(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 047462 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.07.23

(21) Номер заявки
202390021

(22) Дата подачи заявки
2020.10.30

(51) Int. Cl. ***A61K 31/4184*** (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ТЕГОПРАЗАН, ДЛЯ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ИЛИ ЛЕЧЕНИЯ КОЛИТА

(31) **10-2020-0071909**
(32) **2020.06.12**
(33) **KR**
(43) **2023.03.21**
(86) **PCT/KR2020/015099**
(87) **WO 2021/251565 2021.12.16**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭЙЧКЕЙ ИННО.ЭН КОРПОРЕЙШН (KR)

(72) Изобретатель:
Чон Чже Хи, Ким Сын Вон, Сон Ми Чжон, Пак И Сыль, Ким Донкю, Ким Бон Тэ, Ким Ын Чжи, Хан Чже Ён (KR)

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В., Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(56) US-A1-20170258867
KR-B1-101829706
TAKAHASHI, NOBUYUKI et al., "Tegoprazan, a novel potassium-competitive acid blocker to control gastric acid secretion and motility", The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, February 2018, Vol. 364, No. 2, pages 275-286, pages 275-285
KIM, DONG KYU et al., "Effects of tegoprazan, a novel potassium-competitive acid blocker, on rat models of gastric acid-related disease", The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, June 2019, Vol. 369, No. 3, pages 318-327, pages 318-326
KR-A-1020160104730

(57) В настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения колита, содержащая тегопразан, который представляет собой соединение, являющееся производным бензимидазола, в качестве эффективного ингредиента.

047462 B1

047462 B1

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, являющееся производным бензимидазола, в качестве эффективного ингредиента и, конкретней, к фармацевтической композиции для нового применения, содержащей тегопразан, его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или сольват, или их смесь в качестве эффективного ингредиента.

Предшествующий уровень техники

Колит представляет собой заболевание, при котором воспаление возникает в толстой кишке, и может грубо классифицироваться на инфекционный колит и неинфекционный колит в зависимости от причины заболевания, и может также классифицироваться на острый колит и хронический колит в зависимости от продолжительности заболевания. Колит включает не только воспалительное заболевание кишечника (IBD), но также и синдром раздраженного кишечника (IBS) и т.д.

Воспалительное заболевание кишечника представляет собой хроническое воспалительное заболевание, вызванное нарушением регуляции иммунного ответа, генетической предрасположенностью, факторами окружающей среды и т.п. Воспалительное заболевание кишечника классифицируется на язвенный колит и болезнь Крона, которые клинически похожи, но отличаются друг от друга с точки зрения гистологических результатов и в эндоскопических и иммунологических аспектах. Что касается причины заболевания, то предполагается, что одной из причин является аномальный иммунный ответ на кишечные антигены. Воспалительное заболевание кишечника является сложным и многофакторным заболеванием, и представляет собой типичное трудноизлечимое заболевание, которое трудно лечить без эффективного средства, поскольку точная причина еще не выявлена.

Сообщается о том, что провоспалительные цитокины, такие как IL-1β (интерлейкин-1 бета), TNF- α (фактор некроза опухоли-альфа и т.д., увеличены в слизистой оболочке толстой кишки и сыворотке пациентов, страдающих от воспалительного заболевания кишечника, и такое увеличение играет важную роль в поддержании и усилении воспалительных реакций слизистых оболочек. Изучение факторов, участвующих в выработке и активации цитокинов, играет важную роль в патофизиологии и лечении воспалительного заболевания кишечника.

До настоящего времени в качестве лечения воспалительных заболеваний кишечника использовались иммунодепрессанты, такие как сульфасалазин, кортикостероиды и азатиоприн, способы биологической терапии, представленной антителами против TNFα, и т.д. Однако существует проблема, связанная с тем, что в течение длительного периода лечения возникают побочные эффекты, связанные с этими лекарственными средствами, и частота рецидивов также высока. Таким образом, существует потребность в разработке терапевтического агента против воспалительного заболевания кишечника, которое проявляет быстрое действие в отношении воспалительного заболевания кишечника с меньшими побочными эффектами.

Между тем, тегопразан привлекает большое внимание в качестве нового лекарственного средства, которое компенсирует недостатки, такие как медленная экспрессия лекарственного эффекта, неуспешное ингибирование секреции кислоты ночью и т.д., несмотря на сильную способность существующего ингибитора протонного насоса (PPI) ингибировать секрецию кислоты желудочного сока. Тегопразан представляет собой соединение, называемое (S)-4-(5,7-дифторхроман-4-илокси)-N,N,2-триметил-1H-бензо[d]имидазол-6-карбоксамид (или 7-{[(4S)-5,7-дифтор-3,4-дигидро-2H-хромен-4-ил]окси}-N,N,2-триметил-1H-бензимидазол-5-карбоксамид), и представляет собой блокатор кислот, конкурирующий с калием (P-CAB), обладающий терапевтическим потенциалом при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (GERD) путем обратимого ингибирования желудочной H^+/K^+-АТФазы.

Авторы настоящего изобретения подтвердили, что тегопразан ингибирует укорочение толстой кишки, значительно уменьшает индекс активности заболевания, ингибирует продукцию TNF-α, IL-6, IL-17 и IL-1β, и экспрессирует мРНК Muc2. Соответственно, было подтверждено, что тегопразан может быть полезным в качестве эффективного ингредиента композиции для предупреждения или лечения колита, таким образом, завершая настоящее изобретение.

Описание изобретения

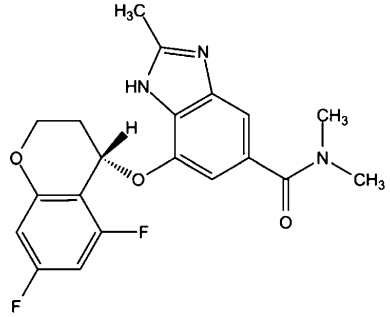
Техническая проблема.

Настоящее изобретение заключается в том, чтобы предложить фармацевтическую композицию, которая включает тегопразан, который представляет собой соединение, являющееся производным бензимидазола, в качестве эффективного ингредиента для лечения или предупреждения заболеваний, для которых эффект лечения или предупреждения не был идентифицирован в предшествующем уровне техники.

Решение проблемы.

В настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения колита, содержащая тегопразан, который представляет собой соединение, являющееся производным бензимидазола, представленное указанной ниже химической формулой 1, его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или сольват или их смесь в качестве эффективного ингредиента:

[Химическая формула 1]



В настоящем изобретении предложен способ предупреждения или лечения колита, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества соединения, представленного химической формулой 1, его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата или сольвата или их смеси.

В настоящем изобретении предложено применение соединения, представленного химической формулой 1, его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата или сольвата или их смеси для предупреждения или лечения колита.

В настоящем изобретении предложено применение соединения, представленного химической формулой 1, его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата или сольвата или их смеси в изготовлении лекарственного средства для лечения колита.

В настоящем изобретении "колит" может относиться к состоянию, при котором происходит воспаление толстого кишечника или толстой кишки из-за бактериальной инфекции, патологического брожения содержимого кишечника и т.п., и может быть вовлечен в концепцию, включающую инфекционный колит и неинфекционный колит. Конкретные примеры колита, которые можно предотвращать или лечить при помощи фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением, могут включать воспалительное заболевание кишечника (IBD), синдром раздраженного кишечника (IBS) и т.п.

Кроме того, колит, который можно предупреждать или лечить при помощи фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением, может включать как острый колит, так и хронический колит. Острый колит может представлять собой воспаление, которое остро возникает, и слизистые оболочки могут быть повреждены воспалением, что в основном приводит к симптомам слизистой диареи или свежей крови. В настоящем изобретении острый колит может включать не только общий острый инфекционный колит, но также острый псевдомембранозный колит и острый язвенный колит.

В настоящем изобретении "воспалительное заболевание кишечника" может означать хроническое воспаление, которое возникает в кишечнике без какой-либо известной причины, и может обычно относиться к язвенному колиту и болезни Крона, которые представляют собой идиопатические воспалительные заболевания кишечника, но также может включать кишечную болезнь Бехчета (Behcet's), которая является относительно распространенной в Корее. Кроме того, воспалительное заболевание кишечника может быть определено как обобщающий термин для воспалительных заболеваний, которые возникают во всем кишечнике, таких как инфекционный энтерит, включая бактериальный, вирусный, амебный, туберкулезный энтерит и т.п., ишемическая болезнь кишечника, радиационный энтерит и т.д.

В настоящем изобретении выражение, что у субъекта лечат или предупреждают колит, может относиться к предупреждению или задержке появления клинических симптомов, которые развиваются при заболевании, прекращению или уменьшению распространения заболевания, или облегчению заболевания у субъекта, который возможно уже страдал от заболевания, но еще не испытывал или не демонстрировал никаких клинических симптомов.

В результате обнаружения профилактического и терапевтического действия в отношении колита на животных моделях колита, вызванного натриевой солью сульфата декстрана (DSS) и гидратом 2,4-динитробензолсульфоновой кислоты (DNBS), было подтверждено, что тегопразан минимизирует изменение массы тела в животной модели, минимизирует изменение длины толстой кишки или подавляет уменьшение длины толстой кишки, и показывает превосходный эффект улучшения даже через индекс активности болезни (DAI), который показывает снижение массы тела, степени кровянистости стула и вязкости стула.

Воспалительные цитокины, такие как TNF-α, IL-6 и т.п., могут вызывать воспаление слизистой оболочки кишечника или изъязвление, что приводит к дисфункции и повреждению слизистой оболочки кишечника. TNF-α может привлекать нейтрофилы к пораженному участку в начале воспалительных реакций, и может быть фактором, который вызывает и усугубляет острый воспалительный ответ. IL-6 является типичным воспалительным цитокином и играет важную роль в возникновении и прогрессировании острого или хронического воспалительного заболевания при его синтезе и секреции различными факторами. Было подтверждено, что тегопразан в соответствии с настоящим изобретением ингибирует продукцию/экспрессию TNF-α, IL-6, IL-17 и IL-1β, которые являются воспалительными цитокинами в тканях толстой кишки.

Кроме того, было подтверждено, что тегопразан экспрессирует мРНК Muc2, которая является мРНК муцинового белка, необходимого для защиты эпителиальных клеток.

Кроме того, в животной модели с DSS-индуцированным колитом было подтверждено, что тегопразан уменьшает экспрессию мРНК KCNJ1, которая увеличивается за счет DSS.

Кроме того, было подтверждено, что тегопразан оказывает действие, облегчающее проницаемость толстой кишки.

В настоящем изобретении субъект может относиться к животным, и может, как правило, представлять собой млекопитающих, в отношении которых лечение с использованием фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением может обеспечивать благоприятное воздействие. Предпочтительный пример таких субъектов может включать приматов, таких как люди. Кроме того, субъекты могут включать всех субъектов, имеющих симптом колита или имеющих риск развития этого симптома.

В воплощениях настоящего изобретения фармацевтически приемлемая соль может относиться к солям, образованным с любой неорганической кислотой, органической кислотой или основанием, которые не вызывают серьезного стимула у субъекта, которому их вводят, и не являются вредными для биологической активности и физических свойств тегопразана. В качестве солей можно использовать соли, обычно используемые в данной области, такие как соли присоединения кислоты, образованные с фармацевтически приемлемой свободной кислотой. Фармацевтически приемлемые соли могут быть конкретно выбраны из группы, состоящей из соли пидолата, соли ацетата, соли адипата, соли аспартата, соли бензоата, соли безилата, соли бикарбоната/соли карбоната, соли бисульфата/соли сульфата, соли бората, соли камзилата, соли цитрата, соли цикламата, соли эдизилата, соли эзилата, соли формиата, соли фумарата, соли глюцептата, соли глюконата, соли глюкуроната, соли гексафторфосфата, соли гибензата, соли хлоргидрата/соли хлорида, соли бромгидрата/соли бромида, соли йодгидрата/соли йодида, соли изетионата, соли лактата, соли малата, соли малеата, соли малоната, соли мезилата, соли метилсульфата, соли нафтилата, соли 2-напсилата, соли никотината, соли нитрата, соли оротата, соли пальмитата, соли памоата, соли фосфата/соли гидрофосфата/соли дигидрофосфата, соли пироглутамата, соли сахарата, соли стеарата, соли сукцината, соли танната, соли тартрата, соли тозилата, соли трифторацетата и соли ксинофоата, но не ограничены ими. Любые соли могут быть использованы без ограничения до тех пор, пока они могут в общем демонстрировать фармакологическую активность тегопразана.

В воплощениях настоящего изобретения гидрат тегопразана может означать, что тегопразан или его фармацевтически приемлемая соль и вода связаны нековалентной межмолекулярной силой, и может включать стехиометрическое или нестехиометрическое количество воды.

В воплощениях настоящего изобретения сольват тегопразана может означать, что тегопразан или его фармацевтически приемлемая соль и растворитель, отличающийся от воды, связаны межмолекулярной силой, и может включать растворитель в стехиометрическом или нестехиометрическом количестве.

В соответствии с настоящим изобретением фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения колита может дополнительно включать фармацевтически приемлемые добавки, обычно используемые подходящие носители, эксципиенты, разрыхлители, связывающие вещества, скользящие вещества или разбавители.

"Фармацевтически приемлемые добавки" могут включать носители, эксципиенты, разрыхлители, связывающие вещества, скользящие вещества или разбавители, которые не только не раздражают организм, но и не ингибируют биологическую активность и свойства инъецируемого соединения. Типы добавок, используемых в настоящем изобретении, не ограничены конкретным образом, и можно использовать любые добавки, если они обычно используются в данной области техники и являются фармацевтически приемлемыми. Неограничивающие примеры добавок могут включать маннит, микрокристаллическую целлюлозу, кроскармеллозу натрия, гидроксипропилцеллюлозу коллоидный диоксид кремния, микрокристаллическую целлюлозу, кроскармеллозу натрия, гидроксипропилцеллюлозу, коллоидный диоксид кремния, стеарат магния или их смеси. Кроме того, при необходимости такие добавки можно использовать с добавлением других обычных добавок, таких как антиоксиданты, буферные растворы, бактериостатические агенты и/или т.п.

В соответствии с настоящим изобретением фармацевтическая композиция для предупреждения или лечения колита может быть приготовлена в лекарственной форме для перорального введения, и она может быть приготовлена в виде лекарственной формы, такой как таблетки, троше, лепешки, водорастворимые или масляные суспензии, приготовленные порошки или гранулы, эмульсии, твердые или мягкие капсулы, сироп, эликсиры и т.п.

Кроме того, фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением может быть введена парентерально. Парентеральное введение может быть осуществлено посредством подкожной инъекции, внутривенной инъекции, внутримышечной инъекции или внутригрудной инъекции. Для приготовления в виде лекарственной формы для парентерального введения композиция может быть приготовлена в растворе путем смешивания в воде со стабилизаторами или буферными агентами, и затем вновь может быть приготовлена в виде стандартной лекарственной формы для введения из ампулы или флакона.

Может потребоваться, чтобы дозировка фармацевтической композиции в соответствии с настоя-

щим изобретением представляла собой фармацевтически эффективное количество. "Фармацевтически эффективное количество" может означать количество, достаточное для предупреждения или лечения заболеваний с оправданным соотношением польза/риск, применимым для медицинского лечения, и уровень эффективной дозы может быть различным образом выбран специалистом в данной области техники в соответствии с такими факторами, как способ приготовления, состояние пациента, масса, пол и возраст, стадия заболевания, лекарственная форма, путь введения и период, скорость экскреции, чувствительность реакции и т.п. Эффективное количество может варьировать в зависимости от пути лечения, применения эксципиентов и возможности использования с другими лекарственными средствами, как понятно специалистам в данной области техники.

В настоящем изобретении может быть предложено применение фармацевтической композиции, включающей тегопразан или его фармацевтически приемлемую соль в качестве эффективного ингредиента для предупреждения или лечения колита.

В настоящем изобретении может быть предложено применение фармацевтической композиции, включающей тегопразан или его фармацевтически приемлемую соль в качестве эффективного ингредиента для изготовления лекарственного средства для предупреждения или лечения колита.

В настоящем изобретении может быть предложен способ предупреждения или лечения колита, включающий введение фармацевтически эффективного количества фармацевтической композиции, включающей тегопразан или его фармацевтически приемлемую соль в качестве эффективного ингредиента.

Благоприятные эффекты изобретения.

Тегопразан, который представляет собой эффективный ингредиент фармацевтической композиции для предупреждения или лечения колита в соответствии с настоящим изобретением, может оказывать эффект снижения активности и экспрессии маркеров активации воспаления и ослабления индекса активности болезни колита, и, таким образом, может быть полезен в качестве эффективного ингредиента фармацевтической композиции для предупреждения и лечения колита.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой график, демонстрирующий степень изменений (%) массы тела мыши в течение девяти суток в каждой из четырех групп мышей: нормальной контрольной группе (контроль), группе с индуцированным колитом (DSS+Veh), группе с введением тегопразана (DSS+тегопразан) и группе с введением контрольного лекарственного средства (DSS+рабепразол), в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 2 представляет собой график, демонстрирующий длину толстой кишки в четырех группах мышей, в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 3 представляет собой график, демонстрирующий оценку индекса активности болезни (DAI) в четырех группах мышей в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 4 представляет собой график, демонстрирующий кратность изменения экспрессии мРНК KCNJ1 в четырех группах мышей в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 5 представляет собой график, демонстрирующий величину кратности изменения экспрессии мРНК TNF-α, IL-6, IL-1β и Muc2 в тканях толстой кишки в четырех группах мышей в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 6 представляет собой картины анализируемых тканей толстой кишки в четырех группах мышей, окрашенных перйодной кислотой-реактивом Шиффа (Schiff, PAS), и график, демонстрирующий оценку утраты бокаловидных клеток, в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 7 представляет собой график, демонстрирующий оценку степени повреждения тканей толстой кишки в четырех группах мышей, в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 8 представляет собой график, демонстрирующий результаты оценки свойств проницаемости кишечника путем воспаления в четырех группах мышей в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 9 представляет собой график, демонстрирующий степень изменений (%) массы тела мыши в течение пяти суток в каждой из четырех групп мышей: нормальной контрольной группе (контроль), группе с индуцированным колитом (DNBS+разбавитель), группе, которой вводили тегопразан (DNBS+тегопразан), и группе, которой вводили контрольное лекарственное средство (DNBS+рабепразол), в соответствии с моделью колита, индуцированного DNBS.

Фиг. 10 представляет собой график, демонстрирующий длину толстой кишки в четырех группах мышей, в соответствии с моделью колита, индуцированного DNBS.

Фиг. 11 представляет собой график, демонстрирующий индекс оценки активности болезни (DAI) в четырех группах мышей, в соответствии с моделью колита, индуцированного DNBS.

Фиг. 12 представляет собой график, демонстрирующий величину кратности изменения экспрессии мРНК IL-17 в тканях толстой кишки в четырех группах мышей, в соответствии с моделью колита, индуцированного DNBS.

Фиг. 13 представляет собой картины анализируемых тканей толстой кишки в четырех группах мышей, окрашенных перйодной кислотой-реактивом Шиффа (PAS), и график, демонстрирующий оценку

утраты бокаловидных клеток, в соответствии с моделью колита, индуцированного DNBS.

Фиг. 14 представляет собой график, демонстрирующий оценку степени повреждения тканей толстой кишки в четырех группах мышей, в соответствии с моделью колита, индуцированного DSS.

Фиг. 15 представляет собой результаты эксперимента, оценивающего показатель выживания в модели колита, вызванного DNBS.

Способ в соответствии с изобретением

Далее настоящее изобретение будет описано более подробно при помощи приведенных в качестве примеров воплощений. Эти примеры воплощений приведены исключительно с целью более подробной иллюстрации настоящего изобретения, и, таким образом, объем настоящего изобретения ими не ограничен.

Мышиная модель колита с использованием DSS.

Самцов мышей C57BL/6, которые имели возраст восемь недель (24,0 г), приобретали в Orient Bio, акклиматизировали к лабораторной среде (температура 21±2°C и влажность 50±10%) в течение одной недели при полном доступе к корму и воде, и использовали в эксперименте.

Мышей разделяли на нормальную контрольную группу (контроль, n=6), группу с индуцированным колитом (DSS+Veh, n=8), группу с введением тегопразана (DSS+тегопразан, n=8) и группу с введением контрольного лекарственного средства (DSS+рабепразол, n=8), и осуществляли эксперимент.

Для индукции колита использовали DSS (продукт MPbio, № по каталогу 0216011080).

Группе, в которой индуцировали колит (DSS+Veh), вводили 2,0%-ный DSS в питьевой воде в течение последовательных 5 суток, прекращали введение 2,0%-ного DSS с 5-х суток и перорально вводили 0,5%-ный (мас./об.) водный раствор метилцеллюлозы дважды в сутки в течение трех суток до 8-х суток.

Группе с введением тегопразана (DSS+тегопразан) перорально вводили тегопразан (7-{[(4S)-5,7-дифтор-3,4-дигидро-2H-хромен-4-ил]окси}-N,N,2-триметил-1H-бензимидазол-5-карбоксамид), который был растворен в 0,5%-ном (мас./об.) водном растворе метилцеллюлозы, в дозе 30 мг/кг/сутки дважды в сутки в течение пяти суток вместе с 2% DSS и питьевой водой. Группе прекращали вводить 2,0%-ный DSS с 5-х суток и перорально вводили тегопразан, который был растворен в 0,5%-ном (мас./об.) водном растворе метилцеллюлозы, дважды в сутки в течение трех суток вплоть до 8-х суток.

Группе с введением контрольного лекарственного средства (DSS+рабепразол) вводили DSS и рабепразол по существу тем же самым образом, как группе с введением тегопразана, за исключением того, что вместо тегопразана использовали рабепразол.

Группе с введением тегопразана и группе с введением контрольного лекарственного средства пероральное введение осуществляли дважды в сутки путем разделения введения на утреннее/вечернее.

Мышиная модель колита с использованием DNBS.

Самцов мышей C57BL/6, которые имели возраст восемь недель (24,0 г), приобретали в Orient Bio, акклиматизировали к лабораторной среде (температура 21±2°C и влажность 50±10%) в течение одной недели при полном доступе к корму и воде, и использовали в эксперименте.

Мышей разделяли на нормальную контрольную группу (контроль, n=6), группу с индуцированным колитом (DNBS+разбавитель, n=8), группу, которой вводили тегопразан (DNBS+тегопразан, n=8), и группу, которой вводили контрольное лекарственное средство (DNBS+рабепразол, n=8), и осуществляли эксперимент.

Для индукции колита использовали DNBS (продукт Sigma-Aldrich, № по каталогу 556971). Мышей не кормили за сутки до введения дозы DNBS для удаления фекальных масс из кишечника. Нормальной контрольной группе вводили дозу 50%-ного этанола исключительно ректальным путем.

Введение DNBS осуществляли путем растворения 5 мг DNBS в 50%-ном этаноле и его введения ректальным путем.

В группе с введением тегопразана (DSS+тегопразан) мыши, которой вводили DNBS, перорально вводили тегопразан (7-{[(4S)-5,7-дифтор-3,4-дигидро-2H-хромен-4-ил]окси}-N,N,2-триметил-1H-бензимидазол-5-карбоксамид), который был растворен в 0,5%-ном (мас./об.) водном растворе метилцеллюлозы, в дозе 30 мг/кг/сутки дважды в сутки в течение пяти суток.

В группе с введением контрольного лекарственного средства (DNBS+рабепразол) мыши, которой вводили DNBS, вводили рабепразол по существу тем же самым образом, как и группе, которой вводили тегопразан, за исключением того, что вместо тегопразана использовали рабепразол.

В группе с индуцированным колитом (DNBS+разбавитель) мыши, которой вводили DNBS, перорально вводили 0,5%-ный (мас./об.) водный раствор метилцеллюлозы дважды в сутки.

В группе с введением тегопразана, группе с введением контрольного лекарственного средства и в группе с индуцированным колитом пероральное введение осуществляли дважды в сутки путем разделения введения на утреннее/вечернее. После введения в течение четырех суток мышей умерщвляли на 5-ые сутки.

(1) Измерение и результат изменений массы тела.

(1-1) Мышиная модель колита с использованием DSS.

Массу тела каждой мыши измеряли в нормальной контрольной группе, группе с индуцированным

колитом, группе с введением тегопразана и группе с введением контрольного лекарственного средства. Массу тела мыши измеряли каждое утро со дня начала эксперимента (сутки 0), в который DSS не вводили, до 9-х суток, и массу тела мыши, которую измеряли в день начала эксперимента (сутки 0) без введения DSS, определяли как 100%. Результаты представлены на фиг. 1.

В соответствии с фиг. 1 можно подтвердить, что нормальная контрольная группа демонстрировала непрерывное увеличение массы тела с 1-х суток до 8-х суток. В отличие от нее, можно подтвердить, что группа с индуцированным колитом, группа с введением тегопразана и группа с введением контрольного лекарственного средства не демонстрировали существенного изменения массы тела до 5-х суток, но масса тела уменьшалась с 6-х суток.

На 9-е сутки, когда мышей умерщвляли, можно подтвердить, что группа с индуцированным колитом показала снижение массы тела примерно 21%, а группа с введением контрольного лекарственного средства показала большее снижение массы, примерно 23%, чем группа с индуцированным колитом, в то время как группа с введением тегопразана показала снижение массы тела примерно 14%.

На фиг. 1 ** и *** указывают на существенную разницу ($P<0,01$ и $P<0,001$) между группой с индуцированным колитом и группой с введением тегопразана, соответственно, и ### указывает на существенную разницу ($P<0,001$) между группой с введением тегопразана и группой с введением контрольного лекарственного средства.

(1-2) Мышиная модель колита с использованием DNBS.

Измеряли массу тела каждой мыши в нормальной контрольной группе, группе с индуцированным колитом, группе с введением тегопразана и группе с введением контрольного лекарственного средства. Массу тела мыши измеряли каждое утро со дня начала эксперимента до введения DNBS (сутки 0) до 5-ых суток, и массу тела мыши до введения DNBS на сутки 0 определяли как 100%. В случае, если мышь погибала до окончания эксперимента, массу этой мыши, измеренную за сутки до гибели, включали в данные в качестве последних суток эксперимента и пересчитывали (со ссылкой на фиг. 15 в отношении периода выживания и коэффициента выживания). Результаты представлены на фиг. 9.

В соответствии с фиг. 9 нормальная контрольная группа демонстрировала непрерывное увеличение массы тела, а группа с индуцированным колитом, группа с введением тегопразана и группа с введением контрольного лекарственного средства продемонстрировали существенное уменьшение массы тела до 3-их суток. Группа с введением тегопразана демонстрировала увеличение массы тела, начиная с 4-х суток, и масса тела увеличивалась и достигала приблизительно 105% на 5-е сутки, когда мышь умерщвляли, подтверждая восстановление после потери массы тела вследствие колита. В отличие от нее, масса тела в группе с индуцированным колитом и в группе с введением контрольного лекарственного средства достигала 88% и 89%, соответственно, подтверждая отсутствие восстановления после потери массы тела, возникающей после введения DNBS.

На фиг. 9 *** указывает на существенную разницу ($P<0,001$) между группой с индуцированным колитом и группой с введением тегопразана, а ### указывает на существенную разницу ($P<0,001$) между группой с введением тегопразана и группой с введением контрольного лекарственного средства.

(2) Измерение и результат изменений длины толстой кишки.

(2-1) Мышиная модель колита с использованием DSS.

На 9-ые сутки после исходного введения 2%-ного раствора DSS мышь умерщвляли и толстый кишечник извлекали для измерения длины извлеченной толстой кишки. Результаты измерения представлены на фиг. 2. (на фиг. 2 * указывает на $P<0,05$ и ** указывает на $P<0,01$).

В соответствии с фиг. 2 можно подтвердить, что группа с индуцированным колитом демонстрировала существенное уменьшение (приблизительно 80%) в длине толстой кишки по сравнению с нормальной контрольной группой. Соответственно, можно подтвердить, что DSS индуцировал колит. Кроме того, можно подтвердить, что группа с введением контрольного лекарственного средства демонстрировала уменьшение длины толстой кишки, близкое к группе с индуцированным колитом.

В отличие от этого, можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала увеличение длины толстой кишки или отсутствие разницы с нормальной контрольной группой, что свидетельствуем о том, что тегопразан минимизирует изменение длины толстой кишки или ингибирует ее уменьшение, вызываемое колитом.

(2-2) Мышиная модель колита с использованием DNBS.

На 5-е сутки после исходного введения DNBS мышь умерщвляли и извлекали толстую кишку для измерения длины извлеченной толстой кишки. Результаты измерений представлены на фиг. 10 (на фиг. 10 * указывает на $P<0,05$).

В соответствии с фиг. 10 можно подтвердить, что группа с индуцированным колитом демонстрировала существенное уменьшение (приблизительно 87%) в длине толстой кишки по сравнению с нормальной контрольной группой. Соответственно, можно подтвердить, что DNBS индуцировал колит. В отличие от этого, можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала отсутствие разницы в длине толстой кишки относительно нормальной контрольная группы, что свидетельствует о том, что тегопразан поддерживает длину толстой кишки, минимизирует ее изменения или ингибирует ее уменьшение, вызываемое колитом.

(3) Измерение и оценка индекса активности заболевания (DAI).

В качестве DAI каждое утро измеряли изменение массы тела, кровянистость стула и вязкость стула, и результаты оценивали в соответствии с табл. 1.

Таблица 1

Оценка	Потеря массы тела	Кровянистость стула	Вязкость стула
0	(Отсутствие)	Нормальная	Нормальная
1	Более чем 1% и 5% или меньше	Красный кровянистый стул	Слабая
2	Более чем 5% и 10% или меньше	Темно-красный кровянистый стул	Очень слабая
3	Более чем 10% и 20% или меньше	Серьезное кровотечение	Диарея
4	Более чем 20%	-	-

Результаты представлены на фиг. 3 и 11 (в отношении животной модели колита с использованием DNBS, в том случае, когда мышь умерщвлялась до окончания эксперимента, оценку DAI у этой мыши, измеренную за сутки до умерщвления, включали в данные в качестве последних суток эксперимента и конвертировали (в отношении фиг. 15 для периода выживания и коэффициента выживания)).

На фиг. 3 и. 11 ** и *** указывают на существенную разницу ($P<0,01$ и $P<0,001$), соответственно, между группой с индуцированным колитом и группой с введением тегопразана, и #, и ### указывают на существенную разницу ($P<0,05$ и $P<0,001$), соответственно, между группой с введением тегопразана и группой с введением контрольного лекарственного средства.

(3-1) Мышиная модель колита с использованием DSS.

В соответствии с Фиг. 3 можно подтвердить, что группа с индуцированным колитом начала демонстрировать красный кровянистый стул с 3-их суток при увеличении оценки DAI, и демонстрировала значительную разницу по сравнению с предшествующими сутками на 6-ые сутки, которые представляли собой следующие сутки после прекращения введения DSS для осуществления измерений, а также на 9-ые сутки, в которые мышей умерщвляли.

В соответствии с оценкой DAI можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала изменения в лучшую сторону по сравнению с группой с индуцированным колитом, а группа с индуцированным колитом и группа с введением контрольного лекарственного средства демонстрировали значительную разницу на 6-ые и 9-ые сутки по сравнению с группой с введением тегопразана. Можно подтвердить, что группа с введением контрольного лекарственного средства демонстрировала результаты, очень близкие к результатам для группы с индуцированным колитом, без какой-либо разницы.

(3-2) Мышиная модель колита с использованием DNBS.

В соответствии с фиг. 11 в отношении оценки DAI, DAI увеличивался во всех группах вследствие введения DNBS, но в случае группы с введением тегопразана DAI значительно уменьшался, начиная с 4-х суток, демонстрируя существенную разницу с группой с индуцированным колитом. В отличие от этого, группа с введением контрольного лекарственного средства не демонстрировала значительной разницы с группой с индуцированным колитом. Соответственно, может быть подтвержден эффект тегопразана по уменьшению интенсивности симптомов колита.

(4) Подтверждение и результат экспрессии мРНК JCNJ1 в тканях толстой кишки.

В мышиной модели колита с использованием DSS разницу в экспрессии мРНК KCNJ1 измеряли с использованием PCR (полимеразная цепная реакция) в режиме реального времени. Результаты представлены на фиг. 4. (на фиг. 4 ** обозначает $P < 0,01$).

В соответствии с фиг. 4 можно подтвердить, что группа с индуцированным колитом демонстрировала значительное увеличение экспрессии мРНК KCNJ1 по сравнению с нормальной контрольной группой, тогда как группа с введением тегопразана демонстрировала значительное снижение экспрессии мРНК KCNJ1.

(5) Подтверждение и результат экспрессии мРНК воспалительных цитокинов в тканях толстой кишки.

(5-1) Мышиная модель колита с использованием DSS.

В мышиной модели колита с использованием DSS уровень экспрессии мРНК IL-1β, IL-6, Muc 2 и TNF-α оценивали с использованием PCR в реальном времени. Результаты представлены на фиг. 5. (на фиг. 5 * обозначает $P < 0,05$, ** обозначает $P<0,01$, и *** обозначает $P<0,001$).

В соответствии с фиг. 5 можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала статистически значимое снижение экспрессии мРНК TNF-α и IL-6 по сравнению с группой с индуцированным колитом. Кроме того, можно подтвердить, что группа с введением тегопразана также демонстрировала статистически значимое увеличение экспрессии мРНК Muc2, который является важным для защиты эпителиальных клеток.

(5-2) Мышиная модель колита с использованием DNBS.

В мышиной модели колита с использованием DNBS уровень экспрессии мРНК IL-17 оценивали с использованием PCR в реальном времени. Результаты представлены на фиг. 12. (на фиг. 12 ** обозначает P<0,01 и *** обозначает P<0,001).

В соответствии с фиг. 12 можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала значительное снижение экспрессии мРНК IL-17, представляющего собой провоспалительный цитокин, по сравнению с группой с индуцированным колитом. Кроме того, подтверждено, что экспрессия мРНК TNF-α и IL-6 демонстрирует тенденцию к снижению в группе с введением тегопразана по сравнению с группой с индуцированным колитом.

(6) Анализ с окрашиванием PAS и подтверждение, и результат повреждения тканей толстой кишки.

Анализ с окрашиванием PAS осуществляли на тканях толстой кишки, полученных из каждой из животных моделей, в которых использовали DSS и DNBS, утрату бокаловидных клеток оценивали в соответствии со следующей табл. 2, а степень повреждения тканей оценивали в соответствии со следующей табл. 3.

Таблица 2

Оценка	Степень утраты бокаловидных клеток
0	Более чем 0% и 10% или меньше
1	Более чем 10% и 20% или меньше
2	Более чем 21% и 35% или меньше
3	Более чем 36% и 50% или меньше
4	Более чем 51%

Таблица 3

Оценка	Степень воспаления	Объем повреждения	Повреждение крипты
0	Норма	Норма	Нормальная
1	Слабая	Слизистая оболочка	1/3 от базового уровня
2	Средняя	Слизистая оболочка и подслизистая ткань	2/3 от базового уровня
3	Тяжелая	Трансмуральное	не поврежден только поверхностный эпителий
4	-	-	Повреждение всей крипты и эпителия

Результаты представлены на фиг. 6, 7, 13 и 14. (на фиг. 6, 7, 13 и 14 * обозначает P<0,05, ** обозначает P<0,01 и *** обозначает P<0,001).

(6-1) Мышиная модель колита с использованием DSS.

В соответствии с фиг. 6 можно подтвердить, что в группе с индуцированным колитом все крипты были в общем повреждены и воспалительные клетки инфильтровывались в слизистую оболочку толстой кишки.

В отличие от этого, в группе с введением тегопразана наблюдали частично неповрежденную крипту, и также может быть подтверждено, что, по сравнению с группой с индуцированным колитом, бокаловидные клетки также присутствовали. Результат, демонстрирующий присутствие продуцирующих муцин бокаловидных клеток, согласуется с результатом, заключающимся в том, что группа с введением тегопразана демонстрировала увеличение уровня экспрессии мРНК по сравнению с группой с индуцированным колитом в эксперименте по экспрессии мРНК Muc2.

В соответствии с фиг. 7 можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала значимое уменьшение оценки (5,38±1,8 единиц) по сравнению с группой с индуцированным колитом (8,75±1,6 единиц). В отличие от этого, группа с введением контрольного лекарственного средства (8,12±1,8 единиц) не демонстрировала значительного отличия от группы с индуцированным колитом с точки зрения степени повреждения ткани.

(6-2) Мышиная модель колита с использованием DNBS.

В соответствии с фиг. 13 можно подтвердить, что в группе с индуцированным колитом крипты в общем были повреждены и воспалительные клетки инфильтровывались в слизистую оболочку толстой кишки. В отличие от этого, в группе с введением тегопразана обнаруживали частично интактные крипты и подтверждалось присутствие продуцирующих муцин бокаловидных клеток, по сравнению с группой с индуцированным колитом.

В отличие от этого, было подтверждено, что повреждение крипт не уменьшалось и утрата бокаловидных клеток была выше в группе с введением контрольного лекарственного средства по сравнению с группой с индуцированным колитом.

В соответствии с фиг. 14 можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала значительное уменьшение оценки (4,1±16 единиц) по сравнению с группой с индуцированным колитом (6,8±2,1 единиц). В отличие от этого, группа с введением контрольного лекарственного средства (7,0±1,4 единиц) не демонстрировала значительных отличий от группы с индуцированным колитом с точки зрения степени повреждения ткани.

(7) Эксперимент по исследованию FITC-декстрановой проницаемости.

За четыре часа до умерщвления мыши в мышиной модели колита с использованием DSS мыши перорально вводили FITC (флуоресцеин изотиоцианат)-декстран (80 мг/мл), после чего осуществляли пункцию сердца для измерения величины FITC в сыворотке крови. Проницаемость (%) пересчитывали на основе нормальной контрольной группы. Результаты представлены на фиг. 8.

В соответствии с фиг. 8 группа с индуцированным колитом демонстрировала увеличение величины FITC, что свидетельствует о том, что DSS индуцировал повреждение плотных контактов. Кроме того, можно подтвердить, что повреждение плотных контактов не уменьшалось в группе с введением контрольного лекарственного средства.

В отличие от этого, можно подтвердить, что группа с введением тегопразана демонстрировала значительное уменьшение повреждения плотных контактов.

(8) Эксперимент по показателю выживания в мышиной модели колита с использованием DNBS.

Определяли показатель выживания в мышиной модели индуцированного DNBS колита, и результаты представлены на фиг. 15.

В соответствии с фиг. 15, показатель выживания в группе с индуцированным колитом и в группе с введением контрольного лекарственного средства на 5-е сутки составлял 50% и 75%, соответственно. Однако было подтверждено, что все субъекты в группе с введением тегопразана выживали до последних суток эксперимента, что свидетельствует о том, что тегопразан уменьшает интенсивность симптомов индуцированного DNBS колита.

В результате эксперимента можно подтвердить в соответствии с мышиной моделью с индуцированным DSS или индуцированным DNBS колитом, что группа с введением тогопразана демонстрировала значительное уменьшение интенсивности симптомов с точки зрения длины толстой кишки, потери массы тела и оценки DAI по сравнению с нормальной контрольной группой. Другими словами, с точки зрения гистологических результатов, некоторые из неповрежденных структур крипт обнаруживали в группе с введением тегопразана по сравнению с группой с индуцированным колитом, которая демонстрировала тяжелое повреждение, и можно подтвердить статистически значимый эффект защиты слизистой оболочки от повреждения даже в оцениваемых результатах. Подтвердили, что тегопразан демонстрирует эффект значительного ослабления нарушения кишечной проницаемости, вызванного воспалением, но эффект уменьшения воспаления в толстой кишке не мог бы быть подтвержден в группе с введением контрольного лекарственного средства, которое представляет собой PPI лекарственное средство рабепразол.

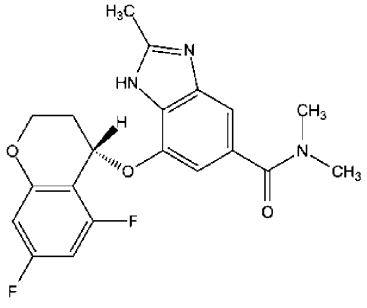
В общем, можно подтвердить, что фармацевтическая композиция, включающая тегопразан в качестве эффективного ингредиента, в соответствии с настоящим изобретением, обладает превосходным действием в плане предупреждения и лечения колита.

Хотя конкретные составляющие настоящего изобретения подробно описаны выше, специалисту в данной области техники понятно, что такие подробные раскрытия приведены исключительно для иллюстрации примеров воплощений, но не предполагается, что они ограничивают объем настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение фармацевтической композиции, содержащей соединение, представленное указанной ниже химической формулой 1, его фармацевтически приемлемую соль, его гидрат или сольват или их смесь в качестве эффективного ингредиента:

[Химическая формула 1]



для предупреждения или лечения колита.

2. Применение по п.1, где колит представляет собой воспалительное заболевание кишечника (IBD) или синдром раздраженного кишечника.

3. Применение по п.1, где колит представляет собой воспалительное заболевание кишечника, и указанное воспалительное заболевание кишечника представляет собой язвенный колит.

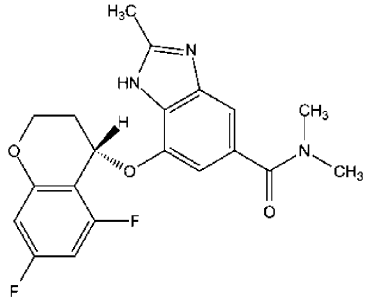
4. Применение по п.1, где колит представляет собой острый колит.

5. Применение по п.1, где указанную фармацевтическую композицию вводят перорально.

6. Применение по п.1, где указанная фармацевтическая композиция ингибирует или подавляет экспрессию по меньшей мере одного воспалительного цитокина, выбранного из группы, состоящей из TNF-α (фактор некроза опухоли-альфа), IL-6 (интерлейкин-6), IL-17 и IL-1β.

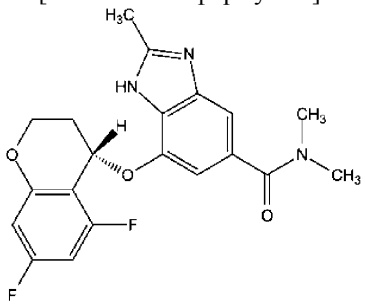
7. Способ предупреждения или лечения колита, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества соединения, представленного следующей химической формулой 1, его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата или сольвата или их смеси:

[Химическая формула 1]

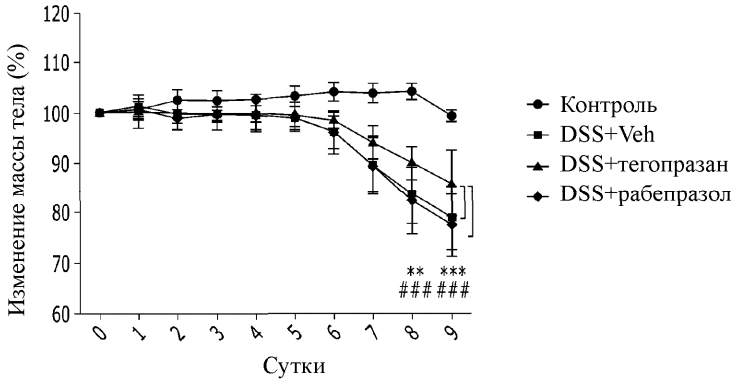


8. Применение соединения, представленного следующей химической формулой 1, его фармацевтически приемлемой соли, его гидрата или сольвата или их смеси:

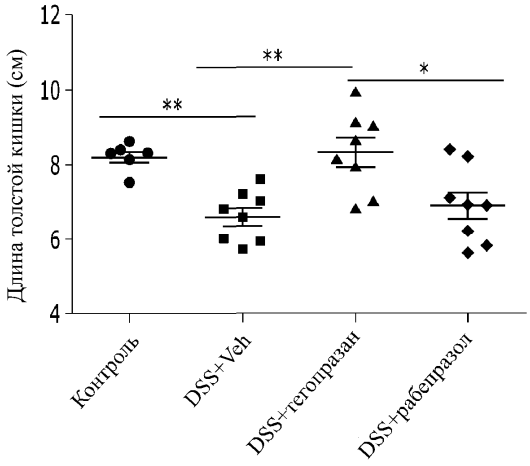
[Химическая формула 1]



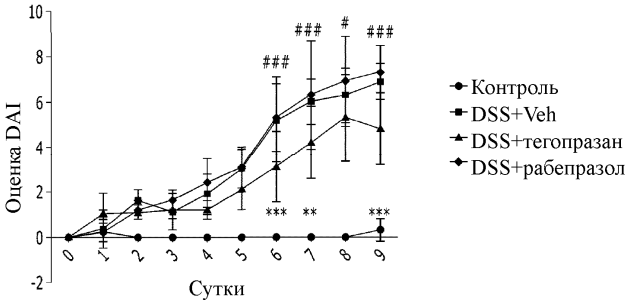
в изготовлении лекарственного средства для лечения колита.



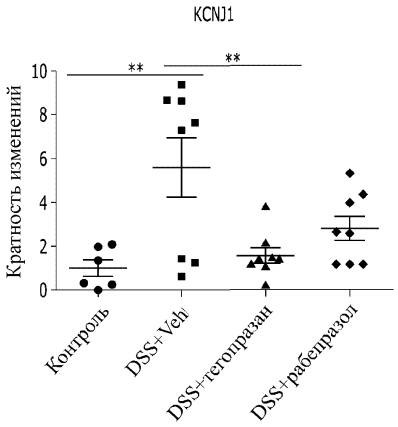
Фиг. 1



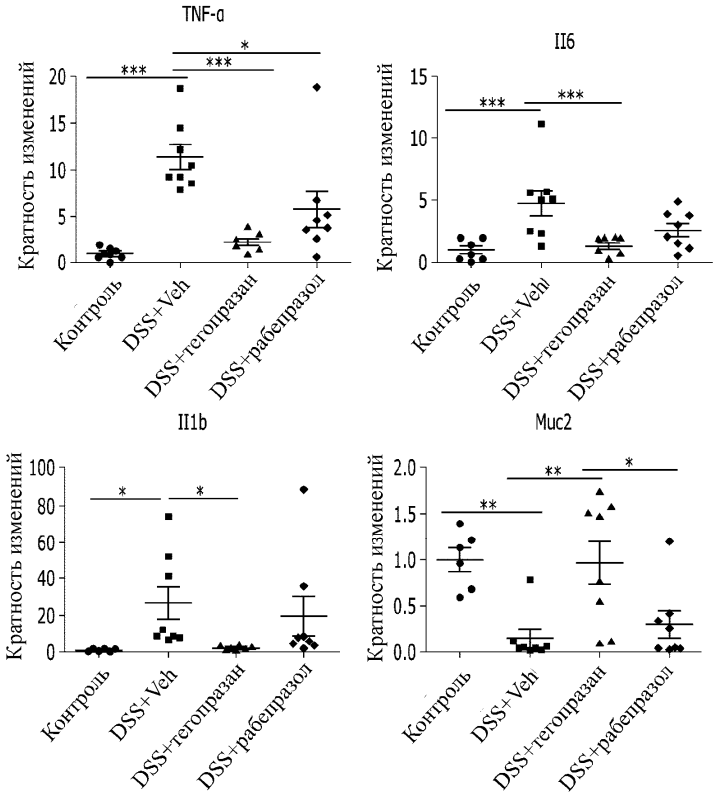
Фиг. 2



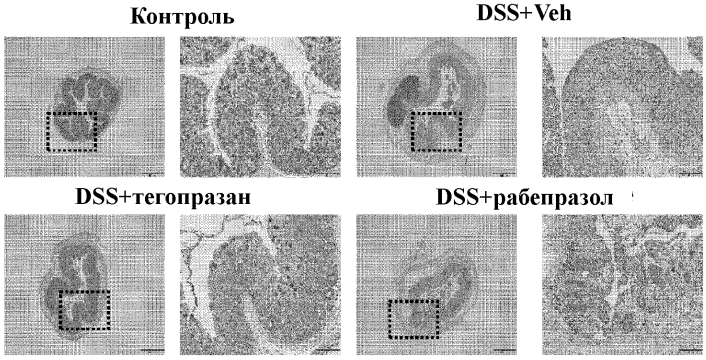
Фиг. 3



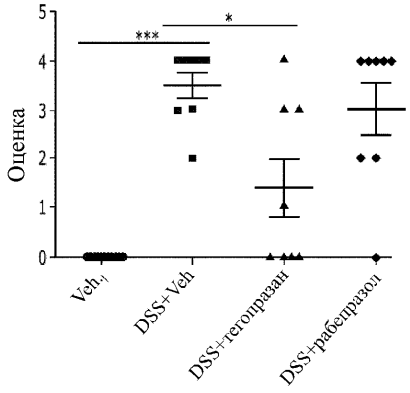
Фиг. 4



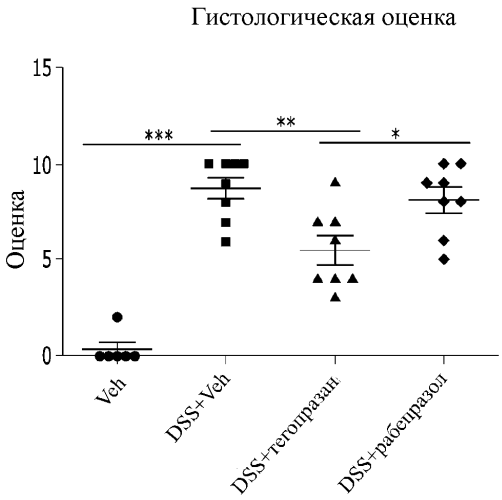
Фиг. 5



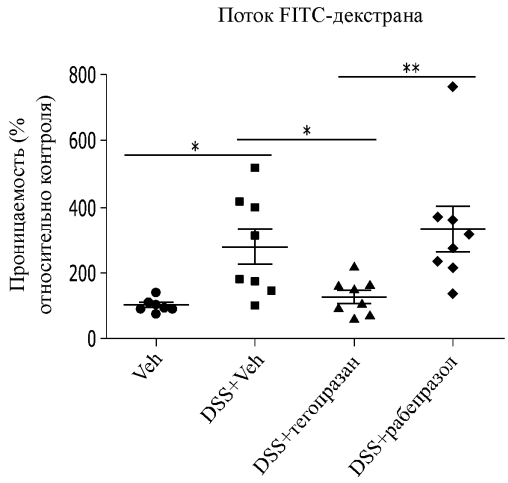
Утрата бокаловидных клеток



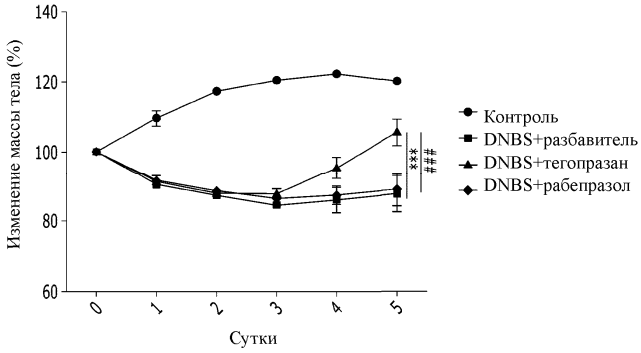
Фиг. 6



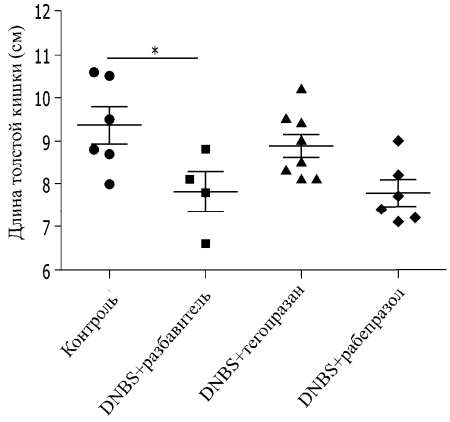
Фиг. 7



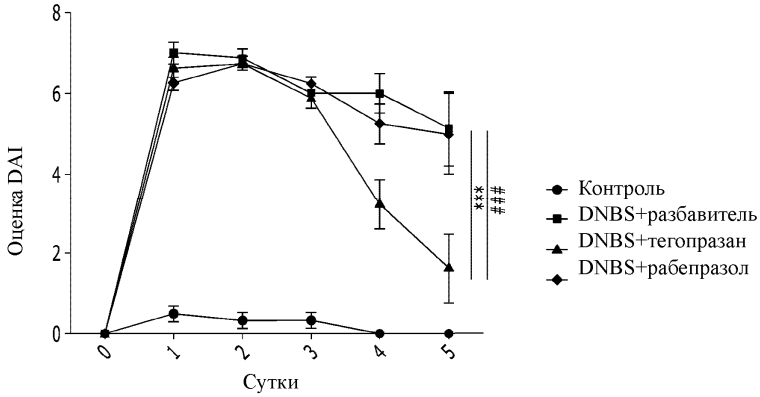
Фиг. 8



Фиг. 9

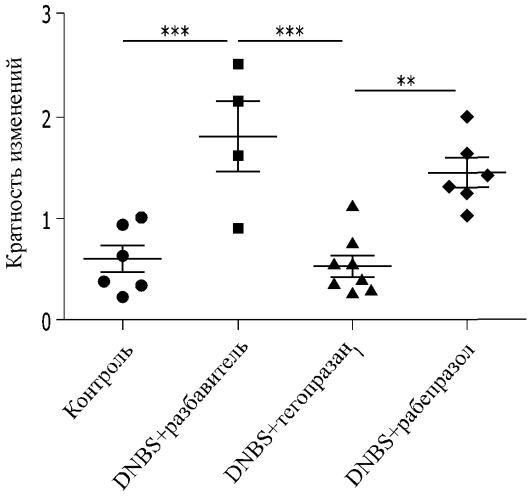


Фиг. 10

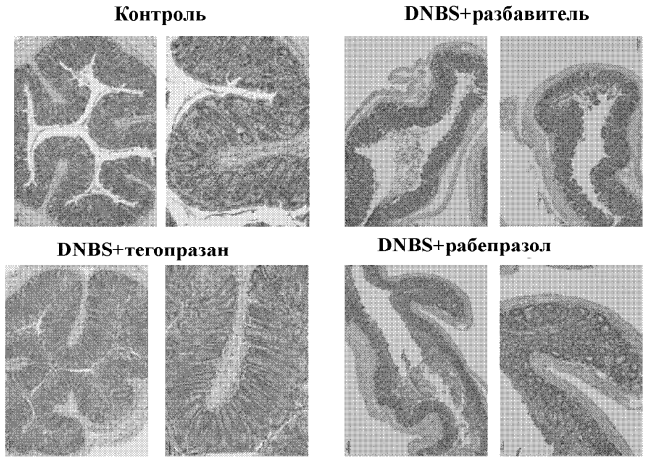


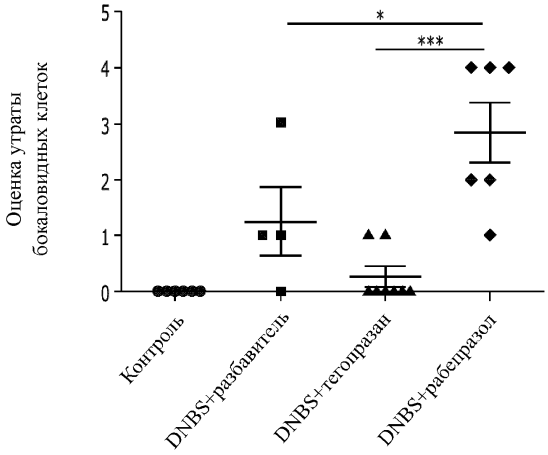
Фиг. 11

II17

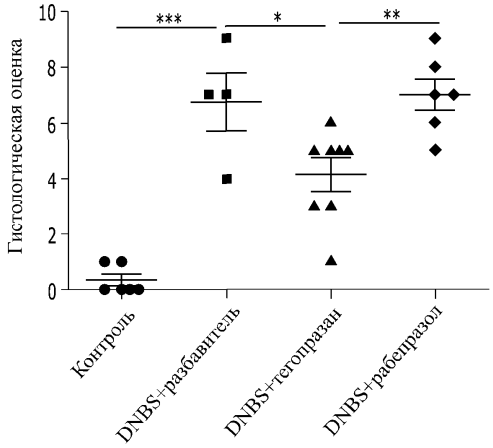


Фиг. 12

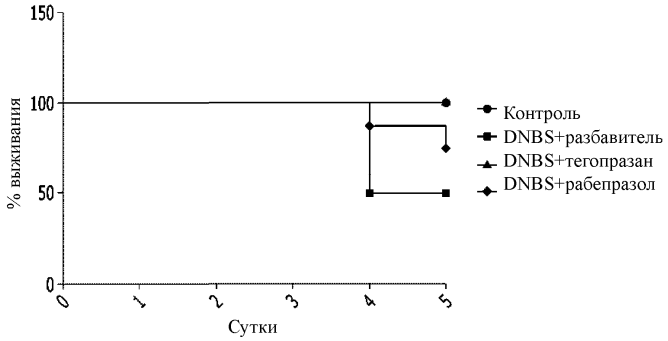

Контроль
DNBS+разбавитель
DNBS+тегопразан
DNBS+рабепразол


Оценка утраты бокаловидных клеток
0
1
2
3
4
5
*
***
Контроль
DNBS+разбавитель
DNBS+тегопразан
DNBS+рабепразол

Фиг. 13


Гистологическая оценка
0
2
4
6
8
10
***
*
**
Контроль
DNBS+разбавитель
DNBS+тегопразан
DNBS+рабепразол

Фиг. 14


150
100
50
0
% выживания
0
1
2
3
4
5
Сутки
Контроль
DNBS+разбавитель
DNBS+тегопразан
DNBS+рабепразол

Фиг. 15