 (1H, d, $J = 4$ Гц), 3.86-3.77 (1H, m), 3.33-3.15 (1H, m).
 34	Выход: 93% в виде твердого вещества ТСХ информация: (DCM/MeOH=10/1) Вещество: $R_f = 0,5$ Продукт: $R_f = 0,2$
 35	Выход: 75% в виде твердого вещества ТСХ информация: (DCM/MeOH=10/1) Вещество: $R_f = 0,5$ Продукт: $R_f = 0,2$ ^1H ЯМР (400 МГц, MeOD): δ 8.15 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.64 (1H, s), 7.52-7.46 (2H, m), 5.95 (1H, d, $J = 4,0$ Гц), 5.87 (1H, d, $J = 8$ Гц), 5.50 (2H, s), 4.20-4.17 (1H, m), 4.04 (1H, d, $J = 4$ Гц), 3.86-3.77 (1H, m), 3.33-3.15 (1H, m).
 36	Выход: 83% в виде твердого вещества ТСХ информация: (DCM/MeOH=10/1) Вещество: $R_f = 0,5$ Продукт: $R_f = 0,2$ ^1H ЯМР (400 МГц, MeOD): δ 8.15 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.72 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.43 (1H, s), 7.21 (1H, d, $J = 8,0$ Гц), 5.95 (1H, d, $J = 4,0$ Гц), 5.87 (1H, d, $J = 8,0$ Гц), 5.49 (2H, s), 4.19-4.17 (2H, m), 4.04 (1H, d, $J = 4,0$ Гц), 3.87-3.77 (1H, m), 3.36-3.33 (1H, m), 2.53 (3H, s).
 37	Выход: 74% в виде твердого вещества ТСХ информация: (DCM/MeOH=10/1) Вещество: $R_f = 0,5$ Продукт: $R_f = 0,2$ ^1H ЯМР (400 МГц, MeOD): δ 8.15 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.66 (1H, d, $J = 8$ Гц), 7.43 (1H, d, $J = 7,2$ Гц), 7.30-7.26 (1H, m), 5.94 (1H, d, $J = 4,0$ Гц), 5.87 (1H, d, $J = 8,0$ Гц), 5.52 (2H, s), 4.20-4.16 (2H, m), 4.04 (1H, s), 3.87-3.85 (1H, m), 3.78-3.75 (1H, m), 2.55 (3H, s).

Пример 6. Материалы и способы для in vitro и in vivo исследований.

Активация P_2Y_6 рецептора.

Синтетические лиганды тестировали в отношении активации P_2Y_6 рецептора путем измерения рецептор-индуцируемых изменений Ca^{2+} с флуоресцентным индикатором Ca^{2+} флюо-4. Клеточные линии

астроцитомы 1321 N1 человека, экспрессирующие либо P_2Y_2 , P_2Y_4 , либо P_2Y_6 рецепторы помещали в 24-луночные планшеты. Через двое суток после помещения в планшеты производили флуорометрические измерения и определяли ответы клеток на серийное разведение лигандов. Опосредованное P_2Y_6 рецептором изменение Ca^{2+} флуоресценции определяли при помощи нормализованной аккумуляции флуоресцентного изменения в 3 точках времени после введения лиганда за вычетом значения ACSF-контроля. Изменения интенсивности флуоресценции наносили на график в зависимости от концентрации лиганда в GraphPad. Кривую зависимости доза-ответ и EC_{50} для каждого лиганда оценивали с использованием аппроксимации к нелинейной кривой и анализа сигмоидальной зависимости доза-ответ. Натриевая соль дифосфатного производного соединения 5 демонстрировала EC_{50} 12 нМ. Натриевая соль дифосфатного производного соединения 5 демонстрировала селективное активирование P_2Y_6 рецепторов при сравнении их Ca^{2+} -мобилизующих эффектов в трех клеточных линиях астроцитомы человека 1321N1, экспрессирующих P_2Y_2 , P_2Y_4 или P_2Y_6 рецепторы. Натриевая соль дифосфатного производного соединения 5 была эффективна только в повышении уровней Ca^{2+} , когда применялась к клеткам, экспрессирующим P_2Y_6 рецепторы, и была неэффективной в клетках, экспрессирующих P_2Y_2 или P_2Y_4 рецепторы. Способность натриевой соли дифосфатного производного соединения 5 увеличивать Ca^{2+} сигналы в P_2Y_6 рецептор-экспрессирующих клетках уменьшалась при добавлении P_2Y_6 антагониста MRS2578.

PSAPP мыши.

Гетерозиготных мутантных (K670N/M671L) APP (50% C57B6, 50% SJL) трансгенных мышей скрещивали с гетерозиготными мутантными (A246E) PS-1 (50% C57B6, 50% SJL) трансгенными мышами с получением гетерозиготных PSAPP трансгенных мышей (также упоминаемых как мыши PS-1/APP или PSAPP+/+), которые относятся к животным, гетерозиготным в отношении PS-1 A246E трансгена и APP K670N/M671L трансгена. Нетрансгенные контрольные животные представляли собой одноплетных животных (также упоминаемых как мыши PSAPP_{-/-}), полученных при разведении PSAPP трансгенных животных. Генотип мышей определяли при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР). И самцов и самок мышей в возрасте 6-7 месяцев использовали для экспериментов, описанных ниже. Все эксперименты на животных выполняли в соответствии с требованиями Комитета по содержанию и использованию животных Тафта и с национальными законодательствами и принципами.

Исследования посредством двухфотонной *in vivo* визуализации.

В этом исследовании PSAPP мышей усыпляли с использованием изофурана и использовали тонкие препараты черепа, чтобы минимизировать поверхностное повреждение. Амилоидные бляшки визуализировали при помощи метки метоксиX04 и плазму крови метили родаминовым декстраном, чтобы облегчить повторную локализацию той же области изображения. Множество изображений получали с использованием двухфотонной системы (Prairie Technologies) с возбуждением при 850 нм. Эмиссию обнаруживали при помощи внешних трубочек фотоумножителя (525/70; DLCP 575; 607/45 нм).

Стереотаксические инъекции.

Животных усыпляли и обездвигивали в стереотаксической рамке. В каждой инъекции 1 мкл 10 мМ UDP или других подходящих соединений в искусственной цереброспинальной жидкости (ACSF) в качестве носителя инъектировали интравентрикулярно с использованием следующих координат: AP 0,2 мм, ML 1 и DV 2,2 мм.

Гистология и иммуногистохимия.

Мышей перфузировали чрессердечно 4% параформальдегидом и собирали 40-мкм корональные срезы. Срезы затем инкубировали в 0,3% H_2O_2 в течение 10 мин, в блокирующем растворе в течение 2 ч, в блокирующем растворе, содержащем первичное антитело (кролика против $\beta 1-42$; кролика против $\beta 1-40$, из Chemicon International и крысы против CD45) в течение 48 ч при 4°C, и в блокирующем растворе, содержащем биотинилированное антитело или флуоресцентно меченое антитело в течение 2 ч при комнатной температуре. Срезы визуализировали в светопольном микроскопе или конфокальном микроскопе, и оптическую плотность получали с использованием программы MetaMorph.

Тест условно-рефлекторного замирания.

В первые сутки животных тренировали в аппарате для условно-рефлекторного замирания в течение в общей сложности 7 мин с двухпарной моделью сигнала и умеренным электроболевым раздражением лап (30 с акустически-обусловленный стимул, 80 дБ; 2 с шокковый стимул, 0,5 мА). Для оценки обучения, обусловленному окружающими условиями страха, животных возвращали в условия тренировки на 24 ч после тренировки, и замирание оценивали в течение 5 мин. Замирание отслеживали при помощи Motor-Monitor (Hamilton Kinder) и оценивали каждые 5 с.

Электрофизиология и регистрация длительного потенцирования (LTP).

Срезы гиппокампа (350 мкм толщиной) получали от PSAPP мышей в 6-месячном возрасте. Исходные ответы получали каждые 10 с и успешно измеряли кривые вход-выход (I/O), модификацию парного импульса и LTP.

Стимуляцию интенсивности устанавливали на уровне, который обеспечивает значение, составляющее 30% от максимально полученного. LTP индуцировали посредством высокочастотной стимуляции (HFS, 100 пульсов при 100 Гц, четыре раза) или посредством тета-бурстерной стимуляции (TBS, 10 бурстов при 5 Гц, повторенных 10 раз с 15 с интервалами).

Пример 7. Дозо-зависимая активация P2Y₆ рецептора.

Синтетические лиганды тестировали в отношении активации P₂Y₆ рецептора путем измерения рецептор-индуцируемых изменений Ca²⁺ с флуоресцентным индикатором Ca²⁺ fluo-4, результаты показаны на фиг. 10(A)-(K). Клеточные линии астроцитомы 1321N1 человека, экспрессирующие P₂Y₂, P₂Y₄ или P₂Y₆ рецепторы, помещали в 24-луночные планшеты. Через двое суток после помещения в планшеты производили флуорометрические измерения и определяли ответы клеток на серийное разведение лигандов. P₂Y₆ рецептор-опосредованное изменение Ca²⁺ флуоресценции определяли при помощи нормализованной аккумуляции изменения флуоресценции в 3 точках времени после введения лиганда за вычетом значения ACSF контроля. Изменения интенсивности флуоресценции наносили на график в зависимости от концентрации лиганда в GraphPad. Кривую зависимости доза-ответ и EC₅₀ для каждого лиганда оценивали с использованием аппроксимации к нелинейной кривой и сигмоидального анализа кривой зависимости доза-ответ. Натриевая соль дифосфатного производного соединения 5 демонстрировала EC₅₀ 12 нМ. Натриевая соль дифосфатного производного соединения 5 демонстрировала селективное активирование P₂Y₆ рецепторов при сравнении ее Ca²⁺ мобилизующих воздействий в трех клеточных линиях астроцитомы 1321 N1 человека, экспрессирующих P₂Y₂, P₂Y₄ или P₂Y₆ рецепторы. Натриевая соль дифосфатного производного соединения 5 была эффективна только в повышении уровней Ca²⁺ при использовании в клетках, экспрессирующих P₂Y₆ рецепторы, и была не эффективна в отношении клеток, экспрессирующих P₂Y₂ или P₂Y₄ рецепторы. Способность натриевой соли дифосфатного производного соединения 5 увеличивать Ca²⁺ сигналы в клетках, экспрессирующих P₂Y₆ рецепторы, уменьшалась при добавлении антагониста P₂Y₆ рецептора MRS2578. Эти эксперименты показали, что дифосфатное производное соединения 5 представляет собой агонист P₂Y₆ рецептора.

Пример 8. Однократный прием UDP уменьшает объем бляшек у PSAPP мышей.

Для оценки эффекта UDP на объем бляшки использовали двухфотонный микроскоп, чтобы оценить амилоидные бляшки в колончатой коре живых PSAPP мышей. Амилоидные бляшки окрашивали при помощи системно введенного метокси-X04. За одни сутки до визуализации PSAPP мышам инъецировали метоксиX04, чтобы пометить амилоидные бляшки. В день визуализации, чтобы облегчить повторную локализацию той же области изображения, плазму крови метили родаминовым декстраном. Изображения получали в той же начальной и конечной точке времени, чтобы гарантировать один и тот же объем изображения.

Результаты были показаны в проекции максимальной интенсивности флуоресцентного множества, содержащего 45 плоскостей. Типичные изображения метоксиX04-меченых амилоидных бляшек и ангиопатии в сутки 1 показаны на фиг. 1(A)-(C). Немедленно после визуализации животным инъецировали ACSF или UDP интрацеребровентрикулярно (i.c.v.) и оставляли восстанавливаться. В сутки 4 животных подвергали второму периоду визуализации тех же областей, которые исследовали в сутки 1, и результаты показаны на фиг. 1(D)-(F). Аналогичная картина ангиопатии (показанная белыми стрелками) указывала на ту же область изображения.

В общем, уменьшение площади, занятой бляшками, наблюдалось на 4 сутки после введения UDP. В изображениях с более высоким увеличением (фиг. 1(C) и (F)) те же самые бляшки с плотным ядром (показаны стрелками) можно идентифицировать на основании их морфологии и расположения по отношению к кровеносному сосуду. Наблюдали, что бляшки с плотным ядром имели более интенсивные метки метоксиX04, но уменьшенный размер бляшек (как показано стрелками) по сравнению с размером тех же бляшек в сутки 1. Это свидетельствовало о том, что однократный прием UDP уменьшал размер бляшек у живых животных. Этот эффект дополнительно оценивали путем количественного определения количества бляшек, нагрузки бляшек и размера поперечного сечения отдельных бляшек; смотри фиг. 2(A)-(E). Количественный анализ показал, что однократный прием UDP приводил к 12,6% уменьшению количества бляшек (P менее 0,01) и к 17,2% уменьшению нагрузки бляшек (P менее 0,01) в колончатой коре при оценке с помощью двухфотонного микроскопа. Отдельные идентифицированные бляшки, обнаруженные во второй сессии визуализации, показали 18,2% уменьшение (P менее 0,01) площади поперечного сечения после лечения UDP.

После повторных визуализаций образцы головного мозга фиксировали и подвергали посмертной иммуногистохимии со специфичными к β-амилоиду антителами β1-40 и β1-42 для оценки нагрузки бляшек (площади, занятой иммуноокрашенными бляшками) в коре и гиппокампе; смотри фиг. 3(A)-(D). Лечение UDP приводило к 60% (p менее 0,05) и 62% (p менее 0,01) уменьшению нагрузки бляшек в коре и гиппокампе соответственно при оценке посредством окрашивания с β1-40 антителом. Количественное определение окрашивания β1-42 антителом показало 48% (P менее 0,01) и 47% (P менее 0,05) уменьшение нагрузки бляшек в коре и гиппокампе соответственно; смотри фиг. 4(A)-(F). Как in vivo визуализация, так и апостериорное окрашивание показали уменьшение объема бляшек в головном мозге PSAPP мышей, согласующееся с уменьшением нагрузки бляшек у исследуемых животных после однократного приема UDP (например, агониста P₂Y₆ рецептора).

Пример 9. Активация P2Y₆ рецепторов уменьшает объем бляшки у PSAPP мышей.

3-Фенацил-UDP (также упоминаемый как PSB0474) представляет собой эффективный и селектив-

ный агонист P_2Y_6 рецептора ($EC_{50}=70$ нМ, более чем 500-кратно селективный). В этом исследовании P_2Y_6 рецептор активировали *in vivo* с использованием 3-фенацил-UDP (PSB0474). Также оценивали, какой эффект может иметь эта активация на объем бляшки.

PSB0474 системно вводили PSAPP мышам посредством внутривентрикулярной инъекции в течение 2, 4 и 6 последовательных суток. В одной группе, до оценки и после введения в течение 6 последовательных суток, лечение приостанавливали на две недели (группа 6 + 2 недели). Образцы головного мозга затем фиксировали и нагрузку бляшек оценивали посредством иммуноокрашивания β -амилоид-специфичными антителами: β 1-40 и β 1-42. Типичные изображения нагрузки бляшек в коре и гиппокампе животных, получавших инъекции PSB0474 согласно расписанию предыдущих инъекций, показаны на фиг. 5(A)-(D). Количественные данные показали, что введение PSB0474 в течение 4 и 6 последовательных суток значительно уменьшало иммунореактивность β 1-40 и в коре, и в гиппокампе (фиг. 6(A) и 6(B)). Хотя, когда введение PSB0474 останавливали на 2 недели после шести последовательных суток лечения (обозначены как группа 6 + 2 недель), β 1-40 окрашивание восстанавливалось; хотя до уровня ниже, чем наблюдаемый у мышей, которые лечили солевым раствором в качестве контроля-носителя. На фиг. 6A и 6B изображено уменьшение нагрузки бляшек в (%) коре и гиппокампе соответственно у PSAPP мышей после лечения 3-фенацил-UDP в течение 2, 4 или 6 последовательных суток, при анализе путем окрашивания β 1-40 антителом. На фиг. 6C-6F изображены данные, полученные после введения разных доз PSB0474. Важно отметить, что 1000× увеличение дозы PSB0474 не приводило к вредным эффектам у животных, свидетельствуя о том, что существует широкое терапевтическое окно для агонистов P_2Y_6 рецептора. Однако при дозе выше 1 мг/кг авторы изобретения не наблюдали уменьшенных эффектов на конечное значение эффективности, возможно потому, что повышенная занятость рецептора приводила к некоторой десенсibilизации/интернализации P_2Y_6 рецептора. Этот результат указывает на то, что активация P_2Y_6 рецептора значительно снижала нагрузку бляшек и в коре, и в гиппокампе PSAPP мышей.

Пример 10. Однократный прием UDP улучшал когнитивную функцию и LTP гиппокампа у PSAPP мышей.

Сообщалось, что β -амилоидный пептид является токсичным для синаптической передачи, и аккумуляция амилоидного белка ассоциирована с когнитивным ухудшением и в животной модели AD, и у AD-пациентов. Кроме того, аккумуляция амилоидного белка наблюдается при других состояниях, ассоциированных с когнитивным ухудшением, например при синдроме Дауна. Следовательно, авторы изобретения дополнительно исследовали у PSAPP мышей, ведет ли наблюдаемое уменьшение объема бляшки также к инверсии когнитивного ухудшения и дефицита памяти, обычно наблюдаемым у AD-пациентов, таких как нарушение когнитивной способности, нарушение памяти и недостаток длительного потенцирования (LTP).

В этом исследовании принцип условно-рефлекторного замирания в ассоциативном обучении использовали в качестве быстрого анализа когнитивной способности у PSAPP мышей. Эти исследования позволили авторам изобретения исследовать когнитивную функцию с одним днем тренировки, с последующими через 24 ч тестами на обучение контекстуальному и стимулированному страху. Обучение контекстуальному страху зависит от площади головного мозга, которая вовлечена в виде очага когнитивного ухудшения при AD: гиппокамп. За двумя парами CS-US для условно-рефлекторного замирания, через 24 ч следовало тестирование в отношении обучения контекстуальному и стимулированному страху. В предыдущих исследованиях сообщалось, что PSAPP животные, по-видимому, имеют селективное гиппокамп-зависимое ухудшение ассоциативного обучения после двух пар обусловленного стимулом условно-рефлекторного замирания.

В этом исследовании было обнаружено, что PSAPP мыши, которых лечили ACSF, показали низкое замирание во время 5-минутного тестирования (фиг. 7(A)), что является аналогичным уровнем, о котором сообщалось в предыдущем исследовании (Dineley, et al., 2002). После лечения UDP PSAPP мыши демонстрировали повышенное замирание во время первых 4 мин, но не во время последней минуты. Анализ процента общего замирания (фиг. 7(B) и 7(C)) показал, что PSAPP мыши, которых лечили однократным приемом UDP, демонстрировали значительно большее замирание ($49\pm5\%$) по сравнению с животными, которых лечили ACSF ($18\pm3\%$). Эти данные свидетельствовали о том, что однократный прием UDP восстанавливал дефицит обучения контекстуальному страху у PSAPP мышей.

В тесте на условно-рефлекторное замирание мыши демонстрируют замирание, если они помнят о применении создающего отвращение шока, который был осуществлен 24 ч до этого. При помещении в подходящее окружение мыши "освобождались" и не изучали свое окружение в предчувствии осуществления еще одного шока. Таким образом, больший процент времени, когда они демонстрировали замирание, указывает на большую память об их предыдущем опыте и, следовательно, об улучшении памяти. Это является уменьшением когнитивного ухудшения, наблюдаемого у нелеченных мышей.

Собранные данные показывают, что амилоидные пептиды, естественно секретируемые или выделенные из головного мозга, пораженного болезнью Альцгеймера, ухудшали синаптическую пластичность, особенно длительное потенцирование гиппокампа (Walsh et al., 2002). Следовательно, авторы изобретения дополнительно регистрировали LTP у PSAPP мышей и исследовали, влияет ли опосредованный

P_2Y_6 рецептором клиренс бляшек на синаптическую пластичность. В этом исследовании LTP успешно индуцировали в области CA1 гиппокампа у старых PSAPP мышей с помощью высокочастотной стимуляции (HFS, 100 импульсов при 100 Гц, четыре раза с 20 с интервалами). Во-первых, наблюдали, что LTP в синапсе коллатералей Шаффера в области CA1 был подавлен у PSAPP мышей по сравнению с одноплетными животными (фиг. 8(A)). Этот результат подтвердил предыдущие сообщения о синаптической токсичности β -амилоида. Однократный прием UDP реверсировал эту недостаточность LTP у PSAPP мышей, и LTP значительно повышалось по сравнению с мышами, которым инъецировали ACSF (фиг. 8(B)). Анализ последних 15 мин потенцирования показал значительное увеличение полевого возбуждающего постсинаптического потенциала (fEPSP) у PSAPP мышей, которых лечили UDP, что сравнимо с уровнем у PSAPP одноплетных животных (фиг. 8(C)). Эти данные подтверждают вывод о том, что активация P_2Y_6 рецептора восстанавливает недостаточность LTP у PSAPP мышей, что согласуется с улучшением когнитивной способности, опосредованной P_2Y_6 рецептором.

Пример 11. Активация P_2Y_6 рецептора посредством продолжительной инъекции PSB0474 улучшало когнитивную функцию у PSAPP мышей.

Аналогично однократному приему UDP, продолжительная инъекция агониста P_2Y_6 рецептора 3-фенацил-UDP (PSB0474) повышала процент общего замирания в условиях теста у PSAPP мышей (фиг. 9(A)-(C)). В этом исследовании PSB0474 вводили в двух разных дозах, обе их которых продемонстрировали полезный эффект в улучшении когнитивной функции у PSAPP мышей.

Пример 12. Активация P_2Y_6 рецептора дифосфатным производным соединения 5 улучшала когнитивную функцию у PSAPP мышей и уменьшала объем бляшек у PSAPP мышей.

В этом исследовании дифосфатное производное соединения 5 инъецировали внутривентриально PSAPP и WT мышам в 6-7-месячном возрасте ежедневно в двух разных дозах, т.е. 1 мкг/кг или 1 мг/кг дифосфатного производного соединения 5 (в 1% DMSO/PBS) в течение 7 последовательных суток. Согласно результатам, наблюдаемым после однократного приема UDP или PSB0474, лечение дифосфатным производным соединения 5 повышало процент общего замирания в условиях теста у PSAPP мышей (фиг. 11). На фиг. 11 показано замирание (% замирания) PSAPP мышей в исследовании условно-рефлекторного замирания после лечения контролем-носителем или дифосфатным производным соединения 5. На фиг. 11 изображены результаты экспериментов с использованием теста контекстуального условно-рефлекторного замирания PSAPP мышей, которых лечили контролем-носителем (черный прямоугольник в центре графика). Эти мыши показали значительное уменьшение процента замирания по сравнению с животными дикого типа соответствующего возраста (белый прямоугольник); показывающее дефицит памяти и когнитивное ухудшение у PSAPP мышей. Введение дифосфатного производного соединения 5 до тестирования значительно улучшало замирание (заштрихованный прямоугольник справа на графике) по сравнению с лечением контролем. Действительно, это поведение, которое показывает когнитивную функцию и память, восстанавливалось до уровня, эквивалентного наблюдаемому у животных дикого типа. Этот результат согласуется с выводом о том, что дифосфатное производное соединения 5 улучшало когнитивную функцию (уменьшало когнитивную недостаточность) у этих мышей, например, путем улучшения памяти и/или обучения.

Также было обнаружено, что лечение дифосфатным производным соединения 5 уменьшало объем бляшек в коре и гиппокампе PSAPP мышей (фиг. 12 (A)-(C)). На фиг. 12 показана нагрузка бляшек в коре (Cx) и гиппокампе (Hx) у PSAPP мышей после лечения дифосфатным производным соединения 5 или контролем-носителем, при анализе с использованием специфичного к β -амилоиду антитела β 1-42. На фиг. 12A изображено существенное уменьшение нагрузки $A\beta$ -бляшек (%) в коре после лечения дифосфатным производным соединения 5, по сравнению с контролем-носителем. На фиг. 12B изображено существенное уменьшение нагрузки $A\beta$ -бляшек (%) в гиппокампе после лечения дифосфатным производным соединения 5 по сравнению с контролем-носителем. На фиг. 12 C показан посмертный иммуногистохимический анализ нагрузки бляшек в коре и гиппокампе PSAPP мышей после лечения дифосфатным производным соединения 5 или контролем-носителем. В данном анализе использовали антитело β 1-42, специфичное к β -амилоиду.

Для получения этих графиков, показывающих нагрузку бляшек, мышей умерщвляли, извлекали срезы головного мозга, и антитела, направленные против $A\beta$ 42, использовали для обнаружения $A\beta$ -бляшек. Изображения получали в цифровом виде и применяли алгоритм с таким порогом, чтобы изображения бляшек были отделены от фона. С помощью алгоритма затем вычисляли процент площади поля, занятой бляшками.

Пример 13. Нуклеозидное соединение 5 уменьшало объем бляшки у PS1/APP мышей.

В этом исследовании изучали эффект системного введения нуклеозидного соединения 5 на уменьшение объема бляшки у PS1/APP мышей.

Группы животных

Группа животных	Соединение	Доза	Временные пределы в.б. инъекции
1) PS1/APP+/+ (26 недель, n=7)	Группа А	10 мкг/кг соединения 5	Один раз в сутки в течение 7 суток
2) PS1/APP+/+ (26 недель, n=8)	Группа В	носитель	Один раз в сутки в течение 7 суток

Образцы головного мозга собирали для анализа β -амилоида с иммуноокрашиванием. Образцы головного мозга собирали после чрессердечной перфузии фосфатного буфера и 4% параформальдегида. Плавающие срезы головного мозга (40 мкм) собирали с использованием микротомы. Иммуноокрашивания А β 40 и А β 42 выполняли согласно ранее установленному протоколу. Изображения, полученные посредством DAB-окрашивания, собирали с помощью светопольного микроскопа и анализировали с помощью ImageJ Macro. Все анализы данных и статистические расчеты выполняли в GraphPad Prism 6.0.

Результаты показаны на фиг. 13(A) и 13(B), где можно видеть, что в.б. лечение нуклеозидом значительно уменьшает объем бляшек А β 40 и А β 42, а также распределение по размеру остальных бляшек после семи суток лечения. Все исследования выполняли слепым образом относительно условий лечения.

Кроме тестирования в модели на грызунах, описанной выше, соединения по настоящему описанию изобретения можно исследовать в отношении человеческих нейродегенеративных заболеваний в модели на псовых, таких как собаки, с собачьим эквивалентом болезни Альцгеймера. Кроме того, выполняли исследования ADME (поглощение, распределение, метаболизм и выделение) и токсичности (ADMET) для получения профилей безопасности, переносимости и фармакокинетических (РК) профилей соединений по настоящему описанию изобретения на грызунах и дополнительных видах (таких как собаки). Например, модель с пожилым биглем доступна в InterVivo (смотри веб-сайт на www.intervivo.com/old-dog/ad). Существуют и другие модели, о которых сообщалось в литературе, например в Insua et al., *Neurobiol Aging*, 2010, 31(4): 625-635 (epub 2008 Jun 24, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2008.05.014).

Пример 14. Пероральная биодоступность соединения 5.

Среднее значение пероральной биодоступности нуклеозидного соединения 5 составляет 72,2%. В цельной крови человека соединение 5 имеет время полувыведения 982 мин.

Пример 15. Введение дифосфатного производного соединения 5 уменьшало уровни циркулирующих цитокинов в плазме PSAPP мышей.

Воспалительные цитокины оценивали в плазме мышей дикого типа и PS1/APP мышей (мышинная модель болезни Альцгеймера) и оценивали влияние внутрибрюшинного введения дифосфатного производного соединения 5 на циркулирующие цитокины. Мышам осуществляли семь ежедневных внутрибрюшинных инъекций 1 мкг/кг дифосфатного производного соединения 5. Через 24 ч после последней инъекции собирали плазму. Подобранных по возрасту однопородных животных дикого типа и PSAPP мышей (в возрасте более 6 месяцев) лечили либо носителем (фосфатный буферный солевой раствор) или носителем, содержащим соединение. По сравнению с мышами дикого типа PSAPP мыши демонстрировали более высокие уровни некоторых цитокинов (где уровни цитокинов измеряли в пг/мл). В частности, IL-9, IL-15 и MIG были повышенными по сравнению с WT контролями-носителями. Лечение соединением уменьшало уровни некоторых цитокинов, включая IL-1 β , IL-2, IL-7, IL-9, IL-10, IL-15, MIG и MIP1a, у PSAPP мышей. Кроме того, лечение уменьшало уровни некоторых цитокинов (например, IL-2 и IL-10) у животных дикого типа, подтверждая вывод о том, что проявления агонистического действия в отношении активности P₂Y₆ рецептора, непосредственно или опосредованно, влияет на воспалительные цитокины более общим образом (например, но не конкретно, в модели болезни Альцгеймера); см. фиг. 14.

Примеры 16. Введение соединения 5 пресимптоматическим PSAPP мышам уменьшало аккумуляцию β -амилоида и уменьшало ухудшение.

В этом исследовании лечение PSAPP мышей начинали, когда мыши являлись пресимптоматическими. Конкретно, лечение начинали, когда мыши находились в возрасте примерно 3 месяца. PSAPP мышей лечили в течение 100 суток ежедневными, внутрибрюшинными инъекциями 10 мкг/кг соединения 5 или носителем. После лечения мышей оценивали в тесте условно-рефлекторного замирания в отношении формирования памяти. Затем также оценивали объем бляшек у мышей. Данные представлены в примерах 16 и 17 для 19 мышей, которых лечили носителем, и 22 мышей, которых лечили соединением. Данные, представленные для группы лечения носителем, представляют собой среднее для этих мышей, и величины ошибки отображают стандартную ошибку (SEM). Аналогично, данные, представленные для группы лечения соединением, являются средним для этих мышей, и величины ошибки отображают SEM.

Лечение соединением 5 предупреждало ухудшения памяти о контекстуальном страхе. Другими словами, лечение уменьшало потерю памяти, которая в ином случае развивается и наблюдается у PSAPP мышей. Память оценивали по проценту мышей, которые "освобождались" через 24 ч после электрошока,

индуцирующего страх. Чем больше замирание, тем больше память о предыдущем шоке. Как изображено на фиг. 15, соединение 5, которым лечили мышей, показало статистически значимое увеличение времени этого замирания по сравнению с мышами, которых лечили носителем.

Кроме того, мыши, которых лечили соединением 5, имели уменьшенный объем бляшек. Это отражает уменьшение аккумуляции амилоида- β у мышей, которых лечили соединением 5, по сравнению с мышами, которых лечили носителем; смотри фиг. 16. На фиг. 15 и 16 соединение 5 указано вдоль оси x как "соединение".

Пример 17. Введение соединения 5 уменьшало уровни цитокинов в плазме PSAPP мышей.

В качестве части исследования, описанного в примере 16, также оценивали уровни многочисленных цитокинов в плазме мышей, которых лечили носителем или соединением 5. Как описано в примере 16, лечение начинали, когда мыши находились в возрасте примерно 3 месяца. PSAPP мышей лечили в течение 100 суток ежедневными инъекциями 10 мкг/кг соединения 5 или носителем. После лечения и рабочего эксперимента с условно-рефлекторным замиранием отбирали плазму для анализа уровней многочисленных циркулирующих цитокинов у PSAPP мышей, которых лечили носителем, по сравнению с PSAPP мышами, которых лечили соединением. Уровни цитокинов анализировали с использованием мультиплексной системы, где гранулы помечены иммобилизованным антителом, специфичным к каждому исследуемому анализируемому веществу. Каждая группа гранул связывается с конкретным иммобилизованным антителом и отличается от гранул, связанных с другим иммобилизованным антителом. Таким образом можно оценить и отличить уровни каждого анализируемого вещества. Эти результаты обобщены на фиг. 17-20, и уровни каждого анализируемого вещества показаны в пг/мл. На фиг. 17-20 соединение 5 указано вдоль оси x как "соединение".

В кратком изложении, после лечения в течение 100 суток соединением 5 наблюдалось статистически значимое уменьшение уровней IL-4, IL-10 и IL-12 (также упоминаемого как IL-12(p70)) в плазме по сравнению с контрольными мышами, которых лечили носителем; смотри фиг. 17. Для IL-12 наблюдаемое уменьшение представляет собой фактическое уменьшение функционального IL-12, гетеродимерного цитокина, а не конкретное уменьшение p40 субъединицы, общей для многих цитокинов. Конкретно, данные исследования одной p40 субъединицы (изображенной как IL-12(p40); с использованием иммобилизованного антитела, которое определяет субъединицу p40) не отражает изменения после лечения соединением 5, в то время как данные для IL-12(p70) показывают статистически значимое уменьшение после лечения соединением 5 (смотри фиг. 17). Независимо от механизма действия, посредством которого IL-12 уменьшается, эти результаты указывают на то, что это не является только следствием механизма, общего для все цитокинов, которые имеют общую субъединицу p40. В тексте заявки авторы изобретения указывают на уменьшение уровней цитокинов IL-12 взаимозаменяемо посредством ссылки либо на "IL-12", либо на "IL-12(p70)".

Кроме того, также уменьшались средние уровни в плазме других многочисленных цитокинов, таких как IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-13, IL-17, LIF, MIP-1 α и MIP-1 β . Однако введение соединения не приводило к общей иммуносупрессии, так как уровни некоторых цитокинов не изменялись у мышей, которых лечили. Например, не наблюдалось никакого или по существу никакого изменения уровней M-CSF, MIP-2, эотаксина, GM-CSF, G-CSF, LIX, MCP-1 (моноцитарный хемотаксический фактор-1), IL-1 α и IP-10.

Пример 18. Введение соединения 5 уменьшало β -амилоид, предупреждало дефицит памяти и уменьшало уровни провоспалительных цитокинов у PSAPP мышей.

В этом исследовании лечение PSAPP мышей начинали, когда мыши были предсимптоматическими. Конкретно, лечение начинали, когда мыши находились в возрасте примерно 3 месяца. PSAPP мышей лечили в течение 100 суток посредством ежедневной, внутривentricularной инъекции 10 мкг/кг соединения 5 или носителя. После лечения мышей оценивали в отношении следующего: концентрации циркулирующих провоспалительных цитокинов; нагрузки β -амилоида (например, объема бляшек) и памяти в задании условно-рефлекторного замирания для формирования памяти. Данные представлены в примере 18 для 18 мышей, которых лечили носителем, и 20 мышей, которых лечили соединением. Данные, представленные для группы, которую лечили носителем, являются средним для этих мышей, и величины ошибки изображают стандартную ошибку (SEM). Аналогично, данные, представленные для группы лечения соединением, являются средним для этих мышей, и величины ошибки отображают SEM. Мышей сначала оценивали в рабочем эксперименте условно-рефлекторного замирания. Затем отбирали плазму для мультиплексного анализа уровней в плазме циркулирующих цитокинов. Наконец в коре и гиппокампе мышей оценивали объем бляшек.

Как изображено на фиг. 21, после лечения в течение 100 суток соединением 5 наблюдалось статистически значимое уменьшение уровней в плазме следующих цитокинов: IL-12 (также упоминаемого как IL-12(p70)), IL-13, IL-17, IL-10, IL-4, MIP-1a, MIP1b и IL-2; смотри фиг. 21. В отношении IL-12 наблюдаемое уменьшение представляет собой фактическое уменьшение функционального IL-12, гетеродимерного цитокина, а не только уменьшение субъединицы p40, общей для многих цитокинов, как пояснено выше. Для каждого исследованного цитокина уровни в плазме (например, концентрацию в плазме) изме-

ряют в пг/мл и наблюдаемые уровни у мышей, которых лечили соединением 5, представлены в сравнении с уровнями, наблюдаемыми у контрольных мышей, которых лечили носителем.

Как изображено на фиг. 22(С), лечение соединением 5 предупреждало ухудшения памяти контекстуального страха. Другими словами, лечение уменьшало потерю памяти, которая в ином случае развивается и наблюдается у PSAPP мышей. Память оценивают по проценту времени, за которое мыши "освоились" через 24 ч после электрошока, индуцирующего страх. Большее замирание соответствовало большей памяти о предыдущем шоке. Как изображено на фиг. 22(С), мыши, которых лечили соединением 5, показали статистически значимое увеличение времени этого замирания, по сравнению с мышами, которых лечили носителем.

Кроме того, мыши, которых лечили соединением 5, имели уменьшенный объем бляшек. Это отражает уменьшение аккумуляции β -амилоида у мышей, которых лечили соединением 5, по сравнению с мышами, которых лечили носителем (смотри фиг. 22(А) и 22(В)). Аккумуляция β -амилоида уменьшалась и в коре, и в гиппокампе мышей, которых лечили соединением 5; смотри фиг. 22(А) и 22(В) соответственно. На фиг. 21 звездочки соответствуют следующим значениям p : * p менее 0,05; ** p менее 0,01. На фиг. 22 звездочки соответствуют следующим значениям p : для 22А *** p менее 0,01; для 22В и С * p менее 0,02.

Пример 19. Лечение соединением 5 в течение 7 суток реверсировало аккумуляцию амилоида-В и уменьшало уровни провоспалительных цитокинов у PSAPP мышей.

В этом исследовании лечение PSAPP мышей начинали, когда мыши уже имели симптомы заболевания. Конкретно, лечение начинали, когда мыши находились в возрасте примерно 6 месяцев. PSAPP мышей лечили в течение 7 суток посредством ежедневных внутривентральных инъекций 10 мкг/кг соединения 5 или носителя. После лечения мышей оценивали в отношении следующего: концентрации циркулирующих провоспалительных цитокинов; нагрузки β -амилоида (например, объема бляшек) и размера бляшек. Данные представлены в примере 19 для 7 мышей, которых лечили носителем, и 7 мышей, которых лечили соединением. Данные, представленные для группы, которую лечили носителем, являются средним для этих мышей, и величины ошибки изображают стандартную ошибку (SEM). Аналогично, данные, представленные для группы лечения соединением, являются средним для этих мышей, и величины ошибки отображают SEM. Плазму отбирали для мультиплексного анализа уровней в плазме циркулирующих цитокинов. Затем оценивали объем бляшек в коре (с использованием А β 40) и в гиппокампе (с использованием А β 42) мышей, и также оценивали размер бляшек.

Как изображено на фиг. 23, после лечения в течение 7 суток соединением 5, наблюдалось статистически значимое уменьшение уровней в плазме следующих цитокинов: IL-12 (также упоминаемого как IL-12(p70)), IL-13, IL-17, IL-10, MIP-1a, MIP-1b и TNF α ; смотри фиг. 23. Для каждого исследованного цитокина уровни в плазме (например, концентрации в плазме) измеряли в пг/мл и наблюдаемые уровни у мышей, которых лечили соединением 5, сравнивали с уровнями, наблюдаемыми у контрольных мышей, которых лечили носителем.

Как изображено на фиг. 24(А) и 24(В), у мышей, которых лечили соединением 5, происходило уменьшение объема бляшек. Это отражает уменьшение аккумуляции β -амилоида у мышей, которых лечили соединением 5, по сравнению с мышами, которых лечили носителем (смотри фиг. 24(А)). Аккумуляция β -амилоида уменьшалась и в коре (верхняя панель фиг. 24(А)) и в гиппокампе (нижняя панель фиг. 24(А)) мышей, которых лечили соединением 5. Кроме того, уменьшение размера бляшек наблюдалось у мышей, которых лечили соединением 5 (смотри фиг. 24(В)). На фиг. 23 звездочки соответствуют следующим значениям p : * p менее 0,05; ** p менее 0,005; *** p менее 0,0005. На фиг. 24 звездочки соответствуют следующим значениям p : * p менее 0,05.

Пример 20. P₂Y₆-модулирующие соединения опосредуют высвобождение цитокинов в ТНР-1 клетках человека.

Клетки ТНР-1 человеческой клеточной линии, происходящей из моноцитов, обрабатывали *in vitro* носителем, антагонистом P₂Y₆ рецептора MRS 2578 или соединением 5, по отдельности или в комбинации. ТНР-1 клетки сеяли в 24-луночные планшеты с плотностью 4×10⁵ клеток/лунка в культуральной среде в течение 24 ч. Затем носитель, соединение 5 или MRS 2578 (по отдельности или в комбинации) добавляли к культурам в течение 24 ч. Затем культуральную среду удаляли аспирацией и подвергали мультиплексному анализу цитокинов. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ sem; смотри фиг. 25 и 26. MRS 2578 имеет молекулярную массу примерно 472 и также описан с использованием CAS номера 711019-86-2.

Как обобщено на фиг. 25, обработка человеческих клеток ТНР-1 антагонистом P₂Y₆ рецептора MRS 2578 повышала высвобождение некоторых цитокинов из клеток, измеренное как увеличение наблюдаемой концентрации конкретных цитокинов в культуральной среде, что согласуется с противовоспалительным эффектом, эндогенно производимым этим рецептором. Оценивали многочисленные цитокины, и данные для факталькина, PDGF-BB и IL-7 показаны на фиг. 25. Наблюдаемые концентрации этих цитокинов в культуральной среде после обработки указаны вдоль оси y в пг/мл. На фиг. 25 звездочки соответствуют следующим значениям p : * p менее 0,05; ** p менее 0,02; *** p менее 0,002.

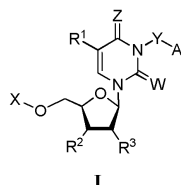
Кроме того, исследования авторов изобретения на THP-1 клетках человека показали, что эффекты модулирования активности P_2Y_6 рецептора были взаимными. Конкретно, обработка клеток в культуре соединением 5 (10 нМ) уменьшает высвобождение цитокинов. Это согласуется с ингибиторными эффектами на концентрацию цитокинов в плазме, наблюдаемыми после введения соединения 5 мышам. Этот ингибирующий эффект блокировали путем совместного инкубирования клеток с соединением 5 и с антагонистом P_2Y_6 рецептора MRS 2578. На фиг. 26 обобщены результаты эксперимента, в котором исследовали высвобождение IL-7 из THP-1 клеток человека.

Интересно, что концентрация соединения 5, используемая в этом эксперименте, 10 нМ находится в хорошем соответствии с эффективной дозой соединения 5 (10 мкг/кг), что дает C_{max} 13 нМ.

На фиг. 26 обобщены данные, оценивающие концентрацию цитокина (IL-7), высвобожденного из клеток THP-1 человека, обработанных *in vitro* носителем, соединением 5, антагонистом P_2Y_6 MRS 2578 или вместе соединением 5 и MRS 2578. Концентрацию цитокина, секретированного в культуральную среду, измеряют в пг/мл, как представлено на оси у. Обработка MRS 2578 повышала высвобождение IL-7 из THP-1 клеток человека. Обработка соединением 5 уменьшала высвобождение IL-7 из THP-1 клеток человека, и этот эффект был аннулирован при совместной обработке с MRS 2578. На фиг. 26 звездочки соответствуют следующим значениям p : * p менее 0,05.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для проявления агонистического действия в отношении P_2Y_6 рецепторов, содержащая соединение формулы I



или его соль,

где А представляет собой 9-10-членное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее вплоть до 3 гетероатомов, выбранных из N, O и S, где бициклическое ароматическое кольцо независимо и необязательно замещено одним или более R^7 ;

X представляет собой -H;

Y представляет собой связь или (C_1-C_5) алифатическую группу;

Z и W, каждый независимо, выбраны из =O и =S;

R^1 представляет собой -H;

R^2 и R^3 , каждый независимо, представляют собой $-OR^5$ или $-SR^5$;

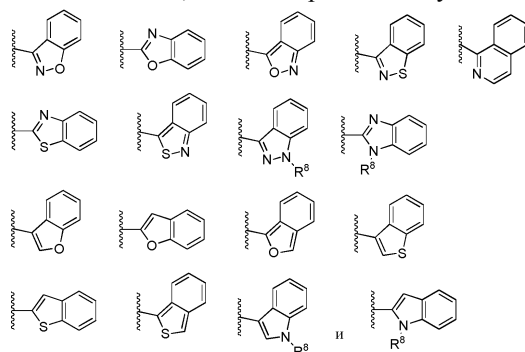
в каждом случае R^5 независимо выбран из следующих: H-, (C_1-C_{12}) алифатическая группа-, (C_3-C_{10}) циклоалкил-, $[(C_3-C_{10})$ циклоалкил]- (C_1-C_{12}) алифатическая группа-;

в каждом случае R^7 независимо выбран из галогена, $-OR^8$, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-R^8$ или $-SR^8$;

в каждом случае R^8 независимо выбран из H- и (C_1-C_6) алифатической группы-,

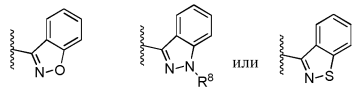
и приемлемый носитель, вспомогательное вещество или эксципиент.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, где А выбран из следующих групп:



и необязательно дополнительно замещено одним или более R^7 .

3. Фармацевтическая композиция по п.2, где А представляет собой

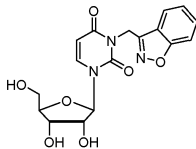


и необязательно дополнительно замещено одним или более R^7 .

4. Фармацевтическая композиция по п.1, где Z представляет собой =O.

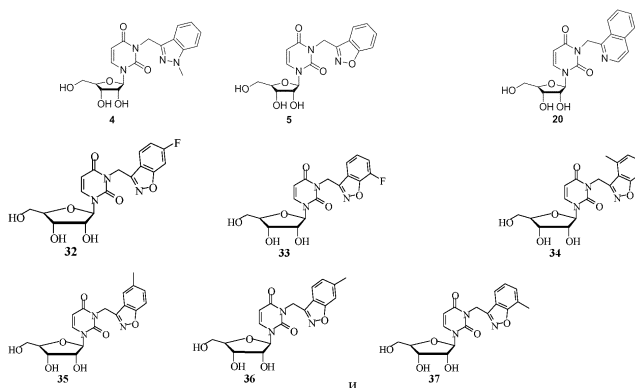
5. Фармацевтическая композиция по п.1, где W представляет собой =O.

6. Фармацевтическая композиция по п.1, где Y представляет собой C₁-алифатическую группу.
7. Фармацевтическая композиция по п.1, где Y представляет собой C₂-алифатическую группу.
8. Фармацевтическая композиция по п.1, где R² представляет собой -OR⁵.
9. Фармацевтическая композиция по п.8, где R² представляет собой -OH.
10. Фармацевтическая композиция по п.1, где R³ представляет собой -OR⁵.
11. Фармацевтическая композиция по п.10, где R³ представляет собой -OH.
12. Фармацевтическая композиция по п.1, где соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

13. Фармацевтическая композиция по п.1, где соединение представляет собой соединение, выбранное из



или его фармацевтически приемлемую соль.

14. Способ лечения воспалительного состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

15. Способ по п.14, где воспалительное состояние выбрано из любого из следующих: аутоиммунное состояние, ревматоидное состояние, воспалительное состояние кожи, воспалительные состояния кишечника, воспалительное состояние сустава, воспалительное состояние глаза, воспалительное состояние легких, воспалительное состояние почек, воспалительное состояние, вызванное аллергической реакцией, или воспалительное состояние, вызванное инфекционным агентом.

16. Способ уменьшения уровней цитокинов в плазме субъекта, имеющего воспалительное состояние, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

17. Способ по п.14 или 16, где воспалительное состояние представляет собой одно или более из аутоиммунного состояния, воспалительного состояния легких, воспалительного состояния суставов, воспалительного состояния соединительной ткани, воспалительного состояния кишечника, воспалительного состояния почек, воспалительного состояния печени, воспалительного состояния кожи, воспалительного состояния сосудистой системы, воспалительного состояния сердца, воспаления, опосредованного IgE антителами, или аллергической реакции.

18. Способ по п.14 или 16, где воспалительное состояние представляет собой эндометриоз.

19. Способ по п.17, где воспалительное состояние представляет собой аутоиммунное заболевание или ревматоидный артрит или псориатический артрит.

20. Способ по любому из пп.14-16, где воспалительное состояние представляет собой ревматоидный артрит, псориаз, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, ювенильный ревматоидный артрит или атеросклероз.

21. Способ по любому из пп.14-20, где воспалительное состояние представляет собой состояние, характеризующееся повышенным уровнем в плазме одного или более из IL-4, IL-10 или IL-12.

22. Способ по п.21, где воспалительное состояние представляет собой состояние, характеризующееся повышенным уровнем в плазме IL-12.

23. Способ по любому из пп.14-22, включающий уменьшение уровней в плазме одного или более из следующих цитокинов: IL-4, IL-10 или IL-12.

24. Способ по любому из пп.21-23, где воспалительное состояние представляет собой ревматоидный артрит, псориатический артрит, псориаз, рассеянный склероз, атеросклероз, болезнь Крона, язвенный колит, воспалительное заболевание кишечника или синдром раздраженного кишечника.

25. Способ по любому из пп.14-24, где воспалительное состояние представляет собой состояние, характеризующееся повышенными уровнями в плазме IL-7, IL-13, IL-17, TNF-α (фактор некроза опухоли альфа), MIP-1a (макрофагальный воспалительный белок-1a) или MIP-1b.

26. Способ по п.25, включающий уменьшение уровней в плазме одного или более следующих цитокинов: IL-7, IL-13, IL-17, TNF- α , MIP-1a или MIP-1b.

27. Способ уменьшения провоспалительных цитокинов в брюшной полости субъекта, имеющего эндометриоз, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

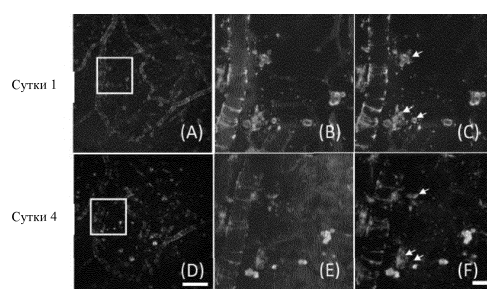
28. Способ лечения нейродегенеративного нарушения у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

29. Способ по п.28, где нейродегенеративное нарушение выбрано из болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, умеренного когнитивного ухудшения (MCI), болезни Хантингтона, рассеянного склероза и острых нарушений мозгового кровообращения.

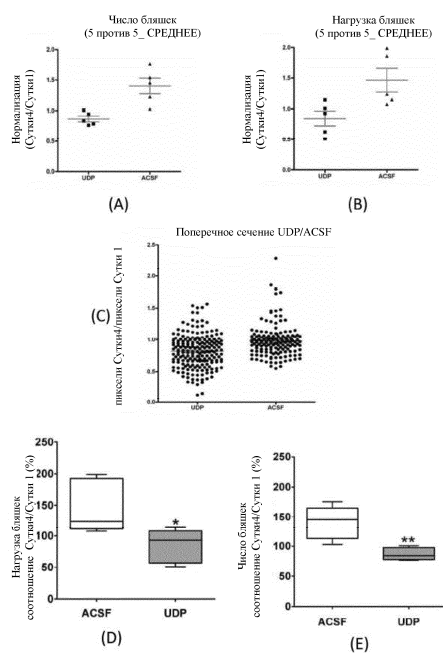
30. Способ проявления агонистического действия в отношении P₂Y₆ рецепторов в клетке, включающий приведение клетки в контакт с фармацевтической композицией по любому из пп.1-13.

31. Способ по п.29, где нейродегенеративное нарушение представляет собой болезнь Альцгеймера.

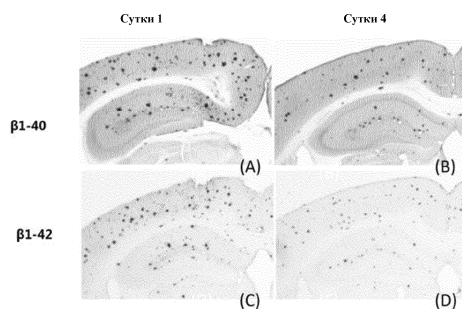
32. Способ по п.31, где введение фармацевтической композиции улучшает когнитивную функцию, предупреждает или задерживает когнитивное ухудшение, уменьшает нагрузку амилоидных бляшек или усиливает β -амилоидный клиренс у субъекта с болезнью Альцгеймера.



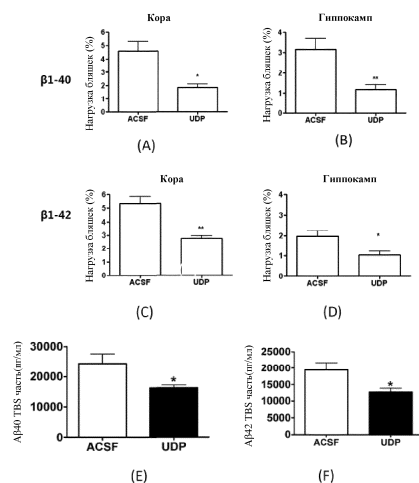
Фиг. 1



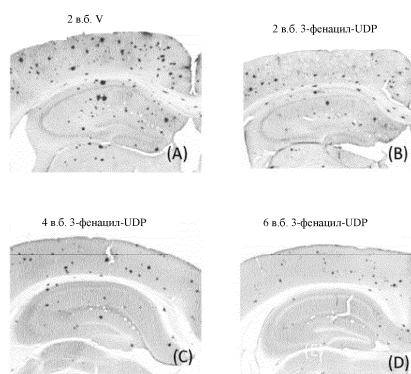
Фиг. 2



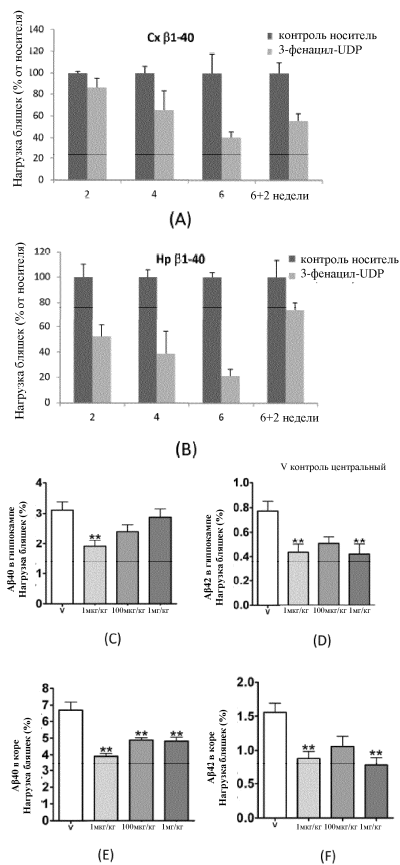
Фиг. 3



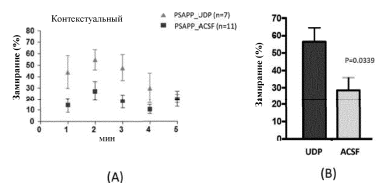
Фиг. 4



Фиг. 5

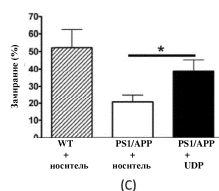


Фиг. 6



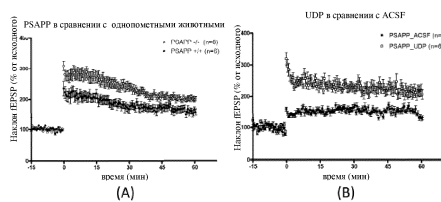
(A)

(B)



(C)

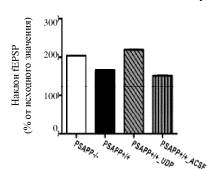
Фиг. 7



(A)

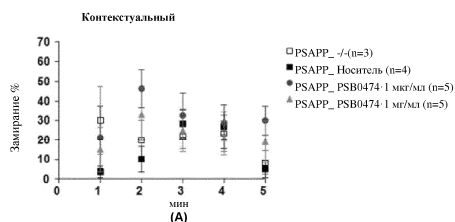
(B)

Последнее 15 мин потенцирования



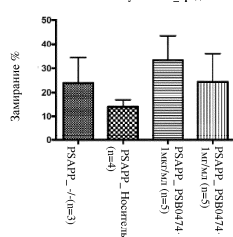
(C)

Фиг. 8

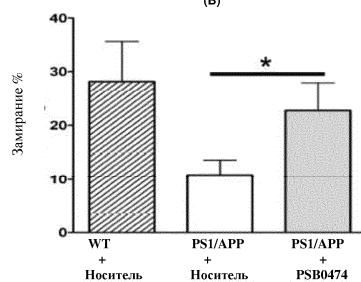


(A)

Contextual learning_среднее за 3 мин

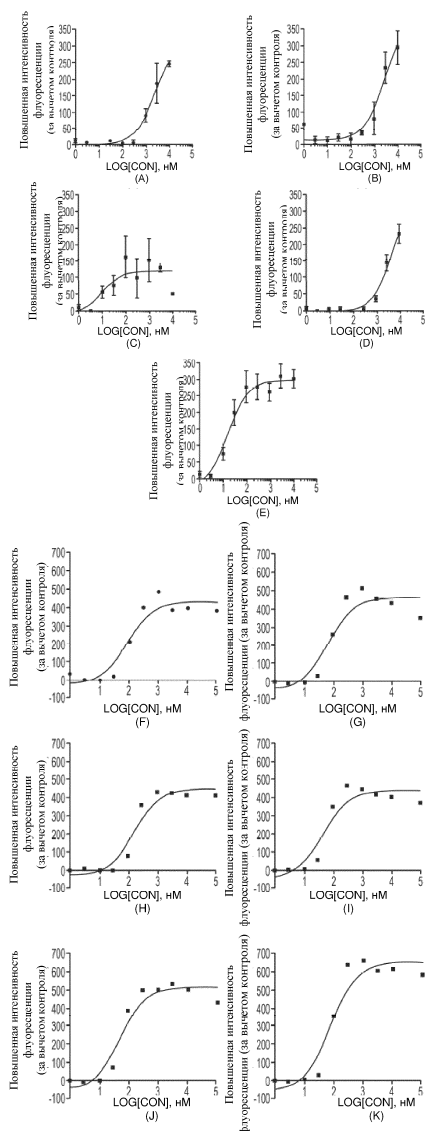


(B)

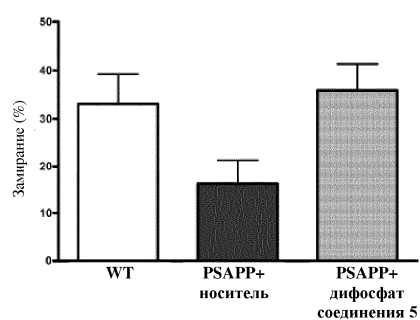


(C)

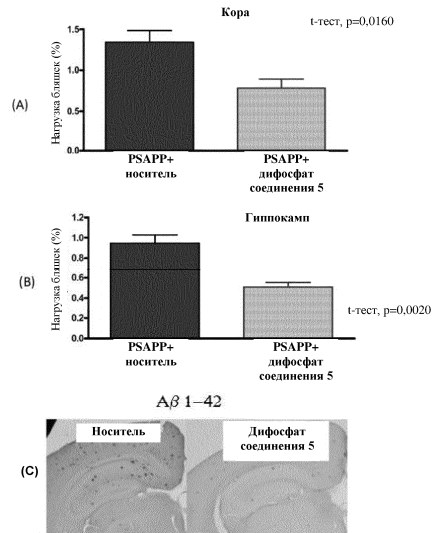
Фиг. 9



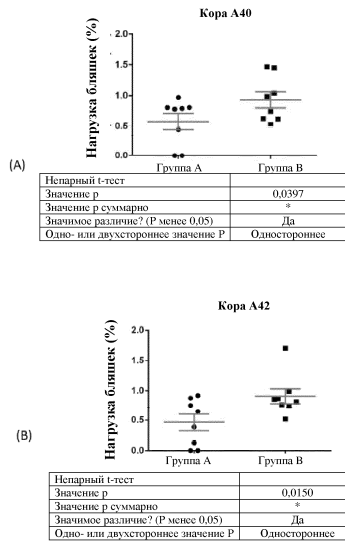
Фиг. 10



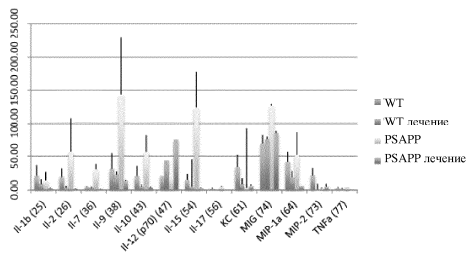
Фиг. 11



ФИГ. 12

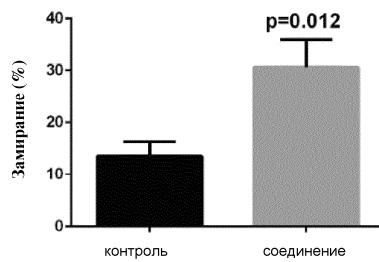


ФИГ. 13

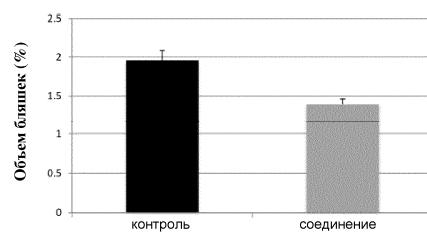


Фиг. 14

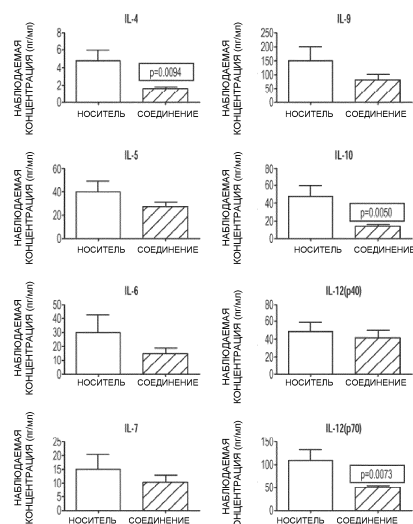
Условно-рефлекторное замирание



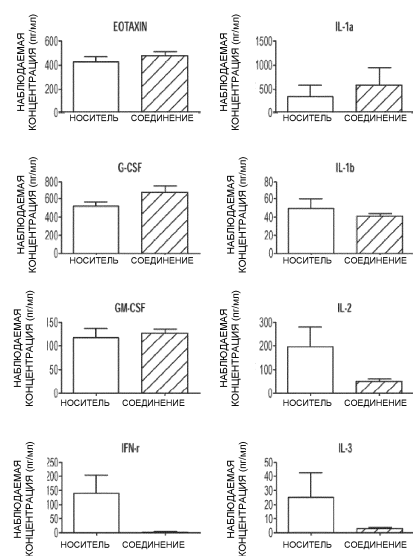
ФИГ. 15



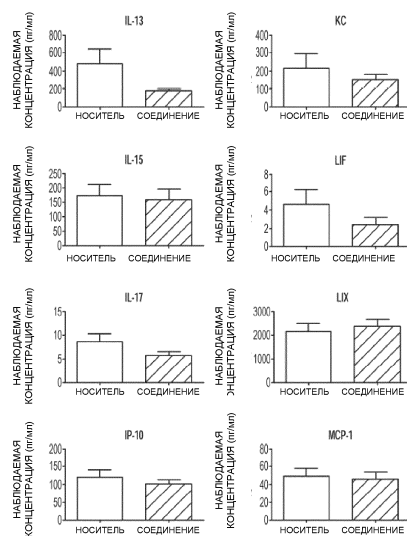
Фиг. 16



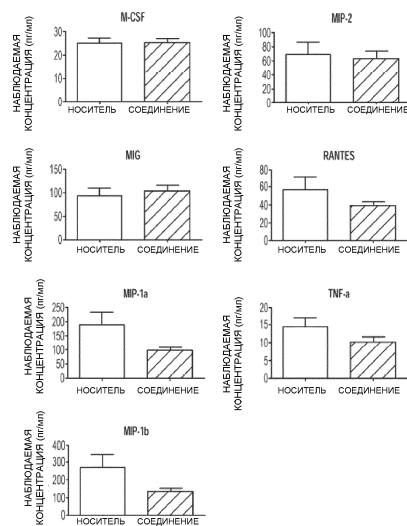
Фиг. 17



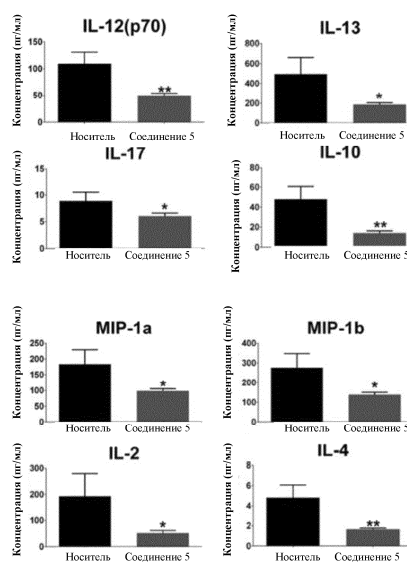
Фиг. 18



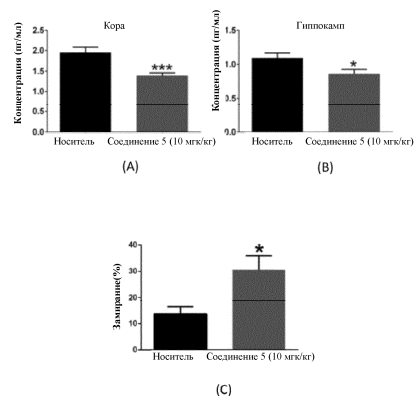
Фиг. 19



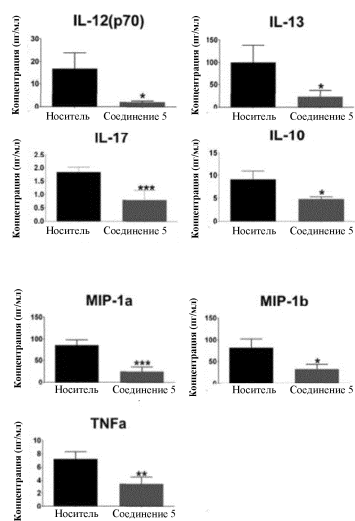
Фиг. 20



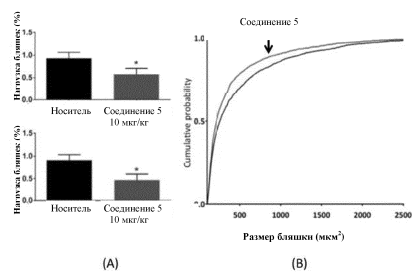
Фиг. 21



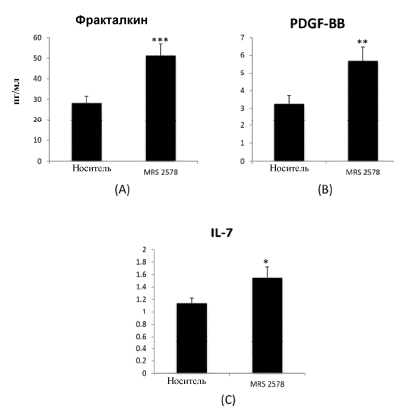
Фиг. 22



Фиг. 23

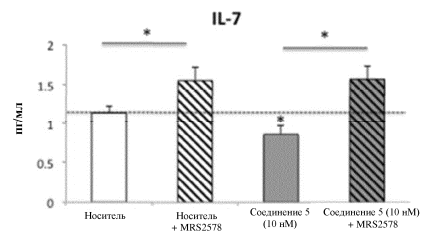


Фиг. 24



* p<0.05, ** p<0.02, *** p<0.002

Фиг. 25



Фиг. 26

