



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2022.12.14

(21) Номер заявки

201890312

(22) Дата подачи заявки

2016.07.12

(51) Int. Cl. A61K 39/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61K 31/381 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61K 31/426 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61P 13/10 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ IL-8 В ЛЕЧЕНИИ И/ИЛИ ПРОФИЛАКТИКЕ
ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОГО ЦИСТИТА/СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО МОЧЕВОГО
ПУЗЫРЯ И/ИЛИ СВЕРХАКТИВНОГО МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

(31) 15176726.6

(32) 2015.07.14

(33) EP

(43) 2018.08.31

(86) PCT/EP2016/066511

(87) WO 2017/009323 2017.01.19

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ДОМПЕ ФАРМАЧЕУТИЧИ С.П.А.
(IT)

(72) Изобретатель:

Аллегретти Марселло, Арамини
Андреа, Цеста Мария Кандида,
Бианчини Жанлука, Брандолини
Лаура, Ангелико Патриция (IT)

(74) Представитель:

Гончаров В.В. (BY)

(56) FABIANA N. DORNELLES ET AL.: "Role of CXCR2 and TRPV1 in functional, inflammatory and behavioural changes in the rat model of cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis", BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 171, no. 2, 23 January

2014 (2014-01-23), pages 452-467, XP055234661, BASINGSTOKE, HANTS; GB, ISSN: 0007-1188, DOI: 10.1111/bph.12467, page 452, page 453-467

WO-A2-2010031835

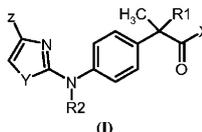
WO-A2-2005090295

BERTINI R. ET AL.: "Receptor binding mode and pharmacological characterization of a potent and selective dual CXCR1/CXCR2 non-competitive allosteric inhibitor", BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 165, no. 2, 16 January 2012 (2012-01-16), pages 436-454, XP055234635, BASINGSTOKE, HANTS; GB, ISSN: 0007-1188, DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01566.x, cited in the application, page 436, 437, paragraph 1, page 437, left-hand column, paragraph 1 - right-hand column, paragraph 2

MARCELLO ALLEGRETTI ET AL.: "Current status of chemokine receptor inhibitors in development", IMMUNOLOGY LETTERS, ELSEVIER BV, NL, vol. 145, no. 1, 13 April 2012 (2012-04-13), pages 68-78, XP028490367, ISSN: 0165-2478, DOI: 10.1016/J.IMLET.2012.04.003 [retrieved on 2012-04-20] cited in the application, page 69, right-hand column, last paragraph - page 70, right-hand column, last paragraph

TSENG-ROGENSKI S. ET AL.: "Interleukin-8 is essential for normal urothelial cell survival", AJP: RENAL PHYSIOLOGY, vol. 297, no. 3, 17 June 2009 (2009-06-17), pages F816-F821, XP055100716, ISSN: 0363-6127, DOI: 10.1152/ajprenal.90733.2008, cited in the application, abstract

(57) Изобретение относится к применению соединений-ингибиторов IL-8 в лечении и/или профилактике интерстициального цистита/синдрома раздраженного мочевого пузыря (ИЦ/СРМП) и/или сверхактивного мочевого пузыря (СМП), также включая ИЦ/СРМП и/или СМП, вызванные противораковой терапией. При этом указанный ингибитор IL-8 представляет собой соединение формулы (I)



и ее фармацевтически приемлемые соли, где R1 является водородом; X - это OH; R2 - это водород или линейный C₁-C₄-алкил; Y - гетероатом, выбираемый из S, O и N; Z выбран из линейного или разветвленного C₁-C₄-алкила, линейного или разветвленного C₁-C₄-алкокси, гало-C₁-C₃-алкила и гало-C₁-C₃-алкокси. При осуществлении применения ингибитор IL-8 вводят в комбинации с дополнительным фармацевтически активным соединением, эффективным в профилактике и/или лечении ИЦ/СРМП и/или СМП, причем ингибитор IL-8 и дополнительное фармацевтически

активное соединение находятся в отдельных композициях для одновременного, отдельного или последовательного введения.

041905 B1

041905 B1

Область техники

Заявленное изобретение относится к применению соединений - ингибиторов IL-8, в лечении и/или профилактике интерстициального цистита/синдрома раздраженного мочевого пузыря (ИЦ/СРМП) и/или сверхактивного мочевого пузыря (СМП), также включая ИЦ/СРМП и/или СМП, вызванные противораковой терапией. Предпосылки изобретения ИЦ/СРМП и СМП представляют собой хронические воспалительные заболевания мочевых путей, характеризующиеся хроническими воспалительными процессами в тканях. Симптомы этих болезней варьируются, однако общими симптомами являются умеренный дискомфорт, сдавливание, болезненность или сильная боль в области таза. Симптомы могут также включать постоянные и частые позывы к мочеиспусканию, императивное недержание или сочетание этих признаков; боль может изменяться по интенсивности, по мере того как мочевой пузырь заполняется мочой или пустеет.

Американская Урологическая Ассоциация выпустила рекомендации по объективным критериям диагностики ИЦ/СРМП (Diagnosis and Treatment of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome AUA Guidelines 2011, amended in 2014) и СМП (Diagnosis and Treatment of Overactive Bladder (Non-Neurogenic) in adults: AUA/SUFU Guideline 2014).

Разработаны многосторонние подходы для лечения этих патологий, часто используемые в комбинации. Вмешательства могут включать пероральные фармакологические агенты [например, пентозанполисульфат натрия (ППН, Elmiron), антихолинэргические лекарственные препараты (такие как амитриптилин), антагонисты гистаминовых рецепторов (такие как гидроксизин), трициклические антидепрессанты, анальгетики, противовоспалительные средства, иммунодепрессивные агенты (такие как циклоспорин); интравезикальные методы лечения через катетер, включая диметилсульфоксид (ДМСО), PPS, нейротоксины, гиалуроновая кислота, хондроитин сульфат, электростимуляция и дополнительные методы лечения (например, иглоукалывание, гипноз). Однако доступное лечение в большой степени неудовлетворительно, в силу ограниченной эффективности и/или побочных эффектов, и все еще существует потребность в идентификации более эффективных и более безопасных лекарств для лечения ИЦ/СРМП и/или СМП. Хемокины составляют большое семейство хемотаксических цитокинов, которые проявляют свое действие через взаимодействие с семейством из семи трансмембранных рецепторов, сопряженных с G-белками (7TM-GPCRs). Система хемокинов крайне важна для регулирования и контроля основных функций лейкоцитов гомеостатического и противовоспалительного характера. Многие типы клеток, помимо кроветворных клеток, экспрессируют рецепторы хемокина; к ним относятся эндотелиальные, гладкомышечные клетки, стромальные клетки, нейроны и эпителиальные клетки.

В числе хемотаксических факторов, интерлейкин 8 (ИЛ-8; CXCL8) считается главным посредником мобилизации ПМН, PMN (полиморфнонуклеарные нейтрофилы) и участвует в развитии некоторых патологий, включая псориаз, ревматоидный артрит, хроническое повреждение обструктивной болезни легких и реперфузии пересаженных органов (Griffin et al., Arch Dermatol 1988, 124: 216; Fincham et al., J Immunol 1988, 140: 4294; Takematsu et al., Arch Dermatol 1993, 129: 74; Liu et al., 1997, 100:1256; Jeffery, Thorax 1998, 53: 129; Pesci et al., Eur Respir J. 1998, 12: 380; Lafer et al., Br J Pharmacol. 1991, 103: 1153; Romson et al., Circulation 1993, 67: 1016; Welbourn et al., Br J Surg. 1991, 78: 651; Sekido et al., Nature 1993, 365, 654).

Биологическая активность интерлейкина 8 опосредована взаимодействием с рецепторами CXCR1 и рецепторами CXCR2, принадлежащими семье 7TM-GPCR, которые экспрессированы на поверхности человеческого PMNs. Два человеческих рецептора являются высоко гомологичными (77%-ная идентичность аминокислоты), и самое большое разнообразие сосредоточено в трех участках: конец N (лиганд-связывающий домен), четвертая трансмембранная область и конец C [Lee et al., J Biol Chem 1992, 267: 16283].

В то время как человеческий CXCR1 является достаточно селективным, связывая с высокой аффинностью только два хемокина, IL-6 и IL-8, и показывающий намного более высокую аффинность к IL-8 [Wolf et al., Eur J Immunol 1998, 28: 164], человеческий CXCR2 является более разнородным рецептором, связывающим много различных цитокинов и хемокинов в дополнение к двум обозначенным выше, как, например, IL-1, IL-2, IL-3, IL-5 и IL-7 (Chapman et al., Pharmacology & Therapeutics 121 (2009) 55). Поэтому CXCR2 опосредует активность многих различных медиаторов.

Для обоих рецепторов после активации ответы контролируются фосфорилированием в определенных остатках С-конца, что вызывает связь с гетеротримерным комплексом G-белка, который подразделяется на подъединицы, чтобы стимулировать эффекторные молекулы и, таким образом, вызывает активацию фосфолипазы С, приводя к появлению внутриклеточного мессенджера диацилглицерола и инозитол 1,4,5-трифосфата.

После активации CXCL8, CXCR1 и CXCR2 становятся невосприимчивыми и неактивными под воздействием интернализации рецептора (Richardson et al., J Biol Chem 1998; 273: 23830 Richardson et al., J Immunol. 2003, 170: 2904; Premont et al., Annu Rev Physiol 2007, 69: 511).

CXCR1 и CXCR2 фосфорилируются при помощи двух главных механизмов: протеинкиназа С-зависимого механизма и GRK (киназа GPCR)-зависимого механизма. Например, фосфорилирование хвоста С-конца CXCR1 требуется для процессов, таких как интернализация рецептора и хемотаксис. Было

показано, что эти два рецептора, CXCR1 и CXCR2, соединены с различными внутриклеточными путями через взаимодействие с различными изоформами GRK. В частности, CXCR1 преимущественно соединяется с GRK2, тогда как CXCR2 взаимодействует с GRK6, чтобы отрицательно отрегулировать повышение чувствительности рецептора и передвижение, таким образом, оказывая воздействие на передачу клеточных сигналов и ангиогенез (Raghuwanshi et al., *J Immunol* 2012, 189: 2824). После активации IL-8 CXCR1 постепенно интернализуется (45% по истечении 60 мин), но и быстро восстанавливается (100% по истечении 90 мин), в то время как CXCR2 интернализуется быстро (95% по истечении 10 мин), но восстанавливается медленно (35% по истечении 90 мин) на поверхности клеток [Richardson et al., *J Immunol* 2003, 170: 2904; Chuntharapai et al., *J Immunol* 1995, 1995, 155: 2587]. Данное различие представляется очень важным в способности этих двух рецепторов активировать определенные ответы лейкоцита, включая дыхательный взрыв и постэндоцитируемые сигналы. Несмотря на доказательства, что эти два рецептора сигнализируют через подобные белки G, есть заметные различия в активации сигнального каскада между CXCR1 и CXCR2, что и определяет разнообразные функции. Например, ингибирование CXCR1, но не CXCR2, вызывает уменьшение в производстве аниона супероксида со стороны PMN, указывая на основную роль CXCR1 в окислительном взрыве [Jones et al., *J Biol Chem* 1997, 272: 16166; Jones et al., *PNAS USA* 1996, 93: 6682]. Кроме этого, CXCR1 активирует PLD1 (фосфолипаза D1), тогда как CXCR2 опосредует активацию PLD2 (фосфолипаза D2), которая катализирует гидролиз фосфатидилхолина на фосфатидную кислоту и холин [Palicz et al., *J Biol Chem* 2001, 276: 3090].

Множество исследований посвящено роли IL-8 в развитии урологических патологий. WO2010/078403 раскрывает, что определенные цитокины, хемокины и факторы роста, включая IL-8, содержатся в увеличенном количестве в моче пациентов с урологическими патологиями, и выдвигает гипотезу, что идентификация повышенных концентраций этих белков в моче может использоваться в качестве диагностического инструмента. Многократные белки идентифицированы в документе как потенциальные биомаркеры урологических патологий, и все они также являются известными посредниками воспаления. Jiang и соавторы раскрывают увеличенное содержание провоспалительных цитокинов и хемокина, включая IL-1 β , IL-6, TNF- α и IL-8, а также сывороточного C-реактивного белка (CRP), фактора роста нервной ткани (NGF) у больных с ИЦ/СРМП по сравнению с контрольной группой (*PlosOne* 2013, 10: e76779). Вышеупомянутые источники свидетельствуют, что ИЦ/СРМП связаны с присутствием в моче или сыворотке пациентов многих посредников воспалительного процесса, включая IL-8, но, вместе с тем, не обеспечивают методологию исследования определенной роли каждого из этих посредников в начале и развитии болезни. Кроме того, в документах наблюдается недостаток данных об эффекте ингибирования определенных потенциальных маркеров в начале и/или развитии урологических патологий.

Некоторые публикации раскрывают данные, которые предлагают, что IL-8 и CXCR1 играют важную роль в поддержании здорового состояния мочевых путей.

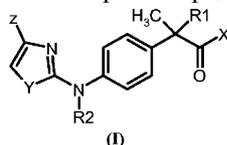
Действительно, было продемонстрировано, что IL-8 оказывает защитный эффект на уротелий и что пониженные уровни экспрессии IL-8 в мочевом пузыре могут влиять на патофизиологию интерстициального цистита и других урологических патологий [Tseng-Rogenski et al., *Am J Physiol Renal Physiol* 2009, 297: F816-F821]. В этой публикации IL-8 описан как фактор роста, важный для нормального воспроизведения уротелиальной ткани. В частности, показано, что ингибирование экспрессии IL-8 малой ингибирующей РНК (малая интерферирующая РНК) заставляет нормальные уротелиальные клетки умирать и что добавление рекомбинантного человеческого IL-8 спасает данные клетки. Кроме того, в этом исследовании уровни IL-8 мРНК измерены в образцах биопсии мочевого пузыря и пониженные уровни IL-8 наблюдаются в биопсиях от пациентов с интерстициальным циститом. На основе полученных данных предложено применение IL-8 и/или агентов, которые стимулируют производство IL-8, в качестве потенциальных терапевтических агентов в лечении интерстициального цистита.

Дополнительные исследования показали более низкий уровень экспрессии CXCR1, а не CXCR2, у детей с хроническими инфекциями мочевыводящих путей, по сравнению со здоровыми детьми (Godaly, *Journal of Leukocytes Biology* 2001, 69, pages 899-906). Недавно было установлено, что селективная блокада рецептора CXCR2, как показывали, проявила благоприятное воздействие на модели интерстициального цистита с увеличением объема освобождающейся полости мочевого пузыря, эффективности лечения, уменьшения давления на стенки мочевого пузыря и механической гиперчувствительности. Однако различные молекулярные лиганды, воздействующие на рецептор и, как следствие, внутриклеточные пути, ингибирование которых основано на этом эффекте, все еще не были детально описаны [Dornelles et al., *Bgr J Pharmacol.* 2014, 171:452]. Что касается IL-8, вышеупомянутые описанные документы предполагают, что этот хемокин и, в частности, его активность через рецептор CXCR1, играет основную роль в поддержании жизнеспособности уротелиальных клеток, и что пониженный уровень экспрессии IL-8 или CXCR1 в мочевом пузыре оказывает влияние на патофизиологические характеристики заболеваний мочевых путей. Кроме того, предполагаются различные и противоположные роли CXCR1 и CXCR2 в развитии ИЦ/СРМП и СМП. Краткое изложение сущности изобретения Заявителем было неожиданно обнаружено, что, в отличие от концепции предшествующего уровня техники, ингибиторы IL-8, полезны в лечении и/или профилактике ИЦ/СРМП и/или СМП, также включая ИЦ/СРМП и/или СМП, вызванные противораковой терапией. Целью данного изобретения является применение упомянутого ингибитора IL-8,

как определено выше, для приготовления лекарственного препарата для лечения и/или профилактики ИЦ/СРМП и/или СМП.

Другой целью данного изобретения является применение фармацевтической композиции для использования в лечении и/или профилактике ИЦ/СРМП и/или СМП, содержащая: (а) вышеупомянутый ингибитор IL-8 и (б) одно или более дополнительных фармацевтически активных соединений.

Достижение цели обеспечивается применением ингибитора IL-8 в лечении и/или профилактике интерстициального цистита/синдрома раздраженного мочевого пузыря (ИЦ/СРМП) и/или сверхактивного мочевого пузыря (СМП), причем указанный ингибитор IL-8 представляет собой соединение формулы (I)



и ее фармацевтически приемлемыми солями,

где R¹ является водородом;

X - это OH;

R² -это водород или линейный C₁-C₄ алкил;

Y - гетероатом, выбираемый из S, O и N;

Z выбран из линейного или разветвленного C₁-C₄-алкила, линейного или разветвленного C₁-C₄-алкокси, гало-C₁-C₃-алкила и гало-C₁-C₃-алкокси.

Применение имеет место и для случаев, когда упомянутые ИЦ/СРМП и/или СМП вызваны противораковой терапией или радиотерапией в области таза. В указанном применении упомянутый ингибитор IL-8 может быть выбран из (R,S)-2-(4-{[4-(трифторметил)-1,3-тиазол-2-ил]амино}фенил)пропановой кислоты и ее натриевой соли.

Достижение другой цели настоящего изобретения обеспечивает применение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор IL-8, в лечении и/или профилактике интерстициального цистита / синдрома раздраженного мочевого пузыря (ИЦ/СРМП) и/или сверхактивного мочевого пузыря (СМП). При этом фармацевтическая композиция дополнительно включает как минимум одно фармацевтически активное соединение, эффективное в профилактике и лечении ИЦ/СРМП и/или СМП.

При осуществлении указанного применения ингибитор IL-8 вводят в комбинации с дополнительным фармацевтически активным соединением, эффективным в профилактике и/или лечении ИЦ/СРМП и/или СМП, причем ингибитор IL-8 и дополнительное фармацевтически активное соединение находятся в отдельных композициях для одновременного, раздельного или последовательного введения. Упомянутое выше дополнительное фармацевтически активное соединение представляет собой антагонист TRPV1. Упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение представляет собой лекарственный препарат, который в качестве побочного эффекта вызывает ИЦ/СРМП и/или СМП. Упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение может быть выбрано из циклофосамида, бациллы Кальметта-Герена для прямого введения в мочевой пузырь, митомицина А, адриамицина или тиaproфеновой кислоты.

Описание чертежей

Фиг. 1 показывает эффект перорального введения носителя и соединения 1 (соед. 1) в дозировке 10 и 30 мг/кг, на механический порог на животе, выраженный в граммах, тестируемый, как описано в примере 1. Данные представляют пороговое значение отдергивания до (основной) и после введения СУР перед лечением (пред) и после лечения (пост) с соединением 1. Данные выражены как средние величины ± S.E. и приведены на логарифмической шкале. ***p<0.001 в сравнении с основными показателями; °p<0.05, °°p<0.001, в сравнении с показателями до лечения (однофакторный дисперсионный анализ с критерием Тьюки).

Фиг. 2 показывает эффект перорального введения носителя и соединения 1 (соед. 1) в дозировке 10 и 30 мг/кг, на механический порог на задних лапах, выраженный в граммах. Данные представляют пороговое значение отдергивания перед до (основной) и после применения СУР, перед лечением (пред) и после лечения (пост) с носителем и соединением 1, методика теста согласно примеру 1. Данные приведены как средние значения ± S.E. и выражены в логарифмической шкале ***p<0.001 в сравнении с основными показателями; °°p<0.001 в сравнении с показателями до лечения (однофакторный дисперсионный анализ с критерием Тьюки).

Фиг. 3 показывает эффект перорального введения носителя и соединения 1, в дозировке 1, 3 и 10 мг/кг, на механический порог на животе, выраженный в граммах, тестируемый, как описано в примере 1. Данные представляют пороговое значение отдергивания перед до (основной) и после применения СУР, перед лечением (пред) и после лечения (пост) с носителем или соединением 1. Данные приведены как средние значения ± S.E. ***p<0.001 в сравнении с основными показателями; °p<0.01, °°p<0.001, в сравнении с показателями до лечения (однофакторный дисперсионный анализ с критерием Тьюки).

Фиг. 4 показывает эффект перорального введения носителя и соединения 1, в дозировке 1, 3 и

10 мг/кг, на механический порог на задних лапах, выраженный в граммах, тестируемый, как описано в примере 1. Данные представляют пороговое значение отдергивания перед до (основной) и после применения СУР, перед лечением (пред) и после лечения (пост) с носителем или соединением 1. Данные приведены как средние значения \pm S.E. $***p < 0.001$ в сравнении с основными показателями; $^{\circ\circ}p < 0.001$, в сравнении с показателями до лечения (однофакторный дисперсионный анализ с критерием Тьюки).

Фиг. 5 показывает эффект перорального введения носителя и соединения 1, в дозировке 7 мг/кг, на механические пороги на задних лапах и на животе, выраженные в граммах, тестируемые, как описано в примере 1. Данные представляют пороговое значение отдергивания перед до (основной) и после применения СУР, перед лечением (пред) и после лечения (пост) с носителем или соединением 1. Данные приведены как средние значения \pm S.E. $***p < 0.001$ в сравнении с основными показателями; $^{\circ\circ}p < 0.001$, в сравнении с показателями до лечения (однофакторный дисперсионный анализ с критерием Тьюки).

Фиг. 6 показывает эффект длительного перорального введения носителя и соединения 1, в дозировке 7 мг/кг, на механические пороги на задних лапах и на животе, выраженные в граммах, тестируемые, как описано в примере 2. Данные представляют пороговое значение отдергивания перед до (основной) и после применения СУР, перед лечением (пред) и после длительного лечения (пост) (р 12) с носителем или соединением 1, или после длительного лечения + 1 кратковременного введения (р 13) соединения 1, как описано в примере 2. Данные приведены как средние значения \pm S.E. $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ в сравнении с основными показателями; $^{\circ\circ}p < 0.001$, в сравнении с показателями до лечения (однофакторный дисперсионный анализ с критерием Тьюки).

Фиг. 7 показывает эффект перорального введения носителя и соединения 1, в дозировке 10, 20 и 30 мг/кг, на вместимость мочевого пузыря (BVC) после лечения с СУР, тестируемый, как описано в примере 4. Данные приведены как средние значения \pm S.E. $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ в сравнении с основными показателями; $^{\circ\circ}p < 0.001$, в сравнении с показателями до лечения (однофакторный дисперсионный анализ с критерием Тьюки).

Фиг. 8 показывает эффект длительного перорального введения носителя и соединения 1 (соед. 1), в дозировке 7 мг/кг, на механические пороги на задних лапах и на животе, выраженные в граммах. Данные представляют пороговое значение отдергивания перед до (основной) и после применения СУР, и после длительного лечения (пост) с носителем или соединением 1, как описано в примере 5. Данные приведены как средние значения \pm S.E.

Фиг. 9 показывает эффект длительного перорального введения носителя и Mesna, в дозировке 21,5 мг/кг, на механические пороги на задних лапах и на животе, выраженные в граммах. Данные представляют пороговое значение отдергивания перед до (основной) и после применения СУР, и после длительного лечения (пост) с носителем или соединением 1, как описано в примере 5. Данные приведены как средние значения \pm S.E.

Фиг. 10 показывает зависимые от времени изменения в составе крови GRO- α /KC после введения СУР и эффект предварительного лечения с соединением 1 (соед. 1), в дозировке 7 мг/кг п/о, как описано в примере 7. Каждая колонка представляет средние значения \pm SEM из 10 животных * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ в сравнении с группой плацебо, однофакторный дисперсионный анализ с критерием Краскела-Уоллиса в качестве ретроспективного анализа.

Подробное описание изобретения

В соответствии с подробным представлением в экспериментальном разделе данного описания, малые молекулы, ингибирующие активность IL-8, показывают терапевтическую эффективность на животных моделях интерстициального цистита, синдрома раздраженного мочевого пузыря и СМП (Juszczak et al., *Folia Med. Cracov* 2007, 48(1-4), p. 113-123).

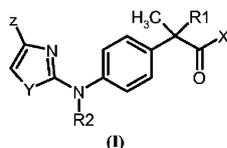
Соответственно, первой целью данного изобретения является ингибитор IL-8 для использования в лечении и/или профилактике ИЦ/СРМП и/или СМП. ИЦ/СРМП и/или СМП могут проявиться как побочный эффект в результате противораковой терапии, в частности химиотерапии (Santos et al. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2010: 382, 399) и радиотерапии в области таза (Denton et al. *Cochrane database Syst Rev*, 2002: CD001773). В соответствии с предпочтительным воплощением заявленного изобретения, также в сочетании с другими вариантами воплощения, упомянутые ИЦ/СРМП и/или СМП вызваны противораковой терапией, например химиотерапией или радиотерапией в области таза.

Термин "ингибитор IL-8", в соответствии с заявленным изобретением, относится к любому соединению, обладающему способностью ингибировать, полностью либо частично, биологическую активность IL-8. Такое соединение может действовать путем понижения экспрессии или активности IL-8 или путем ингибирования запуска межклеточных сигналов при помощи активации рецепторов IL-8. Во втором случае, такое соединение предпочтительно является или аллостерическим ингибитором, или антагонистом рецептора CXCR¹ или обоих рецепторов CXCR¹ и CXCR2. Предпочтительно упомянутый ингибитор IL-8 обладает способностью ингибировать хемотаксис, вызванный IL-8 в ПМНК, с концентрацией в диапазоне низких микромолярных или наномолярных единиц.

В соответствии с предпочтительными воплощениями данного изобретения, упомянутый ингибитор IL-8 является ингибитором CXCR1, более предпочтительно двойным CXCR1/CXCR2-ингибитором.

В соответствии с дополнительными предпочтительными воплощениями данного изобретения, также в сочетании с предшествующими вариантами воплощения, ингибитор IL-8 является антителом, пептидом или малой молекулой.

К настоящему времени раскрыты описания некоторых ингибиторов IL-8, например малые молекулы, пептиды и антитела, многие из которых сейчас проходят клинические испытания или уже используются на практике, например SK&F 83589, SB225002 (Jie Jack, Expert Opinion Then Patents, 2001, 11(12), p. 1905-1910), C(4)-алкил замещенные фуранил циклобутандионы (Chao J. et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 17, 2007, p. 3778-3783) и различные малые молекулы, выпускаемые компаниями GlaxoSmithKline, Astra Zeneca, Pfizer и Schering-Plough (Busch-Petersen J. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2006, 6, p. 1345-135 and Allegretti et al., Immunology Letters 2012, Vol. 145, p. 68-78). Из низкомолекулярных ингибиторов IL-8, предпочтительными соединениями согласно заявленному изобретению являются производные 1,3-тиазол-2-иламинофенилпропановой кислоты, производные 2-фенилпропионовой кислоты и их фармацевтически приемлемые соли. Согласно предпочтительному варианту воплощения упомянутые производные 2-фенилпропановой кислоты представляют собой соединения с формулы (I)



в которых R¹ является водородом;

X - это OH;

R² - это водород или линейный C₁-C₄-алкил;

Y - это гетероатом, выбираемый из S, O и N;

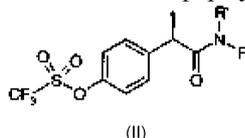
Z выбирают из линейного или разветвленного C₁-C₄-алкила, линейного или разветвленного C₁-C₄-алкокси, гало-C₁-C₃-алкила и гало-C₁-C₃-алкокси.

Более предпочтительно упомянутые соединения формулы (I) имеют хиральный углеродный атом фенилпропановой группы в конфигурации S. Особенно предпочтительные соединения формулы (I) согласно заявленному изобретению выбирают из (R,S)-2-(4-{[4-(трифторметил)-1,3-тиазол-2-ил]амино}фенил)пропановой кислоты или (2S)-2-(4-{[4-(трифторметил)-1,3-тиазол-2-ил]амино}фенил)пропановой кислоты и их фармацевтически приемлемых солей, предпочтительно натриевой соли. Наиболее предпочтительны согласно заявленному изобретению производные 2-арилпропановой кислоты, а именно натриевая соль (2S)-2-(4-{[4-(трифторметил)-1,3-тиазол-2-ил]амино}фенил) пропановой кислоты (далее по тексту обозначена как соединение 1).

Соединения формулы (I) раскрыты в WO2010/031835, который также раскрывает метод их синтеза, их активность как ингибиторов IL-8, а также их использование в лечении IL-8-зависимых патологий, таких как транзиторная ишемическая атака, буллезный пемфигоид, ревматоидный артрит, идиопатический фиброз, гломерулонефрит и нарушения, вызванные ишемией и реперфузией. Соединение 1 также подробно раскрыто в упомянутом описании и соответствует комплексу (3a) документа.

Авторы исследовали фармакокинетический профиль соединения 1 и обнаружили, что его применение особенно эффективно при мочевых расстройствах, таких как ИЦ/СРМП и СМП. На самом деле, как будет показано в экспериментальном разделе описания, соединение 1 обладает быстрой абсорбцией, достигает максимальной концентрации (C_{max}) в плазме (47,44 ± 25,43 мкг/мл) через 2 ч после введения и показывает превосходное пероральное бионакопление. В заключение, соединение 1 хорошо поглощается при пероральном введении, плохо распределяется в тканях и постепенно выводится из плазмы.

В соответствии с другим вариантом предпочтительного воплощения, упомянутое производное 2-фенилпропановой кислоты представляет собой соединение формулы (II)



или ее фармацевтически приемлемые соли,

в которой R' является водородом;

R является остатком с формулой SO₂Ra, в которой Ra - линейный или разветвленный C₁-C₄-алкил или гало-C₁-C₃-алкил.

Более предпочтительно упомянутые соединения формулы (II) имеют хиральный углеродный атом фенилпропановой группы в конфигурации R. Еще более предпочтительно упомянутое соединение формулы (II) представляет собой R(-)-2-[(4'-трифторметансульфонилокси)фенил]-N-метансульфонилпропионамид или его фармацевтически приемлемую соль, предпочтительно натриевую соль. Наиболее предпочтительно упомянутое соединение формулы (II) представляет собой натриевую соль R(-)-2-[(4'-трифторметансульфорилокси)фенил]-N-метансульфонилпропионамида (далее по тексту обозначено как

соединение 2). Производные 2-(R)-фенилпропановой кислоты формулы (II) раскрыты в WO2005/090295; также там раскрыты метод их синтеза, их активность как ингибиторов IL-8, а также их использование в лечении патологий, таких как псориаз, неспецифический язвенный колит, меланома, хронические обструктивные болезни легких (COPD), буллезный пемфигоид, ревматоидный артрит, идиопатический фиброз, гломерулонефрит и повреждения в результате ишемии и реперфузии.

Соединение 2 также детально раскрыто в упомянутом описании и соответствует соединению (1a) вышеуказанного документа. Соединение 2 является высокоэффективным избирательным двойного действия CXCR1/CXCR2 неконкурентным аллостерическим ингибитором (Bertini et al., Br J Pharmacol 2012, 165(2): 436-54).

Второй целью данного изобретения является использование ингибитора IL-8, как уже определено выше, для подготовки лекарственного препарата для лечения и/или профилактики ИЦ/СРМП и/или СМП. Согласно предпочтительному воплощению данного изобретения упомянутые ИЦ/СРМП и/или СМП вызваны противораковой терапией, например химиотерапией или радиотерапией в области таза.

Третьей целью данного изобретения является способ лечения и/или профилактики ИЦ/СРМП и/или СМП у пациента, включающий введение нуждающемуся в данном лечении пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора IL-8, как уже определено выше. Согласно предпочтительному объекту применения способа данного изобретения, ИЦ/СРМП и/или СМП вызваны противораковой терапией, например химиотерапией или радиотерапией.

Как используется в данном описании, "терапевтически эффективное количество" относится к количеству, достаточному для достижения эффективного лечения или профилактики заболевания. Методика определения эффективных количеств достаточно хорошо известно специалистам в данной области техники, и основана на достижении желаемого эффекта. Эффективное количество зависит от некоторых факторов, включая, но не ограничиваясь, вес пациента и/или степени развития заболевания, от которого страдает пациент. Термины "лечение" и "профилактика", как используются в данном описании, относятся к уничтожению/улучшению или предотвращению/задержке в начальном развитии, соответственно, заболевания или симптомов, связанных с ним, несмотря на текущее состояние пациента с основной патологией. Четвертой целью заявленного изобретения является применение фармацевтической композиции, содержащей вышеописанный ингибитор IL-8 в лечении и/или профилактике ИЦ/СРМП и/или СМП, совместно с фармацевтически приемлемыми эксципиентами.

Предпочтительно упомянутая фармацевтическая композиция содержит как минимум одно дополнительное фармацевтически активное соединение. Пятой целью заявленного изобретения является продукт или набор, содержащий:

А) вышеопределенный ингибитор IL-8 для применения в лечении и/или профилактике ИЦ/СРМП, предпочтительно цистита, вызванного противораковой терапией, или СМП, и вышеопределенная фармацевтическая композиция, и

В) как минимум одно дополнительное фармацевтически активное соединение А) и В) представляют собой две раздельные композиции для одновременного, раздельного или последовательного применения.

Согласно предпочтительному воплощению четвертой или пятой целей заявленного изобретения, упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение упомянутой фармацевтической композиции или набора является активным соединением, применимым в лечении и/или профилактике ИЦ/СРМП или СМП. Предпочтительно согласно данному варианту воплощения, упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение является антагонистом TRPV1.

В соответствии с альтернативным предпочтительным воплощением четвертой или пятой целей заявленного изобретения, упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение представляет собой активное соединение, которое в качестве побочного эффекта вызывает ИЦ/СРМП и/или СМП. Предпочтительно упомянутое активное соединение представляет собой противораковое вещество, выбираемое из циклофосамида, бациллы Кальметта-Герена для прямого введения в мочевого пузырь [Lamm et al. Eur Urol Suppl 2010, 9: 715; Hall et al. J Urol 2007, 178: 2314], митомицина С, адриамицина [Isaka et al. Cancer Chemother 1992, 30: S41-S44], тиaproфеновой кислоты (surgam) [Buchbinder et al. J Clin Epidemiol 2000, 53: 1013],

В целях данного изобретения ингибиторы IL-8 согласно заявленному изобретению приготавливают в фармацевтических составах подходящих для применения форм для перорального введения, например таблетки, капсулы, сиропы, предпочтительно в форме составов с контролируемым высвобождением, или для парентерального введения, предпочтительно в форме стерильных растворов, подходящих для внутривенного или внутримышечного введения. Фармацевтические составы могут быть приготовлены по традиционным методам, например, раскрытым в издании Remington "The Science and Practice of Pharmacy", 21st ed. (Lippincott Williams and Wilkins).

Предпочтительно количество соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли в каждой из вышеупомянутых форм введения будет эквивалентно тому, которое обеспечит поступление от 3 до 5 мг соединения или соли на 1 кг массы тела пациента, в то время как количество соединения 2 или его фармацевтически приемлемой соли будет обеспечивать поступление от 200 до 300 мг соединения или соли на 1 кг массы тела пациента. В любом случае, режим и количество лекарства для введения будут опреде-

лены врачом согласно человеческой фармакокинетике. Изобретение будет далее иллюстрировано максимально подробно в нижеследующем экспериментальном разделе.

Экспериментальный раздел.

Модель цистита, вызванная циклофосфамидом (СУР).

Циклофосфамид (СУР) является азотистым горчичным химиотерапевтическим агентом, который используется для лечения опухолевых болезней. СУР преобразуется в почках в акролеин, который накапливается в мочевом пузыре, вызывая геморрагический цистит, приводящий к сверхактивности мочевого пузыря (СМП) и раздражающим позывам, которые напоминают симптомы, типичные для синдрома раздраженного мочевого пузыря (СРМП), интерстициального цистита (ИЦ) и СМП (Stillwell et al., Cancer 1988, 61: 451; Juszczak et al. Folia Med Cracov. 2007, 48: 113).

Поэтому цистит, вызванный циклофосфамидом (СУР) является хорошо характеризуемой моделью остро и хронического воспалительного цистита у грызунов, и обычно используется в качестве экспериментальной модели для ИЦ/СРМП и СМП.

Самки крыс линии Спраг Доули (CrI:CD(SD)BR, 250-350 g) из лаборатории Charles River Italy были использованы в данных экспериментах. Животные размещались со свободным доступом к еде и воде, с принудительным 12-часовым режимом цикла дня-ночи при 22-24°C в течение по крайней мере одной недели, прежде чем эксперименты были выполнены. Животные содержались согласно принятым на международном уровне принципам ухода за лабораторными животными (E.E.C. Council Directive 86/609, O. J. n° L358, 18/12/86).

Во время экспериментов использовались моноволокна различной прочности фирмы Von Frey (Ugo Basile, Comerio, VA-Italy).

Циклофосфамид, 75 мг/кг и/п 3 раза, на каждый 3-й день, растворяли в дистиллированной воде и вводили животным и/п (объем 5 мл/кг). Соответствующее количество соединения 1 или соединения 2 растворяли в солевом растворе, все дозы испытательных комплексов были введены через желудочный зонд (объем 2 мл/кг). В день эксперимента каждая крыса была размещена индивидуально в прозрачной лабораторной пластмассовой коробке с решетчатым полом и оставлена акклиматизироваться в течение по крайней мере 10 мин. Висцеральную чувствительность в ответ на механические раздражения определяли с использованием моноволокон Von Frey (1-2-4-8-15-26-60-100 г), наложенных в нижней части брюшной полости (близко к мочевому пузырю) и на подошвенной поверхности обеих задних лап (чтобы оценить рефлекторную боль). Каждое моноволокно Von Frey накладывали 5 раз на уровне живота и 3 раза на уровне каждой лапы, в порядке по возрастанию усилия в интервале 5 секунд. Вызванный раздражением ответ считали положительным, когда лапа была резко отдернута, имело место облизывание лапы, или животное вздрогнуло после удаления волокна.

Пример 1. Эффект кратковременного введения у крыс на модели висцеральной боли, вызванной СУР.

Поведенческое тестирование на животных было выполнено в 3 различных этапа:

перед введением СУР (чтобы получить исходный уровень),

после применения СУР, перед лечением тестируемым соединением, чтобы проверить патологию (чтобы получить данные до лечения),

после применения СУР, после лечения (чтобы получить данные после лечения).

Поведенческие оценки, чтобы проверить эффект от применения соединения 1, соединения 2 или носителя, были выполнены спустя 2 ч после применения соединений. Тест был выполнен слепым методом. Длительное лечение с СУР (75 мг/кг и/п 3 раза, на каждый 3-й день), вызывает значительное снижение порога отдергивания в ответ на воздействие болевого раздражителя, измеренного на уровне низа живота и задних лап.

Средние показатели базального порога отдергивания в различных группах составляли от 69.8 до 81.2 г в животе и от 36.2 до 44.2 г в задних лапах. Никаких статистически значимых различий между основными показателями и показателями профилактического лечения в различных группах не было обнаружено. В контрольной группе ноцицептивные пороги живота и задних лап не изменились после лечения с носителем (фиг. 1-5).

Соединение 1 и соединение 2 в дозах 10 и 30 мг/кг или носитель ввели перорально крысам спустя 2-9 дней после последнего применения СУР, когда болезненные признаки были хорошо установлены.

Соединение 1 перорально в дозах 10 и 30 мг/кг вызвало статистически значительное увеличение механического порога как в животе, так и в области лап, и эффект более высокой дозы не существенно отличался от вызванного более низким (фиг. 1, 2).

Соединение 2 перорально в дозе 30 мг/кг вызвало статистически значительное увеличение механического порога и в животе, и в области лап, в то время, как перорально по 10 мг/кг вызвало статистически значительное увеличение механического порога только в животе (фиг. 1, 2).

Чтобы оценить МЭД соединения 1, были далее проверены более низкие дозы: 1, 3, 7 и 10 мг/кг. Соединение 1 показало дозозависимый эффект: особенно, в дозах 7 и 10 мг/кг, показало хорошую эффективность, вызвав статистическое значительное сокращение висцеральной чувствительности в подошвен-

ной поверхности и в брюшной полости; в дозе 3 мг/кг вызвало статистическое значительное увеличение механического порога в обеих областях. Пороги отдергивания после лечения дозой 1 мг/кг не существенно отличались от показателей до лечения, поэтому предположили, что МЭД соединения 1 составляет 3 мг/кг (фиг. 3-5). Вышеупомянутые данные демонстрируют, что введение соединения 1 в дозах 10 и 30 мг/кг вызвало значительное увеличение механических порогов и в животе, и на подошвенной поверхности задних лап; поскольку эффективность одинакова для обеих проверенных доз, плато эффекта может быть предположительно определено, и, таким образом, установили, что МЭД составляет 3 мг/кг.

Пример 2. Эффект длительного введения у крыс на модели висцеральной боли, вызванной СҮР.

Поведенческое тестирование на животных было выполнено в 4 различных этапа:

перед введением СҮР (чтобы получить исходный уровень) после применения СҮР,

перед лечением тестируемым соединением, чтобы проверить патологию (чтобы получить данные до лечения),

после длительного применения, через 18 ч после последнего введения соединения 1 (чтобы получить данные после лечения),

после длительного применения, через 2 ч после последнего введения соединения 1 (чтобы получить данные после лечения после длительного + кратковременного введения).

Повторное лечение с СҮР (75 мг/кг и/п 3 раза, на каждый 3-й день), вызывает значительное понижение порогов отдергиваний в ответ на воздействие болевого раздражителя, измеренного на уровне низа живота и задних лап. Пероральная доза 7 мг/кг соединения 1 была выбрана на основе оценки в примере 1: на самом деле, эта доза смогла уменьшить висцеральную чувствительность более устойчивым способом, чем МЭД (3 мг/кг). Соединение 1 или носитель вводили перорально животным два раза в день (согласно фармакокинетическому профилю соединения) в течение 6 дней, начиная через 24 ч после последнего лечения СҮР, когда болезненные признаки были хорошо установлены.

Ноцицептивную чувствительность оценили спустя приблизительно 18 ч после последнего применения соединения 1 (или носителя), чтобы оценить эффект постоянного (длительного) приема, или вводили дополнительную дозу соединения, и выполняли оценку через 2 ч после этого, для сравнения с протоколом кратковременного введения, описанного в примере 1.

Никаких статистически значимых различий между основными показателями и показателями профилактического лечения в различных группах не было обнаружено. В контрольной группе ноцицептивные пороги живота и задних лап не изменились после лечения с носителем (фиг. 6).

Постоянный прием соединения 1 (7 мг/кг два раза в день, перорально, в течение 6 дней) вызвал почти полное восстановление порогов отдергивания в животе и полностью изменил ноцицептивную чувствительность в задних лапах (подошвенная поверхность). Соединение 1 полностью убрало болезненные висцеральные симптомы в обеих областях через 2 ч после последнего введения (фиг. 6).

Вышеупомянутые данные демонстрируют, что, когда признаки ИЦ/СРМП вызваны повторным введением СҮР, длительное лечение с соединением 1 вызывает почти полное повышение порогов отдергиваний в животе и полностью изменяет ноцицептивную чувствительность в задних лапах (подошвенная поверхность). В тех же самых экспериментальных условиях, морфий, назначаемый в дозе 3 мг/кг п/к, оказывал болеутоляющий эффект подобно соединению 1, но вызывал известные явные побочные эффекты (седация, дыхательные симптомы). Наконец, соединение 1 полностью отменило висцеральные симптомы в обеих областях через 2 ч после последнего введения.

Пример 3. Микроскопическое исследование мочевых пузырей.

В заключение исследования эффективности постоянного введения, мочевые пузыри вскрыли, поместили в 10% буферизованный формалин и сохранили при комнатной температуре до проведения гистоморфологического анализа.

Лечение с соединением 1 в течение 6 дней (7 мг/кг, перорально, два раза в день) самок крыс после индукции цистита мочевого пузыря с СҮР (75 мг/кг, и/п, три раза), явно уменьшило или полностью изменило воспалительные, дегенеративные и пролиферативные повреждения, вызванные лечением. Вызванные повреждения представляли собой апоптоз, эрозию слизистой оболочки, митоз клеток слизистой оболочки, гиперплазию слизистой оболочки, инфильтрацию воспалительных клеток и микрокровоизлияния. Экспрессия каспазы 3 и каспазы 9 (маркеры апоптоза), а также экспрессия Ki67 (маркер пролиферации клеток), были снижены в группе, которой вводили соединение 1.

Только СҮР.

Лечение с одним только СҮР вызвало апоптоз эпителиальных клеток слизистой оболочки у всех животных в группе. Митозы присутствовали в эпителиальных клетках базальных слоев у половины животных в группе и были связаны с гиперплазией слизистой оболочки (диффузная или многофокальная), за исключением одной крысы, где не была замечена никакая-либо соответствующая гиперплазия. Минимальная инфильтрация воспалительных клеток (главным образом, лимфоциты и нейтрофилы), микрокровоизлияния слизистой оболочки, подслизистой оболочки или мышечных слоев и эрозия слизистой оболочки также присутствовали приблизительно у 50% животных (табл. 1).

Микроскопическое исследование показало эрозию и гиперплазию слизистой оболочки и инфильтрацию воспалительных клеток в подслизистой оболочке.

СУР+соединение 1.

В группе, которой вводили соединение 1 после профилактического лечения с СУР, животные показали явный пониженный уровень и остроту проявления апоптоза (3/10 крысы в сравнении с 10/10 в группе только СУР). Немногочисленные воспалительные клетки были обнаружены в подслизистой оболочке одного животного. Митоз в эпителиальных клетках отсутствовал, равно, как и эрозия слизистой оболочки и микрокровоизлияния, что, таким образом, показало явный защитный/восстановительный эффект тестируемого продукта. Гиперплазия слизистой оболочки присутствовала только у одного животного (табл. 1).

Иммуногистохимия показала более высокий уровень позитивности для каспаз 3 и 9 в группе СУР в сравнении с группой СУР+соединение 1, указав на более высокий уровень апоптотического процесса в группе СУР.

Ki67, широко используемый маркер для пролиферации клеток, имеет более низкий уровень позитивности в группе СУР+соединение 1, чем в группе СУР. Наблюдаемые снижения в группе СУР + соединение 1 биологически релевантны.

Микроскопическое исследование показало слизистую оболочку в нормальном состоянии, без воспалительных клеток в подслизистой оболочке.

Уровень соответствующих микроскопических результатов

Группы	СУР	СУР + Соединение 1	U Mann-Whitney тест
N.animals/group	10	10	
Мочевой пузырь			
Апоптозные эпителиальные клетки	10	3	P = 0.0003
Митоз	5	0	P = 0.0124
Эрозия, подслизистая оболочка	5	0	P = 0.0118
Гиперплазия подслизистой оболочки	4	1	P = 0.0301
Микрогеморрагии	3	0	P = 0.0671 NS
Инфильтрация воспалительных клеток	5	1	P = 0.0571 NS

Пример 4. Эффект однократного (кратковременного) применения на цистометрографических показателях, взятых у живых крыс с СУР-вызванным циститом.

Самки крыс линии Спраг Доули (CrI:CD(SD)BR, 250-350 г bw) из лаборатории Charles River Italy были использованы в данных экспериментах. Животные размещались со свободным доступом к еде и воде, с принудительным 12-часовым режимом цикла дня-ночи при 22-24°C в течение по крайней мере одной недели, прежде чем эксперименты были выполнены. Животные содержались согласно принятым на международном уровне принципам ухода за лабораторными животными (Е.Е.С. Council Directive 86/609, O. J. n° L358, 18/12/86).

Следующие инструменты использовались в ходе экспериментов:
перистальтические насосы Gilson minipuls 2 или Gilson minipuls 3,
датчики давления Statham P23 XL,
система сбора данных Biopac System.

Крысы, с анестезией раствором эквипентина (2 мл/кг и/п), были помещены в опрокинутое положение, и приблизительно 10-мм срединный разрез был сделан в побритой и дезинфицированной брюшной стенке. Мочевой пузырь осторожно освободили от прилегающих тканей, опустошили и затем канюлировали, через разрез в куполе, посредством полой полиэтиленовой иглы (Portex, внутренний диаметр 0.58 мм, внешний диаметр 0.96 мм), затем постоянно зашитый шелковой нитью. Полую иглу вывели наружу через подкожный тоннель в ретроскапулярной области, где ее связали с пластмассовым адаптером, чтобы избежать риска удаления животным.

После операции животным ввели и/п 175 мг/кг СУР для индукции цистита. Для тестирования лекарственных препаратов, крысы использовали спустя один день после введения катетера приблизительно через 24 ч после введения СУР.

В день эксперимента крысы (с голоданием в течение ночи) были размещены в клетки Боллмена; после периода стабилизации 20 мин свободный наконечник полой иглы был связан трубкой Т-формы с датчиком давления и с перистальтическим насосом для непрерывного вливания соляного раствора (комнатная температура) в мочевой пузырь при постоянной скорости 0.05 мл/мин. Эта процедура, которую называют цистометрией, позволяет обнаружить циклы с непрерывной последовательностью операций заполнения и освобождения мочевого пузыря, названные цистометрограммами.

На основе цистометрограмм, зарегистрированных при помощи Системы Вiorас и ПК, был вычислен параметр вместимости мочевого пузыря (BVC), а именно емкость, определенная как объем (в мл), введенный в мочевой пузырь, и необходимый, чтобы вызвать сокращение детрузора с последующим мочеиспусканием. Основным BVC был оценен как средние значения цистометрограмм, зарегистрированных за 30-60 мин до лечения ("BASAL"). Затем вливание мочевого пузыря было остановлено, животным ввели перорально испытуемое соединение или носитель и после возобновления непрерывного наполнения мочевого пузыря солевым раствором в течение 4 или 5 ч, собрали показатели BVC после введения. Параметры BVC регистрировали на основе цистометрограммы в течение периода 4/5 ч после дозы. Лекарства были перорально введены голодным крысам в дозах 10, 20 и 30 мг/кг, растворенных в солевом растворе, через 24 ч после лечения с СУР (175 мг/5 мл/кг и/п).

В целом, после лечения СУР, животные показали уменьшение BVC, соответствуя снижению приблизительно на 30-50% по сравнению с показателями перед лечением СУР.

В контрольной группе, которой вводили носитель, непрерывное вливание с солевым раствором вызвало небольшое изменение (приблизительно до 15%) показателей BVC во время всей экспериментальной сессии. Чтобы получить больше гомогенных групп, только крысы с показателем BVC ниже, чем 0.5 мл, соответствуя снижению на 30-50% по сравнению с показателем BVC (полученный в предыдущем исследовании) перед лечением СУР, были включены в исследование. Средние значения основного показателя BVC были от 0.21 до 0.36 мл, тогда как средние значения основного показателя МР от 57.4 до 82.7 мм рт.ст. Не наблюдали каких-либо статистически значимых различий по двум рассматриваемым параметрам по основным показателям среди групп.

Пероральный прием соединения 1 в дозе 10 мг/кг не вызвал изменений BVC. Соединение 1 в дозе 20 мг/кг показало умеренное увеличение BVC, статистически отличающегося от носителя и профилактического медикаментозного лечения в 4 и 5 ч. Самая высокая доза соединения 1, а именно 30 мг/кг, вызвала длительное увеличение BVC, до +40%. Эти изменения статистически отличались от основных показателей, а также группы с носителем в 3 и 4 ч после лечения (фиг. 7).

Также соединение 2 в дозе 20 и 30 мг/кг показало эффективность на BVC (фиг. 8). Вышеупомянутые данные демонстрируют, что соединение 1, после перорального введения живым крысам, профилактически пролеченным с СУР, в дозах 20 и 30 мг/кг, действительно увеличивает BVC, с длительным эффектом, статистически и существенно отличающимся от носителя. В той же самой дозе молекула является бездействующей на МР.

Пример 5. Эффект применения соединения 1 в длительном профилактическом лечении на висцеральной болевой модели у крыс, вызванной СУР; сравнение с Mesna.

Исследовали эффект длительного профилактического лечения при помощи соединения 1 на висцеральной болевой модели у крыс, вызванной повторным введением циклофосамида (СУР) у находящихся в сознании крыс. Пероральная доза 7 мг/кг соединения 1 была выбрана на основе предыдущих оценок. Соединение 1 или носитель перорально вводили животным два раза в день (согласно профилю РК молекулы) в течение 7 дней. Mesna или носитель внутривентриально вводили несколько раз в день в течение 3 дней (когда вводили СУР).

Повторное лечение с СУР (75 мг/кг и/п 3 раза, каждый 3-й день) вызвало сильное снижение порогов отдергивания в ответ на болевой раздражитель, измеренному на уровне низа живота и задних лап. Ноцицептивная чувствительность была оценена. В контрольной группе ноцицептивные пороги живота и задних лап не изменились после лечения с носителем.

Поведенческое тестирование было выполнено в 3 различных этапа:

перед введением СУР (чтобы получить основные показатели),

после применения СУР, перед лечением тестируемым соединением, чтобы проверить патологию (чтобы получить показатели до лечения),

после применения, через 42 или 48 ч после последнего введения соединения 1 или Mesna.

В конце исследования открыли мочевые пузыри, поместили в 10% буферизованный формалин и сохранили при комнатной температуре до завершения гистоморфологического анализа (см. пример 6 ниже).

Основные показатели и показатели перед лечением в различных группах лечения не показывают статистически значимых различий.

В контрольной группе ноцицептивные пороги живота и задних лап не изменились после лечения с носителем (фиг. 8 и 9).

Длительное профилактическое введение соединения 1 (7 мг/кг два раза в день, п/о, в течение 7 дней) вызвало почти полное восстановление порогов отдергивания в животе и полностью изменило ноцицептивную сверхчувствительность на подошвенной поверхности задних лап (фиг. 8).

Длительное профилактическое введение Mesna (2-меркаптоэтин сульфата), препарата, в настоящее время используемого для предотвращения геморрагического цистита, вызванного противораковой терапией, вводимого в дозировке 12.5 мг/кг и/п в течение нескольких раз в день в течение 3 дней, не произвел сокращения СУР-вызванного ноцицептивного поведения (фиг. 9).

Пример 6. Микроскопическое исследование мочевых пузырей.

В конце исследования эффективности длительного профилактического введения, мочевые пузыри вскрыли, поместили в 10% буферизованный формалин и сохранили при комнатной температуре до проведения гистоморфологического анализа.

Лечение с соединением 1, вводимым за 12 ч до и дважды в день начиная с первого дня лечения СYP в течение последующих 7 дней явно уменьшило воспалительные, дегенеративные, пролиферативные и геморрагические повреждения, вызванные СYP, ясно подчеркивая защитный эффект.

Соединения 1. Лечение с Mesna не проявило защитного эффекта при СYP-вызванном цистите.

В целом, эти эксперименты показывают, что представительные примеры ингибиторов IL-8, такие как соединение 1 и соединение 2, в особенности соединение 1, в состоянии увеличить механический порог и в животе и в области лап после однократного использования.

Кроме того, длительное лечение с соединением 1 полностью отменило болезненные висцеральные симптомы на обоих исследуемых участках, через 2 ч после последнего введения. В тех же самых экспериментальных условиях морфий, назначаемый в дозе 3 мг/кг п/к, оказал болеутоляющее влияние, подобное соединению 1, но вызвал отмеченные и известные побочные эффекты (седация, побочные дыхательные симптомы). Системный габапентин привел к частичному максимальному антиноцицептивному эффекту, при введении в дозе п/о 40-80 мг/кг.

Кроме того, соединение 1 и соединение 2, при пероральном введении 20 и 30 мг/кг, смогли увеличить BVC, а профилактическое лечение с соединением 1 вызвало антиноцицептивный эффект по сравнению с Mesna. Наконец, оценили антигиперальгезивный эффект соединения 1 спустя 10 дней после прекращения лечения и, как основной результат, наблюдали, что животные, которым вводили соединение 1, смогли восстановить массу тела быстрее, чем животные, которым вводили носитель, в соответствии с эволюцией болезненных симптомов, и, в целом, первые животные были более здоровыми, чем те, кому вводили носитель, также с наблюдаемым увеличением выживаемости (65% в сравнении с 50% с носителем).

Полученные данные ясно показывают, что соединение 1 и соединение 2, но главным образом, соединение 1, эффективны в животных моделях ИЦ/СРМП и могут быть предложены для дальнейшего исследования на предмет применения у людей.

Пример 7. Содержание плазмы KC/GRO- α после профилактического лечения соединением 1 на модели СYP-вызванного цистита у крыс.

Оценили влияние длительного профилактического применения соединения 1 на содержание плазмы KC/GRO- α на модели СYP-вызванного цистита у крыс, находящихся в сознании.

Чтобы вызвать цистит, крысам делали внутрибрюшинные (и/п) инъекции СYP (75 мг/кг каждый третий день в течение трех раз). Единственную большую дозу соединения 1 (20 мг/кг) ввели перорально за 12 ч до первого лечения СYP; впоследствии соединение 1 (п/о на 7 мг/кг) вводили два раза в день в течение 7 дней (с 1-го по 7-й день с начала введения СYP). Пероральная доза 7 мг/кг соединения 1 была выбрана на основе предыдущих оценок. Кровь животных собрали на 7-й день (тот же самый день последнего лечения СYP), на 8-й день (спустя приблизительно 24 ч после последнего применения СYP) и на 9-й день (спустя приблизительно 48 ч после последнего применения СYP). Каждая экспериментальная группа состояла из 10 животных, 10 животным вводили СYP + комплекс с носителем, 10 животным вводили СYP + соединение 1, и 10 животным (имитация лечения) вводили носитель с СYP + комплекс с носителем.

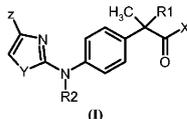
То же самое животное было подвергнуто 3-м последовательным выборочным анализам крови, чтобы оценить динамику содержания воспалительных медиаторов. После размораживания и центрифугирования для удаления всяческих осадков и остатков липидов, которые могли помешать считыванию, образцы были оценены при помощи количественного анализа KC/GRO- α .

Изменения с временной зависимостью в крови содержания GRO- α /KC после введения СYP и эффект профилактического лечения с соединением 1 представлены на фиг. 10.

В данном исследовании, развитие болезни было представлено СYP-вызванными изменениями с временной зависимостью в уровне GRO- α /KC в крови, связанные с фиктивными показателями. В этой серии экспериментов уровни GRO- α /KC в крови увеличились с временной зависимостью, достигнув пика на 9-й день после первой инъекции СYP. Профилактическое лечение с соединением 1 значительно уменьшает уровни GRO- α /KC в крови на 9-й день. Эти данные показали, что также в описанной модели СYP-вызванного цистита у крыс, помимо отмеченной сверхактивности мочевого пузыря, воспаления мочевого пузыря и висцеральной боли, очевиден мощный системный воспалительный ответ. Поскольку GRO- α /KC является представительным провоспалительным хемокином, который связан с развитием СYP-вызванного цистита и может потенциально выступать в качестве предвестника ИЦ/СРМП.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение ингибитора IL-8 в лечении и/или профилактике интерстициального цистита/синдрома раздраженного мочевого пузыря (ИЦ/СРМП) и/или сверхактивного мочевого пузыря (СМП), причем указанный ингибитор IL-8 представляет собой соединение формулы (I)



и ее фармацевтически приемлемыми солями,

где R¹ является водородом;

X - это OH;

R² - это водород или линейный C₁-C₄-алкил;

Y - гетероатом, выбираемый из S, O и N;

Z выбран из линейного или разветвленного C₁-C₄-алкила, линейного или разветвленного C₁-C₄-алкокси, гало-C₁-C₃-алкила и гало-C₁-C₃-алкокси.

2. Применение по п.1, при котором упомянутые ИЦ/СРМП и/или СМП вызваны противораковой терапией или радиотерапией в области таза.

3. Применение по п.1 или 2, в котором упомянутый ингибитор IL-8 выбран из (R,S)-2-(4-{[4-(трифторметил)-1,3-тиазол-2-ил]амино}фенил)пропановой кислоты и ее натриевой соли.

4. Применение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор IL-8 согласно п.1 или 3 в лечении и/или профилактике интерстициального цистита/синдрома раздраженного мочевого пузыря (ИЦ/СРМП) и/или сверхактивного мочевого пузыря (СМП).

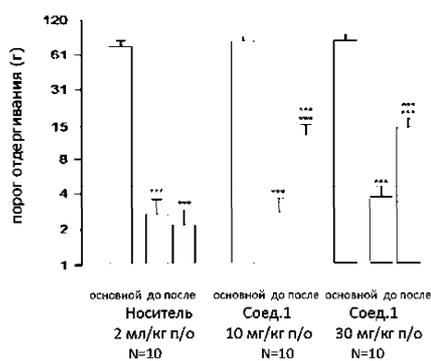
5. Применение по п.4, причем фармацевтическая композиция дополнительно включает как минимум одно фармацевтически активное соединение, эффективное в профилактике и лечении ИЦ/СРМП и/или СМП.

6. Применение согласно любому из пп.1-3, причем указанный ингибитор IL-8 вводят в комбинации с дополнительным фармацевтически активным соединением, эффективным в профилактике и/или лечении ИЦ/СРМП и/или СМП, причем ингибитор IL-8 и дополнительное фармацевтически активное соединение находятся в отдельных композициях для одновременного, отдельного или последовательного введения.

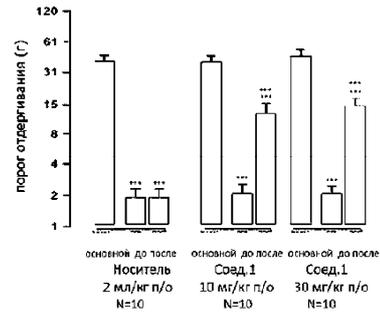
7. Применение по п.5 или 6, причем упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение представляет собой антагонист TRPV1.

8. Применение по п.5 или 6, причем упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение представляет собой лекарственный препарат, который в качестве побочного эффекта вызывает ИЦ/СРМП и/или СМП.

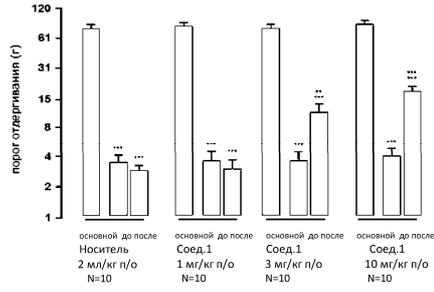
9. Применение по п.8, в котором упомянутое дополнительное фармацевтически активное соединение выбирают из циклофосфамида, бациллы Кальметта-Герена для прямого введения в мочевой пузырь, митомицина А, адриамицина или тиaproфеновой кислоты.



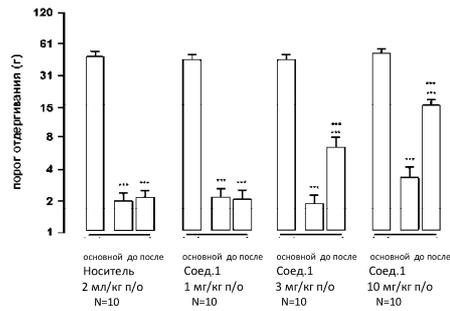
Фиг. 1



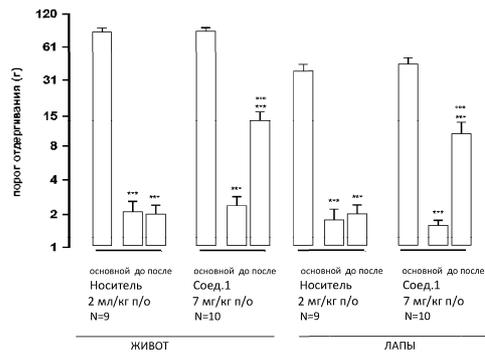
Фиг. 2



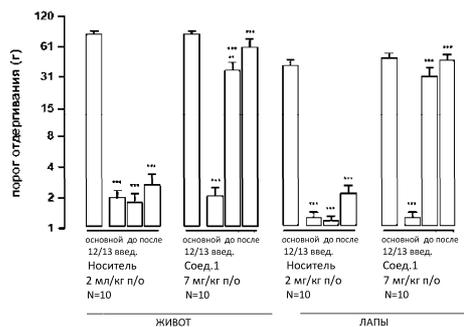
Фиг. 3



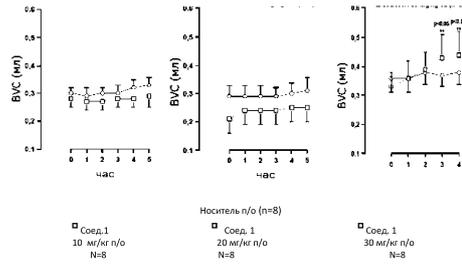
Фиг. 4



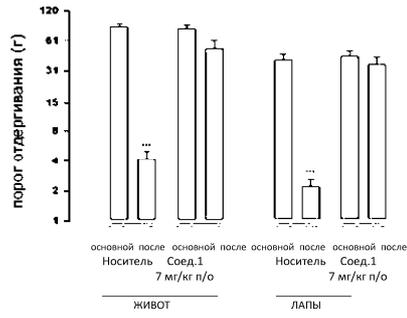
Фиг. 5



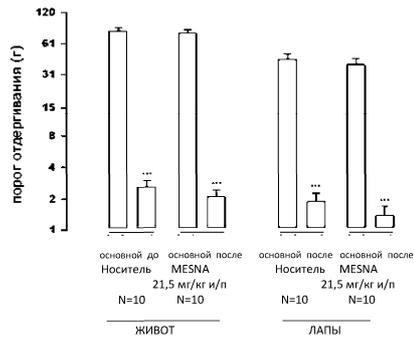
Фиг. 6



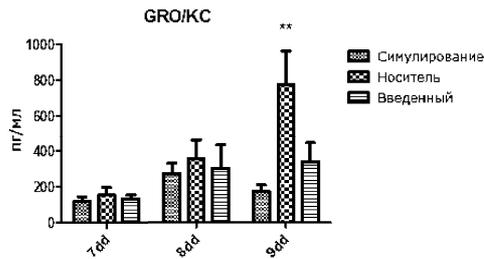
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10