

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **048073**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.10.23

(21) Номер заявки
202291149

(22) Дата подачи заявки
2020.11.23

(51) Int. Cl. **A61K 31/37** (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)

(54) ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ КОЖНЫХ НАРУШЕНИЙ

(31) **201911047906**(32) **2019.11.22**(33) **IN**(43) **2022.10.04**(86) **PCT/IB2020/061043**(87) **WO 2021/100027 2021.05.27**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**КАУНСИЛ ОФ САЙНТИФИК ЭНД
ИНДАСТРИАЛ РИСЕРЧ (IN)**

(72) Изобретатель:
**Котамраджу Сригиридхар, Батхула
Сурендар Редди, Сисгла Рамакришна,
Аддлагатта Энтони, Теннати
Раджаманнар, Шейх Алтаб, Джангум
Аруна, Сангараджу Раджендра, Нили
Правин Кумар, Мадхусудана Кунча,
Гаджалакшми Сингуру (IN)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

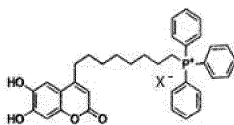
(56) **US-A1-2016244470**

JEONG N ET AL.: "Inhibitory effect of esculetin on atopic dermatitis-like skin lesions", FEBS JOURNAL, vol. 284, no. Suppl. 1, Sp. Iss. SI, September 2017 (2017-09), page 125, XP002801993, & 42ND CONGRESS OF THE FEDERATION-OF-EUROPEAN-BIOCHEMICAL-SOCIETI ES (FEBS) ON FROM MOLECULES TO CELLS AND BACK; JERUSALEM, ISRAEL; SEPTEMBER 10-14, 2017, abstract

CHEN YUCHAO ET AL.: "Esculetin Ameliorates Psoriasis-Like Skin Disease in Mice by Inducing CD4<+>Foxp3<+>Regulatory T Cells.", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY 2018, vol. 9, 2018, page 2092, XP002801994, ISSN: 1664-3224, the whole document

YAMADA M ET AL.: "8(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid is the lipoxygenase metabolite of arachidonic acid that regulates epithelial cell migration in the rat cornea.", CORNEA MAY 2000, vol. 19, no. 3 Suppl, May 2000 (2000-05), pages S13-S20, XP002801995, ISSN: 0277-3740, abstract EP-A1-0694305

(57) Настоящее изобретение относится к применению соединения формулы I для лечения раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее, псориаза и любой их комбинации. Настоящее изобретение также относится к способам применения таких соединений и к композициям и наборам, содержащим такое соединение.



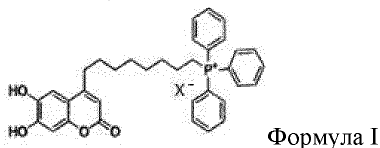
Формула I

X⁻ представляет собой любой галоген.**B1****048073****048073 B1**

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании заявки на патент Индии № 201911047906, поданной 22 ноября 2019 г., которая включена в данный документ посредством ссылки.

Область техники изобретения

Настоящее изобретение относится к соединению формулы I (показано ниже) для применения в лечении одного или более состояний, выбранных из группы, состоящей из раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее и псориаза, а также к композициям, предназначенным для местного введения, содержащим соединение формулы I и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество

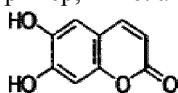


X⁻ = любой галоген.

Предпосылки создания изобретения

Окислительный стресс является одним из основных событий, которые препятствуют процессу восстановления и регенерации тканей. Удаление чрезмерно накопленных свободных радикалов вызывает более быстрый процесс заживления, возможно путем содействия предварительному ангиогенезу и образованию нового кровеносного сосуда в месте раны.

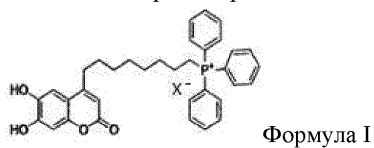
Кумарины составляют группу фенольных соединений, широко распространенных в природных растениях, и они обладают широким диапазоном фармакологической активности. См., например, Egan et al., Drug Metab. Rev., 22: 503-529, 1990. Сообщалось, что среди них эскулетин (6,7-дигидроксикумарин) (соединение 2) понижает уровни в сыворотке печеночных ферментных маркеров ALT (аланин-аминотрансферазы) и AST (аспартат-аминотрансферазы) при введении интраперитонеально перед обработкой трет-бутилгидропероксидом. См., например, Lin et al., Arch. Toxicol., 74, 467-72, 2000.



Соединение 2

Тем не менее, поскольку кумарины обычно обладают слабой биологической активностью *in vivo* и не накапливаются в значительном количестве в митохондриях, их эффективность остается ограниченной. По этой причине кумарины обычно следует использовать в более высоких концентрациях для удаления митохондриальных реакционноспособных форм кислорода.

В патенте США № 9580452 раскрыт катион трифенилфосфония (TRP⁺), связанный с эскулетинем формулы I (показана ниже), обладающим антиатеросклеротическим эффектом



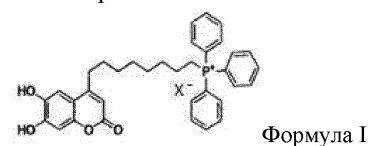
X⁻ = любой галоген.

Существует потребность в улучшенных видах лечения связанных с раной нарушений и псориаза.

Сущность изобретения

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение формулы I можно применять для лечения различных состояний, связанных с раной, и псориаза. В одном предпочтительном варианте осуществления соединение формулы I вводят местно.

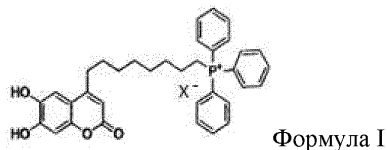
Один вариант осуществления относится к соединению формулы I для применения в лечении одного или более из следующего: раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее и псориаза



X⁻ = любой галоген (такой как Br⁻ или Cl⁻).

В одном предпочтительном варианте осуществления X⁻ представляет собой Br⁻ или Cl⁻. В более предпочтительном варианте осуществления X⁻ представляет собой Br⁻.

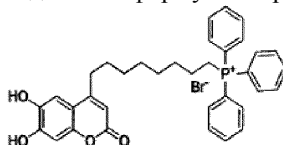
Другой вариант осуществления относится к способу лечения раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее, псориаза и любой их комбинации у субъекта, нуждающегося в этом. Способ включает введение (предпочтительно местно) субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I



X^- = любой галоген (такой как Br^- или Cl^-).

В одном предпочтительном варианте осуществления X^- представляет собой Br^- или Cl^- . В более предпочтительном варианте осуществления X^- представляет собой Br^- . В одном предпочтительном варианте осуществления способ включает местное нанесение на пораженную зону субъекта соединения формулы I в терапевтически эффективной концентрации.

В одном варианте осуществления соединение формулы I представляет собой соединение 1



Соединение 1.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображены фотографии, показывающие эффект на день 1, 3, 6, 9, 10 и день 26 после ежедневного местного нанесения от дня 1 до дня 26 среды-носителя на кремовой основе (среды-носителя) на рану на поверхности кожи мышей (db/db) с диабетом (контрольной группы, получающей среду-носитель).

На фиг. 2 изображены фотографии, показывающие эффект на день 1, 3, 6, 9 и день 10 соединения 1 (0,625% вес./вес.), полученного в среде-носителе, ежедневно наносимого местно от дня 1 до дня 10 на рану на поверхности кожи мышей (db/db) с диабетом.

На фиг. 3 изображены фотографии, показывающие эффект на день 1, 3, 6, 9, 10 и день 26 соединения 1 (2,5%), полученного в среде-носителе, ежедневно наносимого местно от дня 1 до дня 26 на рану на поверхности кожи мышей (db/db) с диабетом.

На фиг. 4а изображены фотографии, показывающие эффект местного нанесения а) соединения 1 (при каждой концентрации 0,625, 1,25 и 2,5%), полученного в среде-носителе, б) соединения 2 (2,5%), полученного в среде-носителе, и в) среды-носителя на рану и вокруг участка раны на поверхности кожи мышей (db/db) с диабетом в дни 0, 3, 6, 9, 12 и 20. На фиг. 4б изображен график, показывающий процент временного закрытия раны (Y-ось) от дня 0 до дня 20 (X-ось) для вышеуказанных групп.

На фиг. 5 изображены фотографии, показывающие эффект местного нанесения а) соединения 1 (при каждой концентрации 0,625, 1,25 и 2,5%), полученного в среде-носителе, б) соединения 2 (2,5%), полученного в среде-носителе, и в) среды-носителя на рану и эффект на рост волос на участке раны и вокруг него на поверхности кожи мышей без диабета (C57) в дни 0, 10 и 20.

На фиг. 6 изображены фотографии, показывающие эффект местного нанесения а) среды-носителя и б) соединения 1 (2,5%), полученного в среде-носителе, на рану хирургического разреза (глубина разреза раны 2 мм и длина разреза раны 3 см) на поверхности кожи кролика в дни 0, 1-8 и 18.

На фиг. 7 изображены фотографии, показывающие эффект местного нанесения а) среды-носителя и б) соединения 1 (2,5%), полученного в среде-носителе, на рану на поверхности кожи кролика через 20 дней после нанесения.

На фиг. 8 изображены фотографии, показывающие эффект местного введения а) среды-носителя, б) соединения 1 (0,625%), полученного в среде-носителе, в) комбинации соединения 1 (0,625%) и EX-527 (6-хлор-2,3,4,9-тетрагидро-1H-карбазол-1-карбоксамид, также известного как селисистат, ингибитор SIRT1) (0,025%), полученного в среде-носителе, и д) EX-527 (0,025%), полученного в среде-носителе, в место заживления раны хирургического разреза в мышинной модели (db/db) с диабетом в дни 0, 4 и 7.

На фиг. 9 изображены фотографии, показывающие измерение прочности на разрыв тканей кожи, что измеряли на 8-й день после обработки в течение 7 дней, как описано в примере 5 и табл. 3.

На фиг. 10 изображен индекс площади и тяжести псориаза (PASI) с оценкой покраснения, шелушения, уплотнения кожи и уплотнения уха и процент потери массы тела в модели псориаза.

На фиг. 11 изображены фенотипические изображения кожи спины мыши типичных мышей различных терапевтических групп, как описано в примере 6 в дни 0, 2, 4, 6 и 7.

На фиг. 12 изображены уровни провоспалительных цитокинов IL-17 и IL 23 (пг/мл) в ткани кожи,

измеренные с применением твердофазного иммуноферментного анализа ("ELISA"), как описано в примере 6.

На фиг. 13 изображено окрашивание гематоксилином и эозином ("H&E") кожи спины типичных мышей различных терапевтических групп (масштаб 10x и 40x), как описано в примере 6.

Подробное описание изобретения

При применении согласно настоящему раскрытию, если не указано иное, все технические и научные термины должны пониматься как имеющие такое значение, которое обычно понимается в настоящей области техники. Если контекстом не предусмотрено иное, термины в единственном числе включают множественное число, и термины во множественном числе включают единственное число. Применение любого и всех примеров или вводных слов перед примером, представленных в данном документе, предназначено только для лучшего иллюстрирования вариантов осуществления и не создает ограничений в объеме формулы изобретения, если не отмечено иное.

Термин "рана" относится к любой травме ткани кожи субъекта, приводящей к нарушению целостности ткани, при котором кожа разрывается, прокалывается или разрезается. Раны, как правило, включают, например, разрезы, царапины, рассечения, рубцы, порезы, ссадины, колотые раны, травматические повреждения кожи, ожоги и проникающие раны. Рана может быть хронической, например, заболевание или другие хронические раны, вызывающие повреждение ткани, такие как диабетические раны и язвы, обусловленные синдромом диабетической стопы, пролежни или пролежневые язвы, варикозные язвы; или острой, например, раны, вызванные происшествием, повреждением или хирургически обусловленная рана. Медицинские процедуры также могут вызывать раны, например дерматологическая или косметическая хирургическая процедура.

Термин "рубец" относится к следу, оставленному на ткани кожи, где рана полностью не зажила, и на ране и вокруг нее образовывалась волокнистая соединительная ткань. Он включает образование такого следа или волокнистой соединительной ткани в течение или после заживления раны. Симптомы рубца включают, например, обесцвечивание рубца на коже (включая красноту или изменение пигментации), покраснение, сухость, шелушение или кожный зуд, что выступают над окружающим участком кожи, келоидное образование, образование толстой полоски в течение месяца, боль в рубце, уменьшение рубцевания и/или сосудистости окружающей ткани, уменьшение гибкости и плохой эстетический вид (включая массу рубцовой ткани и текстуру). Рубец, вызванный раной, также поддается лечению согласно настоящему изобретению.

Термин "ранозаживление" или "заживление раны" относится к восстановлению целостности ткани, и термины могут быть использованы взаимозаменяемо. Будет понятно, что такие термины могут относиться к частичному или полному восстановлению целостности ткани. Таким образом, лечение раны относится к стимуляции, улучшению, развитию, ускорению, усилению или иным образом продвижению одной или более стадий или процессов, связанных с процессом ранозаживления. Замедленное заживление раны для целей настоящего изобретения включает любой и все случаи, процедуры, которые могут замедлять, препятствовать, мешать или приостанавливать стимуляцию, улучшение, развитие, ускорение, усиление или иным образом продвижение одной или более стадий или процессов, связанных с заживлением раны. Замедленное заживление раны, как описано в данном документе, включает заживление, вызванное химиотерапевтическим или антиангиогенным лекарственным средством.

Термины "терапевтически эффективное количество" и "терапевтически эффективная концентрация" в данном документе относятся к количеству или концентрации активного соединения или фармацевтического средства, которые выявляют биологический или медицинский ответ в ткани, системе, животном, субъекте или человеке, что включает одно или более из следующего: (1) предупреждение, подавление или отсрочку начала заболевания; например, предотвращение, подавление или отсрочку начала заболевания, состояния или нарушения у индивидуума, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или нарушению, но еще не испытывает или не проявляет патологию или симптоматику заболевания, (2) подавление заболевания; например, подавление заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который испытывает или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (т.е. прекращение дальнейшего развития патологии и/или симптоматики), и (3) снижение тяжести заболевания; например, снижение тяжести заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который испытывает или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (т.е. изменение патологии и/или симптоматики).

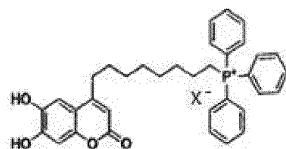
Все концентрации активных ингредиентов, таких как соединение 1, в композиции, предназначенной для местного введения, представлены, если не указано иное, в процентах по весу в пересчете на 100% общего веса композиции.

Соединения формулы I могут быть получены, как описано в патенте США № 9580452.

Различные варианты осуществления по настоящему изобретению описаны далее в данном документе.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы I для применения в лечении одного или более состояний, выбранных из группы, состоящей из раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее и псориаза путем

местного нанесения (например, на пораженную зону кожи или рану) субъекту, нуждающемуся в этом



Формула I,

где X^- представляет собой любой галоген (такой как Br^- или Cl^-). В одном предпочтительном варианте осуществления X^- представляет собой Br^- или Cl^- . В более предпочтительном варианте осуществления X^- представляет собой Br^- .

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы I для применения в лечении раны.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы I для применения в лечении замедленного заживления раны.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы I для применения в лечении потери волос на ране и вокруг нее. Лечение потери волос на ране и вокруг нее может характеризоваться стимуляцией и/или ускорением роста волос на участке раны или вокруг него.

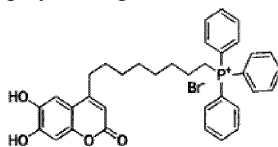
В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы I для применения в лечении рубцов и/или складок на ране и вокруг нее. Лечение рубцов и/или складок может характеризоваться минимизацией внешнего проявления рубцов и/или складок на участке раны или вокруг него.

Рана, которую можно лечить с применением соединения формулы I согласно любому из вариантов осуществления, описанных в данном документе, может представлять собой диабетическую рану, операционную рану, послеоперационную рану, случайную рану, пролежневую язву или пролежень, язву, обусловленную синдромом диабетической стопы, гангренозную пиодермию, ожог, очаговое поражение, порез или любую их комбинацию.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы I для применения в лечении замедленного заживления раны, где ранозаживление замедлено вследствие совместного введения одного или более медикаментов, таких как, например, иммуносупрессанты, химиотерапевтические препараты, антикоагулянты, NSAID, ингибиторы агрегации тромбоцитов, антиангиогенные лекарственные средства и любая их комбинация.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы I для применения в лечении псориаза.

В предпочтительном варианте осуществления любого из описанных в данном документе вариантов применения или способов соединения формулы I представляет собой соединение I



Соединение I.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее, псориаза или любой их комбинации у субъекта, нуждающегося в этом. Способ включает введение (например, местное введение в пораженный участок) терапевтически эффективного количества соединения формулы I (такого как соединение формулы I, где X представляет собой Br). В одном предпочтительном варианте осуществления способ включает местное нанесение на пораженную зону субъекта соединения формулы I в терапевтически эффективной концентрации.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения раны у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение (например, местное введение) субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I (такого как соединение I). В одном предпочтительном варианте осуществления способ включает местное нанесение на пораженную зону субъекта соединения формулы I в терапевтически эффективной концентрации.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения замедленного заживления раны у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение (например, местное введение) субъекту соединения формулы I. В одном предпочтительном варианте осуществления способ включает местное введение в пораженный участок субъекта терапевтически эффективной концентрации соединения формулы I.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения потери волос на ране и вокруг нее у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение (например,

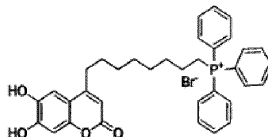
местное введение) субъекту соединения формулы I. Лечение потери волос на ране и вокруг нее может характеризоваться стимуляцией и/или ускорением роста волос на участке раны или вокруг него. В одном предпочтительном варианте осуществления способ включает местное нанесение на пораженную зону субъекта соединения формулы I в терапевтически эффективной концентрации.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рубца (рубцов) и/или складки (складок) на ране и вокруг нее у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение (например, местное введение) субъекту соединения формулы I. Лечение рубцов и/или складок может характеризоваться минимизацией внешнего проявления рубцов и/или складок на участке раны или вокруг него. В одном предпочтительном варианте осуществления способ включает местное нанесение на пораженную зону субъекта соединения формулы I в терапевтически эффективной концентрации.

В любом из способов лечения раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее или рубцов и/или складок на ране и вокруг нее, описанных в данном документе, рана может представлять собой диабетическую рану, операционную рану, хирургическую рану, случайную рану, пролежневую язву/пролежень, язву, обусловленную синдромом диабетической стопы, гангренозную пиодермию, ожог, очаговое поражение или порез.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения псориаза, включающему введение (например, местное введение) субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы I. В одном предпочтительном варианте осуществления способ включает местное введение в пораженный участок субъекта терапевтически эффективной концентрации соединения формулы I (такого как соединение 1).

В предпочтительном варианте осуществления любого из описанных в данном документе способов соединения формулы I представляет собой соединение 1



Соединение 1.

В любом из описанных в данном документе вариантов осуществления рана находится на поверхности кожи субъекта. В одном варианте осуществления субъектом является млекопитающее. В предпочтительном варианте осуществления субъектом является человек. Описанные в данном документе способы применимы как в лечении человека, так и в ветеринарных вариантах применения. В ветеринарных целях термин "субъект" включает без ограничения сельскохозяйственных животных, в том числе коров, овец, свиней, лошадей и коз; домашних животных, таких как собаки и кошки; экзотических и/или зоопарковых животных, лабораторных животных, в том числе мышей, крыс, кроликов, морских свинок и хомяков; и сельскохозяйственных птиц, таких как куры, индейки, утки и гуси.

Другой вариант осуществления относится к композиции, предназначенной для местного введения, и наборам, содержащим соединение формулы I в терапевтически эффективной концентрации или количестве и необязательно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Описанные в данном документе композиции применимы для лечения раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее, псориаза или любой их комбинации.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, предназначенной для местного введения, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I для лечения раны и необязательно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, предназначенной для местного введения, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I и необязательно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, для лечения замедленного заживления раны.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, предназначенной для местного введения, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I и необязательно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, для лечения потери волос на ране и вокруг нее. Лечение потери волос на ране и вокруг нее может характеризоваться стимуляцией и/или ускорением роста волос на участке раны или вокруг него.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, предназначенной для местного введения, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I и необязательно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество для лечения рубцов и/или складок на ране и вокруг нее. Лечение рубцов и/или складок может характеризоваться минимизацией внешнего проявления рубцов и/или складок на участке раны или вокруг него.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, предназначенной для местного введения, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I и необязательно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, для лечения псориаза.

В предпочтительном варианте осуществления любой из описанных в данном документе композиций соединение формулы I представляет собой соединение 1.

Любая из композиций, предназначенных для местного введения, описанных в данном документе, может дополнительно содержать одно или более подходящих фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, известных специалистам настоящей области техники. Композиция может быть в форме лекарственной формы для местного введения, например, раствора, геля, мази, крема, лосьона, пасты, распыляемой пены или аэрозоля. Соединение формулы I (такое как соединение 1) может быть превращено в композиции, предназначенные для местного введения, с подходящими фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями и может быть составлено в полутвердых или жидких формах.

В соответствии с другим аспектом настоящее изобретение относится к набору, содержащему терапевтически эффективное количество соединения формулы I (например, в форме композиции, предназначенной для местного введения) и необязательно инструкции по применения набора. Описанные в данном документе наборы применимы для лечения раны, замедленного заживления раны, потери волос на ране и вокруг нее, рубцов и/или складок на ране и вокруг нее, псориаза или любой их комбинации.

Следующие примеры являются иллюстративными для конкретных вариантов осуществления раскрытия, описанного выше. Они изложены исключительно в пояснительных целях и не должны толковаться как ограничивающие объем настоящего изобретения каким-либо образом.

Примеры

Общие способы и процедуры.

Получение тестируемых соединений. В целях исследований на животных в примерах ниже препарат для местного введения с тестируемыми соединениями готовили в среде-носителе, содержащей эмульгирующую мазь, консервант (пара-хлорокрезол) и воду. Среда-носитель не содержала какого-либо тестируемого соединения. Тестируемые соединения (соединения 1 и 2) были включены в препарат крема на водной основе путем растирания. Крем на водной основе получали с применением эмульгирующей мази ВР, пара-хлорокрезола (консерванта) и воды согласно процедуре British Pharmacopoeia. Контрольные составы не содержали какого-либо активного ингредиента.

Стадия 1. Получение эмульгирующей мази.

Эмульгирующую мазь получали с применением эмульгирующего воска, белого мягкого парафина и жидкого парафина. Такие ингредиенты плавил и нагревали до 60°C на водяной бане, затем непрерывно перемешивали, пока они не охладились.

Стадия 2. Получение анионного эмульгирующего крема.

Эмульгирующую мазь плавил и нагревали до 60°C на водяной бане, а требуемое количество пара-хлорокрезола растворяли в холодной воде (хлорокрезол является растворимым в холодной воде), температуру проверяли с использованием термометра, очищенную воду добавляли к расплавленной мази и непрерывно перемешивали, пока она не охладилась.

Стадия 3. Получение кремового состава с соединением 1 и 2.

Требуемое количество соединения 1 или 2 добавляли к крему и смешивали в гомогенизаторе. После надлежащего смешивания лекарственного препарата составы переносили в подходящий контейнер и хранили при 4°C.

Получение эмульгирующей мазевой основы

№ п/п	Ингредиенты	Колич. (100 г)	Колич. (20 г)
1	Эмульгирующий воск	30	6
2	Белый мягкий парафин	50	10
3	Жидкий парафин	20	4

Контрольный состав

№ п/п	Ингредиенты	Колич. (20 г)
1	Получение эмульгирующей мазевой основы	6 г
2	Пара-хлорокрезол	0,02%
3	Очищенная вода	13,98 г

Состав 1 - крем с 2,5% соединения 1

№ п/п	Ингредиенты	Колич. (20 г)
1	Соединение 1	500 мг (2,5%)
2	Получение эмульгирующей мазевой основы	6 г
3	Пара-хлорокрезол	0,02%
4	Очищенная вода	13,48 г

Состав 2 - крем с 2,5% соединения 2

№ п/п	Ингредиенты	Колич. (20 г)
1	Соединение 2	500 мг (2,5%)
2	Получение эмульгирующей мазевой основы	6 г
3	Пара-хлорокрезол	0,02%
4	Очищенная вода	13,48 г

Состав 3 - крем с 1,25% соединения 2

№ п/п	Ингредиенты	Колич. (20 г)
1	Соединение 2	250 мг (1,25%)
2	Получение эмульгирующей мазевой основы	6 г
3	Пара-хлорокрезол	0,02%
4	Очищенная вода	13,73 г

Состав 4 - крем с 0,625% соединения 2

№ п/п	Ингредиенты	Колич. (20 г)
1	Соединение 2	125 мг (0,625%)
2	Получение эмульгирующей мазевой основы	6 г
3	Пара-хлорокрезол	0,02%
4	Очищенная вода	13,85 г

Пример 1. Влияние соединения 1 на процесс заживления диабетической раны и рост волос на участке раны и/или вокруг него в мышинной модели (db/db) с диабетом.

Способ: в этом исследовании использовали мышей со штаммом db/db (возраст: 13-14 недель), поскольку заживление у этого штамма более похоже на заживление диабетической раны у людей. Рану размером 1 см² получали с использованием панч-биопсии на спине мышей db/db в условиях местной анестезии. Животных разделяли на 5 групп с 5 животными в каждой группе следующим образом.

Группа 1 (n=5): обработанная отдельно средней носитель (контрольная группа с диабетом).

Группа 2 (n=5): обработанная соединением 2 (2,5%), полученным в среде-носителе.

Группа 3 (n=5): обработанная соединением 1 (0,625%), полученным в среде-носителе.

Группа 4 (n=5): обработанная соединением 1 (1,25%), полученным в среде-носителе.

Группа 5 (n=5): обработанная соединением 1 (2,5%), полученным в среде-носителе.

Для этого исследования тестировали три концентрации соединения 1, т.е. 0,625, 1,25 и 2,5%. Препараты для местного введения наносили на рану один раз в день в течение 12 дней. Изображения участка раны визуализировали и измерения участка раны регистрировали каждый день исследования.

Результаты: контрольная группа с диабетом и группа 2 демонстрировали закрытие раны на день 26 (см. фиг. 1 и 3). Полное закрытие раны наблюдали на день 10 в группах 3-5 (см. фиг. 2 и 4а и 4б (процент временного закрытия раны)). В табл. 1 показано процентное значение заживления раны, наблюдаемого в каждой группе.

Таблица 1
Данные наблюдений за заживлением раны у мышей db-db

Группа	Число животных в группе	Животные с наблюдаемым заживлением раны в группе на день 10	% заживления раны
Группа 1 (контрольная группа с диабетом)	5	0	0
Группа 2 (2,5%)	5	0	0
Группа 3 (0,625%)	5	5	100
Группа 4 (1,25%)	5	4	90
Группа 5 (2,5%)	5	4	90

Пример 2. Влияние соединения 1 на заживление раны и рост волос на участке ране и/или вокруг него в мышинной модели без диабета C-57.

Способ: в этом исследовании использовали штамм мышей C57BL/6j (возраст: 12 недель) для изучения процесса заживления раны. Рану размером 1 см² получали с использованием панч-биопсии на спине мыши C57. Животных разделяли на 5 групп, состоящих из 5 животных в каждой группе следующим образом.

Группа 6 (n=5): обработанная отдельно средой-носителем (контрольная группа без диабета).

Группа 7 (n=5): обработанная соединением 2 (2,5%), полученным в среде-носителе.

Группа 8 (n=5): обработанная соединением 1 (0,625%), полученным в среде-носителе.

Группа 9 (n=5): обработанная соединением 1 (1,25%), полученным в среде-носителе.

Группа 10 (n=5): обработанная соединением 1 (2,5%), полученным в среде-носителе.

Для этого исследования тестировали три концентрации соединения 1, т.е. 0,625, 1,25 и 2,5%, полученного в среде-носителе. Препараты местного применения наносили на рану один раз в день в течение 12 дней, начиная через 12 ч после образования раны. Изображения участка раны визуализировали и измерения участка регистрировали каждый день исследования.

Результат: контрольная группа без диабета и группа 6 демонстрировали закрытие раны на день 14 (см. фиг. 5). Полное закрытие раны наблюдали в группах 8-10 от дня 9 до дня 12. В табл. 2 показано процентное значение заживления раны, наблюдаемого в каждой группе.

Таблица 2
Наблюдения за заживлением раны у мышей C57BL/6j

Название группы	Число животных в группе	Животные с наблюдаемым заживлением раны в группе	% заживления раны
Группа 6 (контрольная группа без диабета)	5	4	90
Группа 7	5	4	90
Группа 8	5	4	90
Группа 9	5	4	90
Группа 10	5	5	100

Пример 3. Влияние соединения 1 на заживление операционной раны у кролика.

Способ: в этом исследовании использовали новозеландских кроликов с массой тела от 2,0 до 2,5 кг и их разделяли на две группы.

Контрольная группа: обработанная отдельно средой-носителем.

Группа, получающая тестируемое соединение: обработанная соединением 1 (2,5%), полученным в среде-носителе.

С помощью острого скальпеля делали паравертебральные прямые разрезы, каждый длиной 2 см, через всю толщу кожи с каждой стороны спинного хребта. После завершения гемостаза рану закрывали с помощью узловых швов, расположенных на равноудаленных точках с расстоянием приблизительно 1 см (см. фиг. 6). Животных обрабатывали один раз в день от дня 0 до дня 14 после образования ранения. Изображения регистрировали ежедневно в течение периода исследования. Швы удаляли на день 7 и наблюдали закрытие раны.

Результаты: группу кроликов, получающую тестируемое соединение, сравнивали с контрольной группой кроликов, получающей основную среду-носитель, в отношении закрытия раны в каждый момент времени в течение исследования. Более быстрое заживление послеоперационной раны наблюдали в течение 8 дней у группы кроликов, получающей тестируемое соединение, по сравнению с необработанной контрольной группой кроликов. В группе кроликов, получающей тестируемое соединение, не наблюдали послеоперационного рубца по сравнению с контрольной группой кроликов. См. фиг. 7.

Пример 4. Влияние соединения 1 на заживление операционной раны в мышинной модели (db/db) с диабетом.

Способ: в этом исследовании использовали мышей со штаммом db/db (возраст: 12 недель). Животных разделяли на четыре группы.

Группа 11: контрольные мыши, обработанные отдельно средой-носителем.

Группа 12: мыши, обработанные соединением 1 (0,625%), полученным в среде-носителе.

Группа 13: мыши, обработанные соединением 1 (0,625%) и EX-527 (0,025%) в среде-носителе.

Группа 14: мыши, обработанные EX-527 (0,025%) в среде-носителе.

С помощью острого скальпеля делали паравертебральные прямые разрезы, каждый длиной 2 см и глубиной 1 мм, через всю толщу кожи с каждой стороны спинного хребта. После завершения гемостаза рану закрывали с помощью узловых швов, расположенных на равноудаленных точках с расстоянием приблизительно 1 см (см. фиг. 8). Все группы обрабатывали один раз в день в течение 7 дней соответствующими тестируемыми и контрольными препаратами. Изображения участка раны делали каждый день исследования с помощью фотографий и доплерографии. Участок раны измеряли с применением прозрачного листа с отметками перед лечением и в процессе него для измерения закрытия раны с интервалом каждые 4 дня. Нити удаляли на день 7 и животных осматривали в отношении закрытия раны.

Результаты: группа 12 мышей демонстрировала полное заживление операционной раны в течение 7 дней по сравнению с группами 11, 13 и 14 мышей. См. фиг. 8. В группе 13, которую обрабатывали EX-527 (0,025%), ингибитором SIRT1 в комбинации с соединением 1, был затруднен процесс заживления раны, вызванный соединением 1. Это исследование предполагает, что соединение 1 вызывает заживление раны усилением активности SIRT1. Этот результат подтверждает гипотезу, что соединение 1 способствует образованию трубчочкоподобных структур при ангиогенезе *in vitro*, которые нарушаются в присутствии EX-527.

Пример 5. Измерение прочности на разрыв тканей кожи на день 8 после лечения в течение 7 дней.

Способ: свежую кожу мышей обрабатывали один раз в день и растягивали между двумя концами установки для испытаний на разрыв с нагрузкой 100 кг со скоростью растягивания 5 мм/мин (фиг. 9). Результаты показаны в табл. 3.

Таблица 3
Результаты наблюдения прочности на разрыв

ИД группы	Прочность на разрыв (Н)
Контрольные мыши	5,2 ± 1,08
Соединение 1 (0,625%)	55,33 ± 1,7
Соединение 1 (0,625%) + EX527 (0,025%)	5,7 ± 1,62
EX527 (0,025%)	6,03 ± 2,51

Пример 6. Влияние местного нанесения соединения 1 на улучшение ИМQ-индуцированного псориаза у мышей Balb/c.

Способ: в настоящем исследовании на животных проверяли влияние местного введения соединения 1 на лечение псориаза. В этом исследовании типичные признаки псориаза, а именно покраснение, шелушение и уплотнение кожи, были вызваны нанесением крема с 5% вес./вес. имиквимода (ИМQ) на кожу спины мышей Balb/c в течение периода 6 последующих дней. Животных, у которых развивались подобные псориазу симптомы, использовали для исследования влияния соединения 1, полученного в среденосителе (как описано выше). В настоящем исследовании использовали самцов мышей Balb/c (возраст от 6 до 8 недель). Животных разделяли на 8 групп, состоящих из 10 животных в каждой группе следующим образом.

Контрольная группа, получающая плацебо: плацебо-контроль: спину мышей брили и животных не подвергали какой-либо обработке. Эта группа служила в качестве контрольной.

Контрольная группа, получающая ИМQ: животных в этой группе местно обрабатывали путем применения 62,5 мг коммерчески доступного крема с имиквимодом (5%) на бритой спине в течение 6 последующих дней (дни 1-6 исследования) в определенное время утром. Эта группа отрицательного контроля представляет типичную модель псориаза, вызванного имиквимодом 5% (ИМQ).

Группа, получающая ИМQ + основную среду-носитель: эта группа представляет собой мышей с псориазом, вызванным имиквимодом, с последующей через 12 ч обработкой средой-носителем, исполь-

зубом для получения соединения формулы I, бритой спины животных от дня 1 до дня 6 исследования.

IMQ + крем с клобетазола пропионатом 0,05%: эта группа представляет собой мышей с псориазом, вызванным имиквимодом, с последующей через 12 ч обработкой коммерчески доступным кремом с пропионатом клобетазола (0,05%) (20 мкг/участок 2 см²) бритой спины животных от дня 1 до дня 6 исследования.

Группа, получающая IMQ + соединение 1 (0,313%): эта группа представляет собой мышей с псориазом, вызванным имиквимодом, с последующей через 12 ч обработкой соединением 1 (0,313%, что соответствует 82,6 мкг/участок см²), полученным в среде-носителе, бритой спины животных от дня 1 до дня 6 исследования.

Группа, получающая IMQ + соединение 1 (0,625%): эта группа представляет собой мышей с псориазом, вызванным имиквимодом, с последующей через 12 ч обработкой соединением 1 (0,625%, что соответствует 82,6 мкг/участок см²), полученным в среде-носителе, бритой спины животных от дня 1 до дня 6 исследования.

График активности этого исследования описан в табл. 4 ниже.

Таблица 4
График активности

Активность	День 1-6	День 7
Масса тела	√	√
Обработка (местная) (через 12 ч. после IMQ)	√	
Нанесение имиквимода	√	
Оценка покраснения и шелушения	√	√
Собирание кожи, масса селезенки, печени		√
Оценка уровня цитокинов (IL-17 и IL-23)		√
Гистопатология кожи		√

Гистопатологическое исследование: в рамках исследования эффективности проводили гистопатологическое исследование для изучения морфологических наблюдений за кожей мышей, представляющих различные группы обработки. В конце эксперимента образцы кожи мышей из каждой группы фиксировали в 4% параформальдегиде и внедряли в парафин. Из каждого парафинового блока делали срезы толщиной 4 мкм и помещали на предметные стекла. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и делали и оценивали изображения.

Результаты: показатели индекса площади и тяжести псориаза (PASI) анализировали для определения эффективности композиций, содержащих соединение 1, с соответствующими контролями в рамках исследования. Тяжесть воспаления кожи оценивали с помощью системы объективной оценки на основе клинических показателей PASI. Покраснение (0-4) и шелушение (0-4) оценивали независимо, где 0 - нет; 1 - слегка; 2 - умеренно; 3 - заметно; 4 - очень заметно.

Совокупный показатель (покраснение плюс шелушение) служил мерой оценки тяжести воспаления (шкала 0-8).

На фиг. 10 изображены показатели PASI, включая массу тела, покраснение, шелушение и уплотнение кожи, определяемые в течение исследования. Индивидуальные массы тела всех мышей регистрировали ежедневно. Потерю массы тела рассчитывали относительно массы тела в день 0. Группа отрицательного контроля, которая представляет типичное состояние псориаза, демонстрировала самый высокий показатель PASI относительно всех параметров. Группы обработки, которые включают группы, обработанные соединением 1 (0,313% и 0,625%), полученным в среде-носителе, демонстрировали снижение показателей PASI в течение периода обработки, почти аналогично положительному контролю. Группа IMQ + соединение 1 (0,625%) демонстрировала лучшее снижение показателей PASI по сравнению с группой IMQ + соединение 1 (0,313%) и группой положительного контроля. Основываясь на оценке PASI противовоспалительный эффект, наблюдаемый в группах обработки, был сравним с группой положительного контроля, которую обрабатывали коммерчески доступным кремом с пропионатом клобетазола.

На фиг. 11 представлены изображения мышей, представляющих различные группы исследования, а именно группы, получающие плацебо, группы отрицательного контроля, положительного контроля и обработки, обработанные препаратами соединения 1 в различных концентрациях от дня 0 до дня 7.

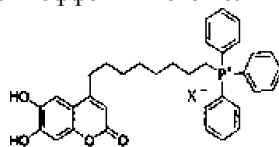
Модель псориаза, вызванная IMQ, воспроизводит биохимические и гистопатологические параметры, характерные для псориазных очагов у человека. Местное нанесение крема с IMQ увеличивало уровни цитокинов, включая IL-23 и IL-17, в обработанных тканях кожи. Животных умерщвляли на 7 день. Ткани селезенки, печени и кожи собирали у всех животных. Ткани селезенки и печени взвешивали. Уровни IL-17 и IL-23 измеряли с помощью ELISA с применением коммерчески доступного набора. Го-

могенаты кожи, полученные из мышечных групп, анализировали с применением ELISA для количественного анализа уровней IL-17 и IL-23, поскольку выбранные интерлейкины являются типичными маркерами воспаления псориаза. Как проиллюстрировано на фигуре 12, группа, получающая IMQ ($p < 0,01$), и группа, получающая IMQ + основную среду-носитель ($p < 0,001$), демонстрировали значительное увеличение уровней IL-17 по сравнению с группой плацебо. Снижение уровней IL-17 наблюдали во всех группах обработки по сравнению с отрицательным контролем. Группа, получающая IMQ, и группа, получающая IMQ + основную среду-носитель, демонстрировали значительное увеличение уровней IL-23 ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой, получающей плацебо. Снижение уровней IL-23 наблюдали во всех группах обработки, включая группы, получающие IMQ + соединение 1 (0,313% и 0,625%) и IMQ + клобетазол ($p < 0,01$), по сравнению с отрицательным контролем. По сравнению с контрольной группой, получающей плацебо, группа, получающая IMQ, проявляла значительное повышение уровней интерлейкина ($p < 0,01$), что отражало развитие псориазического воспаления.

В группе отрицательного контроля исследования (обработанные имиквимодом животные) представлены типичные псориазические признаки акантоза, паракератоза, гиперкератоза и кожный инфильтрат после окрашивания H&E. Подобное окрашивание кожи, собранной у мышечных групп обработки, демонстрировало уменьшение утолщения эпидермиса, уменьшение утолщения рогового слоя и уменьшенное число кожных инфильтратов. Гистопатологические изображения показаны на фиг. 13. Гистопатологические результаты как из кожи, так и из уха показывали, что псориаз, вызванный IMQ, облегчали в большей степени препаратом с соединением 1 (0,625%), и это сравнимо с эффектом крема с пропионатом клобетазола.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения раны на коже, замедленного заживления раны на коже, потери волос на ране на коже и вокруг раны на коже, рубцов и/или складок на ране на коже и вокруг раны на коже, или любой их комбинации у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает местное введение в пораженный участок субъекта терапевтически эффективного количества соединения формулы I



Формула I,

где X⁻ представляет собой любой галоген.

2. Способ по п.1, где рана выбрана из диабетической раны на коже, операционной раны на коже, послеоперационной раны на коже, случайной раны на коже, пролежневой язвы/пролежня, язвы, обусловленной синдромом диабетической стопы, гангренозной пиодермии, ожога, очагового поражения или пореза.

3. Способ по п.1 или 2, где способ обеспечивает лечение раны на коже.

4. Способ по п.1 или 2, где способ обеспечивает лечение замедленного заживления раны на коже.

5. Способ по п.1 или 2, где способ обеспечивает лечение потери волос на ране на коже и вокруг нее.

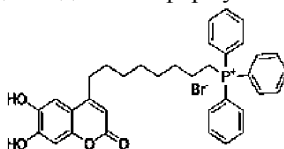
6. Способ по п.1 или 2, где способ обеспечивает лечение рубцов и/или складок на ране на коже и вокруг раны на коже.

7. Способ по п.1, где лечение характеризуется уменьшением, минимизацией или исчезновением внешнего проявления рубцов и/или складок на участке раны на коже и вокруг участка раны на коже.

8. Способ по п.5, где лечение характеризуется стимуляцией и/или ускорением роста волос на участке раны на коже и вокруг участка раны на коже.

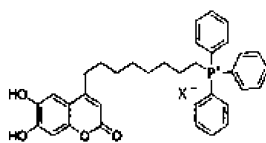
9. Способ по любому из пп.1-8, где X⁻ представляет собой Br⁻ или Cl⁻.

10. Способ по любому из пп.1-8, где соединение формулы I представляет собой



Соединение 1.

11. Применение соединения формулы I для лечения одного или более состояний, выбранных из группы, состоящей из раны на коже, замедленного заживления раны на коже, потери волос на ране на коже и вокруг раны на коже, и рубцов и/или складок на ране на коже и вокруг раны на коже, путем местного введения в пораженный участок субъекта, нуждающегося в этом



Формула I,

где X^- представляет собой любой галоген.

12. Применение по п.11, где рана выбрана из диабетической раны на коже, операционной раны на коже, послеоперационной раны на коже, случайной раны на коже, пролежневой язвы/пролежня, язвы, обусловленной синдромом диабетической стопы, гангренозной пиодермии, ожога, очагового поражения и пореза.

13. Применение по п.11 или 12, где состояние представляет собой рану на коже.

14. Применение по п.11 или 12, где состояние представляет собой замедленное заживление раны на коже.

15. Применение по п.11 или 12, где состояние представляет собой потерю волос на ране на коже и вокруг раны на коже.

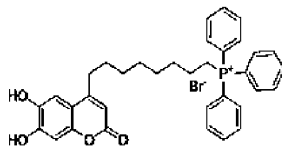
16. Применение по п.11 или 12, где состояние представляет собой рубцы и/или складки на ране на коже и вокруг раны на коже.

17. Применение по п.11 или 12, где лечение характеризуется уменьшением, минимизацией или исчезновением внешнего проявления рубцов и/или складок на участке раны на коже и вокруг участка раны на коже.

18. Применение по п.11 или 12, где лечение характеризуется стимуляцией и/или ускорением роста волос на участке раны на коже и вокруг участка раны на коже.

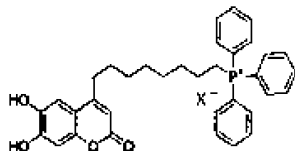
19. Применение по любому из пп.11-18, где X^- представляет собой Br^- или Cl^- .

20. Применение по любому из пп.11-18, где соединение формулы I представляет собой



Соединение 1.

21. Применение композиции, предназначенной для местного введения, содержащей (а) терапевтически эффективное количество соединения формулы I и (б) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество для лечения одного или более состояний, выбранных из группы, состоящей из раны на коже, замедленного заживления раны на коже, потери волос на ране на коже и вокруг раны на коже, и рубцов и/или складок на ране на коже и вокруг раны на коже, или любой их комбинации, путем местного введения на поврежденный участок субъекта, нуждающегося в этом,



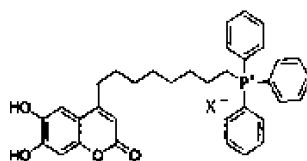
где X^- представляет собой любой галоген.

22. Применение по п.21, где X^- представляет собой Br^- или Cl^- .

23. Применение по п.21, где X^- представляет собой Br^- .

24. Применение по п.21, где фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество представляет собой одно или более из следующих: эмульгирующее средство, консервант или любая их комбинация.

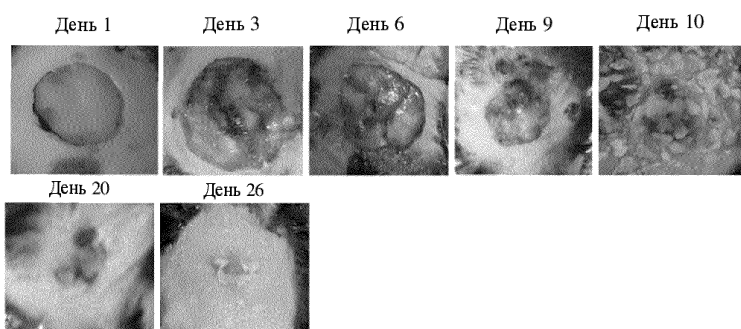
25. Применение набора, содержащего (а) терапевтически эффективное количество соединения формулы I и (б) инструкцию по применению набора для лечения одного или более состояний, выбранных из группы, состоящей из раны на коже, замедленного заживления раны на коже, потери волос на ране на коже и вокруг раны на коже, рубцов и/или складок на ране на коже и вокруг раны на коже, или любой их комбинации



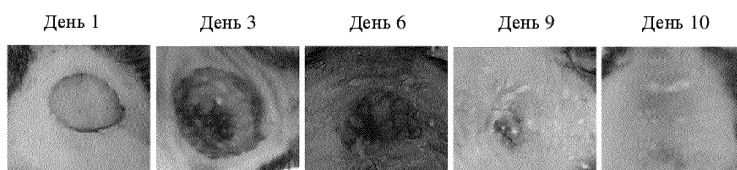
где X^- представляет собой любой галоген.

26. Применение по п.25, где X^- представляет собой Br^- или Cl^- .

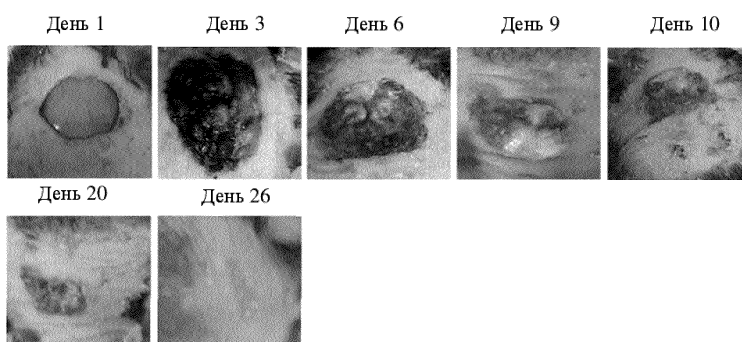
27. Применение по п.25, где X^- представляет собой Br^- .



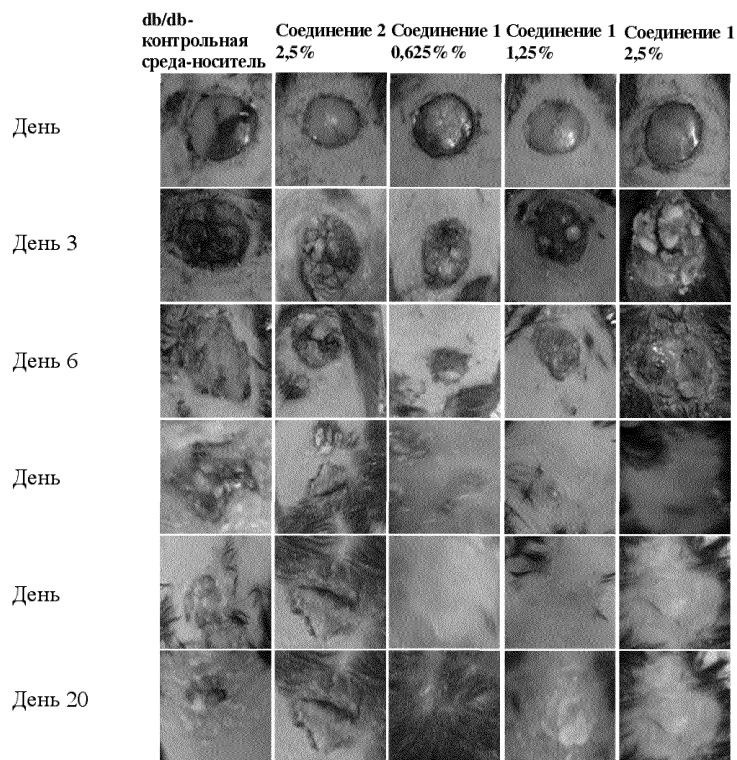
Фиг. 1



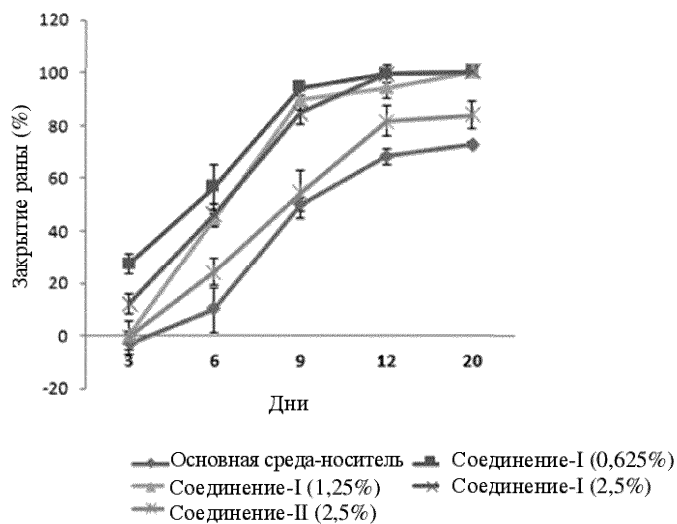
Фиг. 2



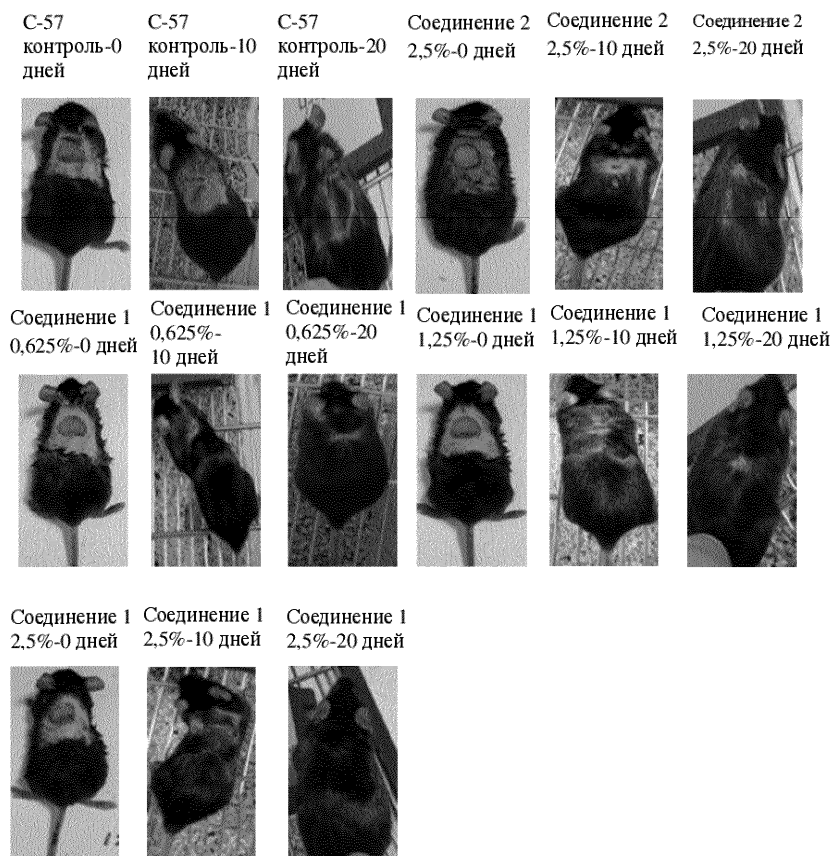
Фиг. 3



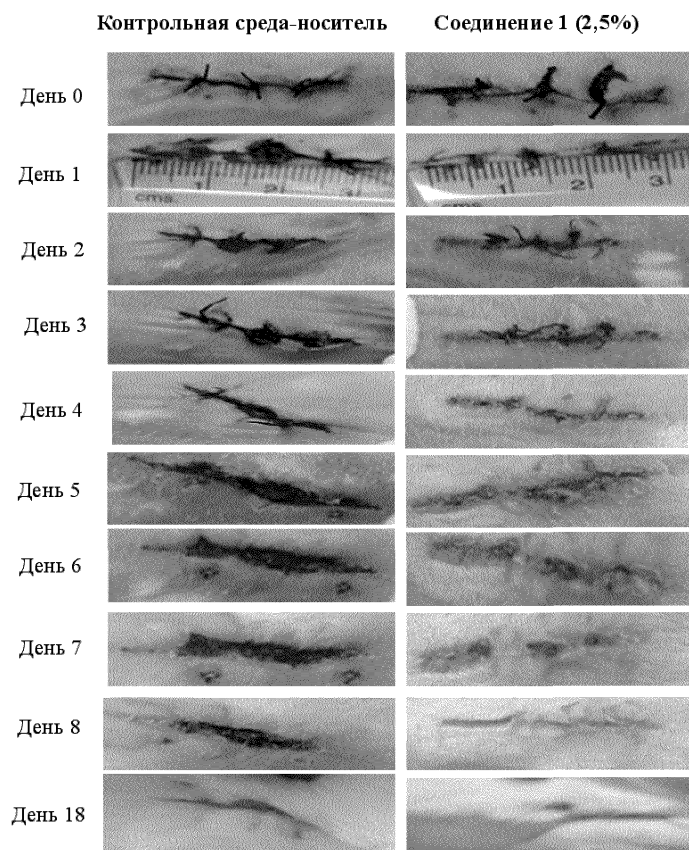
Фиг. 4а



Фиг. 4b

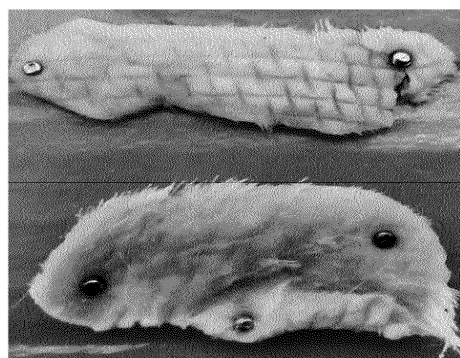


Фиг. 5



Глубина надреза раны: 2 мм
Длина надреза раны: 3 см

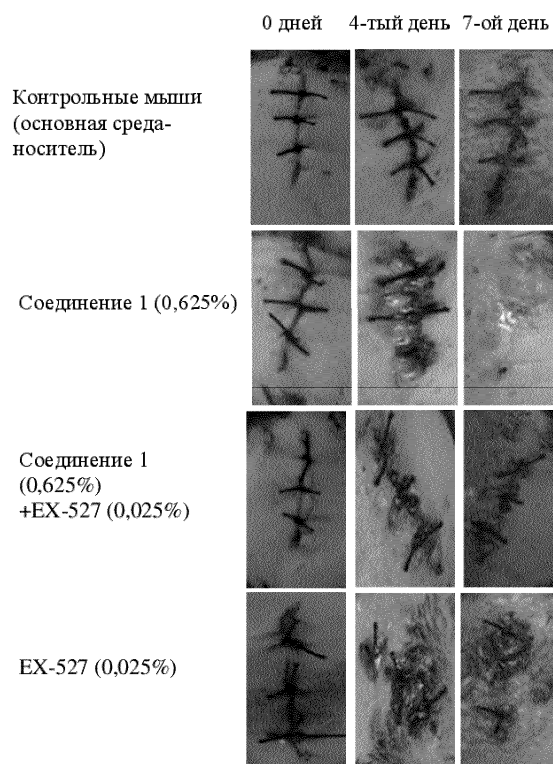
Фиг. 6



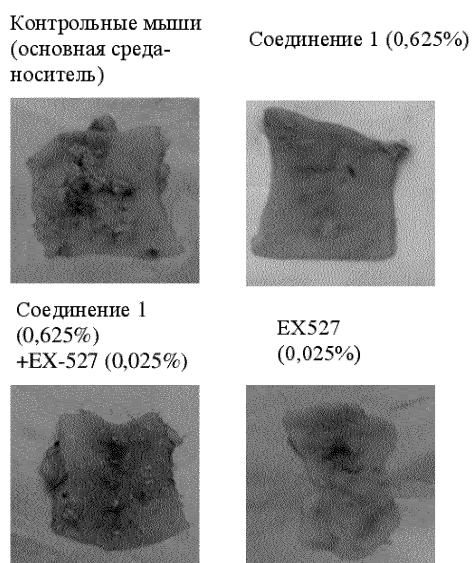
А) Соединение 1 (2,5%),
смешанное с кремом с основной
средой-носителем

В) Обработка средой-
носителем

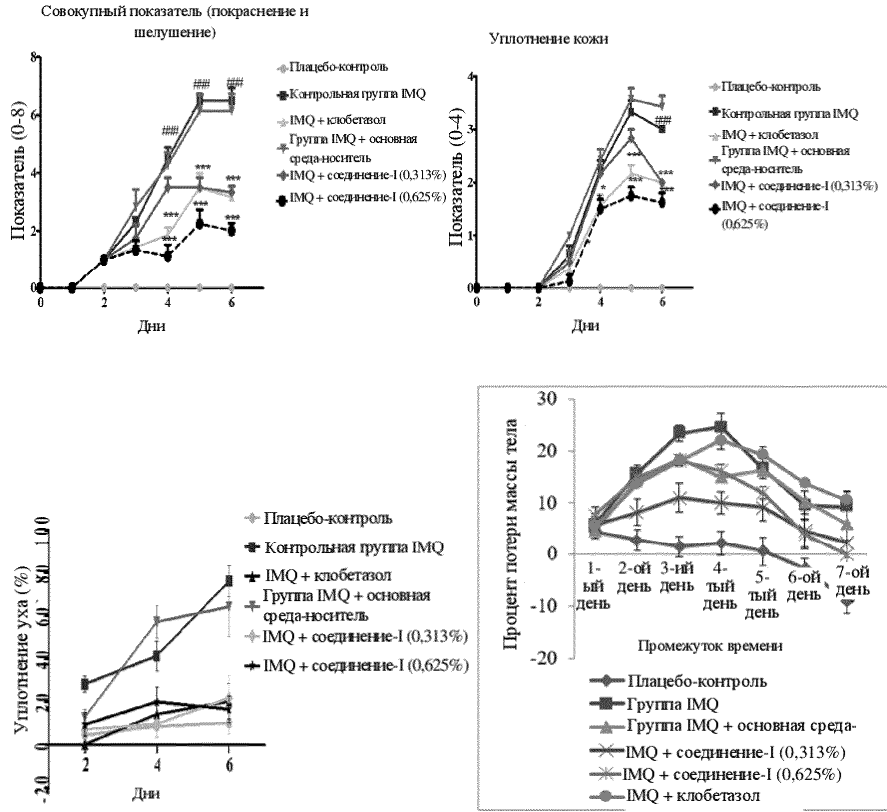
Фиг. 7



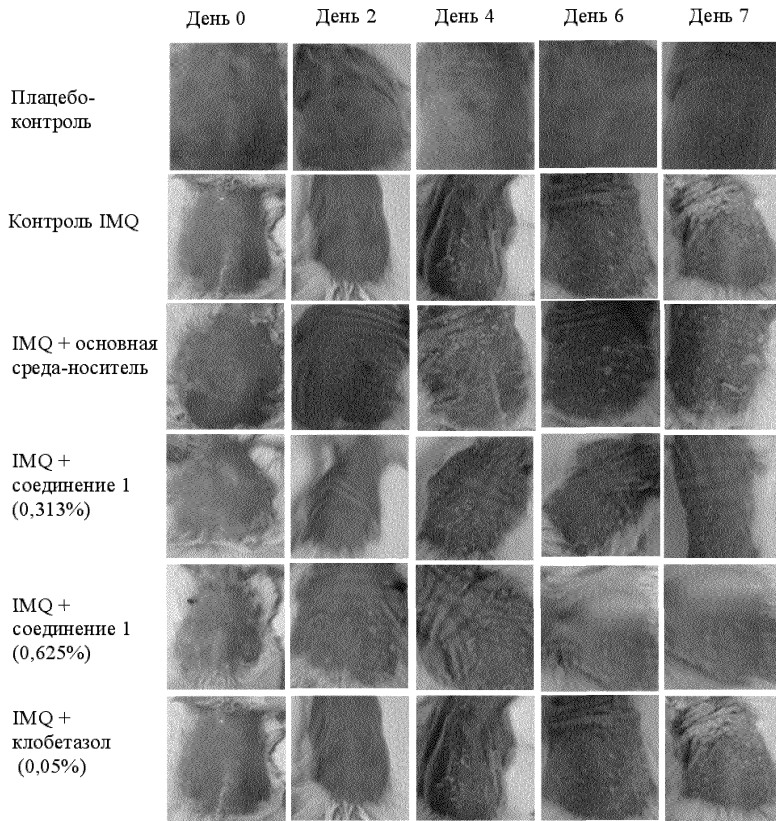
Фиг. 8



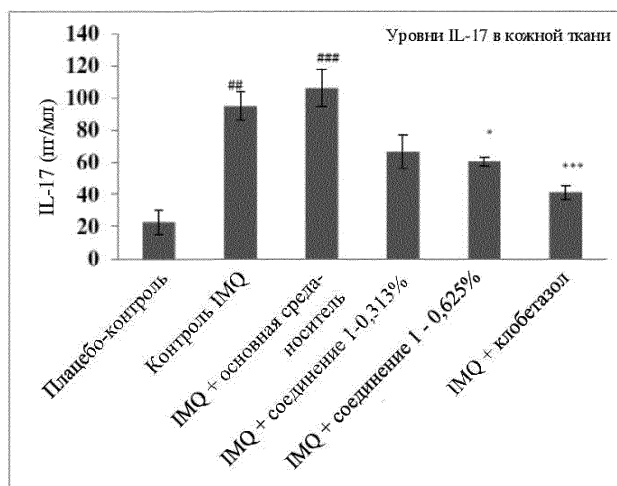
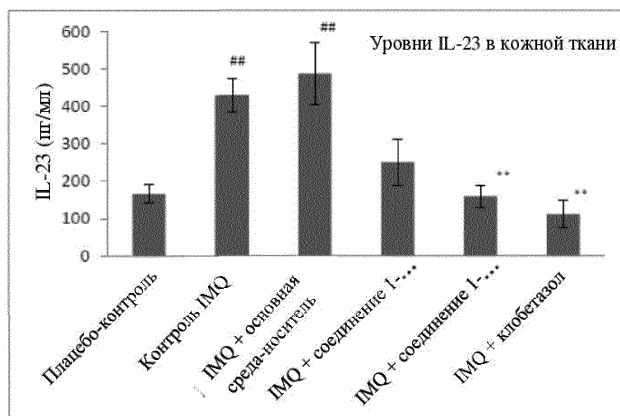
Фиг. 9



Фиг. 10

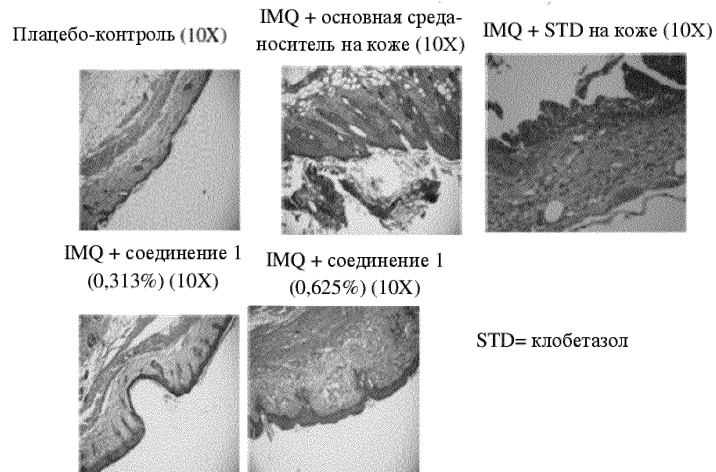


Фиг. 11

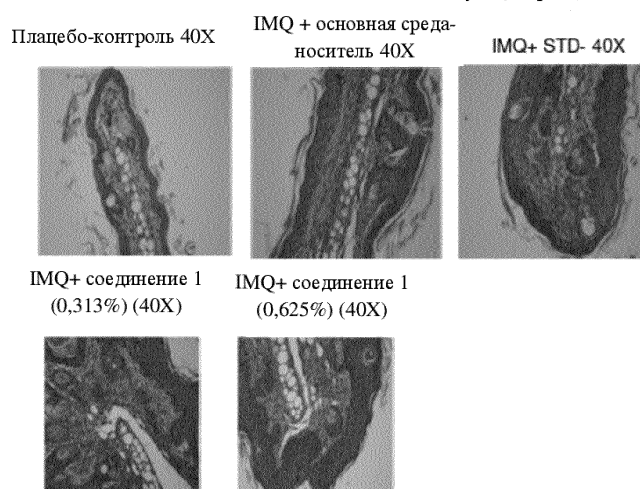


Фиг. 12

Гистопатология кожной ткани (псориаз)



Гистопатология ткани уха (псориаз)



Фиг. 13

