

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **020624**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2014.12.30

(51) Int. Cl. *A01N 41/06* (2006.01)
A61K 31/18 (2006.01)

(21) Номер заявки
201000268

(22) Дата подачи заявки
2008.07.28

(54) **КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ПОЛИМОРФНАЯ ФОРМА N-(-)-(3,4-ДИФТОР-2-(2-ФТОР-4-ЙОДФЕНИЛАМИНО)-6-МЕТОКСИФЕНИЛ)-L-(2,3-ДИГИДРОКСИПРОПИЛ)ЦИКЛОПРОПАН-1-СУЛЬФОНАМИДА И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРА МЕК**

(31) **11/830,733; 61/034,464; 61/034,466;
61/044,886**

(56) US-B1-6545030
US-B1-7115632
US-A1-20040176418
US-B2-6780870

(32) **2007.07.30; 2008.03.06; 2008.03.06;
2008.04.14**

(33) **US**

(43) **2010.08.30**

(86) **PCT/US2008/071392**

(87) **WO 2009/018233 2009.02.05**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АРДИ БАЙОСАЙЕНСИЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Вернье Жан-Мишель, Роулингс Колин
Эдуард, Жирарде Жан-Люк, Даймок
Стьюарт, Кварт Барри, Майнер
Джеффри Н. (US)**

(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Пивницкая Н.Н.,
Кузенкова Н.В., Веселицкий М.Б.,
Каксис Р.А., Комарова О.М., Белоусов
Ю.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к кристаллической полиморфной форме А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которая имеет специфический профиль порошковой рентгенограммы и/или специфический профиль дифференциальной сканирующей калориметрии. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, которые содержат эту форму, и способам ее применения, включая применение для лечения и/или предотвращения злокачественного новообразования, гиперпролиферативных заболеваний и воспалительных состояний. Изобретение также относится к способам получения этого соединения и композиций, содержащих его.

B1**020624****020624****B1**

Перекрестные ссылки на родственные заявки

В заявке на данный патент испрашивается приоритет на основании предварительной заявки US61/044886, поданной 14 апреля 2008 г., US61/034466, поданной 6 марта 2008 г., и US61/034464, поданной 6 марта 2008 г., каждая из которых таким образом в полном объеме включена в качестве ссылки. Также в настоящем изобретении испрашивается приоритет на основании заявки US11/830733, поданной 30 июля 2007 г., в которой заявляются преимущества предварительной заявки US60/833886, поданной 28 июля 2006 г., и международной заявки PCT/US2006/028326, поданной 21 июля 2006 г., в качестве частично продолжающейся заявки, каждая из которых таким образом в полном объеме включена в качестве ссылки. В международной заявке PCT/US2006/028326 также испрашивается приоритет на основании предварительной заявки US60/701814, поданной 21 июля 2005 г.; US60/706719, поданной 8 августа 2005 г., и US60/731633, поданной 28 октября 2005 г., каждая из которых таким образом в полном объеме включена в качестве ссылки.

Область техники

Настоящее изобретение относится к кристаллической полиморфной форме А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которая является ингибитором MEK, проявляющая специфический профиль порошковой рентгенограммы и/или специфический профиль дифференциальной сканирующей калориметрии. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, которые содержат соединение, описанное в данном изобретении, и способам применения соединений и композиций, описанных в настоящем изобретении, включая применение для лечения и/или предотвращения злокачественного новообразования, гиперпролиферативных заболеваний и воспалительных состояний. Изобретение также относится к способам получения соединения и композиций, описанных в данном изобретении.

Предпосылки создания изобретения

Онкогены - гены, которые принимают участие в образовании злокачественных новообразований - обычно представляют собой мутированные формы обычных нормальных клеточных генов ("протоонкогены"). Онкогены часто кодируют аномальные версии компонентов путей передачи сигналов, таких как рецепторные тирозинкиназы, серин-треонин-киназы или нижерасположенные сигнальные молекулы. Центральными нижерасположенными сигнальными молекулами являются Ras белки, которые активируются на внутренней поверхности цитоплазматических мембран, и которые гидролизуют связанный гуанозинтрифосфат (GTP) до гуанозинтрифосфата (GDP). При активации фактором роста рецепторы фактора роста инициируют цепь реакций, которые приводят к активации обменной активности гуаниновых нуклеотидов на Ras. Ras поочередно переключается между активным состоянием "включенным" со связанным GTP (далее в настоящем изобретении обозначается как "Ras.GTP") и неактивным "выключенным" состоянием со связанным GDP. Активное "включенное" состояние, Ras.GTP, связывается с и активирует белки, которые контролируют рост и дифференциацию клеток.

Например, в "каскаде митоген-активированной протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase (MAP kinase))" Ras.GTP приводит к активации каскада серин/треонин киназ. Одной из нескольких групп киназ, для которых известна необходимость Ras.GTP для их собственной активации, является Raf семейство. Raf белки активируют "MEK1" и "MEK2," сокращения для активированных митогеном ERK-активирующих киназ (mitogen-activated ERK-activating kinases) (где ERK представляет собой протеинкиназу, регулируемую внеклеточными сигналами, другое обозначение для MAPK). MEK1 и MEK2 являются серин/треонин и тирозин-протеинкиназами с двойственной функцией и также известны как киназы MAP киназы. Таким образом, Ras.GTP активирует Raf, который активирует MEK1 и MEK2, которые активируют MAP киназу (MAPK). Полагают, что активация MAP киназы митогенами является важной для пролиферации, и конститутивная активация этой киназы достаточна для индукции клеточной трансформации. Блокирование нижерасположенного Ras передачи сигналов, как осуществляется с помощью доминантно-негативного Raf-1 белка, может полностью ингибировать митогенез, либо вследствие индукции с рецепторов клеточной поверхности или с онкогенных Ras мутантов.

Взаимодействие Raf и Ras является ключевой регуляторной стадией контроля пролиферации клеток. До настоящего времени не было идентифицировано других субстратов MEK, кроме MAPK; тем не менее, в недавних исследованиях показано, что MEK также может активироваться другими вышерасположенными сигнальными белками, такими как MEK киназа или MEKK1 и PKC. Активированная MAPK перемещается и накапливается в ядре, где она может фосфорилировать и активировать транскрипционные факторы, такие как Elk-1 и Sap1a, что приводит к усиленной экспрессии генов, такие как, например, для c-fos.

При активации Raf и другие киназы фосфорилируют MEK по двум соседним сериновым остаткам, S²¹⁸ и S²²² в случае MEK1. Эти фосфорилирования необходимы для активации MEK в качестве киназы. В свою очередь, MEK фосфорилирует MAP киназу по двум остаткам, разделенным единственной аминокислотой: тирозином, Y¹⁸⁵, и треонином, T¹⁸³. Полагают, что MEK крепко связана с MAP киназой перед ее фосфорилированием, что позволяет предположить, что для фосфорилирования MAP киназы с помощью MEK может быть необходимым предварительное сильное взаимодействие между двумя белками. Два фактора - необычная специфичность MEK и его необходимость для сильного взаимодействия с MAP

киназой перед фосфорилированием - подтверждают тот факт, что МЕК-механизм действия может существенно отличаться от механизмов других протеинкиназ, что предоставляют возможность обнаружения селективных ингибиторов МЕК. Возможно, такие ингибиторы будут действовать через аллостерические механизмы, а не посредством более обычного механизма, задействующего блокирование сайта связывания АТФ.

Таким образом, МЕК1 и МЕК2 являются обоснованными и признанными мишенями для антипролиферативных терапий, даже если онкогенная мутация не затрагивает структуру или экспрессию МЕК. См., например, опубликованные заявки на патент US2003/0149015 (изобретатели Barrett и др.) и US2004/0029898 (изобретатели Boyle и др.).

Описано несколько примеров 1-замещенных-2-(n-замещенных-фениламино)арильных ингибиторов МЕК. В патентах US6440966 и US6750217 и соответствующей публикации WO 00/42003 описаны сложные эфиры карбоновой и гидроксамовой кислоты и N-замещенные амидные производные сложных эфиров сульфонамид-замещенных-2-(4-йодфениламино)бензойной кислоты и N-замещенных бензамидов, которые действуют в качестве МЕК ингибиторов. Сульфонамид также может быть N-замещенным.

В патенте US6545030 и соответствующей публикации WO 00/42029 описаны МЕК ингибиторы, которые представляют собой 1-гетероцикл-2-(4-йодфениламино)бензол, где гетероцикл представляет собой пятичленное азотсодержащее кольцо, такое как пиразол, триазол, оксазол, изоксазол и изоксазолин. В более поздней опубликованной заявке на патент US2005/004186 описаны родственные соединения, в которых 4-йод заместитель патента US6545030 заменен очень большим классом компонентов, таких как алкил, алкокси, ацилокси, алкенил, карбамоил, карбамоилалкил, карбоксил, карбоксилалкил, N-ацилсульфонамидо и другие.

В патенте US6469004 и соответствующей публикации WO 00/42022 описаны сложные эфиры карбоновой и гидроксамовой кислот группы гетероциклоконденсированных фениленовых соединений, т.е. бензимидазолы, бензооксазолы, бензотиазолы, бензотиадиазолы, хиразолины и др. Гетероциклы представляют собой сложные эфиры 7-F-6-(4-йодфениламино)-5-карбоновой кислоты, амиды карбоновой кислоты или сложные эфиры гидроксамовой кислоты. В более поздних публикациях US 2005/0026970 описаны сходные соединения, в которых 4-йод заместитель заменен очень большим классом структур. Родственные соединения описаны в опубликованных патентных заявках WO 03/077855, WO 03/77914 и US2005/0554701. Дальнейшие примеры сложных эфиров 2-(4-йодфениламино)фенилгидроксамовой кислоты, которые описаны как пригодные в качестве МЕК ингибиторов, можно найти в WO 2005/028426.

В опубликованной патентной заявке WO 02/06213 и соответствующей заявке US10/333399 (US2004/0054172) описаны гидроксизамещенные кислотные эфиры 1-оксаминовой кислоты - 2-(4-галофениламино)-3,4-дифторбензола. В патенте US6891066 и соответствующей публикации WO 03/62191 описаны сходные соединения, в которых 4-галозаместитель заменен очень большим классом структур. Заместителями в 4-м положении являются метил, этил, этинил и 2-гидроксиэтил. Специфические сходные соединения описаны в патенте US6770778.

В патентной заявке WO 04/083167 (на японском), опубликованной 30 сентября 2004 г., описано больше двух тысяч - но представлены ЯМР-данные только для 400 - 1-(N-замещенных сульфонил мочевины)-2-(2,4-дигалофениламино)-3,4-дифторбензолов и предполагается, что они являются пригодными в качестве МЕК ингибиторов. Данные, указывающие на ингибирование МЕК, представлены для только подгруппы из двенадцати соединений. Дополнительно к вторичному или третичному амину эти двенадцать соединений все содержат одну из следующих групп: N,N-двухзамещенную сульфонил мочевины, N-пиперазинсульфонамид, N-пиперидинсульфонамид или N-пирролидинсульфонамид.

МЕК каскад также вовлечен в воспалительные заболевания и нарушения; в опубликованной заявке на патент US2006/0030610 (изобретатели Koch и др.), опубликованной заявке на патент US2006/0140872 (изобретатели Fugie и др.). Они включают как острые, так и хронические воспалительные нарушения. Примерами таких нарушений являются аллергический контактный дерматит, ревматоидный артрит, остеоартрит, воспалительные заболевания кишечника, хроническое обструктивное заболевание легких, псориаз, рассеянный склероз, астма, заболевания и нарушения, связанные с осложнениями диабета, и воспалительные осложнения сердечно-сосудистой системы, такие как острый коронарный синдром. Воспалительными заболеваниями кишечника являются болезнь Крона и язвенный колит.

МЕК1 и МЕК2 являются обоснованными и признанными мишенями для антипролиферативных терапий, даже если онкогенная мутация не затрагивает структуру или экспрессию МЕК. См., например, опубликованные заявки на патент US2003/0149015 (изобретатели Barrett и др.) и US2004/0029898 (изобретатели Boyle и др.).

Сущность изобретения

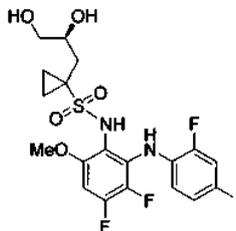
Настоящее изобретение относится к кристаллической полиморфной форме А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которая имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере 50% пиков, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

Предпочтительно, если эта кристаллическая полиморфная форма А имеет порошковую рентгенограмму, которая содержит по меньшей мере 70%, в особенности по меньшей мере 90% пиков, идентифи-

цированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

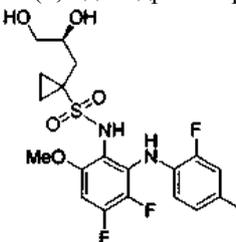
Более предпочтительно, если эта кристаллическая полиморфная форма А имеет порошковую рентгенограмму, по существу, идентичную порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

Соединение N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид также обозначается в настоящем изобретении как "Соединение А" или "N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид"



Соединение А характеризуется как "S" изомер путем получения R- и S-МТРА сложных эфиров на вторичном спирте и сравнения различия химического сдвига протона. См., например, Dale, J.A.; Mosher, H.S., J. Am. Chem. Soc., 1973, 95, 512 и Ohtani и др., J. Am. Chem. Soc., 1991, 113, 4092.

Изобретение также относится к кристаллической полиморфной форме А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида



которая проявляет специфическую картину дифференциальной сканирующей калориметрии, которая является, по существу, идентичной картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6.

Предпочтительно кристаллический полиморф имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

Предпочтительно кристаллический полиморф, по существу, не содержит воды.

Предпочтительно кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворителя.

Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, которые содержат эффективное количество кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида и фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель.

Предпочтительно кристаллическая полиморфная форма А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида пригодна для лечения или предотвращения злокачественного новообразования или воспалительного заболевания.

Предпочтительно фармацевтические композиции дополнительно содержат фармацевтически приемлемый носитель. Такие композиции могут содержать адъюванты, эксципиенты и консерванты, вещества для замедления абсорбции, наполнители, связующие вещества, адсорбенты, буферы, распадающиеся вещества, солюбилизующие компоненты, другие носители и другие инертные компоненты. Способы приготовления таких композиций хорошо известны в данной области техники.

Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в форме, подходящей для перорального введения. Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в форме таблетки, капсулы, пилюли, порошка, препарата с замедленным высвобождением, раствора, суспензии, для парентеральной инъекции в виде стерильного раствора, суспензии или эмульсии, для местного введения в виде мази или крема или для ректального введения в виде суппозитория. Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,002 до приблизительно 6 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,005 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения

составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки.

Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми. Предпочтительно активное соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят больше четырех раз в сутки.

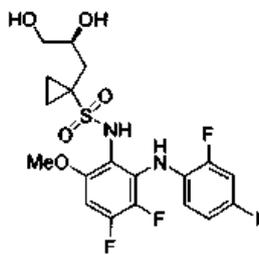
Предпочтительно фармацевтическая композиция предназначена для введения млекопитающему. Предпочтительно млекопитающим является человек.

Предпочтительно фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтический носитель, эксципиент и/или адъювант. Также фармацевтическая композиция дополнительно может содержать по меньшей мере еще одно терапевтическое средство, которое выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Например, противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопоетические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство представляет собой таксол, ботрезомиб или оба средства. Также фармацевтическая композиция может использоваться в комбинации с дополнительной терапией, которая представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию.

Предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 1-100 мг активного соединения. Предпочтительно композиция позволяет модифицировать высвобождение соединения. Например, композиция позволяет замедлить высвобождение соединения. Предпочтительно композиция позволяет отсрочить высвобождение соединения. Предпочтительно соединение присутствует в количестве приблизительно 1-50 мг. Более предпочтительно соединение присутствует в количестве приблизительно 1-10 мг. Предпочтительно соединение присутствует в количестве приблизительно 10-20 мг. Предпочтительно соединение присутствует в количестве приблизительно 20-40 мг. Предпочтительно соединение присутствует в количестве приблизительно 40-50 мг.

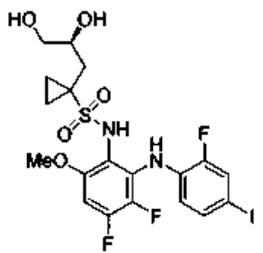
Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 1-50 мг активного соединения, где композиция позволяет модифицировать высвобождение лекарственного средства. Предпочтительно композиция дополнительно содержит микрокристаллическую целлюлозу. Предпочтительно композиция дополнительно содержит кроскармеллозу натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит лаурилсульфат натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит стеарат магния.

Композиция может содержать приблизительно 1 мг активного соединения, имеющего следующую структуру:



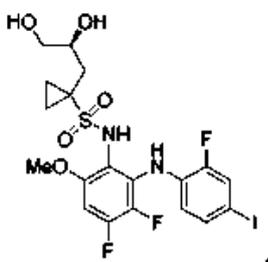
Предпочтительно такая композиция дополнительно содержит приблизительно 222,2 мг микрокристаллической целлюлозы. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 10 мг соединения, имеющего следующую структуру:



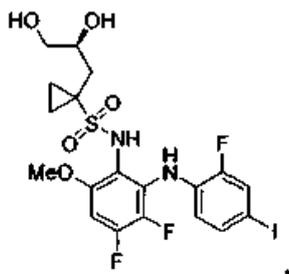
Предпочтительно такая композиция дополнительно содержит приблизительно 213,2 мг микрокристаллической целлюлозы. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 20 мг соединения, имеющего следующую структуру:



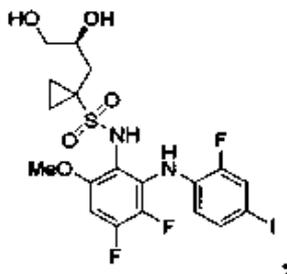
Предпочтительно такая композиция дополнительно содержит приблизительно 203,2 мг микрокристаллической целлюлозы. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 40 мг соединения, имеющего следующую структуру:



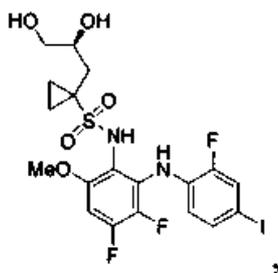
Предпочтительно такая композиция дополнительно содержит приблизительно 183,2 мг микрокристаллической целлюлозы. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия. Предпочтительно композиция дополнительно содержит приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 0,4 вес.% соединения, имеющего следующую структуру:



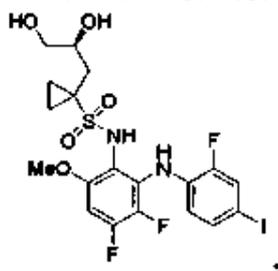
и приблизительно 99,6 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. Предпочтительно фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. Предпочтительно микрокристаллическая целлюлоза составляет приблизительно 92,6 вес.% композиции. Композиция может дополнительно содержать приблизительно 5 вес.% кроскармеллозы натрия. Также композиция может дополнительно содержать приблизительно 1 вес.% лаурилсульфата натрия. Помимо этого, композиция может дополнительно содержать приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 4,2 вес.% соединения, имеющего следующую структуру:



и приблизительно 95,8 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. Предпочтительно фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. Предпочтительно микрокристаллическая целлюлоза составляет приблизительно 88,8 вес.% композиции. Композиция может дополнительно содержать приблизительно 5 вес.% кроскармеллозы натрия. Также композиция может дополнительно содержать приблизительно 1 вес.% лаурилсульфата натрия. Помимо этого, композиция может дополнительно содержать приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих от приблизительно 2 до приблизительно 10 вес.% соединения, имеющего следующую структуру:



и от приблизительно 98 до приблизительно 90 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. Предпочтительно фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель дополнительно содержит микрокристаллическую целлюлозу. Предпочтительно микрокристаллическая целлюлоза составляет от приблизительно 85 до приблизительно 95 вес.% композиции. Композиция может дополнительно содержать от приблизительно 1 до приблизительно 6 вес.% кроскармеллозы натрия. Также композиция может дополнительно содержать от приблизительно 0,1 до приблизительно 2 вес.% лаурилсульфата натрия. Помимо этого, композиция может дополнительно содержать от приблизительно 0,25 до приблизительно 1,5 вес.% стеарата магния.

Полиморфная форма А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида может быть получена с помощью способа, включающего стадию кристаллизации аморфного N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида. Предпочтительно стадия кристаллизации включает кристаллизацию из смеси этилацетата и гептана. Предпочтительно смесь этилацетата и гептана содержится в количественном отношении от приблизительно 1-4 частей этилацетата до приблизительно 2-10 частей гептана. Предпочтительно смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении от приблизительно 2 частей этилацетата до приблизительно 5 частей гептана.

Предложенная полиморфная форма может быть использована для ингибирования МЕК ферментов путем контактирования указанного МЕК фермента с соединением или композицией, описанными в данном изобретении, где соединение присутствует в количестве, достаточном для ингибирования указанного фермента по меньшей мере на 25%. Предпочтительно МЕК фермент представляет собой МЕК киназу. Предпочтительно указанное контактирование осуществляют в клетке.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения нарушения, опосредованного МЕК, у особи, страдающей от указанного нарушения, путем введения указанному индиви-

дууму эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предпочтительно МЕК ингибитор вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, лечение с помощью ингибитора другой киназы, отличающейся от МЕК, химиотерапию, хирургию, глюкокортикоид, метотрексат, модификаторы биологического отклика или любую их комбинацию. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, выбирают из группы, включающей воспалительные заболевания, инфекции, аутоиммунные нарушения, удар, ишемию, нарушение сердечной деятельности, неврологические нарушения, фиброгенетические нарушения, пролиферативные нарушения, гиперпролиферативные нарушения, опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы, метаболические заболевания и злокачественные заболевания. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой гиперпролиферативное заболевание. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой злокачественное новообразование, опухоли, лейкозы, новообразования или карциномы. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой воспалительное заболевание. Предпочтительно указанное воспалительное заболевание представляет собой ревматоидный артрит или рассеянный склероз.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения или профилактики пролиферативного заболевания у индивидуума путем введения указанному индивидууму эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предпочтительно пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование, псориаз, рестеноз, заболевание или атеросклероз. Предпочтительно пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки, лейкоз, миелолейкоз, глиобластому, фолликулярную лимфому, острый лейкоз предшественников В-клеток, В-клеточный хронический лимфолейкоз, рак желудка, мезотелиому или мелкоклеточный рак легких. Предпочтительно дополнительно может быть введено по меньшей мере еще одно терапевтическое средство. Предпочтительно может быть использована по меньшей мере еще одна дополнительная терапия злокачественного новообразования, которая представляет собой лучевую терапию, лечение с помощью ингибитора другой киназы, отличающейся от МЕК, химиотерапию, хирургию, глюкокортикоид, метотрексат, модификаторы биологического отклика или любую их комбинацию.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения или профилактики воспалительного заболевания у индивидуума путем введения указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит соединение, как описано в данном изобретении. Предпочтительно воспалительное заболевание представляет собой ревматоидный артрит или рассеянный склероз.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для разрушения, ингибирования роста или уничтожения раковых клеток путем контактирования клеток с таким количеством соединения или композиции, как описано в данном изобретении, которое является эффективным для разрушения, ингибирования роста или уничтожения раковых клеток. Предпочтительно раковые клетки включают раковые клетки головного мозга, молочной железы, легких, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, почки, желудка или ободочной и прямой кишки.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для ингибирования увеличения размера опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения пролиферации опухоли или предотвращения пролиферации опухоли у индивидуума путем введения указанному индивидууму эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении, для ингибирования увеличения размера опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения пролиферации опухоли или предотвращения пролиферации опухоли. Предпочтительно опухоль возникает в головном мозге, молочной железе, легких, яичниках, поджелудочной железе, предстательной железе, почках, желудке, ободочной кишке или прямой кишке.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения или предотвращения анкилозирующего спондилита, подагры, тендинита, бурсита или ишиалгии.

Предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения рака желудка путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения лейкомической меланомы или гепатомы путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении.

Предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения немелкоклеточного рака легких путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предложенная полиморфная форма также может быть использована для лечения рака толстой кишки путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предложенная полиморфная форма также может быть использована для лечения рака ЦНС путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предложенная полиморфная форма также мо-

жет быть использована для лечения рака яичника путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предложенная полиморфная форма также может быть использована для лечения рака почки путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предложенная полиморфная форма также может быть использована для лечения рака предстательной железы путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предложенная полиморфная форма также может быть использована для лечения рака молочной железы путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении. Предпочтительно дополнительно может быть введено по меньшей мере еще одно терапевтическое средство. Также предпочтительно, если осуществляют по меньшей мере одну дополнительную противораковую терапию, которая представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения или предотвращения псориаза путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данном изобретении в местной дозированной форме.

Предпочтительно композиции вводят перорально. Предпочтительно композицию вводят один раз в сутки или два раза в сутки. Предпочтительно композицию вводят один раз в сутки в течение по меньшей мере одной недели.

Предпочтительно при пероральном введении композиции T_{max} соединения достигается в промежутке от 1 до 3 ч после введения композиции страдающему субъекту. Предпочтительно при введении субъекту соединение достигает C_{max} в промежутке от приблизительно 0,01 до приблизительно 1,0 мкг/мл в день 1. Предпочтительно при введении субъекту соединение достигает C_{max} в промежутке от приблизительно 0,01 до приблизительно 0,8 мкг/мл в день 1. Предпочтительно при введении субъекту соединение достигает C_{max} в промежутке от приблизительно 0,03 до приблизительно 0,5 мкг/мл в день 1. Предпочтительно соединение имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мкг·ч/мл в течение 0-12 ч. Предпочтительно соединение имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 4,0 мкг·ч/мл. Предпочтительно соединение имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,5 до приблизительно 3,0 мкг·ч/мл. Предпочтительно соединение имеет T_{max} в промежутке от 0,5 до 5,0 ч. Предпочтительно соединение имеет T_{max} в промежутке от 1,0 до 3,0 ч. Предпочтительно соединение имеет T_{max} в промежутке от 1,0 до 2,5 ч. Предпочтительно соединение имеет концентрацию в плазме больше, чем приблизительно 0,01 мг/мл через 5 ч после введения разовой дозы. Предпочтительно соединение имеет концентрацию в плазме больше, чем приблизительно 0,01 мг/мл через 10 ч после введения разовой дозы. Предпочтительно соединение имеет концентрацию в плазме больше, чем приблизительно 0,01 мг/мл через 15 ч после введения разовой дозы.

Предпочтительно при введении группе из 10 субъектов соединение достигает среднего C_{max} в промежутке от приблизительно 0,01 до приблизительно 1,0 мкг/мл в день 1. Предпочтительно при введении группе из 10 субъектов соединение достигает среднего C_{max} в промежутке от приблизительно 0,01 до приблизительно 0,8 мкг/мл в день 1. Предпочтительно при введении группе из 10 субъектов соединение достигает среднего C_{max} в промежутке от приблизительно 0,03 до приблизительно 0,5 мкг/мл в день 1. Предпочтительно соединение имеет среднее значение AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мкг·ч/мл. Предпочтительно соединение имеет среднее значение AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 4,0 мкг·ч/мл. Предпочтительно соединение имеет среднее значение AUC в промежутке от приблизительно 0,5 до приблизительно 3,0 мкг·ч/мл. Предпочтительно соединение имеет среднее T_{max} в промежутке от 0,5 до 5,0 ч. Предпочтительно соединение имеет среднее T_{max} в промежутке от 1,0 до 3,0 ч. Предпочтительно соединение имеет среднее T_{max} в промежутке от 1,0 до 2,5 ч.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для уменьшения объема опухоли путем введения соединений и композиций, как описано в данном изобретении. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 5 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 25%. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 5 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 50%. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 5 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 20-70%. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 15 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 25%. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 15 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 50%. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 15 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 20-70%. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 30 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 25%. Предпочтительно после ежедневного введения лекарственного средства в течение 30 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 50%. Предпочтительно после ежедневного введения

лекарственного средства в течение 30 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 20-70%.

Также предложенная полиморфная форма может быть использована для ингибирования роста опухоли путем введения соединений и соединений, как описано в данном изобретении. Предпочтительно после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 20%. Предпочтительно после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 40%. Предпочтительно после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 60%. Предпочтительно после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 80%. Предпочтительно после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется в промежутке от приблизительно 20 до приблизительно 100%. Предпочтительно после введения лекарственного средства рост опухоли в значительной степени ингибирован.

Предпочтительно композицию вводят два раза в сутки. Предпочтительно композицию вводят один раз в сутки.

Предпочтительно МЕК ингибитор не интерферирует с совместным введением другого средства, подавляющего опухоль.

Предпочтительно композиция находится в форме таблетки, капсулы, желатиновой капсулы, капли, пеллеты или гранулы. Предпочтительно композиция находится в дозированной форме в виде капсулы или таблетки, имеющей общий вес от приблизительно 50 до приблизительно 1000 мг. Предпочтительно композиция находится в форме капсулы или таблетки, имеющей общий вес, выбранный из группы, включающей 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 и 500 мг. Предпочтительно композиция находится в форме капсулы или таблетки, имеющей общий вес от приблизительно 240 мг.

Предпочтительно композиция дополнительно содержит по меньшей мере один наполнитель, выбранный из группы, включающей микрокристаллическую целлюлозу, силикатированную микрокристаллическую целлюлозу, лактозу, сжимаемый сахар, ксилит, сорбит, маннит, желатинированный крахмал, мальтодекстрин, фосфат кальция, карбонат кальция, крахмал и силикат кальция.

Предпочтительно композиция дополнительно содержит по меньшей мере одно средство, вызывающее дезинтеграцию, выбранное из группы, включающей кроскармеллозу натрия, крахмалгликолят натрия, кросповидон, метилцеллюлозу, альгиновую кислоту, альгинат натрия, производные крахмала, бентонит и вигум.

Предпочтительно композиция дополнительно содержит по меньшей мере одно смазывающее вещество, выбранное из группы, включающей стеарат магния, стеараты металлов, тальк, стеарилфумарат натрия и стеариновую кислоту.

Предпочтительно композиция дополнительно содержит по меньшей мере одно смачивающее средство или поверхностно-активное вещество, выбранное из группы, включающей лаурилсульфат натрия, глицерин, сорбитанолеаты, сорбитанстеараты, полиоксиэтиленированный сорбитанлаурат, пальмитат, стеарат, олеат или гексаолат, полиоксиэтиленовый стеариловый спирт и сорбитанмонолаурат.

Композиции могут быть использованы в форме капсулы или таблетки, и капсула или таблетка высвобождает по меньшей мере 60% лекарственного средства в течение 30 мин, используя Фармакопею US (USP) Аппарат II при 50 об/мин с 1% лаурилсульфатом натрия в воде в качестве среды растворения. Предпочтительно композиция находится в форме капсулы или таблетки и капсула или таблетка высвобождает около 60-100% лекарственного средства в течение 30 мин, используя Фармакопею US (USP) Аппарат II при 50 об/мин с 1% лаурилсульфатом натрия в воде в качестве среды растворения. Предпочтительно композиция находится в форме капсулы или таблетки и капсула или таблетка высвобождает около 60-90% лекарственного средства в течение 30 мин, используя Фармакопею US (USP) Аппарат II при 50 об/мин с 1% лаурилсульфатом натрия в воде в качестве среды растворения. Предпочтительно композиция находится в форме капсулы или таблетки и капсула или таблетка высвобождает около 60-80% лекарственного средства в течение 30 мин, используя Фармакопею US (USP) Аппарат II при 50 об/мин с 1% лаурилсульфатом натрия в воде в качестве среды растворения.

Партия капсул или таблеток, каждая содержит от приблизительно 1 до приблизительно 50 мг соединения, как описано в данном изобретении, имеет приемочное число согласно USP относительно однородности состава меньше чем приблизительно 15.

Ингибирование МЕК фермента

Предложенная полиморфная форма может быть использована для ингибирования МЕК фермента. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 1%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 2%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 3%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 4%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 5%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 10%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 20%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 25%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 30%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 40%.

Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 50%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 60%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 70%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 75%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 80%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 90%. Предпочтительно фермент, по существу, полностью ингибирован. Предпочтительно МЕК фермент представляет собой МЕК киназу. Предпочтительно МЕК фермент представляет собой МЕК1. Предпочтительно МЕК фермент представляет собой МЕК2. Предпочтительно контактирование происходит в клетке. Предпочтительно клетка представляет собой клетку млекопитающего. Предпочтительно клетка млекопитающего представляет собой клетку человека.

Нарушение, опосредованное МЕК

Предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения нарушения, опосредованного МЕК, у особи, страдающей от указанного нарушения, путем введения указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит активное соединение. Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в форме, подходящей для перорального введения. Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в форме таблетки, капсулы, пилюли, порошка, препаратов с замедленным высвобождением, раствора, суспензии, для парентеральной инъекции в виде стерильного раствора, суспензии или эмульсии, для местного введения в виде мази или крема или для ректального введения в виде суппозитория. Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. Предпочтительно фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтический носитель, эксципиент и/или адьювант.

Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно активное соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения формулы I вводят два раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от нарушения, опосредованного МЕК, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Предпочтительно композицию, содержащую активное соединение, вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию, которая содержит активное соединение, вводят в комбинации по меньшей мере с еще одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, выбирают из группы, включающей воспалительные заболевания, инфекции, аутоиммунные нарушения, удар, ишемию, нарушение сердечной деятельности, неврологические нарушения, фиброгенетические нарушения, пролиферативные нарушения, гиперпролиферативные нарушения, незлокачественные гиперпролиферативные нарушения, опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы, метаболические заболевания, злокачественное заболевание, сосудистый рестеноз, псориаз, атеросклероз, ревматоидный артрит, остеoarthritis, сердечную недостаточность, хроническую боль, невропатическую боль, сухость глаз, закрытоугольную глаукому и открытоугольную глаукому. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой воспалительное заболевание. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК,

представляет собой гиперпролиферативное заболевание. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, выбирают из группы, включающей опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак желудка, рак почки, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. Предпочтительно фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких.

Обеспечиваемые эффекты

Предложенная полиморфная форма может обеспечить достижение эффекта у пациента, где эффект выбирают из группы, включающей ингибирование различных злокачественных новообразований, иммунологических заболеваний и воспалительных заболеваний. Предпочтительно эффект представляет собой ингибирование различных злокачественных новообразований. Предпочтительно эффект представляет собой ингибирование иммунологических заболеваний. Предпочтительно эффект представляет собой ингибирование воспалительных заболеваний.

Предпочтительно композицию активного соединения вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию активного соединения вводят в комбинации по меньшей мере еще с одним терапевтическим средством.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно активное соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Предложенная полиморфная форма может быть использована для разрушения, ингибирования роста или уничтожения раковой клетки путем контактирования указанной клетки с таким количеством композиции, которое эффективно для разрушения, ингибирования роста или уничтожения указанной раковой клетки.

Предпочтительно раковые клетки включают клетки головного мозга, молочной железы, легкого, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, почки или ободочной и прямой кишки. Предпочтительно композицию вводят по меньшей мере с еще одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство представляет собой таксол, ботрезомиб или оба средства. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевые средства выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста. Предпочтительно раковые клетки разрушаются. Предпочтительно разрушается 1% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 2% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 3% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 4% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 5% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 10% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 20% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 25% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 30% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 40% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 50% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 60% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 70% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 75% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 80% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 90% раковых клеток. Предпочтительно разрушается 100% раковых клеток. Предпочтитель-

уменьшается по меньшей мере на 75%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 80%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 90%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 95%. Предпочтительно пролиферация опухоли предотвращается. Предпочтительно вышеуказанные влияния на пролиферацию клеток происходят в течение одного дня, пяти дней, десяти дней, одного месяца, двух месяцев, шести месяцев или одного года.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере с еще одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины, противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно активное соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Пролиферативные заболевания

Предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения или профилактики пролиферативного заболевания у индивидуума путем введения указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит активное соединение. Предпочтительно пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование, псориаз, рестеноз, аутоиммунное заболевание или атеросклероз. Предпочтительно пролиферативное заболевание представляет собой гиперпролиферативное заболевание. Предпочтительно пролиферативное заболевание выбирают из группы, включающей опухоли, лейкемии, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки, рак желудка, рак головы и шеи или лейкоз. Предпочтительно фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких, предпочтительно рак желудка, рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, немелкоклеточный рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак печени, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак почки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак ободочной и прямой кишки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой миелолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой глиобластому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. Предпочтительно злокачественное но-

вообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мелкоклеточный рак легких. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере еще с одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины, противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста.

Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств. Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально.

Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно активное соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от пролиферативного заболевания, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Воспалительные заболевания

Предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения или профилактики воспалительного заболевания у индивидуума путем введения указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит активное соединение. Предпочтительно воспалительное заболевание выбирают из группы, включающей хронические воспалительные заболевания, ревматоидный артрит, ревматоидный артрит, спондилоартропатии, подагрический артрит, остеоартрит, болезнь Стилла, острый ревматоидный артрит, энтеропатический артрит, невропатический артрит, псориазический артрит, гнойный артрит, атеросклероз, системную красную волчанку, воспалительные заболевания кишечника, синдром раздраженной толстой кишки, неспецифический язвенный колит, рефлюксный эзофагит, болезнь Крона, гастрит, астму, аллергии, респираторный дистресс-синдром, панкреатит, хроническое обструктивное заболевание легких, фиброз легких, псориаз, экзему или склеродермию.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере еще с одним терапевтическим средством.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно активное соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от воспалительного заболевания, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Злокачественное новообразование

Предложенная полиморфная форма может быть использована для лечения или профилактики злокачественного новообразования у индивидуума путем введения указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит активное соединение. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак желудка, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. Предпочтительно фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак желудка, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак почки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак ободочной и прямой кишки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой миелолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой глиобластому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мелкоклеточный рак легких. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере еще с одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антимаболиты, эпидофиллотоксины, противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопоэтические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество активного соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество активного соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными.

Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми. Предпочтительно активное соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно активное соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно

индивидуум представляет собой человека.

Включение путем ссылки

Все публикации и патентные заявки, указанные в настоящем патенте, включены в настоящее изобретение путем ссылки таким же образом, если бы каждая отдельно указанная публикация или патентная заявка была специфически и индивидуально включена путем ссылки.

Краткое описание фигур

Характерные особенности изобретения изложены более подробно в пунктах приложенной формулы изобретения. Лучшее понимание особенностей и преимуществ настоящего изобретения обеспечивается посредством ссылки на последующее подробное описание, в котором изложены иллюстративные варианты осуществления изобретения, в которых используются принципы изобретения, и их сопровождающие фигуры.

На фиг. 1 показаны графики среднего объема опухоли в промежутке времени (дни) у мышей с имплантированными клетками A375 меланомы, Colo205 опухоли ободочной кишки, A431 эпидермоидной опухоли или HT-29 опухоли ободочной кишки. Мышам вводили дозы лекарственного средства перорально (25, 50 или 100 мг/кг), один раз в сутки, в течение 14 дней.

На фиг. 2 показан диаграмма % ингибирования роста опухоли (%TGI) у мышей с ксенотрансплантами A375, которым вводили дозы лекарственного средства 50 мг/кг QD, 25 мг/кг BID, 50 мг/кг QD и 12,5 мг/кг BID.

На фиг. 3 показан график концентрации в плазме (log nM) относительно pERK % ингибирования у самок мышей pu/pu с имплантированными опухолевыми клетками Colo205. Мышам вводили однократную дозу 2,5, 5, 10 или 25 мг/кг.

На фиг. 4 показан график концентрации в плазме (нг/мл) в промежутке времени (часы) у людей после введения однократной дозы 2 мг (капсулы 2×1 мг), 4 мг (капсулы 4×1 мг) или 6 мг (капсулы 6×1 мг).

На фиг. 5 представлен график порошковой рентгенограммы (PXRD) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида форма А, полученный с помощью дифрактометра Inel XRG-3000. На графике представлена интенсивность пиков, как определено на основе числа импульсов в секунду относительно угла дифракции 2θ в градусах.

На фиг. 6 представлен график термограммы модулированной дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида форма А, полученный с помощью дифференциального сканирующего калориметра TA Instruments Q1000. На графике представлен нормализованный тепловой поток в единицах Вт/грамм (Вт/г) относительно измеренной температуры образца в °C.

На фиг. 7 представлены графики картины PXRD N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида форма А (вверху) и N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида аморфный (внизу), полученные с помощью дифрактометра Inel XRG-3000. На графике представлена интенсивность пиков, как определено на основе числа импульсов в секунду относительно угла дифракции 2θ в градусах.

На фиг. 8 представлена изотерма сорбции/десорбции динамического испарения (DVS) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида форма А, полученная с помощью анализатора испарительной сорбции VTI SGA-100.

На фиг. 9 показана термограмма термогравиметрии (TG) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида форма (А), полученная с помощью термогравиметрического анализатора TA Instrument 2950.

На фиг. 10(A) и 10(B) показана остановка роста делящихся A375 клеток в Log фазе, подвергаемых воздействию повышенных концентраций N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида. Клетки анализировали относительно содержания АТР. Определяли 100% остановку роста, используя 1 мкМ N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

На фиг. 11 представлено 48-часовое АК исследование в A375 клетках. Делящиеся A375 клетки в Log фазе подвергали воздействию N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида и PD-325901 в течение 48 ч и анализировали относительно высвобождения АК.

На фиг. 12(A)-12(C) показано ингибирование роста с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (А) клеток колоректальной карциномы человека Colo205 (GI₅₀=11 нМ); (B) A375 клеток (GI₅₀=22 нМ) и (C) ингибирование MDA-MB231 клеток, которые не проявляют индуцированную N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом остановку роста в 2-мерных исследованиях зависимых от закоривания.

На фиг. 13(A) показано ингибирование роста клеток колоректальной карциномы человека Colo205, со значениями GI₅₀ при концентрации 6 и 11 нМ соответственно. На фиг. 13(B) показано ингибирование

роста A375 клеток со значениями GI_{50} при концентрации 5 и 22 нМ.

На фиг. 14(A) и 14(B) показано влияние N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида на осуществление клеточного цикла, свидетельствующее о том, что воздействие на A375 клетки N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида вызывает остановку в G1 фазе клеточного цикла, на что указывает истощение клеток как в G2 фазе, так и S фазе.

На фиг. 15(A) и 15(B) показано влияние N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида на клеточную линию AGS рака желудка (аденокарцинома желудка) через 3 дня (фиг. 15(A)) и 6 дней (фиг. 15(B)). На оси Y представлено количество клеток относительно наполнителя, а на оси X в мкМ концентрация N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

На фиг. 16 показано среднее значение веса печени у мышей, несущих опухоль, после лечения с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (2 мг/кг, один раз в сутки, перорально; 10 мг/кг, один раз в сутки, перорально и 50 мг/кг, один раз в сутки, перорально).

На фиг. 17 показан вес опухоли печени у мышей, несущих опухоль, после лечения с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (2 мг/кг, один раз в сутки, перорально; 10 мг/кг, один раз в сутки, перорально и 50 мг/кг, один раз в сутки, перорально).

На фиг. 18 показан средний вес опухоли после лечения с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (2; 10 и 50 мг/кг).

На фиг. 19 показано ингибирование пролиферации клеток Hs746t графически для количества клеток (относительно наполнителя) в зависимости от концентрации N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

На фиг. 20(A) представлен график сравнения соответствующих уровней апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 5 лечения клеток MV522 немелкоклеточного рака легких (NSCLC). На фиг. 20(B) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 5 лечения клеток H358 немелкоклеточного рака легких (NSCLC) cells. На фиг. 20(C) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 6 лечения клеток A549 немелкоклеточного рака легких (NSCLC). На фиг. 20(D) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 5 лечения клеток H727 немелкоклеточного рака легких (NSCLC). На фиг. 20(E) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 5 лечения клеток ободочной кишки HT29. На фиг. 20(F) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 6 лечения клеток ободочной кишки HCT116. На фиг. 20(G) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 5 лечения клеток гепатомы ободочной кишки HUH7. На фиг. 20(H) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 5 лечения клеток саркомы U2-OS. На фиг. 20(I) представлен график, демонстрирующий соответствующие уровни апоптоза при повышенных концентрациях N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в день 5 лечения клеток глиомы D37.

На фиг. 21 показана селективность соединения А к MEK1 и MEK2 относительно панели из 205 ферментов при 10 мкМ. Клеточными линиями являлись Colo205, A375, A431 и HT-29.

На фиг. 22 представлен график, демонстрирующий увеличение объема лапы в каждой из леченных групп и уменьшение отека относительно контроля с наполнителем, после введения крысам доз 6, 20, 60 и 200 мг/кг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида на модели отека лапы, индуцированного каррагенаном, у крыс.

На фиг. 23(A) показано ингибирование припухлости на модели артрита, индуцированного адьювантом, в острой фазе у крыс, леченных с помощью 2, 6 и 20 мг/кг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида. На фиг.

23(B) показано ингибирование припухлости на модели артрита, индуцированного адьювантом, в замедленной фазе у крыс, леченных с помощью 2, 6 и 20 мг/кг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

На фиг. 24 показаны средние значения оценки артрита для артрита, индуцированного антителом к коллагену (CAIA), у мышей, леченных с помощью 1, 3 и 10 мг/кг QD N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

Подробное описание изобретения

Заголовки разделов, используемые в данном изобретении, представлены только для организаторских целей и не должны истолковываться как ограничивающие описанный объем изобретения. Все документы или части документов, процитированные в патенте, включая, без ограничений, патенты, патентные заявки, статьи, книги, пособия и учебники, таким образом, полностью включены путем ссылки для любых целей.

Определенная химическая терминология

Если специально не указано иначе, все технические и научные термины, используемые в настоящем изобретении, имеют такие же значения, что и обычно понимаются специалистом в области техники, к которой относится заявленный объект изобретения. Все патенты, патентные заявки, опубликованные материалы, на которые ссылаются в настоящем изобретении, если специально не указано иначе, полностью включены путем ссылки. В том случае, если существует множество определений для терминов, используемых в данном изобретении, преимущество имеет значение, указанное в этом разделе. Если приведена ссылка на URL или другой такой идентификатор или адрес, то подразумевается, что такие идентификаторы могут изменяться и конкретная информация в интернете может добавляться и удаляться, но с помощью поиска можно найти эквивалентную информацию в интернете или другом подходящем справочном материале. Для этой цели ссылка свидетельствует о доступности и открытом распространении такой информации.

Подразумевается, что вышеприведенное общее описание и последующее подробное описание является только иллюстративным и поясняющим и не ограничивает никакие заявленные объекты. В настоящем изобретении использование единственное число охватывает множественное число, если специально не указано иначе. Следует отметить, что, как используется в описании и пунктах приложенной формулы изобретения, формы единственного числа включают ссылки на форму множественного числа, если из контекста очевидно не следуют иное. Также следует отметить, что использование "или" обозначает "и/или", если специально не указано иначе. Кроме того, использование термина "включая", а также другие формы, такие как "включает", "включают" и "включены", не являются ограничивающими.

Определения стандартных химических терминов можно найти в справочниках, включая Carey and Sundberg "Advanced Organic Chemistry", 4-е изд., тома A (2000) и B (2001), Plenum Press, New York. Если специально не указано иначе, применяются общепринятые способы масс-спектрологии, ЯМР, ВЭЖХ, ИК и спектроскопии в УФ и видимой области спектра и фармакология, которые известны для специалиста в данной области техники. Если не представлены специфические определения, то используемые для этого номенклатура, лабораторные методики и техники аналитической химии, синтетической органической химии и медицинской и фармацевтической химии, как описано в данном изобретении, известны в данной области техники. Для химических синтезов, химических анализов, фармацевтических препаратов, приготовления лекарственных средств и доставки и лечения пациентов можно использовать стандартные методики. Взаимодействия и методики очистки можно осуществлять, например, используя наборы спецификаций производителя или как обычно осуществляется в данной области техники или как описано в данном изобретении. Нижеприведенные техники и процедуры обычно осуществляют согласно общепринятым способам, хорошо известным в данной области техники и как описано в различных общих и более специфических пособиях, которые цитируются и обсуждаются в настоящем изобретении. Для всего описания группы и их заместители могут быть выбраны специалистом в данной области для обеспечения стабильных частей и соединений.

Определенная фармацевтическая терминология

Термин "МЕК ингибитор", как используется в данном изобретении, относится к соединению, которое проявляет IC_{50} по отношению к активности МЕК не больше чем приблизительно 100 мкМ или не больше чем приблизительно 50 мкМ, как определяли в исследовании Mek1 киназы, в общем описано в данном изобретении. " IC_{50} " представляет собой концентрацию ингибитора, которая уменьшает активность фермента (например, МЕК) наполовину от максимального уровня. Было обнаружено, что соединения, раскрытые в данном изобретении, проявляют ингибирующее действие на активность МЕК. Соединения согласно настоящему изобретению предпочтительно проявляют IC_{50} по отношению к МЕК не больше чем приблизительно 10 мкМ, более предпочтительно не больше чем приблизительно 5 мкМ, еще более предпочтительно не больше чем приблизительно 1 мкМ и наиболее предпочтительно не больше чем приблизительно 200 нМ, как определено в исследовании Mek1, описанном в данном изобретении.

Термин "субъект", "пациент" или "индивидуум", как используется в данном изобретении, относится к индивидуумам, страдающим от нарушения и т.д., и охватывает млекопитающих и немлекопитающих. Примеры млекопитающих включают, но не ограничиваясь только ими, любой представитель из класса

млекопитающих: человек, приматы, отличающиеся от человека, такие как шимпанзе, и другие человекообразные обезьяны и виды обезьян; сельскохозяйственные животные, такие как крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы, свиньи; домашние животные, такие как кролики, собаки и коты; лабораторные животные, включая грызунов, такие как крысы, мыши и морские свинки и др. Примерами немлекопитающих являются, но не ограничиваясь только ими, птицы, рыбы и др. В одном варианте осуществления способов и композиций, обеспеченных в настоящем изобретении, млекопитающим является человек.

Термины "лечить", "обработка" или "лечение" и другие грамматические эквиваленты, как используются в настоящем изобретении, включают облегчение, ослабление или улучшение симптомов заболевания или состояния, предотвращения дополнительных симптомов, улучшения или предотвращения метаболических причин, лежащих в основе симптомов, ингибирования заболевания или состояния, например, остановки развития заболевания или состояния, облегчение заболевания или состояния, вызывания регрессии заболевания или состояния, облегчение состояния, вызываемого заболеванием или состоянием, или остановки симптомов заболевания или состояния, и также охватывают профилактику. Термины дополнительно включают обеспечение терапевтического преимущества и/или профилактического преимущества. Под терапевтическим преимуществом понимают ликвидацию или ослабление основного нарушения, подвергаемого лечению. Также, терапевтическое преимущество обеспечивается посредством ликвидации или облегчения одного или более физиологических симптомов, связанных с основным нарушением, таким образом, что у пациента наблюдается улучшение, несмотря на то, что пациент все еще может страдать от основного заболевания. Для профилактического преимущества композиции можно вводить пациенту при риске развития конкретного заболевания или пациенту, у которого проявляется один или более физиологических симптомов заболевания, несмотря на то, что само заболевание может быть еще и не диагностировано.

Термины "эффективное количество", "терапевтически эффективное количество" или "фармацевтически эффективное количество", как используется в настоящем изобретении, относится к количеству по меньшей мере одного вводимого средства или соединения, которое достаточно для лечения или предотвращения конкретного заболевания или состояния. Результатом может быть уменьшение и/или облегчение признаков, симптомов или причин заболевания или любого другого изменения биологической системы. Например, "эффективное количество" для терапевтических применений представляет собой количество композиции, содержащей соединение, как описано в данном изобретении, необходимое для обеспечения клинически достоверного уменьшения заболевания. Подходящее "эффективное" количество в любом конкретном случае может быть определено с помощью таких методик, как исследование с увеличением дозы.

Термины "по существу, не содержит воды" и "по существу, не содержит растворителя", как используется в настоящем изобретении, относится к кристаллическим полиморфным формам, содержащим менее 0,01, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1 или 2 вес.% воды или растворителя соответственно.

Термин "по существу, такая же, как и", как используется в настоящем изобретении, относится к порошковой рентгенограмме или картине дифференциальной сканирующей калориметрии, которая может не быть идентичной представленным в данном изобретении, но которая подпадает в пределах погрешности эксперимента, которое принимается во внимание специалистом в данной области техники.

Термины "применять", "вводить", "введение" и др., как используется в настоящем изобретении, относится к способам, которые могут использоваться для предоставления возможности доставки соединений или композиций в желательный участок биологического действия. Эти способы включают, но не ограничиваясь только ими, включают пероральные пути, интрадуоденальные пути, перитонеальную инъекцию (включая внутривенную, подкожную, внутривнутрибрюшинную, внутримышечную, внутрисосудистую или инфузию), местное и ректальное введение. Для специалиста в данной области техники известны методики введения, которые могут использоваться для соединений и способов, описанных в данном изобретении, например, как обсуждается в Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, текущее издание; Pergamon; and Remington's, *Pharmaceutical Sciences* (текущее издание), Mack Publishing Co., Easton, Pa. В предпочтительных вариантах осуществления соединения и композиции, описанные в данном изобретении, вводятся перорально.

Термин "приемлемый", как используется в настоящем изобретении, применительно к препарату, композиции или компоненту обозначает отсутствие долгосрочного временного воздействия на общее состояние здоровья пациента, подвергаемого лечению.

Термин "фармацевтически приемлемый", как используется в настоящем изобретении, относится к веществу, такому как носитель или разбавитель, которое не отменяет биологическую активность или свойства соединений, как описано в данном изобретении, и является относительно нетоксичным, т.е. вещество можно вводить индивидууму, не вызывая при этом нежелательных побочных действий или нежелательных взаимодействий с любым из компонентов композиции, в которой оно содержится.

Термин "фармацевтическая композиция", как используется в настоящем изобретении, относится к биологически активному соединению, необязательно смешанному по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым химическим компонентом, таким как, но не ограничиваясь только ими, носители, стабилизаторы, разбавители, диспергирующие средства, суспендирующие средства, загустители и/или

эксципиенты.

Термин "носитель", как используется в настоящем изобретении, относится к относительно нетоксичным химическим соединениям или средствам, которые облегчают включение соединения в клетки или ткани.

Термин "агонист", как используется в настоящем изобретении, относится к молекуле, такой как соединение, лекарственное средство, активатор фермента или модулятор гормона, который усиливает активностью другой молекулы или активностью рецепторного сайта.

Термин "антагонист", как используется в настоящем изобретении, относится к молекуле, такой как соединение, лекарственное средство, ингибитор фермента или модулятор гормона, который снижает или предотвращает действие другой молекулы или активностью рецепторного сайта.

Термин "модулировать", как используется в настоящем изобретении, относится к взаимодействию с мишенью либо непосредственно, либо косвенно для того, чтобы изменить активность мишени, включая, только в качестве примера, усиление активности мишени, ингибирование активности мишени, ограниченные активности мишени или увеличение активности мишени.

Термин "модулятор", как используется в настоящем изобретении, относится к молекуле, которая взаимодействует с мишенью либо непосредственно, либо косвенно. Взаимодействия включают, но не ограничиваясь только ими, взаимодействия агониста и антагониста.

Термины "усиливать" или "усиление", как используется в настоящем изобретении, обозначает повышение или пролонгирование эффективности или продолжительности желательного действия. Следовательно, что касается влияния терапевтических средств, термин "усиление" относится к способности повышать или пролонгировать или эффективность, или продолжительность действия других терапевтических средств на систему. "Усиливающее эффективное количество", как используется в настоящем изобретении, относится к количеству, достаточному для усиления действия другого терапевтического средства в желательной системе.

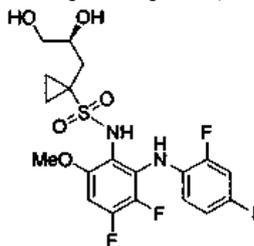
Термины "фармацевтическая комбинация", "введение дополнительного лечения", "введение дополнительного терапевтического средства" и подобное, как используется в настоящем изобретении, относится к фармацевтическому лечению, возникающему в результате смешивания или комбинирования нескольких активных компонентов и включает как зафиксированные, так и незафиксированные комбинации активных компонентов. Термин "фиксированная комбинация" обозначает, что по меньшей мере одно из соединений, описанных в данном изобретении, и по меньшей мере одно совместно вводимое средство, оба одновременно вводят пациенту в форме единого целого или дозы. Термин "нефиксированная комбинация" обозначает, что по меньшей мере одно из соединений, описанных в данном изобретении, и по меньшей мере одно совместно вводимое средство, вводят пациенту в виде самостоятельных единиц одновременно, совместно или отдельно с переменными интервальными временными границами, где такое введение обеспечивает эффективные уровни двух или более соединений в организме пациента. Это также применимо к коктейльным терапиям, например введению трех или больше активных компонентов.

Термины "совместное введение", "введение в комбинации с" и их грамматические эквиваленты или т.д., как используется в настоящем изобретении, охватывают введение выбранных терапевтических средств одному пациенту и охватывают схемы лечения, согласно которым средства вводят одинаковыми или различными путями введения или одновременно, или в различные промежутки времени. В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в данном изобретении, будут совместно вводиться с другими средствами. Этот термин охватывает введение двух или более средств животному таким образом, что оба средства и/или их метаболиты присутствуют в животном одновременно. Они включают одновременное введение в отдельных композициях, введение в различные промежутки времени в отдельных композициях и/или введение в композиции, в которой присутствуют оба средства. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления соединения согласно изобретению и другое(ие) средство(а) вводят в одной композиции. В некоторых вариантах осуществления соединения согласно изобретению и другое(ие) средство(а) смешаны в композиции.

Полиморфы включают различные кристаллические упакованные группировки соединения идентичного элементного состава. Полиморфы могут иметь различные дифракционную рентгенограмму, инфракрасный спектр, точки плавления, плотность, твердость, форму кристалла, оптические и электрические свойства, стабильность и растворимость. Различные факторы, такие как перекристаллизация растворителя, скорость кристаллизации и температура хранения, могут вызывать преобладание одной кристаллической формы.

Кристаллическая полиморфная форма N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида

Изобретение относится к кристаллической полиморфной форме А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида



которая имеет специфическую порошковую рентгенограмму. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере приблизительно 50% пиков, представленных на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере приблизительно 70% пиков, представленных на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере приблизительно 90% пиков, представленных на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма, по существу, такая же, что и порошковая рентгенограмма, представленная на фиг. 5.

Изобретение также относится к кристаллической полиморфной форме А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которая проявляет специфическую картину дифференциальной сканирующей калориметрии. В некоторых вариантах осуществления специфическая картина дифференциальной сканирующей калориметрии является, по существу, идентичной картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая полиморфная форма А имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

Изобретение также относится к полиморфной форме N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которую получают с помощью способа, включающего стадию кристаллизации аморфного N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из растворителя. Полиморфная форма N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид может быть получена с помощью способа, включающего стадию кристаллизации аморфного N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из смеси гексана и этилацетата.

Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, которые содержат эффективное количество кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида и фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Другие аспекты изобретения относятся к фармацевтической композиции, которая содержит кристаллическую полиморфную форму А и по меньшей мере один наполнитель или носитель.

Кристаллическая полиморфная форма А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида пригодна для лечения или предотвращения злокачественного новообразования или воспалительного заболевания. Изобретение дополнительно относится к применению кристаллической полиморфной формы А для лечения или предотвращения злокачественного новообразования или воспалительного заболевания. Другие аспекты изобретения относятся к применению кристаллической полиморфной формы А для лечения или профилактики пролиферативного заболевания.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере приблизительно 50% соединения, которое проявляет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере 50% пиков, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 70% пиков, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 90% пиков, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере приблизительно 75% соединения, которое проявляет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере 50% пиков, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 70% пиков, идентифи-

тельно стадия кристаллизации включает кристаллизацию из смеси этилацетата и гептана, например, смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении от приблизительно 1-4 частей этилацетата до приблизительно 2-10 частей гептана или более специфически, в отношении от приблизительно 2 частей этилацетата до приблизительно 5 частей гептана.

Предпочтительно соединение приготавливают в виде лекарственного средства для быстрого высвобождения соединения. Предпочтительно соединение приготавливают в виде лекарственного средства для замедленного высвобождения соединения. Предпочтительно соединение приготавливают в виде лекарственного средства для пролонгированного высвобождения соединения.

В некоторых вариантах осуществления композиция представлена в дозированной форме в виде таблетки. Предпочтительно композиция представлена в дозированной форме в виде капсулы. Композиция может превращаться в дозированную форму в виде капсулы или таблетки, и можно использовать многие другие альтернативные композиции и способы приготовления. Ссылки: (1) Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20-е изд., 2000, (2) Pharmaceutical Dosage Forms Таблетки тома 1-3, 1989 и (3) Modern Pharmaceuticals 4-е изд., 2002. Можно использовать различные способы приготовления, включая сухое смешивание, влажную грануляцию, рулонное прессование, экструзию, сферонизацию, нанесение покрытия и распылительную сушку. Также возможны препараты в виде мягких гелей и способы их приготовления.

В некоторых вариантах осуществления композиция включает наполнитель или разбавитель. Предпочтительно наполнитель или разбавитель выбирают из микрокристаллической целлюлозы, силикатированной микрокристаллической целлюлозы, лактозы, маннита, сжимаемого сахара, фосфата кальция, сульфата кальция, карбоната кальция, силиката кальция и крахмала. Предпочтительно наполнитель или разбавитель представляет собой микрокристаллическую целлюлозу.

В некоторых вариантах осуществления композиция включает агент, вызывающий дезинтеграцию. Предпочтительно агент, вызывающий дезинтеграцию, выбирают из кроскармеллозы натрия, крахмалгликолята натрия, кросповидона, метилцеллюлозы, альгиновой кислоты, альгината натрия, производных крахмала, бетонита и вигума. Предпочтительно агент, вызывающий дезинтеграцию, представляет собой кроскармеллозу натрия.

В некоторых вариантах осуществления композиция включает смазывающее вещество. Предпочтительно смазывающее вещество выбирают из стеарата магния, стеаратов металлов, талька, стеарилфумарата натрия и стеариновой кислоты. Предпочтительно смазывающее вещество представляет собой стеарат магния.

В некоторых вариантах осуществления композиция включает смачивающее средство или поверхностно-активное вещество. Предпочтительно смачивающее средство или поверхностно-активное вещество выбирают из лаурилсульфата натрия, глицерина, сорбитанолеатов, сорбитанстеаратов, полиоксиэтиленированного сорбитанлаурата, пальмитата, стеарата, олеата или гексаолаата, полиоксиэтиленового стеарилового спирта и сорбитанмонолаурата. Предпочтительно смачивающее средство или поверхностно-активное вещество представляет собой лаурилсульфат натрия.

Также можно добавлять дополнительные эксципиенты, такие как вещества, способствующие скольжению, ароматизаторы и красители. Дополнительные активные эксципиенты можно найти в The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5-е изд., 2005 и базе данных неактивных компонентов FDA (комиссии по контролю за лекарствами и питательными веществами).

Также в данном изобретении описаны фармацевтические композиции, которые содержат эффективное количество кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат эффективное количество кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предназначены для лечения нарушений. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предназначены для лечения нарушений у млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предназначены для лечения нарушений у человека. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предназначены для лечения или профилактики воспалительных заболеваний. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции предназначены для лечения или профилактики пролиферативных заболеваний.

Способы применения соединений и композиций

Предлагаемая полиморфная форма может быть использована для обеспечения эффекта у пациента, который выбирают из группы, включающей ингибирование различных злокачественных новообразований, иммунологических заболеваний и воспалительных заболеваний. Предпочтительно соединение вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Предпочтительно эффект представляет собой ингибирование различных злокачественных новообразований. Предпочтительно эффект представляет собой ингибирование иммунологических заболеваний. Предпочтительно эффект представляет собой ингибирование воспалительных

заболеваний.

Любые композиции, описанные и заявленные в настоящем изобретении, могут использоваться в способах, раскрытых в этом разделе.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию или хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере еще с одним терапевтическим средством.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов, описанных в данном изобретении, обеспечиваются ингибиторы МЕК протеинкиназы, дополнительно содержащие полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 0,1 до приблизительно 200 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 0,2 до приблизительно 100 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 0,3 до приблизительно 90 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 0,4 до приблизительно 80 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 0,5 до приблизительно 70 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 0,4 до приблизительно 80 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 0,5 до приблизительно 70 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 1 до приблизительно 60 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 1,5 до приблизительно 50 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 2 до приблизительно 45 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит полиморф (А), который присутствует в количестве от приблизительно 2,5 до приблизительно 40 мг.

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов, описанных в данном изобретении, обеспечиваются ингибиторы МЕК протеинкиназы, дополнительно содержащие полиморф (А), который присутствует в количестве приблизительно 0,1 мг, приблизительно 0,2 мг, приблизительно 0,25 мг, приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,4 мг, приблизительно 0,5 мг, приблизительно 0,6 мг, приблизительно 0,7 мг, приблизительно 0,8 мг, приблизительно 0,9 мг, приблизительно 1 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2 мг, приблизительно 2,5 мг, приблизительно 3 мг, приблизительно 3,5 мг, приблизительно 4,0 мг, приблизительно 4,5 мг, приблизительно 5 мг, приблизительно 5,5 мг, приблизительно 6 мг, приблизительно 6,5 мг, приблизительно 7 мг, приблизительно 7,5 мг, приблизительно 8 мг, приблизительно 8,5 мг, приблизительно 9 мг, приблизительно 9,5 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 10,5 мг, приблизительно 11 мг, приблизительно 11,5 мг, приблизительно 12 мг, приблизительно 12,5 мг и/или приблизительно 13 мг, приблизительно 14 мг или приблизительно 15 мг.

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов, описанных в данном изобретении, обеспечиваются ингибиторы МЕК протеинкиназы, дополнительно содержащие полиморф (А), который присутствует в количестве приблизительно 15 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 25 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 35 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 45 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 55 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 65 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 85 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 95 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 130 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 170 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг или приблизительно 200 мг.

Предпочтительно соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно со-

единение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Заболевания и нарушения, которые модулируются МЕК

Также в данном изобретении описаны способы модуляции МЕК активности путем контактирования МЕК с количеством соединения, достаточным для модуляции активности МЕК. Модуляцией может являться ингибирование или активация МЕК активности. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности путем контактирования МЕК с количеством соединения, достаточным для ингибирования активности МЕК. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности в растворе путем контактирования указанного раствора с количеством соединения, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном растворе. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности в клетке путем контактирования указанной клетки с количеством соединения, как описано в данном изобретении, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанной клетке. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности в ткани путем контактирования указанной ткани с количеством соединения, как описано в данном изобретении, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанной ткани. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности в организме путем контактирования указанного организма с количеством соединения, как описано в данном изобретении, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном организме. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности в животном путем контактирования указанного животного с количеством соединения, как описано в данном изобретении, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном животном. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности у млекопитающего путем контактирования указанного млекопитающего с количеством соединения, как описано в данном изобретении, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанного млекопитающего. Предпочтительно обеспечивается ингибирование МЕК активности у человека путем контактирования указанного человека с количеством соединения, как описано в данном изобретении, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанного человека.

Соединения и композиции могут модулировать активность МЕК ферментов; и в таком качестве пригодны для лечения заболеваний или состояний, в которых aberrантная МЕК активность способствует патологии и/или симптомам заболевания или состояния.

Соединения и композиции могут быть использованы для лечения нарушения или состояния, которое модулируется МЕК каскадом, у млекопитающего, включая человека, путем введения указанному млекопитающему количества соединения, эффективного для модуляции указанного каскада. Подходящая доза для конкретного пациента может быть определена согласно известным способам специалистами в данной области техники.

Соединения и композиции могут быть использованы для ингибирования МЕК фермента, что включает контактирование указанного МЕК фермента с количеством композиции, которая содержит соединение, достаточным для ингибирования указанного фермента, при котором указанный фермент ингибируется. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 1%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 2%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 3%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 4%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 5%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 10%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 20%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 25%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 30%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 40%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 50%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 60%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 70%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 75%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 80%. Предпочтительно фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 90%. Предпочтительно фермент, по существу, полностью ингибирован. Предпочтительно МЕК фермент представляет собой МЕК киназу. Предпочтительно МЕК фермент представляет собой МЕК1. Предпочтительно МЕК фермент представляет собой МЕК2. Предпочтительно контактирование происходит в клетке. Предпочтительно клетка представляет собой клетку млекопитающего. Предпочтительно клетка млекопитающего представляет собой клетку человека.

Соединения и композиции могут быть использованы для лечения нарушения, опосредованного МЕК, у особи, страдающей от указанного нарушения, путем введения указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит соединение. Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно фармацевтическая ком-

позиция находится в форме, подходящей для перорального введения. Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в форме таблетки, капсулы, пилюли, порошка, препаратов с замедленным высвобождением, раствора, суспензии, для парентеральной инъекции в виде стерильного раствора, суспензии или эмульсии, для местного введения в виде мази или крема или для ректального введения в виде суппозитория. Предпочтительно фармацевтическая композиция находится в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. Предпочтительно фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтический носитель, эксципиент и/или адъювант.

Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от нарушения, опосредованного МЕК, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Предпочтительно композицию, содержащую соединение, вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию, которая содержит соединение, вводят в комбинации по меньшей мере еще с одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопоэтические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, выбирают из группы, включающей воспалительные заболевания, инфекции, аутоиммунные нарушения, удар, ишемию, нарушение сердечной деятельности, неврологические нарушения, фиброгенетические нарушения, пролиферативные нарушения, гиперпролиферативные нарушения, незлокачественные гиперпролиферативные нарушения, опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы, метаболические заболевания, злокачественное заболевание, сосудистый рестеноз, псориаз, атеросклероз, ревматоидный артрит, остеоартрит, сердечную недостаточность, хроническую боль, невропатическую боль, сухость глаз, закрытоугольную глаукому и открытоугольную глаукому. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой воспалительное заболевание. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой гиперпролиферативное заболевание. Предпочтительно нарушение, опосредованное МЕК, выбирают из группы, включающей опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание, таких как рак желудка, рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. Предпочтительно фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких.

Злокачественное новообразование

Также в данном изобретении описаны соединения, фармацевтические композиции и способы лечения, предотвращения или профилактики злокачественного новообразования у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества соединения. Предпочтительно соединение вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки, рак желудка или лейкоз. Предпочтительно фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак

головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки, лейкоз, меланому, рак щитовидной железы или базально-клеточный рак. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак почки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак ободочной и прямой кишки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой миелолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой глиобластому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мелкоклеточный рак легких. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антимаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Аномальный рост клеток

Также в данном изобретении описаны соединения, фармацевтические композиции и способы ингибирования аномального роста клеток. Предпочтительно аномальный рост клеток происходит у млекопитающего. Способы ингибирования аномального роста клеток включают введение эффективного количества соединения, где ингибирован аномальный рост клеток. Способы ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего включает введение млекопитающему количества соединения, где количества соединения эффективны для ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего.

Предпочтительно способы включают введение эффективного количества соединения в комбинации с количеством химиотерапевтического средства, где количества соединения и химиотерапевтического средства совместно эффективны для ингибирования аномального роста клеток. В настоящее время в данной области известны многие химиотерапевтические средства и они могут применяться в комбинации с соединением по изобретению. Предпочтительно химиотерапевтическое средство выбирают из группы, включающей ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антимаболиты, интеркалирующие антибиотики, ингибиторы факторов роста, ингибиторы клеточного цикла, ферменты, ингибиторы топоизомеразы, модификаторы биологического отклика, антигормоны, ингибиторы ангиогенеза и антиандрогены.

Также в настоящем изобретении описаны способы ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего, которые включают введение млекопитающему количества соединения в комбинации с лучевой терапией, где количества соединения, применяемые в комбинации с лучевой терапией, эффективны для ингибирования аномального роста клеток или лечения гиперпролиферативного нарушения у млекопитающего. Методики осуществления лучевой терапии известны в данной области, и эти методики могут использоваться в комбинированной терапии, как описано в данном изобретении. Введение соединения в этой комбинированной терапии можно определить, как описано в данном изобретении.

Также в настоящем изобретении описаны способы и фармацевтические композиции для ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего, которая включает количество соединения и количество одного или нескольких веществ, выбранных из веществ против ангиогенеза, ингибиторы сигнальной трансдукции и антипролиферативные средства.

Вещества против ангиогенеза, такие как ингибиторы MMP-2 (матриксной металлопротеиназы 2), ингибиторы MMP-9 (матриксной металлопротеиназы 9) и ингибиторы COX-11 (циклооксигеназы 11), могут использоваться в сочетании с соединением согласно настоящему изобретению и фармацевтическими композициями, как описано в данном изобретении. Примеры пригодных COX-II ингибиторов включают CELEBREX™ (алекоксиб), вальдекоксиб и рофекоксиб. Примеры пригодных ингибиторов матриксных металлопротеиназ описаны в WO 96/33172 (опубл. 24 октября 1996 г.), WO 96/27583 (опубл. 7 марта 1996 г.), европейской патентной заявке EP7304971.1 (поданной 8 июля 1997 г.), европейской патентной заявке EP99308617.2 (поданной 29 октября 1999 г.), WO 98/07697 (опубл. 26 февраля 1998 г.), WO 98/03516 (опубл. 29 января 1998 г.), WO 98/34918 (опубл. 13 августа 1998 г.), WO 98/34915 (опубл. 13 августа 1998 г.), WO 98/33768 (опубл. 6 августа 1998 г.), WO 98/30566 (опубл. 16 июля 1998 г.), EP606046 (опубл. 13 июля 1994 г.), EP931788 (опубл. 28 июля 1999 г.), WO 90/05719 (опубл. 31 мая 1990 г.), WO 99/52910 (опубл. 21 октября 1999 г.), WO 99/52889 (опубл. 21 октября 1999 г.), WO 99/29667 (опубл. 17 июня 1999 г.), международной заявки PCT/IB98/01113 (поданной 21 июля 1998 г.), европейской патентной заявке EP99302232.1 (поданной 25 марта 1999 г.), патентной заявке GB9912961.1 (поданной 3 июня 1999 г.), предварительной заявке на патент US60/148464 (поданной 12 августа 1999 г.), патенте US5863949 (выданном 26 июля 1999 г.), патенте US5861510 (выданном 19 января 1999 г.) и EP780386 (опубл. 25 июня 1997 г.), все эти источники полностью включены в данное изобретение в качестве ссылки. Некоторые ингибиторы MMP-2 и MMP-9 обладают незначительным или не обладают ингибирующим действием на активность MMP-1, тогда как некоторые селективно ингибируют MMP-2 и/или MMP-9 по отношению к другим матриксным металлопротеиназам (т.е. MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 и MMP-13). Некоторые специфические примеры ингибиторов MMP, пригодных в настоящем изобретении, представляют собой AG-3340, RO 32-3555 и RS 13-0830.

Также в настоящем изобретении описан способ разрушения, ингибирования роста или уничтожения раковой клетки, который включает контактирование указанной клетки с количеством композиции, эффективным для разрушения, ингибирования роста или уничтожения указанной раковой клетки. Предпочтительно раковые клетки включают клетки головного мозга, молочной железы, легкого, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, почки или ободочной и прямой кишки.

Предпочтительно композицию вводят по меньшей мере с одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство представляет собой таксол, ботрезомиб или оба средства. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевые средства выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антимаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста.

Предпочтительно раковые клетки разрушаются. Предпочтительно 1% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 2% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 3% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 4% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 5% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 10% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 20% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 25% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 30% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 40% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 50% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 60% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 70% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 75% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 80% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 90% раковых клеток разрушается. Предпочтительно 100% раковых клеток разрушается. Предпочтительно разрушаются, по существу, все раковые клетки.

Предпочтительно раковые клетки уничтожаются. Предпочтительно 1% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 2% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 3% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 4% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 5% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 10% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 20% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 25% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 30% раковых кле-

ток уничтожается. Предпочтительно 40% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 50% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 60% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 70% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 75% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 80% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 90% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно 100% раковых клеток уничтожается. Предпочтительно уничтожаются, по существу, все раковые клетки.

Предпочтительно ингибируется рост раковых клеток. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 1%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 2%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 3%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 4%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 5%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 10%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 20%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 25%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 30%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 40%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 50%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 60%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 70%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 75%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 80%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 90%. Предпочтительно рост раковых клеток ингибируется приблизительно на 100%.

Также в данном изобретении описаны способы ингибирования аномального роста клеток. Предпочтительно аномальный рост клеток происходит у млекопитающего. Способы ингибирования аномального роста клеток включают введение эффективного количества кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, где ингибируется аномальный рост клеток. Способы ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего включают введение млекопитающему количества кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, где количество кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида эффективно для ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего.

Предпочтительно способы включают введение эффективного количества кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в комбинации с количеством химиотерапевтического средства, где количества кристаллической полиморфной форма А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида и химиотерапевтического средства совместно эффективны для ингибирования аномального роста клеток.

В настоящее время в данной области известны различные химиотерапевтические средства, и они могут использоваться в комбинации с соединениями и композициями по изобретению. Предпочтительно химиотерапевтическое средство выбирают из группы, включающей ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антиметаболиты, интеркалирующие антибиотики, ингибиторы факторов роста, ингибиторы клеточного цикла, ферменты, ингибиторы топоизомеразы, модификаторы биологического отклика, антигормоны, ингибиторы ангиогенеза и антиандрогены.

Предпочтительно способы ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего включают введение млекопитающему количества кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в комбинации с лучевой терапией, где количество кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в комбинации с лучевой терапией эффективно для ингибирования аномального роста клеток. Методики осуществления лучевой терапии известны в данной области, и эти методики могут использоваться в комбинированной терапии, как описано в данном изобретении.

Лечение гиперпролиферативного нарушения

В настоящем изобретении описан способ лечения гиперпролиферативного нарушения у млекопитающего, включая человека, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения.

Предпочтительно соединение вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Предпочтительно пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование, псориаз, рестеноз, аутоиммунное заболевание или атеросклероз. Предпочтительно пролиферативное заболевание представляет собой гиперпролиферативное заболевание. Предпочтительно пролиферативное заболевание выбирают из группы, включающей опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак пред-

стательной железы, рак почки, рак желудка, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. Предпочтительно фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, рак яичника, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак почки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак ободочной и прямой кишки. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак миелолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой мелкоклеточный рак легких. Предпочтительно злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или их комбинацию. Предпочтительно композицию, которая содержит соединение формулы I, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопоэтические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от пролиферативного заболевания, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Размер опухоли

В настоящем изобретении описан способ уменьшения размера опухоли, ингибирования увеличения размера опухоли, уменьшения пролиферации опухоли или предотвращения пролиферации опухоли у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества соединения. Предпочтительно соединение вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Предпочтительно размер опухоли уменьшается. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 1%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 2%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 3%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 4%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 5%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 10%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 20%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 25%. Предпочтительно раз-

мер опухоли уменьшается по меньшей мере на 30%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 40%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 50%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 60%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 70%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 75%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 80%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 85%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 90%. Предпочтительно размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 95%. Предпочтительно опухоль ликвидируется. Предпочтительно размер опухоли не увеличивается.

Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 1%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 2%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 3%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 4%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 5%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 10%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 20%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 25%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 30%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 40%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 50%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 60%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 70%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 75%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 80%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 90%. Предпочтительно пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 95%. Предпочтительно пролиферация опухоли предотвращается.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. Предпочтительно противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антимаболиты, эпидофиллотоксины; противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопоэтические факторы роста. Предпочтительно терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Воспалительное заболевание

В настоящем изобретении описан способ лечения, предотвращения или профилактики воспалительного заболевания у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества соединения. Предпочтительно соединение вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Предпочтительно воспалительное заболевание выбирают из группы, включающей хронические воспалительные заболевания, ревматоидный артрит, ревматоидный артрит, спондилоартропатии, анкилозирующего спондилита, подагры, тендинита, бурсита, ишиалгии, подагрический артрит, остеоартрит, болезнь Стилла, острый ревматоидный артрит, энтеропатический артрит, невропатический артрит, псориазный артрит, гной-

ный артрит, атеросклероз, системную красную волчанку, воспалительные заболевания кишечника, синдром раздраженной толстой кишки, неспецифический язвенный колит, рефлюксный эзофагит, болезнь Крона, гастрит, астму, аллергии, респираторный дистресс-синдром, панкреатит, хроническое обструктивное заболевание легких, фиброз легких, псориаз, экзему или склеродермию.

Предпочтительно композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. Предпочтительно композицию вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. Предпочтительно композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. Предпочтительно количество соединения находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. Предпочтительно количество соединения составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. Предпочтительно уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. Предпочтительно уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

Предпочтительно соединение вводят в однократной дозе, один раз в сутки. Предпочтительно соединение вводят в многократных дозах, больше одного раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят два раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят три раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят четыре раза в сутки. Предпочтительно соединение вводят больше четырех раз в сутки. Предпочтительно индивидуум, страдающий от воспалительного заболевания, представляет собой млекопитающее. Предпочтительно индивидуум представляет собой человека.

Способы ведения

Соединения и композиции, описанные в данном изобретении, могут вводить либо отдельно, либо в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или разбавителями, в фармацевтической композиции согласно стандартной фармацевтической практике.

Также в данном изобретении описаны фармацевтические композиции, которые содержат кристаллический полиморф N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (форма А). Соединения и композиции, описанные в данном изобретении, могут вводиться либо отдельно, либо в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или разбавителями, в фармацевтической композиции, согласно стандартной фармацевтической практике. Введение можно осуществлять с помощью любого метода, который способен доставить соединений в участок действия. Эти способы включают, но не ограничиваясь только ими, доставку с помощью энтеральных путей (включая пероральный, желудочный или дуоденальный питательный зонд, ректальный суппозиторий и ректальную клизму), парентеральных путей (инъекции или инфузии, включая внутриаартериальную, внутрисердечную, внутрикожную, интрадуоденальную, интрамедулярную, внутримышечную, внутрикостную, внутрибрюшинную, внутриоболочечную, внутрисосудистую, внутривенную, в стекловидное тело, эпидуральную и подкожную), ингаляционного, трансдермального, трансмукозального, подъязычного, трансбуккального и местного (включая на-кожное, дермальное, клизма, глазные капли, ушные капли, интраназальное, вагинальное) введения, хотя наиболее подходящий путь может зависеть, например, от состояния и нарушения пациента. Для специалистов в данной области техники будут известны методики введения, которые могут применяться с соединениями и способами согласно изобретению. Только в качестве примера, соединения, описанные в данном изобретении, могут вводиться местно в участок, нуждающийся в лечении, например, путем локальной инфузии при осуществлении хирургического вмешательства, местное введение, такое как кремы или мази, инъекции, катетер или имплантат, указанный имплантат изготавливают, например, из пористого, непористого или желатинового вещества, включая мембраны, такие как сиаластиковые мембраны или волокна. Введение также можно осуществлять путем непосредственной инъекции в участок больной ткани или органа.

Введение соединений и композиций, описанных в данном изобретении, можно осуществлять с помощью любого метода, который способен доставить соединения в участок действия. Эти способы включают пероральные пути, интрадуоденальные пути, парентеральную инъекцию (включая внутривенную, подкожную, внутрибрюшинную, внутримышечную, внутрисосудистую или инфузию), местное и ректальное введение. Например, соединения, описанные в данном изобретении, могут вводить локально в область, нуждающуюся в лечении. Этого можно достигать с помощью, например, но не ограничиваясь только ими, локальной инфузии при хирургии, местного введения, например, крема, мази, инъекции, катетера или имплантата, указанный имплантат изготавливают, например, из пористого, непористого или желатинового вещества, включая мембраны, такие как сиаластиковые мембраны или волокна. Введение также можно осуществлять путем непосредственной инъекции в сайт (или предшествующий сайт) опухоли или новообразования или предраковой ткани. Для специалистов в данной области техники извест-

ны препараты и методики введения, которые могут применяться для соединений и способов по изобретению, например, как обсуждается в Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, текущее издание; Pergamon; и Remington's, *Pharmaceutical Sciences* (текущее издание), Mack Publishing Co., Easton, Pa.

Лекарственные средства являются подходящими для перорального, парентерального (включая подкожное, внутрикожное, внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное и интрамедуллярное), внутрибрюшинное, трансмукозальное, трансдермальное, ректальное и местное (включая кожное, трансбуккальное, подъязычное и внутриглазное) введение, хотя наиболее подходящий путь может зависеть, например, от состояния и нарушения у пациента. Лекарственные средства подходяще представлены в единичной дозированной форме и могут быть приготовлены с помощью любых способов, хорошо известных в области фармацевтики. Все способы включают стадию контактирования соединения согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или производного ("активного компонента") с носителем, который состоит из одного или нескольких дополнительных компонентов. В целом, лекарственные средства приготавливают путем равномерного и тесного контактирования активного компонента с жидкими носителями или тонкоизмельченными твердыми носителями или обоими такими компонентами и затем, при необходимости, формирование продукта в желательное лекарственное средство.

Лекарственные средства, подходящие для перорального введения, могут находиться в виде дискретных компонентов, таких как капсулы, крахмальные капсулы или таблетки, каждая из которых содержит заранее определенное количество активного компонента; в виде порошка или гранул; в виде раствора или суспензии в водной жидкости или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или жидкой эмульсии вода-в-масле. Активный компонент также может находиться в виде болюса, электуария или пасты.

Лекарственные средства, которые пригодны для перорального введения, включают таблетки, плотно посаженные капсулы, сделанные из желатина, а также мягкие, запечатанные капсулы, сделанные из желатина и смягчителя, такого как глицерин или сорбит. Таблетки могут быть приготовлены путем прессования или формирования, необязательно с одним или несколькими вспомогательными компонентами. Спрессованные таблетки могут быть приготовлены путем прессования в подходящем аппарате активного компонента в свободнотекущей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанного со связующими веществами, инертными разбавителями или замасливателями, поверхностно-активными или диспергирующими средствами. Формированные таблетки могут быть приготовлены путем формирования в подходящем аппарате смеси порошкообразного соединения, увлажненного инертным жидким разбавителем. Таблетки необязательно могут иметь покрытие или рифление и могут быть приготовлены таким образом, чтобы обеспечить медленное или контролируемое высвобождение активного компонента. Все лекарственные средства для перорального введения должны находиться в дозированных формах, подходящих для такого введения. Плотно посаженные капсулы или таблетки могут содержать активный компонент; в смеси с наполнителем, таким как микрокристаллическая целлюлоза, силикатированная микрокристаллическая целлюлоза, желатинированный крахмал, лактоза, дифосфат кальция или сжимаемый сахар; связующим, таким как гипромеллоза, повидон или крахмальная паста; агентом, вызывающим дезинтеграцию, таким как кроскармеллоза натрия, кросповидон или крахмалгликолят натрия; поверхностно-активным веществом, таким как лаурилсульфат натрия и/или смазывающими веществами и модификаторами технологических свойств, такими как тальк, стеарат магния, стеариновая кислота или коллоидный диоксид кремния и, необязательно, стабилизаторы. В мягких капсулах, активные соединения могут быть растворены или суспендированы в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, жидкий парафин или жидкие полиэтиленгликоли. Кроме того, можно добавлять стабилизаторы. Ядра драже покрывают подходящими покрытиями. Для этого используют концентрированные сахарные растворы, которые необязательно могут содержать гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидон, карбопол, полиэтиленгликоль, и/или диоксид титана, лаковые растворы, и подходящие органические растворители или смеси растворителей. К таблеткам и покрытиям драже можно добавлять красящие вещества или пигменты для идентификации или характеристики различных комбинаций доз активных соединений.

Лекарственные средства могут быть приготовлены для парентерального введения путем инъекции, например путем болюсной инъекции или непрерывной инфузии. Препараты для инъекции могут находиться в единичной дозированной форме, например, в ампулах или в контейнерах для многократного применения, куда добавлен консервант. Композиции могут быть представлены в таких формах, как суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных наполнителях, и могут содержать рецептурные средства, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие средства. Препараты могут находиться в контейнерах для однократного применения или для многократного применения, например, запечатанных ампул и флаконов, и могут храниться в порошкообразной форме или в высушенном сублимацией (лиофилизированном) состоянии, к которому только необходимо добавлять стерильный жидкий носитель, например, солевой раствор или стерильную апиrogenную воду, непосредственно перед использованием. Экстемпоральные растворы и суспензии для инъекций могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул и таблеток вышеописанных разновидностей.

Препараты для парентерального введения включают водные и неводные (масляные) стерильные растворы для инъекций активных соединений, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества и растворенные вещества, которые придают препарату изотоничность по отношению к крови предполагаемого реципиента; и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Подходящими липофильными растворителями или наполнителями являются жирные масла, такие как кунжутное масло, или синтетические сложные эфиры жирной кислоты, такие как этилолеат или триглицериды, или липосомы. Водные суспензии для инъекции могут содержать вещества, которые повышают вязкость суспензии, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, сорбит или декстран. Необязательно, суспензия также может содержать подходящие стабилизаторы или вещества, которые повышают растворимость соединений, что предоставляет возможность приготовления высококонцентрированных растворов.

Фармацевтические препараты также могут быть приготовлены в виде депопрепарата. Такие препараты с продолжительным действием могут вводиться путем имплантации (например, подкожно или внутримышечно) или путем внутримышечной инъекции. Таким образом, соединения могут быть приготовлены, например, с подходящими полимерными или гидрофобными материалами (например, в виде эмульсии в приемлемом масле) или ионообменные смолы, или в виде умеренно растворимых производных, например, в виде умеренно растворимой соли.

Для трансбуккального или подъязычного введения композиции могут приготавливаться в виде таблеток, лепешки, пастилки или гелевые препараты, приготовленные общепринятым способом. Такие композиции могут содержать активный компонент в ароматизированном основании, таком как сахароза и гуммиарабик или трагакантовая камедь.

Фармацевтические препараты также могут быть приготовлены в виде ректальных композиций, таких как суппозитории или удерживающие клизмы, например, содержащие общепринятые основания суппозитория, такие как масло какао, полиэтиленгликоль или другие глицериды.

Фармацевтические препараты могут вводиться местно, что является несистемным введением. Это включает применение соединений согласно настоящему изобретению наружно на эпидермис или в ротовую полость и закапывание такого соединения в глаз, ухо и нос, таким образом, что соединение существенным образом не попадает в кровоток. В отличие от этого, системное введение относится в пероральному, внутривенному, внутривнутрибрюшному и внутримышечному введению.

Фармацевтические препараты, подходящие для местного введения, включают жидкие или полужидкие препараты, подходящие для проникновения через кожу к участку воспаления, такие как гели, линименты, лосьоны, кремы, мази или пасты, и капли, подходящие для введения в глаза, уши или нос. Активный компонент может содержать для местного введения от 0,001 до 10 мас.%, например от 1 до 2 вес.% препарата. Однако он может содержать вплоть до 10 мас.% или может содержать менее чем 5 мас.% или от 0,1 до 1 мас.% препарата.

Фармацевтические препараты для введения путем ингаляции подходяще доставляются из порошковдувателя, распылителя упаковок под давлением или других подходящих средств для доставки аэрозольного спрея. Упаковки под давлением могут содержать подходящий пропеллент, такой как дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторэтан, углекислый газ или другой подходящий газ. В случае аэрозоля под давлением дозированная единица может определяться с помощью клапана для доставки дозированного количества. Альтернативно, для введения путем ингаляции или вдувания, фармацевтические препараты могут находиться в форме безводной порошкообразной композиции, например, порошкообразной смеси соединения и подходящего основания порошка, такого как лактоза или крахмал. Порошкообразная композиция может находиться в единичной дозированной форме, например, в капсулах, картриджах, желатиновых или блистерных упаковках, из которых порошок может вводиться с помощью ингалятора или порошковдувателя.

Также подразумевается, что дополнительно к компонентам, предпочтительно описанным выше, соединения и композиции, описанные в данном изобретении, могут включать другие средства, общепринятые в данной области, в зависимости от типа данного препарата, например, препараты для перорального введения могут включать ароматизаторы.

Составы

Следует отметить, что любые композиции и соединения, описанные в данном изобретении, могут использоваться в любом из составов, обсуждаемых в этом разделе, которые не являются ограничивающими и не должны таким образом истолковываться.

Соединения или композиции, описанные в данном изобретении, могут доставляться в наполнителе, например липосоме (см., например, Langer, Science 1990, 249, 1527-1533; Treat и др., Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Bernstein и Fidler, ред., Liss, N.Y., с. 353-365, 1989). Соединения и фармацевтические композиции, описанные в данном изобретении, также могут доставляться в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления может использоваться насос (см. Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald и др. Surgery, 1980 88, 507; Saudek и др. N. Engl. J. Med. 1989, 321 (574)). Дополнительно, систему с контролируемым высвобождением можно помещать вблизи терапевтической цели (см. Goodson, Medical Applications of Controlled Release,

1984, том 2, с. 115-138). Фармацевтические композиции, описанные в данном изобретении, также могут содержать активный компонент в форме, подходящей для перорального применения, например в виде таблеток, пастилок, лепешек, водных или масляных суспензий, диспергируемых порошков или гранул, эмульсий, твердых или мягких капсул, или сиропов, или эликсиров. Композиции предназначены для перорального применения и могут быть приготовлены согласно любому из способов, известных в данной области для приготовления фармацевтических композиций, и такие композиции могут содержать один или несколько агентов, выбранных из группы, включающей подсластители, ароматизаторы, красители и консерванты для обеспечения фармацевтически качественных и привлекательных препаратов. Таблетки содержат активный компонент в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми эксципиентами, которые пригодны для приготовления таблеток. Такими эксципиентами могут являться, например, инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; гранулирующие и распадающиеся вещества; наполнители, такие как микрокристаллическая целлюлоза, силикатированная микрокристаллическая целлюлоза, желатинированный крахмал, лактоза, дифосфат кальция или сжимаемый сахар; связующие вещества, такие как гипромеллоза, повидон или крахмальная паста; агенты, вызывающие дезинтеграцию, такие как кроскармеллоза натрия, кросповидон или крахмалгликолят натрия; поверхностно-активное вещество, такое как лаурилсульфат натрия и/или смазывающие вещества и модификаторы технологических свойств, такие как тальк, кроскармеллоза натрия, кукурузный крахмал или альгиновая кислота; связующие вещества, например крахмал, желатин, поливинилпирролидон или гуммиарабик, и замасливатели, например стеарат магния, стеариновая кислота или коллоидный диоксид кремния и, необязательно, тальк. Таблетки могут быть без покрытия или могут иметь покрытие согласно известным технологиям для того, чтобы скрыть вкус лекарственного средства или замедлить разложение и абсорбцию в желудочно-кишечном тракте и таким образом обеспечить продолжительное действие в течение более длительного промежутка времени. В качестве подходящих можно применять, например, водорастворимое вещество, маскирующее вкус, такое как гидроксипропилметилцеллюлоза или гидроксипропилцеллюлоза, или вещество, вызывающее задержку во времени, такое как этилцеллюлоза или ацетатбутиратцеллюлоза. Препараты для перорального применения также могут быть представлены в виде твердых желатиновых капсул, в которых активный компонент смешан с инертным твердым разбавителем, например карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, или в виде мягких желатиновых капсул, в которых активный компонент смешан с водорастворимым носителем, таким как полиэтиленгликоль или масляной средой, например арахисовым маслом, жидким парафином или оливковым маслом. Дозированные формы в виде капсулы и таблетки могут быть приготовлены с помощью различных методик обработки, включая методики сухого смешивания и влажного гранулирования. В методе приготовления путем сухого смешивания лекарственное вещество может быть включено в дозированную форму путем сухого смешивания с эксципиентами с последующим инкапсулированием в капсульную оболочку или прессования в таблетированную форму. Операцию сухого смешивания можно осуществлять поэтапно и она включает стадии скрининга между стадиями измельчения для облегчения образования однородной смеси. При приготовлении методом влажного гранулирования лекарственное вещество можно добавлять к сухим эксципиентам и смешивать перед добавлением связующего раствора или лекарственное вещество можно растворять и добавлять в виде раствора как часть грануляции. В методике влажного гранулирования поверхностно-активное вещество, если оно используется, можно добавлять к сухим эксципиентам или добавлять к связующему раствору и включать в виде раствора. Дозированные формы в виде капсул также могут быть приготовлены путем растворения лекарственного вещества в материале, которым оно может быть заполнено и который совместим с оболочками твердых желатиновых капсул, которые после этого могут быть скреплены и запечатаны. Дозированные формы в виде капсул и таблеток также могут быть получены путем растворения лекарственного вещества в материале, таком как расплавленная форма высокомолекулярного полиэтиленгликоля, и охлаждения до твердой формы, измельчения и включения этого вещества в общепринятые способы приготовления капсул и таблеток.

Водные суспензии содержат активное вещество в смеси с эксципиентами, подходящими для приготовления водных суспензий. Такие эксципиенты представляют собой суспендирующие средства, например, натрийкарбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовую камедь и гуммиарабик; диспергирующие или смачивающие средства могут представлять собой встречающийся в природе фосфатид, например лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например полиоксиэтиленстеарат, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например гептадекаэтилен-оксидетанол, или продукты конденсации этиленоксида с неполными эфирами, производными жирных кислот и гексита, такие как полиоксиэтиленсорбитмоноолеат, или продукты конденсации этиленоксида с неполными эфирами, производными жирных кислот и ангидридами гексита, например полиэтиленсорбитмоноолеат.

Водные суспензии также могут содержать один или несколько консервантов, например этил, или н-пропил п-гидроксибензоат, один или несколько красителей, один или несколько ароматизаторов, и один или несколько подсластителей, такие как сахароза, сахарин или аспартам.

Масляные суспензии могут быть приготовлены путем суспендирования активного компонента в растительном масле, например арахисовом масле, оливковом масле, кунжутном масле или кокосовом масле, или в минеральном масле, таком как жидкий парафин. Масляные суспензии могут содержать загуститель, например пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт. Также можно добавлять подсластители, такие как описанные выше, и ароматизаторы для получения перорального препарата с приятным вкусом. Эти композиции консервированы путем добавления антиоксиданта, такого как бутилированный гидроксианизол или альфа-токоферол.

Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для приготовления водной суспензии, при добавлении воды получают активный компонент в смеси с диспергирующим или смачивающим средством, суспендирующим средством и одним или несколькими консервантами. Подходящими диспергирующими или смачивающими средствами и суспендирующими средствами являются те средства, примеры которых уже указаны выше. Также могут присутствовать дополнительные эксципиенты, например подсластители, ароматизаторы и красители. Эти композиции могут быть консервированы путем добавления антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

Фармацевтические композиции также могут находиться в форме эмульсий масло-в-воде. Масляной фазой может быть растительное масло, например оливковое масло или арахисовое масло, или минеральное масло, например жидкий парафин или их смеси. Подходящими эмульгаторами могут быть встречающиеся в природе фосфатиды, например соевый лецитин, и сложные эфиры или неполные сложные эфиры, производные жирных кислот и ангидридов гексита, например сорбитмоноолеат, и продукты конденсации указанных неполных сложных эфиров этиленоксида, например полиоксиэтилен сорбит моноолеат. Эмульсии также могут содержать подсластители, ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты.

Сиропы и эликсиры могут быть приготовлены с подсластителями, например глицерином, пропиленгликолем, сорбитом или сахарозой. Такие препараты также могут содержать средство, смягчающее раздражение, консервант, ароматизаторы и красители и антиоксидант.

Фармацевтические композиции могут находиться в форме стерильного водного раствора для инъекций. В качестве приемлемых наполнителей и носителей могут применяться вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Стерильным препаратом для инъекции также может являться стерильная микроэмульсия масло-в-воде для инъекции, в которой активный компонент растворен в масляной фазе. Например, активный компонент сначала может быть растворен в смеси соевого масла и лецитина. Затем масляный раствор вносят в смесь воды и глицерина и обрабатывают, получая микроэмульсию. Растворы для инъекций или микроэмульсии могут вводиться в кровоток пациента путем локальной болюсной инъекции. Альтернативно, может быть благоприятным вводить раствор или микроэмульсию таким образом, чтобы поддерживать постоянную циркулирующую концентрацию данного соединения. Для поддержания такой постоянной концентрации можно использовать устройство для непрерывной внутривенной доставки. Примером такого устройства является внутривенный насос Deltac CADD-PLUS™ модель 5400. Фармацевтические композиции могут находиться в виде стерильных водных или маслянистых суспензий для инъекций для внутримышечного и подкожного введения. Такая суспензия может быть приготовлена согласно методам, известным в данной области техники, используя подходящие диспергирующие или смачивающие средства и суспендирующие средства, которые описаны выше. Стерильным препаратом для инъекций также может являться стерильный раствор для инъекций или суспензий в нетоксичном парентерально-приемлемом разбавителе или растворителе, например в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Дополнительно, стерильные, жирные масла также обычно приемлемы в качестве растворителя или суспендирующей среды. Для этого можно использовать любое мягкое жирное масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Дополнительно, для приготовления составов для инъекций можно использовать жирные кислоты, такие как олеиновую кислоту.

Фармацевтические композиции также могут вводиться в форме суппозиторий для ректального введения лекарственного средства. Эти композиции могут быть приготовлены путем смешивания ингибиторов с подходящим нераздражающим эксципиентом, который является твердым при обычной температуре, но жидким при ректальной температуре, и, следовательно, будет расплавляться в прямой кишке, высвобождая лекарственное средство. Такими материалами являются масло какао, желатин, который содержит глицерин, гидрогенизированные растительные масла, смеси полиэтиленгликолей различных молекулярных весов и сложные эфиры жирных кислот и полиэтиленгликоля.

Для местного применения кремы, мази, гели, растворы или суспензии и т.д., содержащие соединение или композицию согласно настоящему изобретению, пригодны для местного введения. Как используется в настоящем изобретении, местное введение может включать жидкости для полоскания рта и горла.

Фармацевтические композиции могут вводиться в интраназальной форме посредством местного применения подходящих интраназальных наполнителей и устройств для доставки, или посредством трансдермального путем, используя такие формы трансдермальных пластырей, которые хорошо известны среднему специалисту в данной области техники.

Препараты обычно могут находиться в дозированной лекарственной форме и могут быть приготовлены с помощью любого из способов, хорошо известных в области фармацевтики. Все способы включа-

ют стадию контактирования соединения согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сложного эфира, пролекарства или сольвата ("активного компонента") с носителем, который состоит из одного или нескольких вспомогательных компонентов. В целом, препараты готовят путем равномерного и тесного контактирования активного компонента с жидкими носителями или тонкоизмельченными твердыми носителями или обоими типами носителей и затем, при необходимости, формирование продукта в желательный препарат. Способы приготовления различных фармацевтических композиций со специфическим количеством активного соединения известны, или будут очевидными для специалистов в данной области техники. Для введения в форме трансдермальной доставки дозированная форма, очевидно, должна быть непрерывной, а не периодической, в течение всей схемы приема лекарственного средства.

Дозы

Вводимое количество фармацевтических композиций изначально будет зависеть от млекопитающего, подвергаемого лечению. В тех случаях, когда фармацевтические композиции вводят человеку, суточная доза обычно будет определяться лечащим врачом с учетом дозы, которая обычно изменяется в зависимости от возраста, пола, питания, веса, общего состояния здоровья и ответной реакции конкретного пациента, тяжести симптомов у пациента, конкретного показания или состояния, подвергаемого лечению, тяжести показания или состояния, подвергаемого лечению, времени введения, пути введения, фармакокинетики композиции, скорости экскреции, комбинации лекарственных средств, и индивидуального мнения лечащего врача. Также, путь введения может существенно зависеть от состояния и его тяжести. Фармацевтическая композиция может быть представлена в дозированной лекарственной форме. В такой форме, препарат разделен на дозы на один прием, содержащие соответствующие количества активного компонента, например, эффективное количество для достижения желательной цели. Определение соответствующей дозы для конкретной ситуации находится в квалификации специалиста в данной области техники. В целом, лечение начинают с более низких доз, которые меньше за оптимальную дозу соединения. После этого, дозу повышают на малую величину до достижения оптимального эффекта в данных обстоятельствах. Для удобства, общая суточная доза может быть разделена и вводиться порциями в течение дня, если это является желательным. Количество и частота введения соединений, описанных в данном изобретении, и если приемлемо, других терапевтических средств и/или терапий, будет регулироваться согласно мнению лечащего врача (терапевта), принимая во внимание факторы, описанные выше. Таким образом, вводимое количество фармацевтической композиции может существенно отличаться. Введение можно осуществлять в количестве в промежутке от приблизительно 0,001 мг/кг веса тела до приблизительно 100 мг/кг веса тела в сутки (вводимое в однократной или многократных дозах) или по меньшей мере приблизительно 0,1 мг/кг веса тела в сутки. Предпочтительная терапевтическая доза может включать, например, от приблизительно 0,01 до приблизительно 7000 мг соединения или, например, от приблизительно 0,05 до приблизительно 2500 мг. Количество активного соединения в стандартной дозе может изменяться или корректироваться от приблизительно 0,1 до 1000 мг, от приблизительно 1 до 300 мг или 10 до 200 мг согласно конкретному применению. В некоторых случаях уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными, тогда как в некоторых случаях могут применяться более высокие дозы, не вызывая любого вредного побочного действия, например, путем разделения таких больших доз на несколько меньших доз для введения в течение дня. Вводимое количество будет зависеть от конкретного значения IC_{50} используемого соединения. При комбинированных применениях, в которых соединение не является единственным активным компонентом, представляется возможным вводить еще меньшие количества соединения и все еще получать терапевтическое или профилактическое действие.

Дополнительное дозирование также обеспечивается в настоящем описании и пунктах формулы изобретения.

Дозированные формы

Фармацевтическая композиция может находиться, например, в форме, подходящей для перорального введения, такой как таблетка, капсула, пилюля, порошок, препараты с замедленным высвобождением, раствор, суспензия, для парентеральной инъекции в виде стерильного раствора, суспензии или эмульсии, для местного введения в виде мази или крема или для ректального введения в виде суппозитория. Фармацевтическая композиция может находиться в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. Фармацевтическая композиция будет включать общепринятый фармацевтический носитель или эксципиент и соединение в соответствии с изобретением в качестве активного компонента. Дополнительно, она может включать другие медицинские или фармацевтические средства, носители, адъюванты и т.д.

Примерами форм для парентерального введения являются растворы или суспензии активных соединений в стерильных водных растворах, например водные растворы пропиленгликоля или декстрозы. Такие дозированные формы могут быть подходящим образом забуферены, если это является желательным.

Подходящие фармацевтические носители включают инертные разбавители или наполнители, воду и различные органические растворители. Фармацевтические композиции могут содержать, если это явля-

ется желательным, дополнительные компоненты, такие как ароматизаторы, связующие вещества, эксципиенты и др. Таким образом, для перорального введения, таблетки, содержащие различные эксципиенты, такие как лимонная кислота, могут применяться совместно с различными агентами, вызывающими дезинтеграцию, такими как крахмал, альгиновая кислота и определенными комплексными силикатами и связующими веществами, таким как сахароза, желатин и гуммиарабик. Дополнительно, для таблетирования часто используют замасливатели, такие как стеарат магния, лаурилсульфат натрия и тальк. Твердые композиции сходного типа также можно применяться в мягких и твердых заполненных желатином капсулах, включая лактозу или молочный сахар и высокомолекулярные полиэтиленгликоли. Если для перорального введения являются желательными водные суспензии или эликсиры, то активное соединение в них можно объединять с различными подсластителями или ароматизаторами, красящими веществами или красителями и, если это является желательным, эмульгаторами или суспендирующими средствами, совместно с разбавителями, такими как вода, этанол, пропиленгликоль, глицерин, или их комбинации.

Способы приготовления различных фармацевтических композиций со специфическим количеством активного соединения известны или будут очевидны для специалистов в данной области техники. Например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Ester, Pa., 18-е изд. (1990).

Комбинированная терапия

Кристаллическая полиморфная форма N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (форма А) может вводиться в виде единственной терапии. Кристаллическая полиморфная форма А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида также может вводиться в комбинации с другой терапией или терапиями.

Только в качестве примера, если одним из побочных действий, которое проявляется у пациента при приеме соединения, описанного в данном изобретении, является гипертония, то в таком случае подходящим может являться введение антигипертензивного средства в комбинации с соединением. Или, только в качестве примера, терапевтическая эффективность соединения, описанного в данном изобретении, может быть усилена путем введения адьюванта (т.е. сам по себе адьювант только может обладать незначительным терапевтическим преимуществом, но в комбинации с другим терапевтическим средством, суммарное терапевтическое преимущество для пациента повышается). Или, только в качестве примера, преимущество, которое получает пациент, может быть усилено путем введения соединения, описанного в данном изобретении, с другим терапевтическим средством (что также включает схему лечения), которое также обладает терапевтическим преимуществом. Только в качестве примера, при лечении диабетиков, включающем введение соединения, описанного в данном изобретении, повышение терапевтического преимущества можно получить путем введения пациенту другого терапевтического средства для диабетиков. В любом случае, независимо от заболевания, нарушения или состояния, подвергаемого лечению, суммарное преимущество, которое получает пациент, может быть только аддитивным действием двух терапевтических средств или пациент может получать синергетическое преимущество.

Другие лечения включают, но не ограничиваясь только ими, введение других терапевтических средств, лучевую терапию или оба компонента. В тех случаях, когда соединение, описанное в данном изобретении, вводят с другими терапевтическими средствами, соединения не обязательно должны вводиться в одной композиции с другими терапевтическими средствами, и могут, вследствие различных физических и химических характеристик, вводиться другим путем. Например, соединения/композиции могут вводиться перорально для создания и получения их достаточной концентрации в крови, тогда как другое терапевтическое средство может вводиться внутривенно. Определение способа введения и целесообразности введения, если это является возможным, в одной фармацевтической композиции, находится в квалификации специалиста в данной области техники. Начальное введение можно осуществлять согласно установленным протоколам, известным в данной области техники, и затем, исходя из наблюдаемых действий, лечащий врач может модифицировать дозировку, способы введения и время введения. Предпочтительный выбор соединения (и, если это является подходящим, другого терапевтического средства и/или излучения) будет зависеть от диагноза лечащего врача и его понимания состояния пациента и подходящего протокола лечения. Другие терапевтические средства могут включать химиотерапевтические средства, такие как противоопухолевые вещества, например, выбранные из следующих групп: ингибиторы митоза, например винбластин; алкилирующие средства, например цисплатин, карбоплатин и циклофосфамид; антиметаболиты, например 5-фторурацил, арабинозид цитозина и гидроксимочевина, или, например, антиметаболит, описанный в европейской патентной заявке № 239362, такой как N-(5-[N-(3,4-дигидро-2-метил-4-оксохиназолин-6-инэтил)-N-метиламино]-2-теноил)-L-глутаминовая кислота; ингибиторы факторов роста; ингибиторы клеточного цикла; интеркалирующие антибиотики, например адриамицин и блеомицин; ферменты, например интерферон; и антигормоны, например антиэстрогены, такие как Nolvadex™ (тамоксифен) или, например, антиандрогены, такие как Casodex™ (4'-циано-3-(4-фторфенилсульфонил)-2-гидрокси-2-метил-3'-(трифторметил)пропионанилид). Такое совместное лечение может осуществлять путем одновременного, последовательного или отдельного дозирования отдельных компонентов лечения.

Соединения и композиции, описанные в данном изобретении (и, если это является подходящим,

химиотерапевтическое средство и/или излучение), могут вводиться параллельно (например, одновременно, по существу одновременно или в пределах одного протокола лечения) или последовательно, в зависимости от природы заболевания, состояния пациента и конкретного выбора химиотерапевтического средства и/или облучения, которое будет вводиться в комбинации (т.е. в пределах одного протокола лечения) с соединением/композицией.

В комбинированных применениях и использованиях, соединение/композиция и химиотерапевтическое средство и/или облучение не обязательно должны вводиться одновременно или по существу одновременно, и исходный порядок введения соединения/композиции, и химиотерапевтического средства и/или облучения, может не являться важным. Таким образом, соединения/композиции по изобретению могут вводиться первыми с последующим введением химиотерапевтического средства и/или облучения; или химиотерапевтическое средство и/или облучение могут вводиться первыми с последующим введением соединений/композиций по изобретению. Такое альтернативное введение может повторяться в течение одного протокола лечения. Определение порядка введения, и количество повторов введения каждого терапевтического средства в течение протокола лечения, находится в компетенции лечащего врача после оценки заболевания, подвергаемого лечению, и состояния пациента. Например, химиотерапевтическое средство и/или облучение могут вводиться первыми, в особенности, если оно представляет собой цитотоксическое средство, и затем лечение продолжают путем введения соединений/композиций согласно изобретению, с последующим, если это считают благоприятным, введением химиотерапевтического средства и/или облучения, и такие действия повторяют до завершения протокола лечения. Таким образом, согласно опыту и знаниям, лечащий врач может модифицировать каждый протокол для введения соединения/композиции для лечения в соответствии с потребностями пациента, для потребностей лечения. Лечащий врач, который должен оценивать, является ли лечение эффективным при введении данных доз, будет учитывать общее самочувствие пациента, а также более точные признаки, такие как облегчение симптомов, связанных с заболеванием, ингибирование роста опухоли, реальное уменьшение опухоли, или ингибирование метастаз. Размер опухоли можно измерять с помощью стандартных способов, таких как радиологические исследования, например, компьютерная аксиальная томография или сканирование с помощью МРТ, и последующие измерения можно использовать для определения того, замедляется ли рост опухоли или даже вызывается обратное развитие опухоли. Ослабление симптомов, связанных с заболеванием, таких как боль, и улучшение общего состояния также может помочь оценить эффективность лечения.

Специфическими, неограничивающими примерами возможных комбинированных терапий являются применения соединений по изобретению со средствами, соответствующими следующей фармакотерапевтической классификации, представленной ниже. Этот перечень не должен рассматриваться как исчерпывающий, его следует рассматривать как иллюстративные примеры, свойственные релевантной терапевтической области в настоящее время. Кроме того, комбинированные схемы лечения могут включать различные пути введения и будут включать пероральное, внутривенное, внутриглазное, подкожное, кожное, и ингалирование местное.

Для лечения онкологических заболеваний пролиферативных нарушений и злокачественных новообразований соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей ингибиторы ароматазы, антиэстроген, антиандроген, кортикостероиды, агонисты гонадорелина, ингибиторы топоизомеразы 1 и 2, активные средства, действующие на микротрубочки, алкилирующие средства, нитрозомочевины, антибластомные антимаболиты, соединения, содержащие платину, нацеливающие средства на липид- или протеин-киназы, IMiD, нацеливающие средства на протеин- или липид-фосфатазы, антиангиогенные средства, Akt ингибиторы, IGF-I ингибиторы, FGF3 модуляторы, mTOR ингибиторы, Smac миметики, HDAC ингибиторы, средства, которые индуцируют дифференциацию клеток, антагонисты рецептора брадикинина 1, антагонисты ангиотензина II, ингибиторы циклооксигеназы, ингибиторы гепараназы, ингибиторы лимфокина, ингибиторы цитокина, IKK ингибиторы, P38MAPK ингибиторы, ARRY-797, HSP90 ингибиторы, ингибиторы мультикиназы, бисфосфанаты, производные рапамицина, ингибиторы антиапоптотического метаболического пути, агонисты апоптотического метаболического пути, PPAR агонисты, RAR агонисты, ингибиторы изоформ Ras, ингибиторы теломеразы, ингибиторы протеазы, ингибиторы металлопротеиназы, ингибиторы аминоксипептидазы, SHIP активаторы - AQX-MN100, Humax-CD20 (офатумумаб), CD20 антагонисты, слияния IL2-дифтерийный токсин.

Для лечения онкологических заболеваний пролиферативных нарушений и злокачественных новообразований соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей дакарбазин (DTIC), актиномицины C₂, C₃, D и F₁, циклофосфамид, мельфалан, эстрамустин, майтансинол, рифамицин, стрептоварицин, доксорубицин, даунорубицин, эпирубицин, идарубицин, деторубицин, карминомицин, идарубицин, эпирубицин, эзлрубицин, митоксантрон, блеомицины A, A₂ и B, камптотецин, иринотекан.RTM., топотекан.RTM., 9-аминокамптотецин, 10,11-метилendioксикамптотецин, 9-нитрокамптотецин, ботрезомиб, темозоломид, TAS103, NPI0052, комбретастатин, комбретастатин A-2, комбретастатин A-4, калихеамицины, неокарциностагины, эпотилоны A B, C и полусинтетические варианты, герцептин.RTM., ритуксан.RTM., CD40 антитела, аспарагиназа, ин-

терлейкины, интерфероны, лейпролид, и пегаспаргаза, 5-фторурацил, фтордезоксифуридин, пторафур, 5'-дезоксифторуридин, UFT, MITC, S-1 капецитабин, диэтилстильбестрол, тамоксифен, торемифен, толмудекс, тимитак, флузамид, флуоксиместерон, бикалутамид, финастерид, эстрадиол, триоксифен, дексаметазон, лейпрорелин ацетат, эстрамустин, дролоксифен, медроксипрогестерон, мегестерол ацетат, аминоклутетимид, тестолактон, тестостерон, диэтилстильбестрол, гидроксипрогестерон, митомицины А, В и С, порфиромидин, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, тетраплатин, платина-DACH, ормаплатин, талидомид, леналидомид, CI-973, теломестатин, CHIR258, Rad 001, SANA, тубацин, 17-AAG, сорафениб, JM-216, подофиллотоксин, эпиподофиллотоксин, этопозид, тенипозиде, тарцева.RTM. и ресса.RTM., иматиниб.RTM., милтефозин.RTM., перифозин.RTM., аминокперин, метотрексат, метоптерин, дихлорметотрексат, 6-меркаптопурине, тиогуанин, азаттуоприн, аллопуринол, кладрибин, флударабин, пентостатин, 2-хлораденозин, дезоксицитидин, арабинозид цитозина, цитарабин, азациитидин, 5-азацитозин, генцитабин, 5-азацитозин-арабинозид, винкристин, винбластин, винорелбин, лейрозин, лейрозидин и виндезин, паклитаксел, таксотер и доцетаксел.

Для лечения воспалительных заболеваний или боли соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей кортикостероиды, нестероидные противовоспалительные средства, миорелаксанты и их комбинации с другими средствами, обезболивающие средства и их комбинации с другими средствами, отхаркивающие средства и их комбинации с другими средствами, антидепрессанты, противосудорожные средства и их комбинации; противогипертензивные средства, опиоиды, местные каннабиноиды, капсаицин, бетаметазон дипропионат (расширенный и нерасширенный), бетаметазон валерат, клобетазол пропионат, преднизон, метил преднизолон, дифлоразон диацетат, галобетазол пропионат, амцинонид, дексаметазон, дезоксиметазон, флуоцинолон ацетонинид, флуоцинонид, галоцинонид, клокорталон пивалат, дезоксиметазон, флурандреналид, салицилаты, ибупрофен, кетопрофен, этодолак, диклофенак, меклофенамат натрия, напроксен, пироксикам, цефекоксид, циклобензаприн, баклофен, циклобензаприн/лидокаин, баклофен/циклобензаприн, циклобензаприн/лидокаин/кетопрофен, лидокаин, лидокаин/дезоксид-D-глюкоза, прилокаин, EMLA крем (эвтектическая смесь анестезирующих средств местного действия (лидокаин 2,5% и прилокаин 2,5%), гвайфенезин, гвайфенезин/кетопрофен/циклобензаприн, амитриптилин, доксепин, дезипрамин, имипрамин, амоксапин, кломипрамин, нортриптилин, протриптилин, дулоксетин, миртазепин, низоксетин, мапротилин, ребоксетин, флуоксетин, флувоксамин, карбамазепин, фелбамат, ламотриджин, топирамат, тиагабин, окскарбазепин, карбамазепин, зонисамид, мексилетин, габапентин/клонидин, габапентин/карбамазепин, карбамазепин/циклобензаприн, противогипертензивные средства, включая клонидин, кодеин, лоперамид, трамадол, морфий, фентанил, оксикодон, гидрокодон, леворфанол, буторфанол, ментол, гаультериевое масло, камфара, эвкалиптовое масло, терпентиновое масло; CB1/CB2 лиганды, ацетаминофен, инфликсимаб, ингибиторы синтазы оксида азота, в особенности ингибиторы индуцибельной синтазы оксида азота, PDE4 ингибиторы - механизм аналогичный ибудиласту (AV-411), CDC-801, JNK ингибиторы - CC-401, комбинация TNF/PDE4 ингибиторы - CDC-998, IL1 антагонисты например Anakinra - Kineret, AMG 108, (mAb), которые нацелены на IL-1, SHIP активаторы - AQX-MN100, C5 антагонисты, C5a ингибиторы, пекселизумаб, ингибиторы синтеза пиримидина, ингибиторы лимфокина, ингибиторы цитокина, IKK ингибиторы, P38MAPK ингибиторы, ARRY-797, HSP90 ингибиторы, ингибиторы мультикиназы, бисфосфанаты, PPAR агонисты, Cox 1 и cox 2 ингибиторы, анти-CD4 терапия, ингибиторы В-клеток, COX/LOX двойственные ингибиторы, иммунодепрессивные средства, iNOS ингибиторы, НПВС, sPLA2 ингибиторы, колхицин, аллопуринол, оксипуринол, Gold, Ridaura - Auranofin, фебукостат, пуриказа, препараты PEG-уриказы, бензбромарон, бета-2 агонисты длительного действия (LABA), салметерол (Serevent Diskus) и формотерол (Foradil), модификаторы лейкотриена, включая монтелукаст (Singulair) и зафирлукаст (Accolate), ингалируемый кромолин (Intal) или недокромил (Tilade), теофиллин. бета-2 агонисты короткого действия, ипратропий (Atrovent), иммунотерапия-(аллерген-специфическая иммунотерапия), анти-IgE моноклональные антитела - Xolair, общепринятые базовые противоревматические препараты, модифицирующие течение болезни (DMARD), включая гидроксихлорохин (Plaquenil), соединения золота ауранофин (Ridaura), сульфасалазин (Azulfidine), миноциклин (Dynacin, Minocin) и метотрексат (Rheumatrex), лефлуномид (Arava), азатиоприн (Imuran), циклоспорин (Neoral, Sandimmune) и циклофосфамид (Cytoxan), антибиотики, CD80 антагонисты, антагонисты костимулирующего фактора, Humax-CD20 (офатумумаб); CD20 антагонисты, MEK ингибиторы, NF каппа В ингибиторы, антитела к В-клеткам, денозумаб, mAb, которое специфически нацелено на лиганд активатора рецептора ядерного фактора каппа В (RANKL), антитела, инактивирующие IL17, антагонисты/ингибиторы рецептора IL-17, CTLA ингибиторы, CD20 ингибиторы, растворимые рецепторы VEGFR-1, антитела к рецептору VEGFR-1, антитела к VEGF, антагонист рецептора интегрин, ингибиторы селектина, ингибиторы Р-селектина и Е-селектина, ингибиторы фосфолипазы А2, ингибиторы липоксигеназы, антагонисты/антитела RANKL и RANK, антагонисты остеопротегерина, ингибиторы лимфотоксина, стимулятор В-лимфоцитов, MCP-1 ингибиторы, MIF ингибиторы, ингибиторы для CD2, CD3, CD4, CD25, CD40 и CD40 лиганда CD 152 (CTLA4), макролидные иммунодепрессанты, селективные ингибиторы метаболизма нуклеотидов, ингибиторы хемотаксиса, ингибиторы CXС рецептора и CXС лиганда, антагонисты хемокина, ингибиторы хемотаксиса лейкоцитов, блокаторы молекул адгезии, антагонисты антигена-1 лейкоцитарной функции

селектина (LFA-1, CD11a), антагонисты очень позднего антигена-4 (VLA-4), ингибиторы матриксных металлопротеаз, ингибиторы эластазы, ингибиторы катепсина.

Для лечения офтальмологических нарушений и заболеваний глаз соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей бета-блокаторы, ингибиторы карбонангидразы, альфа- и бета-адренергические антагонисты, включая альфа-адренергические антагонисты, альфа-2 агонисты, миотические средства, аналоги простагландинов, кортикостероиды и иммунодепрессивные средства.

Для лечения офтальмологических нарушений и заболеваний глаз соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей тимолол, бетаксолол, левобетаксолол, картеолол, левобунолол, пропранолол, бринзоламид, дорзоламид, нипрадилил, иопидин, бримонидин, пилокарпин, эпинефрин, латанопрост, травопрост, биматопрост, унопростон, дексаметазон, преднизон, метилпреднизолон, азатиоприн, циклоспорин и иммуноглобулины.

Для лечения аутоиммунных нарушений соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей кортикостероиды, иммунодепрессивные средства, аналоги простагландинов и антимагболиты.

Для лечения аутоиммунных нарушений соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей дексаметазон, преднизон, метилпреднизолон, азатиоприн, циклоспорин, иммуноглобулины, латанопрост, травопрост, биматопрост, унопростон, инфликсимаб, рутуксимаб, метотрексат, нестероидные противовоспалительные средства, миорелаксанты и их комбинации с другими средствами, обезболивающие средства и их комбинации с другими средствами, отхаркивающие средства и их комбинации с другими средствами, антидепрессанты, противосудорожные средства и их комбинации; противогипертонические средства, опиоиды, местные каннабиноиды, и другие средства, такие как капсаицин, бетаметазон дипропионат (расширенный и нерасширенный), бетаметазон валерат, клобетазол пропионат, преднизон, метил преднизолон, дифлоразон диацетат, галобетазол пропионат, амцинонид, дексаметазон, дезоксиметазон, флуоцинолон ацетонинид, флуоцинонид, галоцинонид, клокорталон пивалат, дезоксиметазон, флурандреналид, салицилаты, ибупрофен, кетопрофен, этодолак, диклофенак, меклофенамат натрия, напроксен, пироксикам, целекоксиб, циклобензаприн, баклофен, циклобензаприн/лидокаин, баклофен/циклобензаприн, циклобензаприн/лидокаин/кетопрофен, лидокаин, лидокаин/дезоксид-Д-глюкоза, прилокаин, EMLA крем (эвтектическая смесь анестезирующих средств местного действия (лидокаин 2,5% и прилокаин 2,5%)), гвайфенезин, гвайфенезин/кетопрофен/циклобензаприн, амитриптилин, доксепин, дезипрамин, имипрамин, амоксапин, клонипрамин, нортриптилин, протриптилин, дулоксетин, мirtазепин, низоксетин, мапротилин, ребоксетин, флуоксетин, флувоксамин, карбамазепин, фелбамат, ламотриджин, топирамат, тиагабин, окскарбазепин, карбамезипин, зонисамид, мексилетин, габапентин/клонидин, габапентин/карбамазепин, карбамазепин/циклобензаприн, противогипертонические средства, включая клонидин, кодеин, лоперамид, трамадол, морфий, фентанил, оксикодон, гидрокодон, леворфанол, буторфанол, ментол, гаультериевое масло, камфара, эвкалиптовое масло, терпентиновое масло; CB1/CB2 лиганды, ацетаминофен, инфликсимаб; ингибиторы синтазы оксида азота, в особенности ингибиторы индуцибельной синтазы оксида азота; и другие средства, такие как капсаицин. PDE4 ингибиторы - механизм аналогичный ибудиласту (AV-411), CDC-801, JNK ингибиторы - CC-401, комбинация TNF/PDE4 ингибиторы - CDC-998, IL1 антагонисты например Anakinra - Kineret, AMG 108, (mAb), которые нацелены на IL-1, SHIP активаторы - AQX-MN100, C5 антагонисты, C5a ингибиторы, пекселизумаб, ингибиторы синтеза пиримидина, ингибиторы лимфокина, ингибиторы цитокина, IKK ингибиторы, P38MAPK ингибиторы, ARRY-797, HSP90 ингибиторы, ингибиторы мультикиназы, бисфосфанаты, PPAR агонисты, Cox1 и cox2 ингибиторы, анти-CD4 терапия, ингибиторы В-клеток, COX/LOX двойственные ингибиторы, иммунодепрессивные средства, iNOS ингибиторы, НПВС, sPLA2 ингибиторы, колхицин, аллопуринол, оксипуринол, Gold, Ridauga - Augapofin, фебукозат, пуриказа, препараты PEG-уриказы, бензбромарон, бета-2 агонисты длительного действия (LABA), салметерол (Serevent Diskus) и формотерол (Fogadil), модификаторы лейкотриена, включая монтелукаст (Singulair) и зафирлукаст (Accolate), ингалируемый кромолин (Intal) или недокромил (Tilade), теофиллин, бета-2 агонисты короткого действия, ипратропий (Atrovent), иммунотерапия (аллерген-специфическая иммунотерапия), анти-IgE моноклональные антитела - Xolair, общепринятые базовые противоревматические препараты, модифицирующие течение болезни (DMARD), включая гидроксихлорохин (Plaquenil), соединения золота ауранофин (Ridauga), сульфасалазин (Azulfidine), миноциклин (Dapacin, Minocin) и метотрексат (Rheumatrex), лефлуномид (Arava), азатиоприн (Imuran), циклоспорин (Neoral, Sandimmune) и циклофосфамид (Cytoxan), антибиотики, CD80 антагонисты, антагонисты костимулирующего фактора, Humax-CD20 (офатумумаб); CD20 антагонисты, MEK ингибиторы, NF каппа В ингибиторы, антитела к В-клеткам, денозумаб, mAb, которое специфически нацелено на лиганд активатора рецептора ядерного фактора каппа В (RANKL), антитела, инактивирующие IL17, антагонисты/ингибиторы рецептора IL-17, CTLA ингибиторы, CD20 ингибиторы, растворимые рецепторы VEGFR-1, антитела к рецептору VEGFR-1, антитела к VEGF, антагонист рецептора интегрина, ингибиторы селектина, ингибиторы Р-селектина и Е-селектина, ингибиторы фосфолипазы А2, ингибиторы липоксигеназы, антагонисты/антитела RANKL и RANK, антагонисты остеопротегерина, ингибиторы лим-

фотоксина, стимулятор В-лимфоцитов, MCP-1 ингибиторы, MIF ингибиторы, ингибиторы для: CD2, CD3, CD4, CD25, CD40 и CD40 лиганда CD 152 (CTLA4), макролидные иммунодепрессанты, селективные ингибиторы метаболизма нуклеотидов, ингибиторы хемотаксиса, ингибиторы CXС рецептора и CXС лиганда, антагонисты хемокина, ингибиторы хемотаксиса лейкоцитов блокаторы молекул адгезии, антагонисты антигена-1 лейкоцитарной функции селектина (LFA-1, CD11a), антагонисты очень позднего антигена-4 (VLA-4), ингибиторы матриксных металлопротеаз, ингибиторы эластазы, ингибиторы катепсина.

Для лечения метаболических нарушений соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей инсулин, производные и миметики инсулина, стимуляторы секреции инсулина, сенсбилизаторы инсулина, бигуанидные средства, ингибиторы альфа-глюкозидазы, инсулинотропные лиганды рецептора сульфанилмочевины, ингибиторы протеинтирозинфосфатазы-1В (PTP-1B), ингибиторы GSK3 (киназы-3 гликогенсинтазы), GLP-1 (глюкагон-подобного пептида-1), GLP-1 аналоги, ингибиторы DPPIV (дипептидилпептидазы IV), ингибиторы RXR лигандов натрийзависимого котранспортера глюкозы, ингибиторы гликоген-фосфорилазы А, AGE разрушитель, модуляторы PPAR, модуляторы LXR и FXR, агонист неглитазонового типа PPARS, селективные антагонисты глюкокортикоидов, метформин, глипизид, глибурид, амарил, меглитиниды, нателглинид, репаглинид, PT-112, SB-517955, SB4195052, SB-216763, NN-57-05441, NN-57-05445, GW-0791, AGN-sup.194.sup.204, T-1095, BAY R3401, акарбоза эксендин-4, DPP728, LAF237, видаглиптин, МК-0431, саксаглиптин, GSK23A, пиоглитазон, росиглитазон, (R)-1-{4-[5-метил-2-(4-трифторметилфенил)оксазол-4-илметокси]бензолсульфонил}-2,3-дигидро-1Н-индол-2-карбоновая кислота, описанная в WO 03/043985, в качестве соединения 19 в примере 4, и GI-262570.

Заболевания

В настоящем изобретении описаны способы лечения заболевания или нарушения у индивидуума, страдающего от указанного заболевания или нарушения, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (форма А). Настоящее изобретение охватывает применение N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (форма А) для приготовления лекарственного средства для лечения заболевания или нарушения.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к профилактике или лечению любого заболевания или нарушения, в котором принимает участие MEK киназа, включая, но не ограничиваясь только ими, онкологические, гематологические, воспалительные, офтальмологические, неврологические, иммунологические, сердечно-сосудистые и дерматологические заболевания, а также заболевания, вызываемые чрезмерной или нерегулируемой продукцией провоспалительных цитокинов, включая, например, чрезмерную или нерегулируемую продукцию TNF, IL-1, IL-6 и IL-8 у человека, или другого млекопитающего. Изобретение охватывает такое применение и применение соединений для приготовления лекарственного средства для лечения таких заболеваний или нарушений, опосредуемых цитокинами. В дальнейшем изобретение охватывает введение человеку эффективного количества MEK ингибитора для лечения такого заболевания или нарушения.

Заболевания или нарушения, в которых принимает участие MEK киназа, либо непосредственно, либо с помощью провоспалительных цитокинов, включая китокины TNF, IL-1, IL-6 и IL-8, включают, без ограничений, сухость глаз, глаукому, аутоиммунные заболевания, воспалительные заболевания, деструктивные нарушения костей, пролиферативные нарушения, нейродегенеративные нарушения, вирусные заболевания, аллергии, инфекционные заболевания, инфаркты миокарда, ангиогенные нарушения, реперфузия/ишемия при ударе, гиперплазия сосудов, гипоксия органа, гипертрофия миокарда, индуцированная тромбином агрегация тромбоцитов, и состояния, связанные с простагландин-эндопероксидазой-синтазой-2 (COX-2).

В определенных аспектах изобретения заболевание представляет собой гиперпролиферативное состояние человека или животного, включая, но не ограничиваясь только ими, злокачественное новообразование, гиперплазии, рестеноз, воспаление, иммунные нарушения, гипертрофию миокарда, атеросклероз, боль, мигрень, состояния или нарушения, связанные с ангиогенезом, пролиферация, индуцированная после заболеваний, включая, но не ограничиваясь только ими, пластические операции на сосудах, или другие состояния.

В дальнейших вариантах осуществления указанное гиперпролиферативное состояние выбирают из группы, включающей гематологические и негематологические злокачественные новообразования. В дальнейших вариантах осуществления указанное гематологическое злокачественное новообразование выбирают из группы, включающей множественную миелому, лейкозы и лимфомы. В дальнейших вариантах осуществления указанный лейкоз выбирают из группы, включающей острый и хронический лейкозы. В дальнейших вариантах осуществления указанный лейкоз выбирают из группы, включающей острый лимфоцитарный лейкоз (ОЛЛ) и острый нелимфоцитарный лейкоз (ОНЛЛ). В дальнейших вариантах осуществления указанный хронический лейкоз выбирают из группы, включающей хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) и хронический миелолейкоз (ХМЛ). В дальнейших вариантах осуществления ука-

занную лимфому выбирают из группы, включающей лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому. В дальнейших вариантах осуществления указанное гематологическое злокачественное новообразование представляет собой множественную миелому. В других вариантах осуществления указанное гематологическое злокачественное новообразование является низкодифференцированным, среднедифференцированным или высокодифференцированным. В других вариантах осуществления указанное негематологическое злокачественное новообразование выбирают из группы, включающей рак головного мозга, рак головы и шеи, рак легких, рак молочной железы, рак половых органов, рак пищеварительной системы, рак поджелудочной железы, и рак мочевыделительной системы. В дальнейших вариантах осуществления указанный рак пищеварительной системы представляет собой рак верхних отделов желудочно-кишечного тракта или рак ободочной и прямой кишки. В дальнейших вариантах осуществления указанный рак мочевыделительной системы представляет собой рак мочевого пузыря или почечно-клеточную карциному. В дальнейших вариантах осуществления указанный рак половых органов представляет собой рак предстательной железы.

Дополнительные типы злокачественных новообразований, которые можно лечить с помощью соединений и способов, описанных в данном изобретении, включают злокачественные новообразования ротовой полости и глотки, злокачественные новообразования дыхательной системы, злокачественные новообразования костей и суставов, злокачественные новообразования мягких тканей, рак кожи, рак репродуктивной системы, злокачественные новообразования глаз и глазной орбиты, злокачественные новообразования нервной системы, злокачественные новообразования лимфатической системы, и злокачественные новообразования эндокринной системы. В определенных вариантах осуществления эти злокачественные новообразования могут быть выбраны из группы, включающей рак языка, рта, глотки, или других частей полости рта; рак пищевода, рак желудка, или рак тонкого кишечника; рак ободочной кишки или прямой кишки, анального отверстия, или аноректальный рак; рак печени, внутриспеченочных желчных протоков, желчного пузыря, поджелудочной железы, или других желчных или пищеварительных органов; рак гортани, бронхов, и другие злокачественные новообразования органов дыхательной системы; рак сердца, меланому, базально-клеточный рак, плоскоклеточный рак, другой неэпителиальный рак кожи; рак матки или шейки матки; рак тела матки; рак яичников, наружных женских половых органов, влагалища или других женских половых органов; рак предстательной железы, яичек, полового члена или других мужских половых органов; рак мочевого пузыря; почечный рак; рак почки, таза или уретры или другое злокачественное новообразование мочеполовых органов; рак щитовидной железы или другое эндокринное злокачественное новообразование; хронический лимфолейкоз и кожная Т-клеточная лимфома как гранулоцитарная, так и моноцитарная.

Другими типами злокачественных новообразований, которые можно лечить с помощью соединений и способов, описанных в данном изобретении, являются аденокарцинома, злокачественная гемангиома, астроцитомы, невринома слухового нерва, анапластическая астроцитомы, базально-клеточный рак, бластоглиома, хондросаркома, хориокарцинома, хордома, краниофарингиома, кожная меланома, цистаденокарцинома, эндотелиосаркома, эмбриональный рак, эпендимомы, саркома Юинга, эпителиальная карцинома, фибросаркома, рак желудка, рак мочевого пузыря, мультиформная глиома, гемангиобластома, печеночно-клеточный рак, гепатомы, саркома Капоши, крупноклеточный рак, лейомиосаркома, липосаркома, лимфангиосаркома, лимфангиоэндотелиальная саркома, медуллярный рак щитовидной железы, медуллобластома, менингиома мезотелиома, миеломы, миксосаркома нейробластома, неврофибросаркома, олигодендроглиома, остеогенная саркома, эпителиальный рак яичника, папиллярный рак, папиллярная аденокарцинома, опухоли паращитовидной железы, феохромоцитомы, пинеалома, плазмацитомы, ретинобластома, рабдомиосаркома, рак сальной железы, семинома, злокачественные новообразования кожи, меланома, мелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак, рак потовой железы, синовиома, рак щитовидной железы, увеальная меланома и опухоль Вильямса.

Также в настоящем изобретении описаны способы лечения гиперпролиферативного нарушения у млекопитающего, которые включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или производного, в комбинации с противоопухолевым средством. В некоторых вариантах осуществления противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антимаетаболиты, интеркалирующие антибиотики, ингибиторы факторов роста, ингибиторы клеточного цикла, ингибиторы ферментов, ингибиторы топоизомеразы, модификаторы биологического отклика, антигормоны, ингибиторы ангиогенеза, антиандрогены, SHIP активаторы - AQX-MN100, Numax-CD20 (офатумумаб), CD20 антагонисты, слияния IL2-дифтерийный токсин.

Заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может являться гематологическое нарушение. В определенных вариантах осуществления указанное гематологическое нарушение выбирают из группы, включающей серповидноклеточную анемию, миелодиспластические нарушения (MDS) и миелолипролиферативные нарушения. В дальнейших вариантах осуществления указанное миелолипролиферативное нарушение выбирают из группы, включающей следующее: истинная полицитемия, миелофиброз и идиопатическая тромбоцитемия.

Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, могут быть полезными в качестве противовоспалительных средств с дополнительным преимуществом, заключающимся в существенно меньших побочных действиях. Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, пригодны для лечения артрита, включая, но не ограничиваясь только ими, ревматоидный артрит, спондилоартропатии, анкилозирующий спондилит, подагру, подагрический артрит, остеоартрит, системную красную волчанку, болезнь Стилла, острый ревматоидный артрит, энтеропатический артрит, невропатический артрит, псориазический артрит и гнойный артрит. Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, также пригодны для лечения остеопороза и других родственных поражений костей. Такие соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, также пригодны для лечения желудочно-кишечных расстройств, таких как эзофагит, диарея, воспалительные заболевания кишечника, болезнь Крона, гастрит, синдром раздраженной толстой кишки и неспецифический язвенный колит. Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, также могут быть полезными для лечения воспаления легких, таких как связанные с вирусными инфекциями и кистозным фиброзом. Дополнительно, соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, также пригодны для лечения пациентов с трансплантированными органами либо отдельно, либо в комбинации с общепринятыми иммуномодуляторами. Дополнительно, соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, полезны для лечения зуда и витилиго. В частности, соединения, композиции и способы, как описано в данном изобретении, полезны для лечения специфического воспалительного заболевания ревматоидный артрит.

Дальнейшие воспалительные заболевания, которые можно предотвращать или лечить, включают, без ограничений, астму, аллергии, респираторный дистресс-синдром или острый или хронический панкреатит. Кроме того, заболевания дыхательной системы, которые можно предотвращать или лечить, включают, но не ограничиваясь только ими, хроническое обструктивное заболевание легких, и фиброз легких. Дополнительно, ингибиторы МЕК киназы, как описано в данном изобретении, также связаны с продукцией простагландин-эндопероксидазы-синтазы-2 (СОХ-2). Провоспалительные медиаторы циклооксигеназного метаболического пути, производные арахидоновой кислоты, такие как простагландины, продуцируются с помощью индуцибельного СОХ-2 фермента. Регуляция СОХ-2 будет регулировать эти провоспалительные медиаторы, которые влияют на различные клетки и являются важными и критическими медиаторами воспаления различных болезненных состояний и условий. В частности, эти воспалительные медиаторы вовлечены в болевые ощущения, такие как сенсбилизация болевых рецепторов, и отек. Следовательно, дополнительные состояния, опосредованные МЕК киназой, которые можно предотвращать или лечить, включают отек, анальгезию, лихорадку и боль, такую как нервно-мышечную боль, головную боль, зубную боль, боль при артритах и боль, вызванную злокачественным новообразованием.

Дополнительно, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может быть офтальмологическое нарушение. Офтальмологические заболевания и другие заболевания, в которые вовлечен ангиогенез, которые можно лечить или предотвращать, включают, без ограничений, сухость глаз (включая синдром Шегрена), дегенерация желтого пятна, закрытоугольную и открытоугольную глаукому, дегенерацию ганглий сетчатки, ишемию глаз, ретинит, ретинопатии, увеит, глазную фотофобию, и воспаления и боли, связанной с острым повреждением глазной ткани. Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, полезны для лечения глаукомной ретинопатии и/или диабетической ретинопатии. Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, также полезны для лечения послеоперационного воспаления или боли при глазной хирургии, такой как операции при катаракте и рефрактивной хирургии. В дальнейших вариантах осуществления указанное офтальмологическое нарушение выбирают из группы, включающей сухость глаз, закрытоугольную глаукому и открытоугольную глаукому.

Кроме того, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может быть аутоиммунное заболевание. Аутоиммунные заболевания, которые можно предотвращать или лечить, включают, но не ограничиваясь только ими, ревматоидный артрит, воспалительные заболевания кишечника, боль при воспалении, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, периодонтальные заболевания, заболевание височно-нижнечелюстного сустава, рассеянный склероз, диабет, гломерулонефрит, системную красную волчанку, склеродермию, хронический тиреоидит, диффузный токсический зоб, гемолитическая анемия, аутоиммунный гастрит, аутоиммунную нейтропению, тромбоцитопения, хронический активный гепатит, астенический бульбарный паралич, атопический дерматит, реакция "трансплантат против хозяина", и псориаз. Воспалительные заболевания, которые можно предотвращать или лечить, включают, но не ограничиваясь только ими, астму, аллергии, респираторный дистресс-синдром или острый или хроническим панкреатит. В особенности, соединения, композиции и способы, как описано в данном изобретении, полезны для лечения специфических аутоиммунных заболеваний - ревматоидного артрита и рассеянного склероза.

Дополнительно, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может быть дерматологическое нарушение. В определенных вариантах осуществления указанное дерматологическое нарушение выбирают из группы, включающей,

но не ограничиваясь только ими, меланому, базально-клеточный рак, плоскоклеточный рак и другие неэпителиальные злокачественное новообразование кожи, такие как псориаз и постоянный зуд, и другие заболевания, связанные с кожей и кожными структурами, которые можно лечить или предотвращать с помощью ингибиторов МЕК киназы согласно настоящему изобретению.

Метаболические заболевания, которые можно лечить или предотвращать, включают, без ограничений, метаболический синдром, резистентность к инсулину и диабет 1 типа и 2 типа. Дополнительно, композиции, описанные в данном изобретении, могут быть пригодными для лечения резистентности к инсулину и других метаболических нарушений, таких как атеросклероз, которые обычно связаны с патологически увеличенной передачей воспалительных сигналов.

Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, также пригодны для лечения повреждений ткани при таких заболеваниях, как заболевания сосудов, головные боли при мигрени, узелковый периартериит, тиреоидит, апластическая анемия, болезнь Ходжкина, склеродомы, ревматическая атака, диабет I типа, заболевание нервно-мышечных соединений, включая астенический бульбарный паралич, заболевание белого вещества, включая рассеянный склероз, саркоидоз, нефрит, нефротический синдром, синдром Бехчета, полимиозит, гингивит, периодонтит, гиперчувствительность, припухлости, которые развиваются после травмы, ишемии, включая ишемию миокарда, сердечно-сосудистую ишемию, и ишемию, вторичную по отношению к остановке сердца, и др. Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, также могут быть полезными для лечения аллергического ринита, респираторный дистресс-синдром, синдром эндотоксинового шока и атеросклероз.

Дополнительно, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может быть сердечно-сосудистое состояние. В определенных вариантах осуществления указанное сердечно-сосудистое состояние выбирают из группы, включающей атеросклероз, гипертрофию миокарда, идиопатические кардиомиопатии, сердечную недостаточность, состояния или нарушения, связанные с ангиогенезом, и пролиферация, индуцированная после заболеваний, включая, но не ограничиваясь только ими, рестеноз после хирургического вмешательства и пластических операций на сосудах.

Дополнительно, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может быть неврологическое нарушение. В определенных вариантах осуществления указанное неврологическое нарушение выбирают из группы, включающей болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, деменция при болезни Альцгеймера, и повреждения центральной нервной системы вследствие удара, ишемии и травмы. В других вариантах осуществления указанное неврологическое нарушение выбирают из группы, включающей эпилепсию, невропатическую боль, депрессию и биполярное расстройство.

Дополнительно, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может быть злокачественное новообразование, такое как острый миелолейкоз, рак тимуса, головного мозга, легких, сквамозных клеток, кожи, глаз, ретинобластомы, внутриглазной меланомы, ротовой полости и ротоглотки, мочевого пузыря, желудка, желудка, поджелудочной железы, мочевого пузыря, молочной железы, шейки матки, головы, шеи, почек, почки, печени, яичников, предстательной железы, рак ободочной и прямой кишки, пищевода, яичек, половой системы, щитовидной железы, ЦНС, ПНС, связанное со СПИДом (например, лимфома и саркома Капоши) или индуцированное вирусом. В некоторых вариантах осуществления соединения и композиции предназначены для лечения незлокачественного гиперпролиферативного нарушения, такого как доброкачественная гиперплазия кожи (например, псориаз), рестеноз, или предстательной железы (например, доброкачественная гипертрофия предстательной железы (ВРН)).

Дополнительно, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может являться панкреатит, заболевание почек (включая пролиферативный гломерулонефрит и заболевание почек, индуцированное диабетом), боль, заболевание, связанное с васкулогенезом или ангиогенезом, опухолевый ангиогенез, хроническое воспалительное заболевание, такое как ревматоидный артрит, воспалительные заболевания кишечника, атеросклероз, заболевания кожи, такие как псориаз, экзема, и склеродермия, диабет, диабетическая ретинопатия, ретинопатия недоношенных, старческая дегенерация желтого пятна, гемангиома, тендинит, бурсит, ишиалгия, глиома, меланома, саркома Капоши и рак яичников, молочной железы, легких, поджелудочной железы, предстательной железы, ободочной кишки и эпидермоидный рак у млекопитающего.

Дополнительно, заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данном изобретении, может быть предотвращение имплантации бластоцитов у млекопитающего.

Пациенты, которых можно лечить с помощью соединений, описанных в данном изобретении, или их фармацевтически приемлемых солей, сольватов, полиморфов, сложных эфиров, амидов, таутомеров, пролекарств, гидратов или производных в соответствии со способами в соответствии с настоящим изобретением, включают, например, пациентов, у которых диагностирован псориаз; рестеноз; атеросклероз; ВРН; рак молочной железы, такой как карцинома из эпителия протоков в ткани протоков в молочной железе, медуллярные карциномы, коллоидные карциномы, трубчатые карциномы, и воспалительный рак

молочной железы; рак яичника, включая эпителиальные опухоли яичника, такие как аденокарцинома в яичнике и аденокарцинома, которая мигрировала из яичника в брюшную полость; рак матки; рак шейки матки, такой как аденокарцинома в эпителии шейки матки, включая плоскоклеточный рак и аденокарциномы; рак предстательной железы, такой как рак предстательной железы, выбранный из следующих: аденокарцинома или аденокарцинома, которая мигрировала в кости; рак поджелудочной железы, такой как эпителиоидная карцинома в ткани проток поджелудочной железы и аденокарцинома в протоке поджелудочной железы; рак мочевого пузыря, такой как переходно-клеточный рак в мочевом пузыре, уротелиальные карциномы (переходно-клеточный рак), опухоли в уротелиальных клетках, которые расположены в мочевом пузыре, плоскоклеточный рак, аденокарциномы, и мелкоклеточный рак; лейкоз, такой как острый миелолейкоз (ОМЛ), острый лимфолейкоз, хронический лимфолейкоз, хронический миелолейкоз, волосатоклеточный лейкоз, миелодисплазия и миелопролиферативные нарушения; рак костей; рак легких, такой как немелкоклеточный рак легких (NSCLC), который подразделяется на плоскоклеточный рак, аденокарциномы, и недифференцированный крупноклеточный рак, и мелкоклеточный рак легких; рак кожи, такой как базально-клеточный рак, меланома, плоскоклеточный рак и актинический кератоз, который представляет собой состояние кожи, которое иногда развивается в плоскоклеточный рак; ретинобластому; кожную или внутриглазную (глазную) меланому; первичный рак печени (рак, который возникает в печени); рак почки; рак щитовидной железы, такой как папиллярный, фолликулярный, медулярный и анапластический; лимфома, связанная со СПИДом, такая как диффузная В-крупноклеточная лимфома, иммунобластная лимфома В-клеток и мелкоклеточная лимфома с нерассеченными ядрами; саркома Капоши; индуцированный вирусом рак, включая вирус гепатита В (HBV), вирус гепатита С (HCV), и печеночно-клеточный рак; лимфотропный вирус человека 1 типа (HTLV-1) и лейкоз/лимфома Т-клеток взрослых; и папилломавирус человека (HPV) и рак шейки матки; злокачественные новообразования центральной нервной системы (ЦНС), такие как первичная опухоль головного мозга, которая включает глиомы (астроцитому, анапластическую астроцитому или мультиформную глиобластому), олигодендроглиому, эпендимому, менингиому, лимфому, невриному и медуллобластому; злокачественные новообразования периферической нервной системы (ПНС), такие как неврома слухового аппарата и злокачественную опухоль оболочки периферических нервов (MPNST), включая нейрофибромы и невриномы, злокачественную фиброзную цитому, злокачественную фиброзную гистогистицитому, злокачественную менингиому, злокачественную мезотелиому и злокачественную смешанную опухоль Müllerian; злокачественное новообразование полости рта и ротоглотки, такое как гипофарингеальный рак, рак гортани, рак носоглотки, и рак ротоглотки; рак желудка, такой как лимфомы, опухоли стромы желудка, и карциноидные опухоли; рак яичек, такой эмбрионально-клеточные опухоли (GCT), которые включают семиномы и несеминомы, и гонадные стромальные опухоли, которые включают опухоли из клеток Лейдига и опухоли из клеток Сертоли; злокачественное новообразование вилочковой железы, такой как тимомы, карциномы тимуса, болезнь Ходжкина, неходжкинские лимфомы, карциноиды, карциноидные опухоли; рак прямой кишки и рак ободочной кишки.

Наборы

Соединения, композиции и способы, описанные в данном изобретении, обеспечивают наборы для лечения нарушений, таких как описанные в данном изобретении. Эти наборы включают соединение, соединения или композиции, описанные в данном изобретении, в контейнере и, необязательно, инструкции по применению набора согласно различным способам и подходам, как описано в данном изобретении. Такие наборы также могут включать информацию, такую как ссылки на научную литературу, листок-вкладыш в упаковке, результаты клинических исследований, и/или итоговую информацию таких источников и т.д., которая указывает или оценивает активности и/или преимущества композиции, и/или которые описывают дозировку, введение, побочные действия, взаимодействие лекарственных средств или другую информацию, полезную для медицинского работника. Такая информация может основываться на результатах различных исследований, например исследований с помощью подопытных животных, действуя модели *in vivo*, и исследований, основанных на клинических опытах на людях. Наборы, как описано в данном изобретении, могут обеспечиваться, продаваться и/или продвигаться медицинскими работниками, включая терапевтов, медсестер, фармацевтов, официальные справочники, и др. Также, в некоторых вариантах осуществления, наборы могут продаваться непосредственно потребителю.

Соединения, описанные в данном изобретении, могут использоваться в качестве диагностических средств и в качестве экспериментальных реагентов. Например, соединения, описанные в данном изобретении, либо отдельно, либо в комбинации с другими соединениями могут использоваться в качестве средств в дифференциальных и/или комбинаторных анализах для выявления характера экспрессии генов, экспрессируемых в клетках и тканях. В качестве неограничивающего примера, характер экспрессии в клетках или тканях, леченных с помощью одного или нескольких соединений, сравнивают с контрольными клетками или тканями, необработанными соединениями и полученные схемы анализируют относительно дифференциальных уровней экспрессии генов, к которым они имеют отношение, например, к взаимосвязанному заболеванию, пути передачи сигналов, локализацию в клетке, уровень экспрессии, размер, структуру или функцию исследуемых генов. Эти анализы можно осуществлять на стимулированных или нестимулированных клетках и в присутствии или отсутствии других соединений, которые

оказывают влияние на характер экспрессии.

Кроме пригодности для лечения людей, соединения и препараты согласно настоящему изобретению также пригодны для ветеринарного лечения домашних животных (например, собак, кошек), экзотических животных и сельскохозяйственных животных (например, лошадей), включая млекопитающих, грызунов и др.

Примеры и приготовления, представленные ниже, дополнительно иллюстрируют и служат примером соединений согласно настоящему изобретению и способов получения таких соединений. Понимается, что объем настоящего изобретения никоим образом не ограничивается следующими примерами и приготовлениями.

Примеры

Общие типичные методики синтеза сульфонамидов.

Процедура А. К раствору амина (1 экв.) в безводном дихлорметане (3 мл/ммоль) добавляли безводный триэтиламин (5 экв.). К этому раствору добавляли сульфонилхлорид (1 экв.) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Растворитель упаривали и остаток очищали путем колоночной флэш-хроматографии на диоксиде кремния.

Процедура В. К перемешиваемому раствору амина (1 экв.) в безводном пиридине (5 мл/ммоль) добавляли сульфонилхлорид (1-5 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 48 ч. Реакционную смесь распределяли между водой и EtOAc. Органический слой промывали соляным раствором, высушивали (MgSO₄) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем колоночной флэш-хроматографии на диоксиде кремния.

Процедура С. Замещение атома йода.

Суспензию, содержащую 1 экв. арилодида, 1,5 экв. бороновой кислоты или боронового эфира, 0,25 экв. PdCl₂(dppf)×ДХМ и 10 экв. безводного K₂CO₃ порошка в бескислородной смеси диоксана и воды (3:1), нагревали в микроволновом реакторе в течение 60 мин при 115°C. Ее экстрагировали с помощью водн. NH₄Cl/ТГФ, и органическую фракцию высушивали, используя Na₂SO₄. Неочищенные продукты реакции очищали, используя колоночную флэш-хроматографию (Si, EtOAc/гексаны или CHCl₃/MeOH). Выходы: 20-40%.

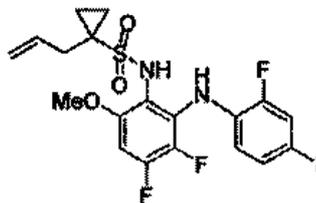
Процедура D. Синтез N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)фенил)-2-(алкиламино)этансульфонамида.

2-Хлорэтансульфонилхлорид (0,1 мл, 1 ммоль) добавляли к раствору 5,6-дифтор-N¹-(2-фтор-4-йодфенил)бензол-1,2-диамина (0,364 г, 1 ммоль) и триэтиламина (0,28 мл, 2 ммоль) в CH₂Cl₂ (5 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Затем ее обрабатывали избытком амина (10 экв.) либо в растворе либо в виде чистой жидкости. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре дополнительно в течение 6 ч. Реакционную смесь разводили с помощью CH₂Cl₂ (10 мл) и воды (10 мл). Органический слой последовательно промывали разв. HCl (2×20 мл, 2 н.) и насыщенным раствором NaHCO₃ (2×10 мл). После этого CH₂Cl₂ слой высушивали (MgSO₄) и упаривали, получая неочищенный продукт. Загрязненный продукт очищали в условия препаративной ВЭЖХ, получая чистые продукты с выходом 50-60%.

Пример 55.

N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)фенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид

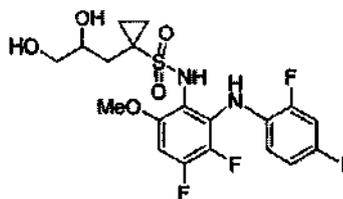
Стадия А. 1-Аллил-N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)циклопропан-1-сульфонамид



Аналогично общей методике В, 1-аллилциклопропансульфонилхлорид подвергали реакции с 5,6-дифтор-N¹-(2-фтор-4-йодфенил)-3-метоксибензол-1,2-диамином, получая указанный в заглавии продукт.

¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 7,417 (dd, 1H), 7,309 (s, 1H), 7,25 (m, 1H), 6,89 (m, 1H), 6,52 (m, 1H), 6,427 (m, 1H), 6,03 (s, 1H), 5,668 (m, 1H), 5,11 (t, 1H), 3,9 (s, 3H), 2,75 (d, 2H), 1,21 (m, 2H), 0,767 (m, 2H).

Стадия В. N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)фенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид



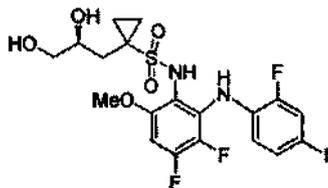
1-Аллил-N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)циклопропан-1-сульфонамид (97 мг, 0,18 ммоль) и 4-метилморфолин N-оксид (21 мг, 0,18 ммоль) растворяли в ТГФ (8 мл). Добавляли тетраоксид осмия при комнатной температуре (0,018 ммоль, 0,13 мл, 4% в H₂O) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Добавляли EtOAc, органическую фазу промывали водой, высушивали (MgSO₄) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем хроматографии на силикагеле (элюанты: EtOAc/MeOH), получая указанный в заголовке продукт (0,80 г, 78%).

¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 7,38 (dd, J=1,7 и 10,3 Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, J=6,8 и 11,4 Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, J=3,7 и 11,1 Гц, 1H), 3,49 (dd, J=6,4 и 11,1 Гц, 1H), 2,3 (dd, J=9,7 и 16,1 Гц, 1H), 1,77 (dd, J=1,9 и 16,0 Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H).

m/z=571 [M-1].

Пример 56.

(S)-N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид



Чистый S изомер получали путем хирального ВЭЖХ разделения рацемической смеси (пример 55).

¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 7,38 (dd, J=1,7 и 10,3 Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, J=6,8 и 11,4 Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, J=3,7 и 11,1 Гц, 1H), 3,49 (dd, J=6,4 и 11,1 Гц, 1H), 2,3 (dd, J=9,7 и 16,1 Гц, 1H), 1,77 (dd, J=1,9 и 16,0 Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H).

m/z=571 [M-1].

Биологическая активность в условиях in vitro.

Пример 92.

Получение данных IC₅₀.

Материалы и приготовление реагентов. GST-MEK1 человека и конститутивно активный аллель GST-MEK1^{CA} (содержащий мутации Ser218Asp и Ser222Asp) субклонировали в дрожжевом экспрессионном векторе pGEM4Z (Promega, Madison, WI) из кДНК MEK1 дикого типа человека. GST-MEK1^{CA} экспрессировали в *Escherichia coli* и частично очищали, используя аффинный полимер Глутатион Сефароза 4B (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). ERK2 аллель субклонировали из кДНК MAPK2/Erk2 (дикого типа) в pUSEamp (Upstate Biotechnology, Inc., Waltham, MA) в вектор pET21a (Novagen, Madison, WI), получая аллель ERK2 мыши с N-концевым меченым гистидином. ERK2 экспрессировали и очищали до гомогенности [Zhang, 1993 #33]. Основной миелиновый белок (MBP) получали от Gibco BRL (Rockville, MD). Easy Tides аденозин 5'-трифосфат (ATP) ([γ-³³P]) (NEN Perkin Elmer, Wellesley, MA) являлся источником радиоактивной метки для всех киназных реакций. Активированный Raf-1 (усеченный) и активированную MAPKиназу 2/ERK2 получали от Upstate, Inc. (Lake Placid, NY). 4-20% Criterion Precast гели получали от Bio-Rad (Hercules, CA).

Определение ферментативной активности. Соединения разводили из маточных растворов диметилсульфоксида (DMCO) в 1×HMNDE (20 mM HEPES pH 7,2, 1 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, 1,25 mM DTT, 0,2 mM EDTA). Типичная проба объемом 25 мкл содержала 0,002 нмоль MEK1^{CA}, 0,02 нмоль ERK2, 0,25 нмоль MBP, 0,25 нмоль немеченого ATP и 0,1 мкКи [γ-³³P] ATP. Скрининговое исследование главным образом включало четыре добавления. 5 мкл разведенного соединения диспергировали в планшетах для анализов на 96 лунок. Затем в каждую лунку добавляли 10 мкл 2,5× коктейля фермента (MEK1 и ERK2 только), после этого предварительно инкубировали в течение 30 мин при температуре окружающей среды. Затем добавляли 10 мкл 2,5× коктейля субстрата (меченый и немеченый ATP плюс MBP), после этого инкубировали в течение 60 мин при температуре окружающей среды. В завершение добавляли 100

мкл 10% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре для остановки реакции и осаждения радиоактивно меченных белковых продуктов. Продукты реакции собирали на стекловолоконные фильтрованные планшеты на 96 лунок, предварительно увлажненные водой и 1% пиррофосфатом. После этого фильтровальный планшет промывали 5 раз водой. Воду вытесняли абсолютным этанолом и планшетам позволяли высохнуть на воздухе в течение 30 мин при комнатной температуре. Вручную запечатывали снизу и 40 мкл сцинтилляционного коктейля диспергировали в каждую лунку. Запечатывали сверху и планшет анализировали в TopCount в течение 2 с на лунку.

Для определенных экспериментов использовали усеченную версию МЕК, для которой необходима активация Raf киназой.

Пример 93.

Получение данных EC_{50} .

Действия соединений в клетке определяли с помощью вестерн-блоттинга для фосфорилированного ERK. Клетки рака молочной железы MDA-MB-231 высевали в планшет на 48 лунок при плотности 20 тыс. клеток на лунку и выращивали при 37° в увлажненном CO_2 инкубаторе. На следующий день ростовую среду (DMEM + 10% фетальная бычья сыворотка) удаляли и заменяли обедненной средой (DMEM + 0,1% фетальная бычья сыворотка). Клетки инкубировали в обедненной среде в течение шестнадцати часов и затем обрабатывали соединениями в разных концентрациях в течение 30 мин. После инкубирования с соединением клетки стимулировали 100 нг/мл EGF в течение 5 мин. Затем клетки лизировали и анализировали с помощью вестерн-блоттинга, используя моноклональное антитело с увеличенным сродством к фосфорилированной ERK. Сигнал амплифицировали, используя вторичное антитело, конъюгированное с красителем в ближней ИК-области и анализировали на сканере Licor Odyssey. Количественно определяли интенсивность сигнала и эти данные использовали для получения кривых зависимости "доза-эффект" и расчета EC_{50} .

Обозначение: А, $EC_{50} < 2,0$ нМ; В, $EC_{50} = 2,0-15$ нМ; С, $EC_{50} = 15$ нМ-100 нМ; D, $EC_{50} > 100$ нМ, $IC_{50} < 20$ мкМ; F, $EC_{50} > 100$ нМ, $IC_{50} > 20$ мкМ.

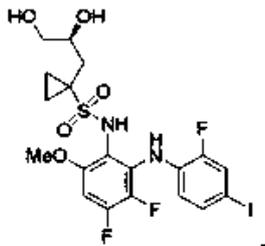
Обозначение: А - $EC_{50} < 2,0$ нМ; В - $EC_{50} = 2,0-15$ нМ; С - $EC_{50} = 15$ нМ-100 нМ; D - $EC_{50} = 100-200$ нМ; E - $EC_{50} > 200$ нМ; НО=еще не определяли.

Биологическая активность в условиях *in vivo*.

Пример 94.

Соединения и композиции, описанные в данном изобретении, пригодны для лечения или профилактики одного или нескольких заболеваний, включая, но не ограничиваясь только ими, злокачественное новообразование, воспалительные заболевания кишечника (IBD), псориаз и ревматоидный артрит (РА). Соединения и композиции, описанные в данном изобретении, также пригодны для перорального применения один раз в сутки или два раза в сутки лечения или профилактики одного или нескольких заболеваний, включая, но не ограничиваясь только ими, злокачественное новообразование, IBD, псориаз и РА.

Тестирование соединения структуры, представленной ниже (соединение А, приготовленное, как описано в данном изобретении), в условиях *in vivo* описано в этом примере



Опухоли человека имплантировали *nu/nu* мышам. Соединение А вводили перорально в течение 14 дней после того, как размер опухоли составлял около 100 мм³. Ингибирование роста опухоли (TGI) определяли через 14 дней лечения в виде уменьшения размера опухолей в леченных группах относительно контрольных групп, получавших наполнитель. Рассчитывали время до контрольной точки (ТТЕ) в виде периода времени, в течение которого опухоль достигнет определенного конечного объема или последнего дня исследования, независимо от того, какой наступит первым. Результат лечения определяли, исходя из процента задержки роста опухоли (%TGD), определенного в виде повышения процента среднего значения ТТЕ обработанных животных относительно контрольных мышей, получавших наполнитель. За животными также наблюдали относительно регрессии ответных реакций. Уровни pERK в опухоли и головном мозге определяли с помощью вестерн-блоттинга и сопоставляли с уровнями соединения А в плазме крови для исследования фармакодинамики/фармакокинетики. Количество модельных опухолей оценивали для различных доз и схем дозирования. Лечение с помощью 25 или 50 мг/кг один раз в сутки (QD) проявляло статистически достоверное %TGD в опухолях A375 меланомы, в раковых опухолях ободочной кишки Colo205, и эпидермоидных опухолях A431. Статистически достоверное TGI наблюдали при пероральном введении доз 25 мг/кг QD для этих моделей опухолей, а также для раковых опухолей ободочной кишки HT29. Влияние различных схем дозирования оценивали на A375 ксенотрансплантатах.

Несмотря на то что 100 мг/кг соединение А при пероральном введении один раз каждые два дня проявляло статистически достоверное %TGD (91%), оно не было так эффективным, как QD лечения в дозах 25 мг/кг (143% TGD) или 50 мг/кг (233% TGD). Дозировка в виде двух раз в сутки (BID) также была более эффективной, чем QD дозировка, что определяли с помощью %TGI. Дозировка 12,5 мг/кг BID приводила к 79,5% TGI по сравнению с 51,7% для 25 мг/кг QD соединения А. Дозировка 25 мг/кг BID приводила к 110,1% TGI по сравнению с 69,9% TGI для 50 мг/кг QD. Фармакодинамическое/фармакокинетическое исследование в Colo205 ксенотрансплантатах показало ингибирование pERK образования в опухолях, тогда как минимальное ингибирование наблюдали в головном мозге, что свидетельствует об эффективной противоопухолевой активности с ограниченным проникновением в ЦНС.

Соединение А является эффективным ингибитором MEK1/2, которое подавляет рост опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo*. BRAF определяет чувствительность к ингибированию роста с помощью соединения в росте, зависимо от заякоривания, но не в независимом от заякоривания росте или в ксенотрансплантатах. Полагают, что поддержание достаточного ингибирования MEK для всего интервала дозирования является более важным, чем пиковые уровни вследствие большей эффективности при более частом дозировании. Соединение А имеет благоприятный рк профиль у людей, с предполагаемой терапевтической дозой, на основе исследований ксенотрансплантатов, 20-40 мг/сутки у людей.

Пример 94А.

Ингибирование роста раковых клеток (GI_{50}).

Ингибирование зависимо от заякоривания роста оценивали с помощью CellTiterGlo реагента после 48 ч лечения с помощью соединения А для роста клеток в лунках на 384 клетки. Для исследований независимого от заякоривания роста использовали реагент MTS (метантиосульфат) после лечения в течение 7 дней роста клеток в среде, содержащей 0,15% агарозы, или на несвязывающих планшетах (A431). Значения ингибирования роста (GI_{50}) представлены в таблице ниже.

Линия опухолевых клеток	BRAF статус	Зависимые от заякоривания GI_{50} (нМ ± с.о.)	Независимые от заякоривания GI_{50} (нМ ± с.о.)
A375 Меланома	V600E	67 ± 12	68 ± 34
Colo205 Ободочная кишка	V600E	74 ± 45	33 ± 16
HT29 Ободочная кишка	V600E	70 ± 12	Не определяли
A431 Эпидермоидная	Нормальный	>10,000	65 ± 19

Пример 94В.

Противоопухолевая активность на ксенотрансплантатах.

Самкам мышей *nu/nu* имплантировали клетку A375 меланомы, Colo205 опухоли ободочной кишки, A431 эпидермоидной опухоли или HT-29 опухоли ободочной кишки, которым позволяли расти до 100-200 мм³. Соединение А или наполнитель вводили перорально (25, 50 или 100 мг/кг), один раз в сутки, в течение 14 дней. Средние объемы опухоли представляли графически для групп с наполнителем и леченных групп и изображали на фиг. 1.

Пример 94С.

Ингибирование роста опухоли TGI 25 мг/кг QD.

Ингибирование роста опухоли для леченных групп для дозы 25 мг/кг соединения А рассчитывали для указанных ксенотрансплантатов опухолей. Ингибирование роста опухоли измеряли после окончания дозирования один раз в сутки в течение 14 дней и рассчитывали согласно:

$$\%TGI = 100 \times 1 - \frac{(\text{объем леченной опухоли}_{\text{конечный}} - \text{объем опухоли}_{\text{начальный}})}{(\text{объем опухоли, обработанной наполнителем}_{\text{конечный}} - \text{объем опухоли}_{\text{начальный}})}$$

Диапазон для A375 и Colo205 представляет значения из 2 отдельных исследований.

Ксенотрансплантат опухоли	% TGI	P значение
A375 Меланома	52-72**	<0,001
Colo205 Ободочная кишка	70-123**	<0,001
HT29 Ободочная кишка	56	<0,001
A431 Эпидермоидная	67	<0,001

** Отмечали регрессию при осуществлении эксперимента.

Пример 94D.

ED_{50} в Colo205 ксенотрансплантатах.

Самцам мышей *nu/nu* имплантировали опухолевые клетки Colo205. После лечения в течение 10 дней животных рандомизировали по размеру опухоли (интервал 126-256 мм³) и обрабатывали паклитакселом (IV, QOD×5), наполнителем или соединением А (PO, QD×14).

Фармакокинетические параметры получали при дозировании Balb/c мышам доз 25 мг/кг соедине-

ния А и экстраполирования значения для групп с более низкой дозой и результаты представлены в таблице ниже.

Группа	n	Схема лечения		Начальный объем опухоли (мм ³)	Объем опухоли на 15 день (мм ³)	% TGI	C _{max} (мкг/мл)	C _{min} (мкг/мл)	AUC (мкг·ч/мл)
		Средство	мг/кг						
1	10	Наполнитель	-	185±11,1	2093±174	-	-	-	-
2	10	Паклитаксел	30	184±9,8	113±9,6	104*	-	-	-
3	10	Соединение А	2,5	184±9,8	1187±127	47*	0,99	0,003	5,5
4	10		5	183,8±9,8	1175±104	48*	1,97	0,006	11,0
5	10		10	185,1±11,7	1045±160	55*	3,94	0,012	22,0
6	10		25	185,1±11,7	762±81	70*	9,85	0,029	55,0

*P<0,001.

Пример 94Е.

Ингибирование роста опухоли с А375 ксенотрансплантатами.

Мышам с А375 ксенотрансплантатами вводили соединение А 50 мг/кг QD, 25 мг/кг BID, 50 мг/кг QD и 12,5 мг/кг BID. % TGI рассчитывали, представляли графически и изображали на фиг. 2.

Пример 94F.

Концентрации в плазме у мышей.

Самкам мышей *pu/pu* имплантировали А375 опухолевые клетки, которым позволяли расти до 100-200 мм³. Соединение А или наполнитель вводили перорально один раз в сутки (QD) или два раза в сутки (BID) (50 мг/кг QD, 25 мг/кг BID, 50 мг/кг QD и 12,5 мг/кг BID). Ингибирование роста опухоли измеряли после окончания дозирования один раз в сутки в течение 14 дней и рассчитывали согласно:

$$\%TGI = 100 \times 1 - \frac{(\text{объем леченной опухоли}_{\text{конечный}} - \text{объем опухоли}_{\text{начальный}})}{(\text{объем опухоли, обработанной наполнителем}_{\text{конечный}} - \text{объем опухоли}_{\text{начальный}})}$$

(объем опухоли, обработанной наполнителем_{конечный} – объем опухоли_{начальный})

AUC (мкг·ч/мл)	132,5	117,0	66,5	78,0
C _{max} (мкг/мл)	23,8	10,2	11,9	7,8
C _{min} (мкг/мл)	0,06	1,24	0,03	0,49
C _{min} Свободные фракции (нг/мл)	0,117	2,48	0,059	0,986

Статистическая значимость=логранговый критерий.

Пример 94G.

Ксенотрансплантатные опухоли у мышей и ингибирование активности MEK в головном мозге.

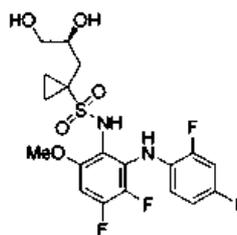
Самкам мышей *pu/pu*, которые имплантировали Colo205 опухолевые клетки, вводили однократную дозу наполнителя или соединения А при 2,5, 5, 10 или 25 мг/кг. В образцах плазмы определяли концентрации соединений и в образцах опухоли и головного мозга определяли уровни pERK, собранные через 2, 6, 12 и 24 ч после введения дозы. Уровни pERK после вестерн-блоттинга количественно определяли, используя LI-COR Odyssey, нормализовали к общим уровням ERK и сравнивали с уровнями при введении наполнителя для определения % ингибирования MEK. Ингибирование MEK в опухоли или головном мозге для каждой мыши графически представляли с соответствующими концентрациями в плазме соединения А у животного. При нелинейной регрессии получали EC₅₀ 73 нМ для ингибирования MEK в опухолях. Значения EC₅₀ в головном мозге составляло >5000 нМ.

График концентрации в плазме (log нМ) относительно % ингибирования pERK представлен на фиг. 3.

Приготовление капсул.

Пример 95А.

Готовили синие твердые желатиновые капсулы размера 1, которые содержат сухую порошкообразную измельченную композицию в дозах 1 и 10 мг соединения А (см. таблицу, представленную в примере 93 выше) структуры:



Соединение А готовили, как описано в данном изобретении, и затем микронизировали, используя струйную мельницу (Spiral Jet Mill, электронно измельчающую, с диаметром камеры измельчения 50 мм; 50°. 4×0,8 мм кольцо распылителя; диаметр распылителя форсунки 0,8 мм и расстояние распылителя

форсунки 3 мм). Соединение А и порцию микрокристаллической целлюлозы смешивали и просеивали через сито № 20 и добавляли к диффузно-барабанному измельчителю (V-измельчитель). Оставшуюся микрокристаллическую целлюлозу просеивали через сито № 20, добавляли к веществам в измельчителе и измельчали. Кроскармеллозу натрия и лаурилсульфат натрия просеивали через сито № 20, добавляли к веществам в измельчителе и измельчали. Порошкообразную смесь пропускали через вращающуюся ударно-отражательную дробилку (Quadro CoMil), добавляли обратно в измельчитель и продолжали измельчать. Стеарат магния просеивали через сито № 20 и измельчали с порошкообразной смесью, полученной размолотом. Порошкообразную смесь заполняли в капсулы размера 1. На капсулы по 10 мг наносили полосу для идентификации.

Состав капсул представлен в таблице ниже.

Компонент	капсула 1 мг		капсула 10 мг	
	мг/единицу	%	мг/единицу	%
Соединение А	1,0	0,4	10,0	4,2
Микрокристаллическая целлюлоза, NF (Avicel PH302)	222,2	92,6	213,2	88,8
Кроскармеллоза натрия, NF (Ac-Di-Sol)	12,0	5,0	12,0	5,0
Лаурилсульфат натрия, NF	2,4	1,0	2,4	1,0
Стеарат магния, NF	2,4	1,0	2,4	1,0
Всего ^а	240,0	100,0	240,0	100,0
Синие твердые желатиновые капсулы размера 1 с оболочкой	1		1	

^а Целевую массу наполнения доводили на основе действительной активности смеси.

Типичный состав партии для 10 тыс. единиц капсул по 1 мг был следующим.

Компоненты состава партии	Количество на партию (г) (на 10 тыс. единиц)
Соединение А	10,0
Микрокристаллическая целлюлоза, NF (Avicel PH302)	2222
Кроскармеллоза натрия, NF (Ac-Di-Sol)	120,0
Лаурилсульфат натрия, NF	24,0
Стеарат магния, NF	24,0
Общая масса наполнения ^а	2400
Синие твердые желатиновые капсулы размера 1 с оболочкой	10 тыс.

^а Целевую массу наполнения доводили на основе действительной активности смеси.

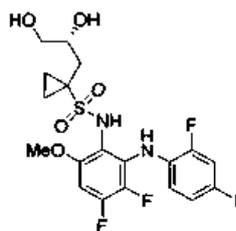
Типичный состав партии для 10 тыс. единиц капсул по 10 мг был следующим.

Компоненты состава партии	Количество на партию (г) (на 10 тыс. единиц)
Соединение А	100,0
Микрокристаллическая целлюлоза, NF (Avicel PH302)	2132
Кроскармеллоза натрия, NF (Ac-Di-Sol)	120,0
Лаурилсульфат натрия, NF	24,0
Стеарат магния, NF	24,0
Общая масса наполнения ^а	2400
Синие твердые желатиновые капсулы размера 1 с оболочкой ^б	10 тыс.

^а Целевую массу наполнения доводили на основе действительной активности смеси.

Пример 95В.

Готовили твердые синие желатиновые капсулы размера 1, которые содержат сухую порошкообразную измельченную композицию в дозах 1 и 10 мг соединения В (см. таблицу, представленную в примере 93 выше) структуры:



Соединение В готовили, как описано в данном изобретении, и микронизировали, используя струйную мельницу (Spiral Jet Mill, электронно измельчающую, с диаметром камеры измельчения 50 мм; 50°, 4×0,8 мм кольцо распылителя; диаметр распылителя форсунки 0,8 мм и расстояние распылителя форсунки 3 мм). Соединение В и порцию микрокристаллической целлюлозы смешивали, просеивали через сито № 20 и добавляли к диффузно-барабанному измельчителю (V-измельчитель). Оставшуюся микрокристаллическую целлюлозу просеивали через сито № 20, добавляли к веществам в измельчителе и измельчали. Кроскармеллозу натрия и лаурилсульфат натрия просеивали через сито № 20, добавляли к веществам в измельчителе и измельчали. Порошкообразную смесь пропускали через вращающуюся ударно-отражательную дробилку (Quadro CoMil), добавляли обратно в измельчитель и продолжали измельчать. Стеарат магния просеивали через сито № 20 и измельчали с порошкообразной смесью, полученной размолом. Порошкообразную смесь заполняли в капсулы размера 1. На капсулы по 10 мг наносили полосу для идентификации.

Состав капсул представлен в таблице ниже.

Компонент	капсула 1 мг		капсула 10 мг	
	мг/единицу	%	мг/единицу	%
Соединение В	1,0	0,4	10,0	4,2
Микрокристаллическая целлюлоза, NF (Avicel PH302)	222,2	92,6	213,2	88,8
Кроскармеллоза натрия, NF (Ac-Di-Sol)	12,0	5,0	12,0	5,0
Лаурилсульфат натрия, NF	2,4	1,0	2,4	1,0
Стеарат магния, NF	2,4	1,0	2,4	1,0
Total ^a	240,0	100,0	240,0	100,0
Синие твердые желатиновые капсулы размера 1 с оболочкой	1		1	

Активность у людей в условиях *in vivo*.

Пример 96.

Введение капсул, описанных в примере 95А, людям со злокачественными образованиями.

Пациентам со злокачественными новообразованиями вводили однократно в капсулах в дозе 1 или 10 мг композиции, описанной выше в примере 95А. Для дозы 2 мг пациентам давали капсулы 2×1 мг; для дозы 4 мг пациентам давали капсулы 4×1 мг; для дозы 6 мг пациентам давали капсулы 6×1 мг; для дозы 10 мг пациентам давали 1×10 мг капсулы; для дозы 20 мг пациентам давали 2×10 мг капсулы.

Наблюдали за профилями концентрации в зависимости от времени и результаты представлены на фиг. 4 и в таблице ниже.

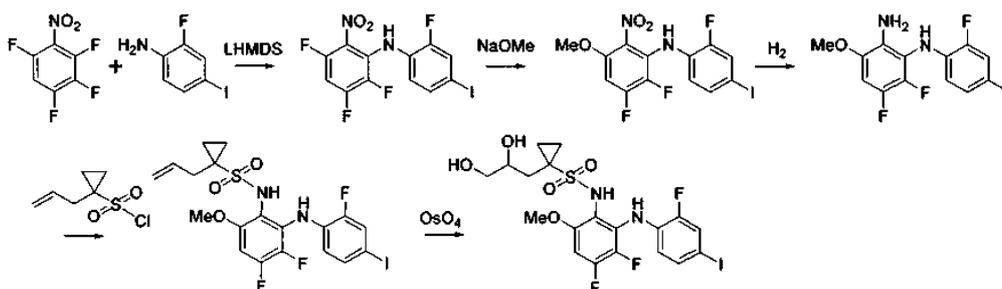
Доза (мг)	День	T _{max} (ч)	C _{max} (нг/мл)	C _{12hr} (нг/мл)	AUC _{0-12hr} (нг·ч/мл)	AUC _T (нг·ч/мл)
2	1	2,0	0,111	0,0378	0,700	НД
	35	2,0	0,202	0,0756	НД	2,07
4	1	1,5	0,292	0,134	2,26	НД
	35	1,0	0,544	0,310	НД	5,12
10	35	НД	1,57	1,01	НД	14,3
20	35	НД	3,28	2,19	НД	29,5

Кристаллические полиморфные формы.

Пример 97.

Приготовление N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)фенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)фенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид получали согласно ранее описанным методикам (см. опубликованную международную патентную заявку WO 2007/014011) и как описано ниже.



Стадия А. 2-Фтор-N-(2,3,5-трифтор-6-нитрофенил)-4-йодбензоламин.

Раствор 1,0 М гексаметилдисилазид лития (LiN(SiMe₃)₂) "LHMDS" (15,37 мл, 15,37 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору 2-фтор-4-йоданилина (3,64 г, 15,37 ммоль) в безводном ТГФ (100 мл) в атмосфере азота при -78°C и продолжали перемешивать при -78°C в течение одного часа. Добавляли 2,3,4,6-тетрафторнитробензол, реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры и продолжали перемешивать дополнительно в течение 16 ч. Добавляли этилацетат (200 мл) и органическую фазу промывали водой, высушивали над сульфатом натрия и дополнительно очищали путем колоночной хроматографии, получая продукт в виде желтого твердого вещества (3,75 г, 59,24%).

M-H⁺: 410,9.

¹H ЯМР (ДМСО, 300 МГц): 6,85 (t, 1H); 7,38 (d, 1H); 7,62 (m, 2H); 8,78 (s, 1H).

Стадия В. 2-Фтор-N-(2,3-дифтор-5-метокси-6-нитрофенил)-4-йодбензоламин.

Перемешиваемый раствор (2-фтор-4-йодфенил)-(2,3,5-трифтор-6-нитрофенил)амин (1,23 г, 3 ммоль) в безводном ТГФ (25 мл) в атмосфере азота охлаждали до -78°C и медленно добавляли раствор 25% метилата натрия (0,68 мл, 0,3 ммоль). Реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры и продолжали перемешивать дополнительно в течение 16 ч. ТСХ указывала на незавершенность реакции. К реакционной смеси добавляли этилацетат (100 мл) и органический слой промывали водой, высушивали над сульфатом натрия и дополнительно очищали путем колоночной хроматографии, получая желательное соединение в виде желтого твердого вещества (0,6 г, 47,6%).

m/z=424 [M+H]⁺.

Стадия С. 5,6-Дифтор-N¹-(2-фтор-4-йодфенил)-3-метоксибензол-1,2-диамин.

Хлорид аммония (1,18 г, 20,16 ммоль) и железный порошок (1,15 г, 21,44 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору (2,3-дифтор-5-метокси-6-нитрофенил)-(2-фтор-4-йодфенил)амин (0,57 г, 1,34 ммоль) в этаноле (20 мл). Смесь перемешивали при нагревании в колбе с обратным холодильником в течение 16 ч, охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и фильтрат концентрировали насухо. Полученный остаток ресуспендировали в этилацетате, промывали водой, высушивали над сульфатом натрия и дополнительно очищали путем кристаллизации из этанола, получая продукт в виде не совсем белого твердого вещества (0,47 г, 90,3%).

M-H⁺: 393,2.

¹H ЯМР (ДМСО, 300 МГц): 3,76 (s, 3H); 6,1 (t, 1H); 6,8-7,0 (m, 1H); 7,2 (d, 1H); 7,35 (s, 1H); 7,42 (d, 1H).

Стадия D. 1-Аллил-N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)циклопропан-1-сульфонамид.

К перемешиваемому раствору 5,6-дифтор-N¹-(2-фтор-4-йодфенил)-3-метоксибензол-1,2-диамина (1 экв.) в безводном пиридине (5 мл/ммоль) добавляли 1-аллилциклопропансульфонилхлорид (1-5 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение 48 ч. Реакционную смесь распределяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали соляным раствором, высушивали (MgSO₄) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем колоночной флэш-хроматографии на диоксиде кремния, получая указанный в заглавии продукт.

¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 7,417 (dd, 1H), 7,309 (s, 1H), 7,25 (m, 1H), 6,89 (m, 1H), 6,52 (m, 1H), 6,427 (m, 1H), 6,03 (s, 1H), 5,668 (m, 1H), 5,11 (t, 1H), 3,9 (s, 3H), 2,75 (d, 2H), 1,21 (m, 2H), 0,767 (m, 2H).

Стадия E. N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид.

1-Аллил-N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)циклопропан-1-сульфонамид (97 мг, 0,18 ммоль) и 4-метилморфолин N-оксид (21 мг, 0,18 ммоль) растворяли в ТГФ (8 мл). Добавляли тетраоксид осмия при комнатной температуре (0,018 ммоль, 0,13 мл, 4% в H₂O) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Этилацетат добавляли, органическую фазу промывали водой, высушивали (MgSO₄) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем хроматографии на силикагеле (элюанты: EtOAc/MeOH), получая указанный в заглавии продукт (0,80 г, 78%).

¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 7,38 (dd, J=1,7 и 10,3 Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, J=6,8 и 11,4 Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, J=3,7 и 11,1 Гц, 1H), 3,49 (dd, J=6,4 и 11,1 Гц, 1H), 2,3 (dd, J=9,7 и 16,1 Гц, 1H), 1,77 (dd, J=1,9 и 16,0 Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m,

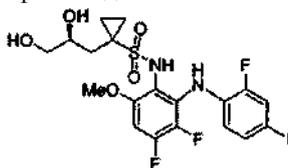
1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H).

$m/z=571$ [M-1].

Пример 98.

Получение

N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида



Чистый S изомер получали путем хирального ВЭЖХ разделения рацемической смеси.

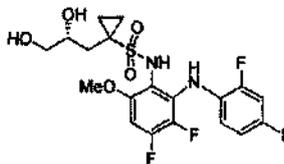
¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 7,38 (dd, J=1,7 и 10,3 Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, J=6,8 и 11,4 Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, J=3,7 и 11,1 Гц, 1H), 3,49 (dd, J=6,4 и 11,1 Гц, 1H), 2,3 (dd, J=9,7 и 16,1 Гц, 1H), 1,77 (dd, J=1,9 и 16,0 Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H).

$m/z=571$ [M-1].

Пример 99.

Получение

N-(R)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида



Чистый R изомер получали путем хирального ВЭЖХ разделения рацемической смеси.

¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 7,38 (dd, J=1,7 и 10,3 Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, J=6,8 и 11,4 Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, J=3,7 и 11,1 Гц, 1H), 3,49 (dd, J=6,4 и 11,1 Гц, 1H), 2,3 (dd, J=9,7 и 16,1 Гц, 1H), 1,77 (dd, J=1,9 и 16,0 Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H).

$m/z=571$ [M-1].

Пример 100.

Получение кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

Получение i) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (216,10 г) загружали в колбу Эрленмейера объемом 4 л, оборудованную большой магнитной мешалкой и магнитным перемешивателем/нагревательной пластиной. Добавляли этилацетат (около 600 мл, полученный от Fisher). Нагревание и перемешивание инициировало образование коричневой суспензии. Смесь доводили до слабой флегмы и дополнительно добавляли этилацетат (около 200 мл) для завершения растворения, получая темно-коричневый раствор. Медленно порциями добавляли гептан (полученный от Acros) к дефлегмируемому раствору со скоростью, при которой все осаждаемые вещества, которые образовывались при каждом добавлении, быстро растворялись и дефлегмацию поддерживали. После добавления 2 л гептанов к раствору образованные твердые вещества очень медленно растворялись при дефлегмации. Нагревание останавливали и кристаллизационной смеси позволяли уравновеситься до комнатной температуры при перемешивании в течение 16 ч. Густой слой кристаллического вещества образовывался на поверхности стекла в течение периода старения. Полученную суспензию уравнивали на ледяно/водяной бане при перемешивании. Суспензию фильтровали через воронку Бюхнера 25 см с фильтрационным материалом Ватманн № 1. Собранные кристаллы промывали гептаном (1 л) и позволяли высушиться на воздухе в вакууме. Кристаллы дополнительно высушивали при 40°C/<1 торр в течение 20 ч, получая продукт в виде розового кристаллического твердого вещества (160,99 г, 77,2%).

Получение ii) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (13,2 г) и этилацетат (30 мл) загружали в колбу Эрленмейера, оборудованную большой магнитной мешалкой и магнитным перемешивателем/нагревательной пластиной. Инициировали нагревание и перемешивание до слабой флегмы для завершения растворения, получая темно-коричневый раствор. Медленно порциями добавляли гептаны к дефлегмируемому раствору со скоростью, при которой все осаждаемые вещества, которые образовывались при каждом добавлении, быстро растворялись и дефлегмацию поддерживали, до тех пор, пока добавление гептанов к раствору вызывало растворение образованных твердых веществ очень медленно при дефлегмировании (~90 мл гептанов). Нагревание останавливали и кристаллизационной смеси позволяли уравновеситься до комнатной температуры при перемешивании в течение 16 ч. Густой слой кристаллического вещества обра-

зывался на поверхности стекла в течение периода старения. Полученную суспензию уравнивали на ледяно/водяной бане при перемешивании. Суспензию фильтровали через воронку Бюхнера с фильтрационным материалом Ватманн № 1. Собранные кристаллы промывали гептанами, и позволяли высушиться на воздухе в вакууме. Кристаллы дополнительно высушивали при 40°C/<1 торр в течение 20 ч, получая продукт в виде розового кристаллического твердого вещества.

Получение iii) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (44,8 г) и этилацетат (750 мл) загружали в колбу Эрленмейера, оборудованную большой магнитной мешалкой и магнитным перемешивателем/нагревательной пластинкой. Инициировали нагревание и перемешивание до слабой флегмы для завершения растворения, получая темно-коричневый раствор. Гексаны очень медленно порциями добавляли к дефлегмируемому раствору со скоростью, при которой все осаждаемые вещества, которые образовывались при каждом добавлении, быстро растворялись и дефлегмацию поддерживали, до тех пор, пока добавление гексанов к раствору вызывало растворение образованных твердых веществ очень медленно при дефлегмировании (~2 л гексанов). Нагревание останавливали и кристаллизационной смеси позволяли уравниваться до комнатной температуры при перемешивании в течение 16 ч. Густой слой кристаллического вещества образовывался на поверхности стекла в течение периода старения. Полученную суспензию уравнивали на ледяно/водяной бане при перемешивании. Суспензию фильтровали через воронку Бюхнера с фильтрационным материалом Ватманн № 1. Собранные кристаллы промывали, и позволяли высушиться на воздухе в вакууме. Кристаллы дополнительно высушивали при 40°C/<1 торр в течение 20 ч, получая продукт в виде розового кристаллического твердого вещества.

Пример 101.

Получение кристаллического полиморфа N-(R)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

N-(R)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (216,10 г) загружали в колбу Эрленмейера объемом 4 л, оборудованную большой магнитной мешалкой и магнитным перемешивателем/нагревательной пластинкой. Добавляли этилацетат (около 600 мл). Нагревание и перемешивание инициировало образование коричневой суспензии. Смесь доводили до слабой флегмы и дополнительно добавляли этилацетат (около 200 мл) для завершения растворения, получая темно-коричневый раствор. К дефлегмируемому раствору медленно порциями загружали гептан со скоростью, при которой все осаждаемые вещества, которые образовывались при каждом добавлении, быстро растворялись и дефлегмацию поддерживали. После добавления к раствору 2 л гептанов, образованные твердые вещества растворялись очень медленно при дефлегмации. Нагревание останавливали и кристаллизационной смеси позволяли уравниваться до комнатной температуры при перемешивании в течение 16 ч. Густой слой кристаллического вещества образовывался на поверхности стекла в течение периода старения. Полученную суспензию уравнивали на ледяно/водяной бане при перемешивании. Суспензию фильтровали через воронку Бюхнера 25 см с фильтрационным материалом Ватманн № 1. Собранные кристаллы промывали гептанами (1 л) и позволяли высушиться на воздухе в вакууме. Кристаллы дополнительно высушивали при 40°C/<1 торр в течение 20 ч.

Пример 102.

Получение данных IC₅₀.

Материалы и приготовление реагентов. GST-MEK1 человека и конститутивно активный аллель GST-MEK1^{CA} (содержащий мутации Ser218Asp и Ser222Asp) субклонировали в дрожжевом экспрессионном векторе pGEM4Z (Promega, Madison, WI) из кДНК MEK1 дикого типа человека. GST-MEK1^{CA} экспрессировали в *Escherichia coli* и частично очищали, используя аффинный полимер Глутатион Сефароза 4B (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). ERK2 аллель субклонировали из кДНК MAPK2/Erk2 (дикого типа) в pUSEamp (Upstate Biotechnology, Inc., Waltham, MA) в вектор pET21a (Novagen, Madison, WI), получая аллель ERK2 мыши с N-концевым меченым гистидином. ERK2 экспрессировали и очищали до гомогенности [Zhang, 1993 #33]. Основной миелиновый белок (MBP) получали от Gibco BRL (Rockville, MD). EasyTides аденозин 5'-трифосфат (ATP) ([γ -³³P]) (NEN Perkin Elmer, Wellesley, MA) являлся источником радиоактивной метки для всех киназных реакций. Активированный Raf-1 (усеченный) и активированную MAPKиназу 2/ERK2 получали от Upstate, Inc. (Lake Placid, NY). 4-20% Criterion Precast гели получали от Bio-Rad (Hercules, CA).

Определение ферментативной активности. Соединения разводили из маточных растворов диметилсульфоксида (DMCO) в 1xHMNDE (20 mM HEPES pH 7,2, 1 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, 1,25 mM DTT, 0,2 mM EDTA). Типичная проба объемом 25 мкл содержала 0,002 нмоль MEK1^{CA}, 0,02 нмоль ERK2, 0,25 нмоль MBP, 0,25 нмоль немеченого ATP и 0,1 мкКи [γ -³³P] ATP. Скрининговое исследование главным образом включало четыре добавления. 5 мкл разведенного соединения диспергировали в планшетах для анализов на 96 лунок. 10 мкл 2,5x коктейля фермента (MEK1^{CA} и ERK2 только) затем в каждую лунку добавляли, после этого предварительно инкубировали в течение 30 мин при температуре окружающей среды. Затем добавляли 10 мкл 2,5x коктейля субстрата (меченый и немеченый ATP плюс MBP), после

этого инкубировали в течение 60 мин при температуре окружающей среды. В завершение добавляли 100 мкл 10% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре для остановки реакции и осаждения радиоактивно меченных белковых продуктов. Продукты реакции собирали на стекловолоконные фильтрованные планшеты на 96 лунок, предварительно увлажненные водой и 1% пиррофосфатом. После этого фильтровальный планшет промывали 5 раз водой. Воду вытесняли абсолютным этанолом и планшетам позволяли высохнуть на воздухе в течение 30 мин при комнатной температуре. Вручную запечатывали снизу и 40 мкл сцинтилляционного коктейля диспергировали в каждую лунку. Запечатывали сверху и планшет анализировали в TopCount в течение двух секунд на лунку. Для определенных экспериментов использовали усеченную версию МЕК, для которой необходима активация Raf киназой.

Пример 103.

Получение данных EC_{50} .

Действия соединений в клетке определяли с помощью вестерн-блоттинга для фосфорилированного ERK. Клетки рака молочной железы MDA-MB-231 высевали в планшет на 48 лунок при плотности 20 тыс. клеток на лунку и выращивали при 37° в увлажненном CO_2 инкубаторе. На следующий день ростовую среду (DMEM + 10% фетальная бычья сыворотка) удаляли и заменяли обедненной средой (DMEM + 0,1% фетальная бычья сыворотка). Клетки инкубировали в обедненной среде в течение 16 ч и затем обрабатывали соединениями в разных концентрациях в течение 30 мин. После инкубирования с соединением клетки стимулировали 100 нг/мл EGF в течение 5 мин. Затем клетки лизировали и анализировали с помощью вестерн-блоттинга, используя моноклональное антитело с увеличенным сродством к фосфорилированной ERK. Сигнал амплифицировали, используя вторичное антитело, конъюгированное с красителем в ближней ИК-области и анализировали на сканере Licor Odyssey. Количественно определяли интенсивность сигнала и эти данные использовали для получения кривых зависимости "доза-эффект" и расчета EC_{50} .

Пример 104.

Данные активности соединений.

Соединения, описанные в примерах 1, 2 и 3, тестировали в исследованиях, описанных выше. Результаты обобщены в таблице ниже (А, $EC_{50} < 2,0$ нМ; В, $EC_{50} = 2,0-15$ нМ):

№ соединения	Структура	Активность
Пр. 97 (Рацемическое)		А
Пр. 98 (S изомер)		А
Пр. 99 (R изомер)		В

Пример 105.

Данные XRPD (порошковой рентгеновской дифракции).

XRPD осуществляли на дифрактометре Inel XRG-3000, оборудованным нелинейным позиционно-чувствительным детектором с 2θ интервалом 120° . Данные, поступающие в реальном времени, собирали, используя $Cu K\alpha$ облучение при разрешении $0,03^\circ 2\theta$. Напряжение и силу тока на трубке устанавливали равными 40 кВ и 30 мА соответственно. Картины просматривали в интервале от $2,5$ до $40^\circ 2\theta$ для облегчения прямого сравнения картин. Образцы (S)-N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (синтезированного, как описано в данном изобретении) готовили для анализа путем упаковывания их в тонкостенные стеклянные капилляры. Каждый капилляр перемещали в гониометрическую головку, которую переводили в двигательный режим, для позволения вращения капилляра при измерении и записи параметров. Образцы анализировали в течение 5 мин. Калибровку инструмента осуществляли ежедневно, используя кремниевый стандарт

для сравнения. На фиг. 5 представлен график порошковой рентгенограммы (PXRD) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида форма А. На фиг. 7 представлен график порошковой рентгенограммы (PXRD) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида форма А (верх) и аморфного (низ).

Пример 106.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC).

Анализы осуществляли на TA Instruments дифференциальном сканирующем калориметре Q1000. Прибор калибровали с помощью индия в качестве сравнительного вещества. Образец помещали на стандартную алюминиевую DSC кювету с негофрированной конфигурацией крышки и вес точно записывали. Для определения температуры стеклования (T_g) аморфного вещества ячейку с образцом несколько раз циклизовали в интервале от -40 до 140°C. Конечную температуру доводили до 150°C. T_g записывали с точки перегиба из последнего цикла перехода. На фиг. 6 представлен график модулированной DSC термограммы

N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (форма А). На графике представлен нормализованный тепловой поток в Вт/грамм (Вт/г) относительно измеренной температуры образца в °C.

Пример 107.

Сорбция/десорбция динамического испарения (DVS).

Данные сорбции/десорбции влаги собирали на анализаторе динамического испарения VTI SGA-100. Данные сорбции и десорбции собирали в интервале от 5 до 95% относительной влажности (ОВ) при интервалах 10% ОВ при продувании азотом. Образцы не высушивали перед анализом. Критерий уравниваемости, используемый для анализа, составлял менее 0,0100% изменения веса за 5 мин, при максимальном времени уравнивания 3 ч, если весовой критерий не соблюдался. Данные не корректировали относительно начального содержания влаги образцов. В качестве калибровальных стандартов использовали хлорид натрия и поливинилпирролидин. На фиг. 8 показана DVS изотерма N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (форма А). Вещество проявляет незначительное изменение веса при осуществлении эксперимента.

Пример 108.

Термогравиметрия (TG).

Анализы осуществляли на термогравиметрическом анализаторе TA Instrument 2950. Стандартами для калибровки были никель и Alumel™. Каждый образец помещали на алюминиевую кювету для образца и вставляли в TG печь. Образцы уравнивали при 25°C и затем нагревали в потоке азота при скорости нагревания 10°C/мин, вплоть до конечной температуры 350°C. На фиг. 9 показана TG термограмма N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (форма А), демонстрируя незначительную потерю веса вплоть до 140°C, указывая на то, что полиморф, форма А является несольватированной.

Пример 109.

Скрининг злота качественного новообразования в условиях *in vitro*.

Линии опухолевых клеток человека выращивали в RPMI1640 среде, содержащей 5% фетальную бычью сыворотку и 2 мМ L-глутамин. Клетки инокулировали в микротитровальные планшеты на 96 лунок в 100 мкл при плотности посева в интервале от 5 до 40 тыс. клеток/лунку в зависимости от времени удвоения индивидуальных клеточных линий. После инокуляции клеток, микротитровальные планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO₂, 95% воздухе и 100% относительной влажности в течение 24 ч перед добавлением N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

Через 24 ч два планшета каждой клеточной линии фиксировали *in situ* с помощью ТХУ, для предоставления возможности измерения клеточной популяции для каждой клеточной линии во время добавления N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (T_z). N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид солибилизировали в диметилсульфоксиде при 400-кратной желательной конечной максимальной тестируемой концентрации и хранили замороженным перед использованием. Во время добавления аликвоту замороженного концентрата размораживали и разводили в два раза желательной конечной максимальной тестируемой концентрации с полной средой, содержащей 50 мкг/мл гентамицина. Дополнительно готовили 4-, 10-кратные или $1/2 \log$ серийные разведения для обеспечения суммарно пяти концентраций плюс контроль. Аликвоты 100 мкл этих различных разведений добавляли в подходящие микротитровальные лунки, уже содержащие 100 мкл среды, получая необходимые конечные концентрации.

После добавления N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида планшеты инкубировали дополнительно в течение 48 ч при 37°C, 5% CO₂, 95% воздуха и 100% относительной влажности. Для прикрепленных клеток, исследование останавливали путем добавления холодной ТХУ. Клетки фиксировали *in situ* путем осторожного добавления 50 мкл холодной 50% (мас./об.) ТХУ (конечная концентрация, 10% ТХУ) и инкубировали в

течение 60 мин при 4°C. Супернатант отбрасывали, планшеты промывали пять раз водопроводной водой и высушивали на воздухе. В каждую лунку добавляли сульфородамин В (SRB) раствор (100 мкл) при 0,4% (мас./об.) в 1% уксусной кислоте и планшеты инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. После окрашивания несвязанный краситель удаляли путем промывания пять раз с помощью 1% уксусной кислоты и планшеты высушивали на воздухе. Затем связанное пятно солубилизировали с помощью 10 мМ основания тризма и абсорбцию анализировали на автоматическом планшет-ридере при длине волны 515 нм. Для суспензии клеток методология была такой же, за исключением того, что исследование останавливали путем фиксирования осевших клеток на дне лунок путем осторожного добавления 50 мкл 80% ТХУ (конечная концентрация, 16% ТХУ). Используя семь измерений абсорбции [нулевой момент времени (Tz), контрольный рост (C) и тестируемый рост в присутствии N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида при пяти уровнях концентраций (Ti)], рассчитывали процент роста для каждого уровня концентрации лекарственного средства. Ингибирование роста в процентах рассчитывали в виде:

$$\text{Ингибирование роста в процентах} = \frac{(T_i - T_z)}{(C - T_z)} \times 100$$

(концентрации, для которых $T_i \geq T_z$)

$$\text{Ингибирование роста в процентах} = \frac{(T_i - T_z)}{T_z} \times 100$$

(концентрации, для которых $T_i < T_z$)

Рассчитывали три параметра дозозависимого эффекта. Ингибирование роста на 50% (GI₅₀) рассчитывали из $[(T_i - T_z)/(C - T_z)] \times 100 = 50$, которая представляет собой концентрацию, приводящую к 50% уменьшению повышения чистого белка (как измерено путем SRB окрашивания) в контрольных клетках при инкубировании с лекарственным средством. Концентрации N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, приводящие к суммарному ингибированию роста (TGI), рассчитывали из $T_i = T_z \cdot LC_{50}$ (концентрация лекарственного средства, приводящая к уменьшению на 50% измеренного белка после окончания лечения с помощью лекарственного средства по сравнению с таковым в начале исследования), с указанием чистой потери клеток после лечения, рассчитанной из $[(T_i - T_z)/T_z] \times 100 = -50$. Значения рассчитывали для каждого из этих трех параметров, если достигался уровень активности; однако, если эффект не достигался или превышался, то значения для параметра выражали как больше или меньше максимальной или минимальной тестируемой концентрации.

Исследовали панели, соответствующие лейкозу, немелкоклеточному раку легких, раку ободочной кишки, злокачественному новообразованию ЦНС, меланоме, раку яичника, раку почки, раку предстательной железы и раку молочной железы, для указанных клеточных линий и результаты представлены ниже.

Панель	Клеточная линия	GI50 (мкМ)	LC50 (мкМ)	TGI (мкМ)
Лейкоз	CCRF-CEM	17,378	100,000	60,256
Лейкоз	HL-60(TB)	0,010	100,000	100,000
Лейкоз	K-562	6,607	100,000	100,000
Лейкоз	MOLT-4	10,965	100,000	69,183
Лейкоз	RPMI-8226	26,915	100,000	100,000
Лейкоз	SR	38,019	100,000	100,000
Не-мелкоклеточный рак легких	A549/ATCC	0,589	100,000	64,565
Не-мелкоклеточный рак легких	EKVX	0,214	61,660	13,804
Не-мелкоклеточный рак легких	HOP-62	0,069	42,658	12,589
Не-мелкоклеточный рак легких	HOP-92	0,047	58,884	0,324
Не-мелкоклеточный рак легких	NCI-H226	3,311	74,131	24,547
Не-мелкоклеточный рак легких	NCI-H23	0,056	74,131	2,884
Не-мелкоклеточный рак легких	NCI-H322M	0,162	46,774	15,488
Не-мелкоклеточный рак легких	NCI-H460	3,631	52,481	19,498
Не-мелкоклеточный рак легких	NCI-H522	5,248	100,000	29,512
Рак ободочной кишки	HCC-2998	0,010	0,457	0,035
Рак ободочной кишки	HCT-116	0,195	67,608	12,589
Рак ободочной кишки	HCT-15	0,603	60,256	16,982

Рак ободочной кишки	HT29	0,026	29,512	3,090
Рак ободочной кишки	KM12	0,229	48,978	13,490
Рак ободочной кишки	SW-620	0,039	66,069	12,589
Злокачественное новообразование ЦНС	SF-268	2,570	100,000	25,704
Злокачественное новообразование ЦНС	SF-295	9,333	53,703	23,442
Злокачественное новообразование ЦНС	SF-539	1,514	60,256	20,417
Злокачественное новообразование ЦНС	SNB-19	0,251	75,858	24,547
Злокачественное новообразование ЦНС	SNB-75	0,302	34,674	4,467
Злокачественное новообразование ЦНС	U251	0,891	44,668	17,378
Меланому	LOX IMVI	0,195	38,905	10,715
Меланому	MALME-3M	0,010	19,953	0,014
Меланому	M14	0,015	29,512	0,166
Меланому	SK-MEL-28	0,028	22,387	0,214
Меланому	SK-MEL-5	0,062	38,905	13,804
Меланому	UACC-257	0,020	66,069	10,233
Меланому	UACC-62	0,014	20,893	0,170
Рак яичника	IGROV1	0,018	19,055	0,295
Рак яичника	OVCAR-3	2,512	48,978	17,783
Рак яичника	OVCAR-4	0,562	72,444	16,218
Рак яичника	OVCAR-5	0,017	40,738	12,023
Рак яичника	SK-OV-3	12,882	100,000	41,687
Рак почки	786-0	5,129	63,096	23,442
Рак почки	A498	0,191	44,668	4,169
Рак почки	ACHN	0,275	83,176	21,878
Рак почки	CAKI-1	0,389	100,000	26,915
Рак почки	SN12C	0,851	47,863	18,621
Рак почки	TK-10	0,224	100,000	23,442
Рак почки	UO-31	0,158	40,738	11,482
Рак предстательной железы	PC-3	8,128	100,000	37,154
Рак предстательной железы	DU-145	2,138	95,499	22,387
Рак молочной железы	MCF7	10,965	85,114	30,903
Рак молочной железы	NCI/ADR-RES	3,467	100,000	25,704
Рак молочной железы	MDA-MB-231	0,069	35,481	10,471
Рак молочной железы	HS 578T	0,617	85,114	13,490
Рак молочной железы	MDA-MB-	0,035	41,687	12,303
	435			
Рак молочной железы	BT-549	5,754	47,863	20,893
Рак молочной железы	T-47D	4,898	100,000	38,019
Рак молочной железы	MDA-MB-468	0,019	54,954	10,233

Пример 110.

Антипролиферативная активность *in vitro*.

В данном примере исследовали следующие эффекты N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида: (1) активность (GI_{50}) по отношению к нескольким линиям опухолевых клеток, несущих различные мутации; (2) активность (GI_{50}) по отношению к росту нескольких мутантных клеточных линий B-Raf; (3) влияния на независимый от закоривания рост клеток; (4) влияния на клеточный цикл и (5) токсические влияния на первичные клетки печени и почек.

Исследование ингибирования культуры клеток/роста.

Клетки меланомы A375 человека и клетки рака ободочной кишки Colo205 человека получали из ATCC (Manassas, VA). A375 клетки поддерживали в DMEM, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой, глутамином (2 мМ), пенициллином (100 ед./мл) и стрептомицином (100 мкг/мл). Клетки поддерживали при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности. Colo205 клетки поддерживали в RPMI, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой, глутамином (2 мМ), пенициллином (100 ед./мл) и стрептомицином (100 мкг/мл). Для осуществления опытов по ингибированию роста клетки помещали в белые микротитровальные планшеты на 384 лунок при 1000 клеток/20 мкл/лунку. Через 24 ч добавляли 5 мкл 5X маточного раствора лекарственного средства. Все лекарственные средства изначально готовили в виде 200X маточных растворов в ДМСО таким образом, что конечная концентрация ДМСО составляла 0,5%. Клетки

инкубировали в течение 48 ч при 37°C и определяли уровни АТФ, используя CellTiterGlo (Promega, Madison, WI). Определяли высвобождение аденилатциклазы (АК), используя Toxilight (Cambrex, Walkersville, MD). Нелинейную обработку кривых осуществляли, используя GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, San Diego, CA). 4-Амино-8-((2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)пиридо[2,3-d]пиримидин-5(8H)-он (VRX-14686) являлся цитотоксическим средством, используемым в качестве сравнительного соединения.

Ингибирование роста (%)=(Только Наполнитель контроль (RLU) - N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид RLU)/(Только Наполнитель контроль RLU-1 мкМ N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид RLU); на основе остановки роста, индуцированной N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом, где измеряли уровни АТФ.

Жизнеспособность клеток (%)=(N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид RLU-10 мкМ VRX-14686 RLU)/(Только Наполнитель контроль RLU-10 мкМ Тамоксифен RLU); на основе лизиса клеток, индуцированного VRX-14686, где измеряли уровни АТФ.

Лизис клеток (%)=(N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид RLU - Только Наполнитель контроль RLU)/(10 мкМ Тамоксифен RLU - Только Наполнитель контроль RLU); на основе лизиса клеток, индуцированного тамоксифеном, где измеряли высвобождение АК.

RLU=Относительные единицы флуоресценции.

Оценка остановки клеточного цикла.

A375 клетки помещали в микропланшеты на 96 лунок при 10 тыс. клеток/200 мкл/лунку. Через 24 ч клетки достигали слияния приблизительно 50% и 50 мкл 5X маточного раствора лекарственного средства добавляли. Еще через 24 ч клетки трипсинизировали, фиксировали в 200 мкл Prefer (Anatech, Battle Creek, MI), и хранили при 4°C в течение ночи. Затем клетки промывали в PBS, пермеализировали, окрашивали в 0,1% Тритон X-100, 200 мкг/мл РНКазы без ДНКазы и 25 мкг/мл пропидий йодида (Molecular Probes, Sunnyvale, CA) и анализировали на Guava PCA-96 (Guava Technologies, Foster City, CA). Данные анализировали, используя ModFit LT (версия 3,0, Verity, Topsham, ME).

(1) Оценка ингибирования зависимого от закоривания роста клеток.

Лунки планшеты "сверхнизкого связывания" (Corning, Acton MA) заполняли 60 мкл 0,15% раствора агарозы в полной RPMI. Затем в лунку добавляли 60 мкл полной RPMI, содержащей 9000 Colo205 клетки в 0,15% агарозы. Через 24 ч добавляли 60 мкл 3X раствора лекарственного средства в полной RPMI без агарозы. Через 7 дней в лунку добавляли 36 мкл 6X MTS реагента (CellTiter 96 Aqueous, Promega, Madison, WI). Через 2 ч при 37°C определяли абсорбцию при 490 нм на планшет-ридере M5 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Нелинейную обработку кривых осуществляли, используя GraphPad Prism 4.

(2) Ингибирование роста (GI₅₀) относительно MEK-зависимого роста раковых клеток.

Делящиеся в фазе логарифмического роста В-Raf мутантные клетки A375 (меланома человека), A431 (меланома), Colo205 (рак ободочной кишки), HT29 (аденокарцинома ободочной и прямой кишки), MDA-MB231 (аденокарцинома молочной железы) и ВхРС3 (аденокарцинома поджелудочной железы) подвергали воздействию N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в течение 48 ч и анализировали содержание АТФ. Определяли 100% остановку роста, используя 1 мкМ N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

В таблице ниже представлены средние значения GI₅₀ по меньшей мере трех экспериментов для каждой клеточной линии и показано, что N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид вызывает ингибирование роста в трех В-Raf мутантных клеточных линиях (A375, Colo205 и HT29), а также в одном пути передачи сигналов gas/raf/MEK/МАРК клеточной линии дикого типа (A431) со средней эффективностью 79 нМ (±9 нМ).

Линия клеток	Среднее значение	Кэфф. Стьюдента	Кэфф. вариации
A375	71 нМ	12,1 нМ	17%
A431	86 нМ	25,4 нМ	30%
Colo205	89 нМ	40,1 нМ	45%
HT29	70 нМ	12,2 нМ	18%
MDA	>1 мкМ		
ВхРС3	>1 мкМ		

В отдельном исследовании, делящиеся в фазе логарифмического роста В-Raf мутантные клетки A375 (меланома человека), SK Mel28 (меланома человека) и Colo205 (рак ободочной кишки человека) подвергали действию N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в течение 48 ч и исследовали содержание АТФ. В таблице ниже представлены GI₅₀ для каждой клеточной линии, свидетельствующие о том, что N-(S)-(3,4-

дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид вызывает ингибирование роста с эффективностью приблизительно его EC_{50} значение для МЕК ингибирования.

Клеточная линия	GI_{50} (нМ)
A375	56
SK Mel 28	105
Colo205	27

На фиг. 10А и 10В показана остановка роста делящихся в фазе логарифмического роста А375 клеток, подвергнутых влиянию повышенных концентраций N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида. Клетки анализировали относительно содержания АТР. Определяли 100% остановку роста, используя 1 мкМ N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

В клеточных супернатантах анализировали цитотоксический лизис с помощью измерения высвобождения аденилаткиназы (АК). Делящиеся в фазе логарифмического роста А375 клетки подвергали воздействию

N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида и PD-325901 в течение 48 ч (100% лизированных клеток определяли с помощью 20 мкМ тамоксифена.) Результаты представлены на фиг. 11. Эти данные указывают на то, что N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид вызывает нетоксичную остановку роста в некоторых чувствительных клеточных линиях рака человека, о чем свидетельствует i) измерения остановки роста (АТР количественное определение); и ii) отсутствие цитотоксического лизиса клеток (АК высвобождение). Отсутствие АК высвобождения подтверждали для всех тестируемых клеточных линий.

Ингибирование независимого от закоривания роста.

Количественно анализировали независимый от закоривания рост клеток Colo205, А375 и MDA-MB231, подвергнутых воздействию N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в течение 7 дней, в формате микропланшета на 96 лунок. Жизнеспособность определяли с помощью MTS исследования. GI_{50} значения представлены ниже.

Клеточная линия	Среднее значение	Коэфф. Стьюдента	Коэфф. вариации
Colo205	40 нМ	8,1 нМ	20%
A375	84 нМ	17,2 нМ	21%
MDA-MB231	81 нМ	55,6 нМ	69%

На фиг. 12А-12С показано ингибирование роста N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом (А) клеток Colo205 рака ободочной и прямой кишки человека ($GI_{50}=11$ нМ); (В) А375 клеток ($GI_{50}=22$ нМ) и (С) ингибирование MDA-MB231 клеток, которые не проявляют индицированной N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом остановки роста в двухмерных исследованиях, зависимых от закоривания.

Делящиеся в фазе логарифмического роста А375 клетки подвергали воздействию N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (1 мкМ) в течение 48 ч и в клеточных супернатантах анализировали ингибирование роста (АТР содержание) и цитотоксический лизис (АК высвобождение). 100% жизнеспособность (АТР исследование) определяли в наполнителе только контрольных лунок. В таблице ниже показаны результаты, свидетельствующие от том, что N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид вызывает нетоксическую остановку роста в В-Raf мутантных клетках меланомы человека А375.

	% контроля
АТР, Жизнеспособность клеток	27%
АК, Лизис клеток	4%

Ингибирование независимого от закоривания роста.

Независимый от закоривания рост количественно оценивали в формате микропланшета на 96 лунок. На фиг. 13А показано ингибирование роста клеток колоректальной карциномы человека Colo205 со значениями GI_{50} для концентраций 6 и 11 нМ соответственно. На фиг. 13В показано ингибирование роста А375 клеток со значениями GI_{50} для концентраций 5 и 22 нМ.

Исследование клеточного цикла при индуцированной N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом остановки роста.

Было показано, что МЕК ингибирование индуцирует остановку клеточного цикла в фазе G1/S на

А375 клетках.

Делящиеся в фазе логарифмического роста А375 клетки подвергали воздействию N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в течение 24 ч и определяли процент клеток, которые окрашивались в зависимых от фаз количествах внутриклеточной ДНК с помощью проточной цитометрии.

В таблице ниже показано процентное распределение клеток в соответствующих фазах роста в клетках, обработанных N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидами контроле (только наполнитель).

Контроль		Фаза %		
		G1	S	G2
N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид	111 нМ	61,8	27,1	11,1
	37 нМ	84,7	11,8	3,5
		74,3	18,7	7,0

На фиг. 14А и 14В показано влияние N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида на осуществление клеточного цикла, свидетельствующее о том, что действие на клетки А375 N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида вызывает остановку в G1 фазе клеточного цикла, на что указывает истощение в обеих фазах G2 и S.

Оценка токсичности на первичные гепатоциты и клетки почек.

Криоконсервированные гепатоциты печени получали от CellzDirect (Austin, TX) и высевали на покрытые коллагеном планшеты на 96 лунок согласно инструкциям производителя. Лекарственное средство добавляли через 4 после высевания (конечная концентрация ДМСО 0,5%).

Высеянные гепатоциты человека получали CellzDirect и обрабатывали согласно инструкциям производителя.

Криоконсервированные эпителиальные клетки проксимальных канальцев почки человека (RPTEC) получали от Cambrex и обрабатывали согласно инструкциям производителя. Клетки выращивали в течение 4 дней и затем высевали в планшеты на 96 лунок при плотности 50 тыс. клеток/лунку для воздействия лекарственным средством.

Через 48 ч определяли уровни АК в супернатанте, используя Toxilight, и определяли уровни АТФ в клетках с помощью CellTiterGlo. Определяли значения полного лизиса с помощью 15 мкМ VRX-14686.

Результаты представлены ниже. Наблюдали очень незначительное количество лизированных клеток. Минимальную токсичность (выживание 81%) наблюдали при 30 мкМ N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в свежесеянных первичных гепатоцитах человека. Для RPTEC наблюдали дозозависимое истощение АТФ и очевидный лизис клеток при 30 мкМ.

Соединение А	АТФ (% выживания клеток)			АК высвобождение (% выживание клеток)		
	Гепатоциты		RPTEC	Гепатоциты		RPTEC
	Крыса	Человек	Человек	Крыса	Человек	Человек
30,0	57%	81%	34%	91%	109%	41%
10,0	72%	107%	85%	93%	112%	99%
3,3	87%	104%	91%	97%	102%	95%
1,1	114%	108%	94%	96%	92%	96%

Данные, представленные выше, свидетельствуют о том, что (1) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид ингибирует рост и деление клеток в выбранных раковых клетках человека с GI₅₀ значениями в интервале 70-89 нМ в исследованиях зависимой от закоривания пролиферации, не вызывая токсичности, что определяется с помощью анализа лизиса клеток; (2) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид ингибирует рост и деление клеток в выбранных раковых клетках человека с GI₅₀ значениями 51 и 22 нМ в исследованиях зависимой и независимой от закоривания пролиферации соответственно; (3) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид вызывает остановку G1 и ингибирует независимый от закоривания роста в А375 клетках, обеспечивая подтверждение противораковой активности в физиологически релевантной модели в условиях in vitro; и (4) N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид проявляет незначительную цитотоксичность по отношению в первичных нормальных гепатоцитах человека, эпителиальным клеткам проксимальных канальцев почки человека и гепатоцитам почки.

Пример 111.

Фармакокинетические характеристики N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида у пациентов со злокачественными

ми новообразованиями после введения многократных доз.

Доза (мг)	N	T _{max} (ч)	C _{max} (мкг/мл)	C _{24hr} (мкг/мл)	AUC _t (мкг·ч/мл)	t _{1/2} * (ч)	R _{ac} C _{max}	R _{ac} AUC _t
2	3	1,33 (21,7)	0,0504 (49,2)	0,00938 (82,8)	0,517 (61,2)	11,4 (38,8)	1,76 (35,6)	1,90 (23,9)
4	3	1,50 (33,3)	0,105 (41,0)	0,0313 (41,1)	1,39 (42,7)	14,9 (0,992)	1,49 (21,6)	1,91 (36,1)
6	3	1,50 (33,3)	0,205 (16,6)	0,0489 (12,2)	2,22 (5,79)	15,6 (23,8)	1,58 (38,5)	2,07 (23,5)

R_{ac}: индекс накопления.

* Неточная оценка вследствие ограниченного времени наблюдения.

После введения многократных доз N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида субъекту в концентрациях 2, 4, или 6 мг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид быстро абсорбируется со средним значением T_{max} в интервале от 1,33 до 1,50 ч. Средние значения C_{max}, C_t и AUC повышаются пропорционально увеличению дозы. Индексы накопления находятся в интервале от 1,49 до 1,76 для C_{max} и от 1,90 до 2,07 для AUC соответственно, что указывает на умеренное накопление. Несмотря на то что период полувыведения не может быть точно измерен вследствие ограниченного времени наблюдения после введения многократной дозы, полагают, что период полувыведения превышает 22 ч после введения многократных доз, исходя из индексов накопления. Эти значения периода полувыведения существенно превышают значения, наблюдаемые на модели эффективности у мышей, которые обычно находятся в интервале 2-3 ч. Дополнительно, для всех доз наблюдаются обнадеживающие соотношения пиковых значений к минимальным.

Пример 112.

Фармакокинетические характеристики N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида у здоровых добровольцев после введения многократных доз.

Доза (мг)	N	T _{max} (ч)	C _{max} (мкг/мл)	C _{24hr} (мкг/мл)	AUC _t (мкг·ч/мл)	t _{1/2} * (ч)	R _{ac} C _{max}	R _{ac} AUC _t
10	6	2,00 (61,2)	0,182 (35,5)	0,0318 (53,0)	1,02 (1,80) (43,7) (39,7)	14,6 (15,2)	1,14 (19,0)	1,29 (13,4)
20	6	2,25 (39,1)	0,313 (17,6)	0,0350 (36,5)	2,60 (22,0)	13,4 (21,9)	1,23 (24,1)	1,24 (6,51)

R_{ac}: индекс накопления.

* Неточная оценка вследствие ограниченного времени наблюдения.

После введения многократных доз N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида субъекту в концентрациях 10 или 20 мг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид быстро абсорбируется со средним значением T_{max} в интервале от 2,00 до 2,25 ч. Средние значения C_{max}, C_t и AUC повышаются при повышении дозы. Индексы накопления находятся в интервале от 1,14 до 1,23 для C_{max} и от 1,24 до 1,29 для AUC соответственно, что указывает на незначительное накопление. Периоды полувыведения сходны наблюдаемым при использовании двухдозовой схемы и находятся в интервале от 13 до 15 ч. Эти значения периода полувыведения являются более короткими по сравнению с наблюдаемыми у пациентов со злокачественным новообразованием.

Пример 113.

Антипролиферативная активность в условиях *in vitro*.

Влияние N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида на ингибирование пролиферации клеток исследовали в клеточной линии, имеющей происхождение из раковой опухоли желудка человека ("рак желудка") в исследовании клеточной пролиферации.

Исследование клеточной культуры/ингибирования роста.

Клетки раковой опухоли желудка человека Hs746t получали от ATCC (Manassas, VA). Hs746t клетки поддерживали в DMEM, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой, пенициллином (100 ед./мл) и стрептомицином (100 мкг/мл). Клетки поддерживали при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности. Для исследований клеточной пролиферации клетки высевали в планшеты на 96 лунок с прозрачным дном при плотности 3000 клеток/100 мкл/лунку. Через 24 ч клеточную среду удаляли и заменяли средой, содержащей

N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид в различных дозах. После инкубирования в течение 48 ч при 37°C определяли уровни АТФ, используя CellTiterGlo (Promega, Madison, WI) и анализировали значения люминесценции, используя LJI Biosystems Analyst HT (Sunnyvale, CA). Уровни АТФ для каждой

дозы определяли в трех повторах, используя независимые лунки.

Относительное количество клеток=(среднее значение RLU (леченных N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом))/(среднее значение RLU Только Наполнитель контроль).

На фиг. 19 показан график количества клеток (относительно наполнителя) в зависимости от N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида и полученные данные свидетельствуют о том, что N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид ингибирует пролиферацию клеток рака желудка человека Hs746t через 48 ч лечения.

Пример 114.

Антипролиферативная активность в условиях *in vitro*.

Влияние N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида на ингибирование пролиферации клеток исследовали в клеточной линии, имеющей происхождение от аденокарциномы желудка человека ("рак желудка") в исследовании клеточной пролиферации.

Исследование клеточной культуры/ингибирование роста.

Клетки аденокарциномы желудка человека AGS получали от ATCC (Manassas, VA). AGS клетки поддерживали в DMEM/F12, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой, пенициллином (100 ед./мл) и стрептомицином (100 мкг/мл). Клетки поддерживали при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности. Для исследований клеточной пролиферации клетки высевали в белые планшеты на 96 лунок при плотности 3000 клеток/100 мкл/лунку. Через 24 ч клеточную среду удаляли и заменяли средой, содержащей N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид в различных дозах. После инкубирования в течение 3 дней при 37°C определяли уровни АТФ, используя CellTiterGlo (Promega, Madison, WI) и анализировали значения люминесценции, используя LJI Biosystems Analyst HT (Sunnyvale, CA). Уровни АТФ для каждой дозы определяли в трех повторах, используя независимые лунки. В другом опыте высевали 1000 клеток/100 мкл/лунку и клетки обрабатывали в течение 6 дней и анализировали, как описано выше.

Относительное количество клеток=(среднее значение RLU (леченных N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом))/(среднее значение RLU Только Наполнитель контроль).

На фиг. 15А и 15В представлен график зависимости концентрации N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида от количества клеток (относительно наполнителя) после (А) 3 дня и (В) 6 дней воздействия N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которые свидетельствуют о том, что N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид ингибирует пролиферацию клеточной линии аденокарциномы желудка человека AGS.

Пример 115.

Ростовые ответные реакции ортотопических опухолей человека Hep3В у мышей Nude при лечении различными количествами N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

Дозозависимый ответ при введении N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида ("соединение А"), относительно ингибирования ортотопического рака печени человека Hep3В2,1-7 оценивали на BALB/c nu/nu мышях, по сравнению с оптимальной дозой 5-фторурацила (75 мг/кг).

Животные. Для исследования использовали самок мышей BALB/c nu/nu (University of Adelaide, Waite Campus, SA, Australia), в возрасте 10-14 недель, с весом тела в интервале 19,1-29,94 г (среднее значение 22,95 г). Мышей разделяли на 6 опытных групп (4 леченных группы и 2 контрольные группы) следующим образом.

Количество мышей на группу: 10 в группах от 1 до 5 включительно; 15 в контрольной группе "скорости приема" (группа 6).

Мышей содержали в окружающей среде с регулируемыми условиями (целевые интервалы: температура 21±3°C, влажность 30-70%, кратность воздухообмена 10-15) в изолированных условиях (карантин) с циклом 12 ч света/12 ч темноты. За температурой и относительно влажностью наблюдали непрерывно. Животным давали коммерчески доступное питание для грызунов (Rat and Mouse Cubes, Speciality Feeds Pty Ltd, Glen Forrest, Western Australia) и водопроводную воду *ad libitum*. Пищу и воду стерилизовали путем автоклавирования.

Инокуляция опухоли.

Клетки Hep3В рака печени человека (пассаж 2 из рабочего запаса VP-Stock 353) культивировали в RPMI1640 клеточной культуральной среде, которая была дополнена 10% FBS и пенициллином-стрептомицином (конечная концентрация 50 МЕ/мл). Клетки собирали путем трипсинизации, два раза промывали в HBSS и подсчитывали. После этого клетки ресуспендировали в HBSS:Matrigel (1:1, об./об.)

и доводили до конечного объема, содержащего 1×10^8 клеток/мл. Перед инокуляцией участки надреза тщательно промывали спиртом и надрез осуществляли через брюшную стенку для доступа к печени. Иглу вводили в полость печени, куда инъецировали 10 мкл клеток (1×10^6 клеток). Иглу выдерживали в этом положении около 30 с для предоставления возможности полимеризации Matrigel® для предотвращения просачивания опухолевых клеток в брюшную полость.

Лечение начинали через 14 дней после инокуляции. На 7 день исследования (21 день после инокуляции) всех мышей из контрольной группы "скорости поглощения" отбраковывали и печени визуально исследовали для определения наличия опухоли.

Материалы. Следующие вещества получали из соответствующих коммерческих источников.

Стерильный солевой раствор (0,9% NaCl (водн.)) получали от Baxter Healthcare Australia, Old Toongabbie, NSW, Australia. Кремофор EL получали от Sigma-Aldrich Pty Ltd, Castle Hill, NSW, Australia. 5-Фторурацил, клинический препарат, прозрачная, бесцветная жидкость получали от Mayne Pharma Pty Ltd. RPM11640 клеточную культуральную среду, FBS и HBSS получали от Invitrogen Australia Pty Ltd, Mt Waverley, VIC, Australia. Пенициллин-стрептомицин и трипановый синий получали от Sigma-Aldrich, Castle Hill, NSW, Australia. Клетки рака печени человека Hep3B2,1-7 получали из американской коллекции типовых культур (ATCC), Rockville, MD, USA. Matrigel® получали от BD Biosciences, North Ryde, NSW, Australia.

Применение Matrigel® в инокуляционной суспензии улучшало скорость поглощения опухолью и снижало изменчивость размера опухоли, и рост рака печени человека Hep3B2,1-7 является более стабильными при инокуляции в присутствии их внеклеточного матрикса.

Приготовление и введение соединения: кремофор EL:солевой раствор (1:9, об./об.; контрольный наполнитель), N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (соединение А) или 5-фторурацил (контрольное соединение) вводили согласно схеме, представленной ниже.

<i>Группа</i>	<i>Соединение</i>	<i>Доза (мг/кг)</i>	<i>Запланированное лечение</i>	<i>Введенное лечение</i>
1	Наполнитель Контроль	10 мл/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 19 дней (День 0 - 18)
2	Соединение А	0,2 мл @ 10 мл/кг=2 мг/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 19 дней (День 0 - 18)
3	Соединение А	1,0 мл @ 10 мл/кг=10 мг/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 19 дней (День 0 - 18)
4	Соединение А	5,0 мл @ 10 мл/кг=50 мг/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 19 дней (День 0 - 18)
5	5-Фторурацил	7,5 мл @ 10 мл/кг=75 мг/кг	Один раз в неделю в течение 21 дня (День 0, 7 и 14)	Один раз в неделю в течение трех недель (День 0, 7 и 14)
6	Контроль 'скорости поглощения'	Без лечения	-	-

Контрольный наполнитель, кремофор EL:солевой раствор (1:9, об./об.), вводили п.о. в дозируемом объеме 10 мл/кг, один раз в сутки в течение 21 последовательных дней (день 0-20).

N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид, приготавливали в кремофор EL:солевой раствор (1:9, об./об.). Маточный раствор готовили еженедельно и хранили при 4°C. Растворы с дозами готовили в каждый день введения. N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид вводили п.о. в дозируемом объеме 10 мл/кг, один раз в сутки в течение 21 дня (день 0-20). Соединение вводили в дозах 2, 10 и 50 мг/кг.

Клинический препарат 5-фторурацил разводили в стерильном солевом растворе и вводили в.в. через хвостовую вену при концентрации 75 мг/кг, в дозирующей объеме 10 мл/кг, один раз в неделю в течение трех недель (в день 0, 7 и 14).

Мышам в группе 6 никакого лечения не вводили (контроль "скорости поглощения"). На 7 день исследования (21 день после инокуляции) мышей отбраковывали и печень раскрывали для определения "скорости поглощения" и размера опухолей в стенке печени.

Вес тела каждого животного измеряли непосредственно перед введением дозы. Рассчитывали объ-

ем для введения каждому животному и корректировали согласно весу тела животного.

Измерения опухоли. Вес во влажном состоянии печени и опухоли измеряли после их извлечения посмертно в день окончания исследования. После окончания исследования печени извлекали из всех мышей в каждой исследуемой группе и взвешивали. Подсчитывали количество видимых опухолей, если они присутствуют. Эти опухоли удаляли из печени и взвешивали.

Схема измерения данных и отбора образцов

Измеряемые данные	Схема
Вес тела	День 0, затем три раза в неделю (понедельник, среда и пятница), и в день окончания исследования для групп 1 - 5 включительно.
Вес печени и вес опухоли	Вес во влажном состоянии извлеченной печени и опухоли всех мышей в группах 1 - 5 включительно, посмертно в день окончания исследования, и из одной мыши в группе 5, которая умерла в последний день лечения.
Отбор образцов	
Печени и опухоли	Из всех мышей в группе 6 (контроль 'скорости поглощения') в день 7 исследования.
Печени и опухоли	Из всех мышей в группах 1 - 5 включительно, посмертно в день окончания исследования, и из одной мыши в группе 5, которая умерла в последний день лечения.
Печень	Из всех мышей в группах 1 - 5 включительно, посмертно в день окончания исследования, и из одной мыши в группе 5, которая умерла в последний день лечения.

Сбор и расчет данных. Импульсный приемопередатчик каждого животного (Bar Code Data Systems Pty Ltd, Botany Bay, NSW) сканировали с помощью сканера штрих-кода (LabMax I, DataMars, Switzerland) непосредственно до сбора данных. Все измерения осуществляли с постоянными портативными штангенциркулями (Absolute Digimatic Model CD-6" CS, Mitutoyo Corporation, Japan). Данные синхронизировали с защищенной реляционной базой данных vivoPharm, используя Pendragon Forms 4.0 (Pendragon® Software Corporation, Libertyville, IL, USA) в качестве программного обеспечения передачи данных. AIDAM v2.4 использовали для статистических отчетов и расчета данных.

Статистическая обработка и расчеты. Всю статическую обработку осуществляли с помощью SigmaStat 3.0. (SPSS Australasia Pty Ltd, North Sydney, NSW, Australia).

Основанный на двойной выборке критерий Стьюдента использовали для определения достоверности изменения веса тела в пределах леченной группы в промежутке от дня 0 и до дня окончания исследования. Если данные не соответствовали критерию нормальности или однородному дисперсионному критерию, то осуществляли критерий суммы рангов Манна-Уитни.

Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) (все пары процедуры множественного сравнения и множественного сравнения относительно контрольной группы) осуществляли для данных веса печени и веса опухоли после окончания исследования. Если этот тест не соответствовал однородному дисперсионному критерию, то осуществляли однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса (ANOVA) по рядам. Аналогичную статистическую обработку осуществляли для данных относительно мышей, несущих опухоль, в настоящем исследовании.

р значение меньше 0,05 рассматривали как достоверное.

Данные веса печени и веса опухоли для мышей, несущих опухоль, и среднего веса печени и опухоли на мышью на группу в группе мышей, несущих опухоль.

Группа	Лечение	Средний вес печени (г)	Станд. ошибка ср.	Средний вес опухоли (г)	Станд. ошибка ср.	Количество мышей с опухолями (из 10)
1	Контрольный наполнитель	4,560	0,673	3,382	0,979	4
2	Соединение А @ 2 мг/кг	2,775	0,475	1,776	0,576	6
3	Соединение А @ 10 мг/кг	2,551	0,446	1,407	0,465	7
4	Соединение А @ 50 мг/кг	1,677	0,161	0,624	0,257	4
5	5FU™ @ 75 мг/кг	1,217	0,051	0,143	0,078	4

Образцы не отбирали у мыши из группы 5 (5-фторурацил при 75 мг/кг), которую выбраковывали в процессе исследования. Вследствие наличия у некоторых мышей больших опухолей, о чем свидетельствует появление вздутого образования в области живота, исследование прекращали через 18 после начала лечения.

Дозозависимая тенденция снижения веса печени и опухоли была очевидной в группах, леченных с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-

дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида. Если рассматривать только мышей, несущих опухоль, то было обнаружено, что средний вес печени в группах, леченных с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида при наиболее высокой дозе (группа 4 в дозе 50 мг/кг) и 5-фторурацил (группа 5 в дозе 75 мг/кг) достоверно отличается от группы с контрольным наполнителем (группа 1; $p < 0,05$). Также было обнаружено, что средний вес опухоли в группах, леченных с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (группы 3 и 4 в дозах 10 и 50 мг/кг соответственно) и 5-фторурацила (группа 5 в дозе 75 мг/кг), достоверно отличается от группы с контрольным наполнителем.

Эти результаты представлены графически на фиг. 16 (средний вес печени - только мыши, несущие опухоль) и 17 (вес опухолей печени - только мыши, несущие опухоль).

Пример 116.

Ростовые ответные реакции ортотопических опухолей ободочной кишки человека HT-29 у мышей Nude при лечении различными количествами N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

Дозозависимый ответ при введении N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (соединение А), относительно ингибирования развития ортотопической аденокарциномы ободочной и прямой кишки человека HT-29 оценивали на BALB/c nu/nu мышах, по сравнению с оптимальной дозой 5-фторурацила (75 мг/кг).

Животные. Для исследования использовали самок мышей BALB/c nu/nu (University of Adelaide, Waite Campus, SA, Australia), в возрасте 7-12 недель, с весом тела в интервале 16,58-25,39 г (среднее значение 21,52 г). Мышей разделяли на 6 опытных групп (4 леченных группы и 2 контрольные группы) следующим образом: количество мышей на группу: 10 в группах 1-5 включительно; 9 в контрольной группе "скорости поглощения" (группа 6).

Мышей содержали в окружающей среде с регулируемыми условиями (целевые интервалы: температура $21 \pm 3^\circ\text{C}$, влажность 30-70%, кратность воздухообмена 10-15) в изолированных условиях (карантин) с циклом 12 ч света/12 ч темноты. За температурой и относительно влажностью наблюдали непрерывно. Животным давали коммерчески доступное питание для грызунов (Rat и Mouse Cubes, Speciality Feeds Pty Ltd, Glen Forrest, Western Australia) и водопроводную воду ad libitum. Пищу и воду стерилизовали путем автоклавирования.

Инокуляция опухоли. Клетки аденокарциномы ободочной и прямой кишки человека HT 29 (пассаж 4 из рабочего запаса VP-Stock 325) культивировали в RPMI1640 клеточной культуральной среде, которая была дополнена 10% FBS и пенициллином-стрептомицином (конечная концентрация 50 МЕ/мл). Клетки собирали путем трипсинизации, два раза промывали в HBSS и подсчитывали. После этого клетки ресуспендировали в HBSS и доводили до конечного объема, содержащего 2×10^8 клеток/мл. Перед инокуляцией участки надреза тщательно промывали спиртом и надрез осуществляли через брюшную стенку для доступа к слепой кишке. Иглу вводили через поверхность стенки слепой кишки, куда инъецировали 5 мкл клеток (1×10^6 клеток).

Материалы. Следующие вещества получали из соответствующих коммерческих источников.

Стерильный солевой раствор (0,9% NaCl (водн.)) получали от Baxter Healthcare Australia, Old Toongabbie, NSW, Australia. Кремофор EL получали от Sigma-Aldrich Pty Ltd, Castle Hill, NSW, Australia. 5-Фторурацил, клинический препарат, прозрачная, бесцветная жидкость получали от Mayne Pharma Pty Ltd. RPMI1640 клеточную культуральную среду, FBS и HBSS получали от Invitrogen Australia Pty Ltd, Mt Waverley, VIC, Australia. Пенициллин-стрептомицин и Трипановый синий получали от Sigma-Aldrich, Castle Hill, NSW, Australia. Клетки аденокарциномы ободочной и прямой кишки человека HT 29 получали из американской коллекции типовых культур (ATCC), Rockville, MD, USA.

Приготовление и введение соединения: кремофор EL:солевой раствор (1:9, об./об.; контрольный наполнитель), N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-Дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид или 5-фторурацил (контрольное соединение) вводили согласно схеме, представленной далее.

Группа	Соединение	Доза (мг/кг)	Запланированное лечение	Введенное лечение
1	Наполнитель Контроль	10 мл/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)
2	Соединение А	0,2 мл @ 10 мл/кг=2 мг/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 10 дней (День 0 - 9)
3	Соединение А	1,0 мл @ 10 мл/кг=10 мг/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)
4	Соединение А	5,0 мл @ 10 мл/кг=50 мг/кг	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	Один раз в сутки в течение 8 дней (День 0 - 7)
5	5-Фторурацил	7,5 мл @ 10 мл/кг=75 мг/кг	Один раз в неделю в течение трех недель (День 0, 7 и 14)	Один раз в неделю в течение 3 недель (День 0, 7 и 14)
6	Контроль 'скорости поглощения'	Без лечения	-	-

Контрольный наполнитель, кремофор EL:солевой раствор (1:9, об./об.), вводили п.о. в дозируемом объеме 10 мл/кг, один раз в сутки в течение 21 последовательных дней (день 0-20).

N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид приготавливали в кремофор EL:солевой раствор (1:9, об./об.). Маточный раствор готовили еженедельно и хранили при 4°C. Растворы с дозами готовили в каждый день введения. N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид вводили п.о. в дозах 2, 10 и 50 мг/кг, в дозирующей объеме 10 мл/кг, один раз в сутки в течение 21 дня (день 0-20).

Клинический препарат 5-фторурацил разводили в стерильном солевом растворе и вводили в.в. через хвостовую вену при концентрации 75 мг/кг, в дозирующей объеме 10 мл/кг, один раз в неделю в течение трех недель (в день 0, 7 и 14).

Мышам в группе 6 никакого лечения не вводили (контроль "скорости поглощения"). На 7 день исследования (21 день после инокуляции), мышей отбраковывали и ободочную кишку извлекали для определения скорости поглощения и размера опухоли в стенке слепой кишки.

Вес тела каждого животного измеряли непосредственно перед введением дозы. Рассчитывали объем для введения каждому животному и корректировали согласно весу тела животного.

Измерения опухоли. Вес во влажном состоянии слепой кишки и опухоли измеряли после их извлечения посмертно в день окончания исследования. После окончания исследования слепую кишку извлекали из всех мышей в каждой исследуемой группе и взвешивали с интактными опухолями. Затем из слепой кишки извлекали опухоли и взвешивали.

Печени также извлекали из всех мышей в каждой группе после окончания исследования и фиксировали в 10% буферном формалине. Пять образцов печени из группы с контрольным наполнителем закрепляли в парафине, нарезают и окрашивают с помощью гематоксилина и эозина (H&E) для гистологического анализа морфологических изменений.

Схема измерения данных и отбора образцов

Измеряемые данные	Схема
Вес тела	День 0, затем три раза в неделю (понедельник, среда и пятница), и в день окончания исследования для групп 1 - 5 включительно.
Вес слепой кишки и вес опухоли	Иссеченные слепая кишка и опухоль из каждой мыши при окончании в группах 1 - 5 включительно
Отбор образцов	
Слепая кишка и опухоли	Из всех мышей в группе 6 (контроль 'скорости поглощения') посмертно, в день 7 исследования.
Слепая кишка и опухоли	Из всех мышей в группах 1 - 5 включительно посмертно, в день окончания исследования, и из мыши, которая умерла в период исследования.
Печень	Из всех мышей в группах 1 - 5 включительно посмертно, в день окончания исследования и из мыши, которая умерла в период исследования.

Сбор и расчет данных. Импульсный приемопередатчик каждого животного (Bar Code Data Systems

Pty Ltd, Botany Bay, NSW) сканировали с помощью сканера штрих-кода (LabMax I, DataMars, Switzerland) непосредственно до сбора данных. Все измерения осуществляли с постоянными портативными штангенциркулями (Absolute Digimatic Model CD-6" CS, Mitutoyo Corporation, Japan). Данные синхронизировали с защищенной реляционной базой данных vivoPharm, используя Pendragon Forms 4,0 (Pendragon® Software Corporation, Libertyville, IL, USA) в качестве программного обеспечения передачи данных. AID AM v2,4 использовали для статистических отчетов и расчета данных.

Статистическая обработка и расчеты. Всю статическую обработку осуществляли с помощью SigmaStat 3,0. (SPSS Australasia Pty Ltd, North Sydney, NSW, Australia).

Основанный на двойной выборке критерий Стьюдента использовали для определения достоверности изменения веса тела в пределах леченной группы в промежутке от дня 0 и до дня окончания исследования. В группах, леченных с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в дозах 2 и 50 мг/кг, лечение прекращали раньше вследствие чрезмерной потери веса тела. В этих группах, основанный на двойной выборке критерий Стьюдента использовали для определения достоверности изменения веса тела в пределах леченной группы в интервале от день 0 и до конечного дня лечения в опыте, и в интервале между последним днем лечения и днем окончания опыта. Если данные не соответствовали критерию нормальности или однородному дисперсионному критерию, то осуществляли критерий суммы рангов Манна-Уитни.

Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) (все пары процедуры множественного сравнения и множественного сравнения относительно контрольной группы) осуществляли для данных относительно веса слепой кишки и веса опухоли после окончания исследования. Если данные не соответствовали критерию нормальности, то значения превращали в натуральный логарифм перед осуществлением процедуры.

Значение p меньше 0,05 рассматривали как достоверное.

Наблюдения. Во всех исследуемых группах измеряли среднюю потерю веса тела, включая контрольную группу с наполнителем. Диарею и признаки обезвоживания (потеря эластичности кожи) наблюдали во всех исследуемых группах, включая контрольный наполнитель. Тяжелая потеря веса тела на ранних этапах исследования приводила к прекращению лечения в группах, получавших N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид в наиболее низкой дозе (2 мг/кг) и наиболее высокой дозе (50 мг/кг) в день 9 и день 7 исследования соответственно. Поскольку потеря веса тела была менее тяжелой в группе, получавшей N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид в дозе 10 мг/кг, то все лечения для этой группы вводили согласно схеме. Средние потери веса тела после окончания исследования для этой группы и группы, леченной 5-фторурацилом, были достоверными.

Несмотря на то что скорость поглощения НТ-29 опухоли в группе "скорость поглощения" через 21 день после инокуляции составляла 100%, размер этих опухолей был намного меньшей предполагаемого. Это может быть обусловлено отсутствием достоверного отличия среднего веса слепой кишки и вес опухолями между группами, леченными с помощью N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида - и контрольной группы с наполнителем. Также не наблюдали влияния 5-фторурацила на вес слепой кишки и НТ-29 опухоли.

Измерения веса тела (\pm станд. ошибка ср.) (конечные дни лечения и дата окончания опыта)

Гр.	Соединение	Доза (мг/кг), путь, схема		Ответ хозяина					
				Разница веса тела (г) (\pm Станд. ошибка ср.) Конечный день лечения	% разницы веса тела Конечный день лечения	Разница веса тела (г) (\pm Станд. ошибка ср.) Конечный день опыта	% разницы веса тела Конечный день опыта	Количество выживших (Количество живых/Общее)	
1	Контрольный наполнитель	-	п.о.	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	-	-	-0,8 \pm 0,4	-3,6	8/10
2	Соединение А	2	п.о.	Один раз в сутки в течение десяти дней (День 0 - 9)	-2,4 \pm 1,4 (День 9)	-11,1	0,1 \pm 0,9	0,4	4/10
3	Соединение А	10	п.о.	Один раз в сутки в течение 21 дня (День 0 - 20)	-	-	-1,5 \pm 0,3	-6,9	7/10
4	Соединение А	50	п.о.	Один раз в сутки в течение восьми дней (День 0 - 7)	-3,8 \pm 0,5 (День 7)	-17,8	-1,3 \pm 0,9	-5,9	7/10
5	5-Фторурацил	75	в.в.	Один раз в неделю в течение трех недель (День 0, 7 и 14)	-	-	-3,3 \pm 0,4	-15,2	8/10

Данные веса тела не собирали для группы 6 (контроль "скорости поглощения"). Группу выбраковывали на 7 день исследования (день 21 после инокуляции) для визуальной оценки роста адекватного роста

опухоли для целей данной исследования.

Лечение прекращали в группе 2 (N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид в дозе 2 мг/кг) в день 9 исследования и в группе 4 (N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид в дозе 50 мг/кг) в день 7 исследования, поскольку у мышей наблюдалось очень интенсивная потеря веса тела. Все оставшиеся группы получали все из запланированных лечений в течение периода опыта.

Средний вес опухоли в каждой группе представлен на фиг. 18. Средний вес опухоли для каждой группы включает данные только тех животных, которые оставались живыми в конечный день опыта. Значения для мышей, которые умерли на протяжении периода исследований, не включали в рассчитанные средние значения.

Данные веса слепой кишки и веса опухоли

Группа	Лечение	ID животного	Вес слепой кишки (г)	Вес опухоли (г)	Средний вес слепой кишки (г)	Станд. ошибка ср.	Средний вес опухоли (г)	Станд. ошибка ср.
1	Контрольный наполнитель (КремофорЕ1:Солевой раствор)	173811	0,290	0,070	0,413	0,081	0,149	0,080
		170774	0,331	0,160				
		170729	0,267	0,017				
		173673	0,307	0,005				
		171429	0,311	0,326				
		175732	0,946	0,627				
		171539	0,286	0,038				
		173576	0,287	0,002				
		170836	0,397	0,000				
		172014	0,506	0,176				
2	Соединение А @ 2 мг/кг	175867	0,347	0,001	0,296	0,033	0,033	0,030
		170936	0,170	0,001				
		172003	0,150	0,000				
		176472	0,205	0,005				
		171338	0,377	0,001				
		170825	0,233	0,122				
		174466	0,251	0,005				
		171587	0,322	0,003				
3	Соединение А @ 10 мг/кг	173623	0,287	0,000	0,244	0,025	0,078	0,059
		170793	0,198	0,000				
		172304	0,258	0,257				
		175676	0,111	0,008				

Группа	Лечение	ID животного	Вес слепой кишки (г)	Вес опухоли (г)	Средний вес слепой кишки (г)	Станд. ошибка ср.	Средний вес опухоли (г)	Станд. ошибка ср.
		171003	0,263	0,422				
		171466	0,237	0,001				
		176386	0,234	0,014				
		170858	0,289	0,004				
		175862	0,320	0,100				
		171364	0,251	0,000				
4	Соединение А @ 50 мг/кг	175697	0,230	0,002	0,290	0,038	0,122	0,092
		171349	0,254	0,002				
		174272	0,238	0,000				
		176335	0,201	0,004				
		171041	0,337	0,166				
		174536	0,169	0,655				
		175656	0,328	0,001				
		173626	0,217	0,001				
		171437	0,312	0,001				
		174501	0,463	0,026				
5	5FU в дозе 75 мг/кг	171322	0,355	0,245	0,391	0,050	0,069	0,041
		175559	0,199	0,001				
		176302	0,360	0,000				
		176241	0,284	0,000				
		175857	0,421	0,010				
		176242	0,706	0,329				
		174165	0,415	0,130				
		176417	0,327	0,079				
		170592	0,237	0,000				
		171501	0,377	0,003				

Закрашенные значки обозначают образцы, собранные от мышей, которые умерли в течение исследуемого периода. Из рассчитанных средних значений для веса слепой кишки и веса опухоли эти значения исключены. Тенденция указывает на уменьшение NT-29 опухолей и данных веса слепой кишки после лечения с помощью 10 мг/кг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

Пример 117.

Задержка роста опухоли у "голых" мышей, несущих ксенотрансплантаты меланомы человека A375.

Использовали шесть групп (n=9) мышей с опухолями. Контрольные группы включали: одну группу, которая получала 10% кремофор EL/солевой раствор наполнитель путем принудительного перорального питания (по), один раз в сутки в течение 14 дней (qd×14), и вторую группу, которая получали паклитаксел в качестве сравнительного средства в дозе 30 мг/кг путем инъекции через хвостовую вену (вв), через день, всего пять доз (qod×5). Четыре опытные группы получали перорально N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (соединение А) в дозе 25 мг/кг или 50 мг/кг, qd×14, или в дозе 12,5 или 25 мг/кг, bid×14. Результат лечения оценивали с помощью TGD, определенной как разница среднего времени до контрольной точки объема опухоли в леченной группе по сравнению с контрольной группой. Токсичность оценивали путем измерения веса тела и клинических наблюдений.

Животные. Опыты проводили на самках атимических "голых" мышей (nu/nu, Harlan) в возрасте от 10 до 11 недель и весом тела (BW) в интервале от 19,3 до 25,5 г в день 1 исследования. Животным обеспечивали доступ ad libitum к воде (обратный осмос, 1 част./млн С1) и корму NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet®, состоящему из 18,0% сырого белка, 5,0% сырого жира и 5,0% сырой клетчатки. Мышей содержали в облучаемых клетках для лабораторных животных ALPHA-Dri® bed-o-cobs® в стационарных микроизоляторах с 12-часовым световым циклом при температуре 21-22°C (70-72°F) и влажности 40-60%. Соблюдались рекомендации Guide for Care and Use of Laboratory Animals относительно условий, ухода, хирургических процедур, питания и обеспечения водой, и ветеринарного ухода. Имплантация опухоли. Ксенотрансплантаты получали из опухолей меланомы человека A375 путем серийных разведений атимическим "голым" мышам. Фрагмент опухоли A375 (~1 мм³) имплантировали подкожно в правый бок каждой тестируемой мыши и за ростом опухоли наблюдали до достижения среднего объема 100-

150 мм³. Через тринадцать дней, обозначенный как день 1 исследования, животных разделяли на шесть групп, каждая из которых включала девять мышей (уменьшенное от десяти) с индивидуальными объемами опухолей в интервале от 63 до 221 мм³ и групповым средним объемом опухолей в интервале от 125,3 до 125,9 мм³. Объем опухоли рассчитывали согласно формуле

$$\text{Объем опухоли (мм}^3\text{)} = \frac{w^2 \times l}{2},$$

где w - ширина и

l - длина в мм опухоли A375.

Материалы. N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид растворяли при концентрации 5 мг/мл в 10% кремофор EL в солевом растворе при обработке ультразвуком, перемешивании и нагревании до 35°C для облегчения растворения. Раствор 5 мг/мл служил в качестве дозированного раствора для лечения при концентрации 50 мг/кг, и дозированные растворы для лечения при концентрациях 25 и 12,5 мг/кг получали путем серийного разведения. Дозированные растворы хранили вплоть до одной недели при комнатной температуре в защищенном от света месте.

Дозированные растворы паклитаксела (NPI) готовили из 30 мг/мл маточного раствора для ежедневного применения путем разведения до 3 мг/мл в 5% этаноле, 5% кремофор EL в 5% декстрозе в воде (D5W). Паклитаксел дозировали при 30 мг/кг.

Лечение. В таблице ниже представлена схема лечения.

Схема лечения					
Группа	n	Средство	мг/кг	путь	Схема
1	9	Наполнитель	-	п.о.	qd x 14
2	9	Паклитаксел	30	в.в.	qod x 14
3	9	Соединение А	50	п.о.	qd x 14
4	9	Соединение А	25	п.о.	bid x 14 первый день 1 доза
5	9	Соединение А	25	п.о.	qd x 14
6	9	Соединение А	12,5	п.о.	bid x 14 первый день 1 доза

Мыши в группе 1 получали наполнитель, состоящий из 10% кремофор EL в солевом растворе, путем принудительного перорального питания (по) ежедневно в виде четырнадцати доз (qd×14), и они являлись контрольными для анализа прогрессирования опухоли. Животным в группе 2 вводили внутривенного (вв) паклитаксел в качестве сравнительного средства в концентрации 30 мг/кг, через день в виде пяти доз (qod×5). Мыши в группах 3-6 получали перорально N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид согласно следующим соответствующим схемам: 50 мг/кг, qd×14; 25 мг/кг, дважды в сутки в течение 14 дней с введением однократной дозы в первый и последний дни (bid×14); 25 мг/кг, qd×14; 12,5 мг/кг, bid×14. Все дозы вводили в объеме 0,2 мл на 20 г веса тела, и приводили в соответствие с весом тела животного.

Конечная точка. Опухоли во всех группах измеряли два раза в неделю с помощью штангенциркулей. Каждое животное умертвляли после достижения опухоли размера конечной точки 2000 мм³ или в конечный день исследования (день 60), в зависимости от такого, какое из этих событий наступит первым. Время до контрольной точки (ТТЕ) для каждой мыши рассчитывали согласно следующему уравнению:

$$\text{ТТЕ (дни)} = \frac{\log_{10}(\text{объем конечной точки, мм}^3\text{)} - b}{m},$$

где b представляет собой отрезок и

m представляет собой уклон линии, полученный путем линейной регрессии log-трансформированного набора данных роста опухолей.

Набор данных состоял из первого наблюдения, которое превышало объем контрольной точки исследования и три последовательных наблюдения, которые непосредственно предшествуют достижению объема контрольной точки. Животным, которые не достигали контрольной точки, присваивали ТТЕ значение, равное значению в последний день исследования. Животных, классифицированных как NTR (несвязанные с лечением) гибели вследствие несчастного случая (NTRa) или вследствие неизвестных причин (NTRu), исключали из ТТЕ расчетов (и всех дальнейших анализов). Животных, классифицированных как TR (связанные с лечением) гибели или NTRm (несвязанные с лечением, вследствие метастаз) присваивали ТТЕ значение, равное значению в день смерти.

Результат лечения определяли из задержки роста опухоли (TGD), определенного как повышение среднего время до контрольной точки (ТТЕ) в леченной группе по сравнению с контрольной группой: TGD=T-C, выраженное в днях, или в виде процента среднего значения ТТЕ контрольной группы:

$$\%TGD = \frac{T-C}{C} \times 100,$$

где Т - среднее значение ТТЕ для леченной группы;

С - среднее значение ТТЕ для контрольной группы (группа 1).

Лечение может вызывать частичную регрессию (PR) или полную регрессию (CR) опухоли у животного. В PR ответе объем опухоли составляет 50% или меньше ее объема в день 1 для трех последовательных измерений во время осуществления исследования и равен или больше 13,5 мм³ для одного или нескольких этих трех измерений. В CR ответе объем опухоли составляет меньше 13,5 мм³ для трех последовательных измерений во время осуществления исследования. Животное с CR ответом при окончании исследования дополнительно классифицировали как выжившее без опухоли (TFS). За регрессией опухоли наблюдали и записывали.

Побочные действия. Животных взвешивали ежедневно в течение первых пяти дней исследования и затем два раза в неделю. За животными часто наблюдали для обнаружения видимых признаков любых нежелательных, связанных с лечением побочных действий, и при обнаружении клинические симптомы записывали. Допустимая переносимость определяется как средняя групповая потеря веса меньше 20% при осуществлении опыта и не более одной гибели, связанной с лечением, в группе животных. Любая схема доз, которая не соответствует этому критерию, рассматривается как превышающая максимально переносимую дозу (MTD). Гибель классифицируется как TR, если она может быть обусловлена побочными эффектами лечения, что подтверждается клиническими симптомами и/или вскрытием трупа, или может быть классифицирована как TR, если причина неизвестна в течение периода дозирования или в течение 10 дней от введения последней дозы. Смерть классифицируется как NTR, если отсутствуют подтверждения, что смерть связана с побочными действиями лечения.

Статистический и графический анализы. Логранговый критерий использовали для анализа достоверности отличий между ТТЕ значениями леченных и контрольных групп. Двухсторонние статистические анализы осуществляли при уровне достоверности P=0,05.

Кривые средних значений роста опухоли представляют в зависимости от времени. Если животное исключено из исследования вследствие размера опухоли или TR гибели, то конечный объем опухоли, записанный для животного, включался в данные, используемые для расчета группового среднего значения объема опухоли в последующие моменты времени. Кривые усекали после того, как 50% животных в группе исключали из исследования вследствие прогрессии опухоли. Строили графики Каплана-Мейера для демонстрации процента животных, оставшихся в исследовании, в зависимости от времени, и использовали тот же набор данных, что и для логрангового критерия. Использовали Prism (GraphPad) для Windows 3.03 для всех графических презентаций и статистических анализов.

Обобщенные результаты эффекта лечения

Группа	Среднее ТТЕ	Т-С	%TGD	Статистическая значимость	MTV (n) День 60	Регрессия			Среднее BW Nadir
						PR	CR	TFS	
1	22,8	-	-	-	-	0	0	0	-
2	28,8	6,0	26	**	-	0	0	0	-5,3% День 15
3	27,5	4,7	21	**	-	1	0	0	-
4	59,9	37,1	163	***	0 (4)	4	5	4	-0,6% День 15
5	25,6	2,8	12	Н.д.	-	0	0	0	-
6	27,5	4,7	21	*	-	1	0	0	-

Рост A375 опухолей у контрольных мышей (группа 1). Животные в группе 1 получали 10% креофор EL/солевой раствор наполнитель, по, qd×14. Опухоли у контрольных мышей росли прогрессивно до 2000 мм объема контрольной точки со средним ТТЕ 22,8 дней, устанавливая максимально возможное Т-С в исследовании 37,1 дня, или 163% TGD.

Эффект лечения в паклитакселе (группа 2). Животным в группе 2 вводили паклитаксел в качестве сравнительного средства, 30 мг/кг, вв, qod×5. Все девять животных достигали объем опухоли в конечной точке. Опухоли росли параллельно и было незначительно сдвинуты вправо по сравнению с контрольной группой. Среднее ТТЕ значение составило 28,8 дня, что соответствует 26% TGD, достоверный результат согласно логранговому анализу (табл. 2, P=0,0088 G1 отн. G2). Не наблюдали регрессии опухолей, связанной с лечением паклитакселем.

Влияние лечения N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамидом (группы 3-6): группы 3-6 получали перорально дозу N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида в виде монотерапии. Животным в группе 3 вводили 50 мг/кг согласно схеме qd×14. Девять опухолей в группе достигли объема в конечной точке исследования.

Средний объем опухоли в группе подвергался незначительному чистому изменению в течение первых ~ 10 дней, затем повышался во время исследования. У одного животного наблюдался PR опухоли. Среднее TTE значение составило 27,5 дней, или 21% TGD, достоверный результат ($P=0,0054$ G1 vs. G).

Животные в группе 4 получали 25 мг/кг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида согласно схеме bid×14. Четыре из девяти животных в группе оставались в день 60, все TFS. Дополнительно 2 из 9 животных имели опухоли, которые достигали объема конечной точки исследования за день до окончания исследования. Группа имела 4/9 PR, 5/9 CR и 4/9 TFS. Средний объем опухоли снижался, начиная с первых нескольких дней исследования, и продолжался приблизительно в течение 30 дней. Повторно выросшие опухоли у 5 из 9 животных учитывали для восстановления среднего роста опухоли, начиная приблизительно с дня 32 и продолжая до конца исследования. Среднее групповое TTE значения составляло 59,9 дней, характеризуя максимально возможное 163% TGD ($P < 0,0001$, табл. A1).

Мыши в группе 5 также получали 25 мг/кг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид, но согласно менее интенсивной схеме qd×14. Все девять животных в группе 5 достигали объем опухоли конечной точки, без регрессии опухолей. Рост опухолей осуществлялся практически так же, как и в контрольной группе. Среднее TTE составляло 25,6 дней, или 12% TGD, недостоверный результат ($P=0,0662$ G1 vs. G5).

Животным в группе 6 вводили 12,5 мг/кг N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида согласно схеме bid×14. Все опухоли в группе достигли объема в конечной точке исследования. Как и в группе 4, средний объем опухоли в группе 6 снижался в начале исследования, но это уменьшение сохранялось только приблизительно в течение девяти дней и было связано с единственным PR ответом. Объем опухоли повышался с дня 10 до окончания исследования. Среднее TTE для группы составляло 27,5 дней, что соответствует достоверному 21% TGD ($P=0,0424$ G1 отн. G6).

В заключение, N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид проявляет дозозависимую противоопухолевую активность по отношению к ксенотрансплантатам меланомы человека A375 при пероральном введении доз, как один раз в сутки, так и два раза в сутки. Дозирование дважды в сутки обладают улучшенным действием по сравнению с однократным на величину полученной TGD и на количество объективных ответных реакций. Таким образом, противоопухолевая активность N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида зависит как от дозы, так и схемы введения.

Пример 118.

Активность по отношению к подкожным ксенотрансплантатам Colo205 рака ободочной кишки человека.

Животные. Использовали самок атимических "голых" мышей (nu/nu, Harlan) в возрасте от 12 до 13 недель и весом тела (BW) в интервале от 18,3 до 27,3 г в день 1 исследования. Животным обеспечивали доступ ad libitum к воде (обратный осмос, 1 част./млн С1) и корму NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet®, состоящему из 18,0% сырого белка, 5,0% сырого жира и 5,0% сырой клетчатки. Мышей содержали в облучаемых клетках для лабораторных животных ALPHA-Dri® bed-o'cobs® в стационарных микроизоляторах с 12-часовым световым циклом при температуре 21-22°C (70-72°F) и влажности 40-60%. Соблюдались рекомендации Guide for Care and Use of Laboratory Animals относительно условий, ухода, хирургических процедур, питания и обеспечения водой, и ветеринарного ухода.

Имплантация опухоли. Ксенотрансплантаты получали из клеток Colo205 рака ободочной кишки человека. Опухолевые клетки культивировали в 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сыворотке, 100 ед./мл натрий-пенициллина G, 100 мкг/мл стрептомицинсульфата, 0,25 мкг/мл амфотерицина В, 25 мкг/мл гентамицина, 2 мМ глутамин, 1 мМ пирувата натрия, 10 мМ HEPES и 0,075% бикарбоната натрия. Клеточные культуры поддерживали в колбах для культивирования тканей во влажной камере при 37°C, в атмосфере 5% CO₂ и 95% воздуха. В день имплантации опухолевых клеток, клетки Colo 205 собирали при логарифмическом росте и ресуспендировали в 50% Matrigel матриксе (BD Biosciences) в PBS при концентрации 5×10⁶ клеток/мл. Каждая подопытная мышь получала 1×10⁶ Colo 205 клеток, имплантированных подкожно в правый бок, и за ростом опухоли наблюдали до достижения среднего размера 80-120 мм³. Через четырнадцать дней, обозначенный как день 1 исследования, животных разделяли на восемь групп (n=9) с индивидуальными объемами опухолей в интервале от 63 до 196 мм³ и групповым средним объемом опухолей в интервале 118-119 мм³. Размер опухоли рассчитывали согласно формуле

$$\text{Объем опухоли (мм}^3\text{)} = \frac{w^2 \times l}{2},$$

где w - ширина и

l - длина в мм Colo205 опухоли.

Вес опухоли может быть оценен при допущении, что 1 мг эквивалентен 1 мм³ объема опухоли.

Материалы. Дозированные растворы соединения А готовили свежими ежедневно путем растворения необходимого количества соединения в 100% кремофор EL, и затем разводили десятикратно в физиологическом солевом растворе. Конечные дозированные концентрации в растворе составляли 2,5, 5, 10 или 20 мг/мл, для обеспечения соответствующих дозы 25, 50, 100 или 200 мг/кг в дозирующем объеме 10 мл/кг. Паклитаксел (Natural Pharmaceuticals, Inc.) готовили свежим каждый день, дозируя в наполнителе, состоящем из 5% этанола и 5% кремофор EL в 90% D5W (5% ЕС наполнитель).

Лечение.

В таблице ниже представлена схема лечения.

Группа	n	Схема лечения			
		Средство	мг/кг	Путь	Схема
1	9	Наполнитель	-	п.о.	qd x 14
2	9	Паклитаксел	30	в.в.	qod x 14
3	9	Соединение А	50	п.о.	qd x 14
4	9	Соединение А	25	п.о.	bid x 14 первый день 1 доза
5	9	Соединение А	25	п.о.	qd x 14
6	9	Соединение А	12,5	п.о.	bid x 14 первый день 1 доза

Группа 1 получала препарат наполнителя (10% кремофор EL в солевом растворе), и она являлась контрольной группой для роста. Группа 2 получала сравнительное лекарственное средство паклитаксел, который вводили в его оптимальной схеме "голым" мышам (30 мг/кг в.в. qodx5). Группы 3-6 получали дозы 25, 50, 100 и 200 мг/кг соответственно соединения А, которые вводили п.о. qd×14, при этом дозирование в группе 6 (200 мг/кг) отменяли через шесть дней вследствие токсичности. Все дозы приводили в соответствие с весом тела животного (0,2 мл на 20 г веса тела).

Конечная точка. Опухоли измеряли два раза каждую неделю с помощью штангенциркулей. Каждое животное умертвляли после достижения опухолью заранее установленного размера конечной точки 2000 мм³ или в конечный день исследования (день 74), в зависимости от такого, какое из этих событий наступит первым. Тем не менее, контрольные опухоли не проявляли характеристик логарифмического роста после достижения размера около 800 мм³. Следовательно, размер опухоли контрольной точки 800 мм³ использовали для анализа задержки роста опухоли (TGD). Время до контрольной точки (TTE) для каждой мыши рассчитывали согласно следующему уравнению:

$$TTE \text{ (дни)} = \frac{\log_{10} (\text{объем конечной точки, мм}^3) - b}{m},$$

где b представляет собой отрезок и

m представляет собой уклон линии, полученный путем линейной регрессии log-трансформированного набора данных роста опухолей.

Набор данных состоял из первого наблюдения, которое превышало объем контрольной точки и трех последовательных наблюдений, которые непосредственно предшествуют достижению объема контрольной точки. Животным, которые не достигли контрольной точки, присваивали TTE значение, равное значению в последний день исследования. Животных, классифицированных как NTR (несвязанные с лечением) гибели вследствие несчастного случая (NTRa) или вследствие неизвестных причин (NTRu), исключали из TTE расчетов (и всех дальнейших анализов). Животных, классифицированных как TR (связанные с лечением) гибели или NTRm (несвязанные с лечением гибели, вследствие метастаз) присваивали TTE значение, равное значению в день смерти.

Результат лечения определяли из задержки роста опухоли (TGD), определенного как повышение среднего времени до контрольной точки (TTE) в леченной группе по сравнению с контрольной группой: TGD=T - C, выраженное в днях, или в виде процента среднего значения TTE контрольной группы:

$$\%TGD = \frac{T - C}{C} \times 100,$$

где T=среднее значение TTE для леченной группы;

C=среднее значение TTE для контрольной группы.

Контрольная группа определялась как мыши группы 1.

Лечение может вызывать частичную регрессию (PR) или полную регрессию (CR) опухоли у животного. При PR ответе объем опухоли составляет 50% или меньше ее объема в день 1 для трех последовательных измерений во время осуществления исследования, и равен или больше 13,5 мм³ для одного или нескольких этих трех измерений. При CR ответе, объем опухоли составляет меньше 13,5 мм³ для трех последовательных измерений во время осуществления исследования. За регрессией опухоли наблюдали и записывали.

Побочные действия. Животных взвешивали ежедневно в течение первых пяти дней исследования и затем два раза в неделю. За мышами часто наблюдали для обнаружения видимых признаков любых нежелательных, связанных с лечением побочных действий, и при обнаружении клинические симптомы записывали. Допустимая токсичность определяется как средняя групповая потеря веса меньше 20% при

осуществлении опыта и не более одной гибели, связанной с лечением (TR), среди десяти леченных животных, и любые схемы введения доз, которые приводят к более высокой токсичности, рассматриваются как превышающие максимально переносимую дозу (MTD). Гибель классифицируется как TR, если она может быть обусловлена побочными действиями лечения, что подтверждается клиническими симптомами и/или вскрытием трупа, или может быть классифицирована как TR, если причина неизвестна в течение периода дозирования или в течение 10 дней после введения последней дозы. Гибель классифицируется как NTR, если отсутствуют подтверждения, что смерть связана с побочными эффектами лечения. За животными часто наблюдали для возможности выявления побочных действий и BW измерений. BW изменения были без особенностей, и все лечения были допустимо переносимыми, за исключением группы 6. Доза шесть раз в сутки п.о. по 200 мг/кг соединения А приводила к одной гибели, оцененной в день 7, и двум дополнительным TR гибелям в день 8. У всех мышей в группе 6 наблюдались клинический симптомы токсичности, включая скрученные положения, гипоактивность, и жидкий стул.

Статистический и графический анализ. Логранговый критерий использовали для анализа достоверности отличий между TTE значениями леченных и контрольных групп. Двухсторонние статистические анализы осуществляли при уровне достоверности $P=0,05$.

Кривые средних значений роста опухоли представляют групповые средние значения объема опухоли, графически представленные на log шкале в зависимости от времени. Если животное исключено из исследования вследствие размера опухоли или TR гибели, то конечный объем опухоли, записанный для животного, включался в данные, используемые для расчета группового среднего значения объема опухоли в последующие моменты времени. Кривые усекали после того, как 50% животных в группе исключали из исследования вследствие прогрессии опухоли или после второй TR гибели в группе. Строили графики Каплана-Мейера для демонстрации процента животных, оставшихся в исследовании, в зависимости от времени, и использовали тот же набор данных, что и для логрангового критерия. Использовали Prism (GraphPad) для Windows 3.03 для всех графических презентаций и статистических анализов.

Обобщенные результаты эффекта лечения

Группа	Среднее	T-C	%TGD	SS	MTV (n)	Количество					Среднее BW
						День 74	PR	CR	TFS	TR	
1	41,0	-	-	-	322 (2)	0	0	0	0	0	-
2	60,0	19,0	46%	н.д.	0 (3)	1	0	0	2	2	-
3	47,9	6,9	17%	н.д.	0 (3)	1	0	0	2	2	-
4	59,1	18,1	44%	н.д.	195 (1)	4	0	0	0	0	-
5	74,0	33,0	80%	н.д.	320 (5)	4	0	0	1	0	-
6	57,8	16,8	41%	н.у.	0 (3)	1	3	0	2	2	0,1% День 22

Рост Colo205 опухолей у контрольных мышей (группа 1).

В группе 1 опухоли проявляли медленный, гетерогенный рост. Опухоли 7 из 9 обработанных наполнителем группы 1 контрольных мышей достигали объема опухоли конечной точки 800 мм^3 и две мыши оставались при окончании исследования. В группе 1 среднее TTE составляло 41,0 дней, и, таким образом, максимальное TGD, возможное в этом 74-дневном исследовании, составляло 33,0 дней (80%).

Эффект лечения с паклитакселом (группа 2).

Восемь вышей в группе 2 ($n=9$), которые получали лечение паклитакселом, оставались в исследовании в день 74 с MTV 143 мм^3 . Это соответствует максимально возможному TGD (33,0 дней или 80%) и статистически достоверной активности ($P=0,002$). Пять PR ответов документально подтверждено. Кривая среднего роста опухоли проявляла снижение в MTV вплоть до дня 19, с последующими незначительными изменениями до дня 47, когда рост опухоли возобновлялся.

Влияния лечения с применением соединения А (группы 3-6).

В группах 3, 4, 5 наблюдали средние значения TTEs 47,9, 59,1 и 74,0 дней соответственно. Для групп 3 и 4 получали недостоверные логранговые результаты, и в группе 5 логранговый критерий достиг пограничной достоверности ($P=0,058$). Эти лечения продуцируют дозозависимое количество регрессий, тем не менее, тип регрессивного ответа (PR отн. CR) и количество выживших на 74-й день на группу не коррелирует с дозой. Кривые средних значений роста опухоли проявляют сходные активности для трех уровней доз в начале исследования (вплоть до дня 29), с последующими дозозависимыми задержками повторного роста опухолей. В группе 6 произошло три TR гибели, и введение доз было остановлено после дня 6. Следовательно, лечение в дозе 200 мг/кг рассматривалось как превышающее MTD и подающееся оценке для TGD.

Соединение А проявляет дозозависимую активность по отношению к ксенотрансплантатам рака ободочной кишки Colo205. При введении в дозе 25 мг/кг соединение А проявляет TGD 3%. В дозе 50 мг/кг соединение А проявляет TGD 46%. Лечение в дозе 100 мг/кг характеризуется допустимой переносимостью.

симостью, и, аналогично лечению паклитакселом, приводит к максимально возможным TGD в эксперименте при сходном количестве регрессивных ответов. Лечение в дозе 200 мг/кг вызывает 3 гибели TR из 9 животных и превышает MTD. Наблюдается более заметное начальное снижение опухолевой массы для соединения А по сравнению с паклитакселом; однако продолжительность этого действия была более короткой. Повторный рост опухолей для групп с дозами 25 и 50 мг/кг вначале происходит в более быстром темпе по сравнению с контролем, и при окончании исследования, MTV достигает таких значений для контроля. Лечение в дозе 100 мг/кг не проявляет такого быстрого повторного роста, то проявляет более быстрый рост опухоли по сравнению с ростом при лечении паклитакселом.

Пример 119.

Клинические исследования на людях.

Осуществляли рандомизированное, двойное слепое, открытое, с историческим контролем, с распределением в отдельные группы, безопасности/эффективности клиническое испытание в фазе I на людях с применением соединения А относительно плацебо у пациентов, ранее не проходивших курс химиотерапии, с местнораспространенным или метастатическим раком поджелудочной железы.

Первичной целью исследования являлась оценка безопасности и переносимости соединения А. Вторичной целью исследования была оценка скорости ответной реакции, клинического преимущества, и сокращения опухоли после лечения с помощью соединения А. Дополнительно, исследование планировали таким образом, чтобы оценить время до прогрессирования заболевания и общее выживание пациентов с раком поджелудочной железы. Дополнительно, оценивали фармакодинамические изменения в параметрах кровоснабжения опухоли (включая, например, кровоток, объем крови, время до пика кривой характеристик ROC-получатель оператор) с помощью DCE-MRI.

Кроме того, для сопоставления результатов использовали биологические маркеры, такие как MEK1 и MEK2 генетические полиморфизмы и сывороточные протеомы. Также можно использовать определение степени доступности опухолей для резекции, а также оценивать MTD для соединения А.

При осуществлении исследования соединение А вводили в различных дозах приблизительно 1 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2 мг, приблизительно 2,5 мг, приблизительно 3 мг, приблизительно 3,5 мг, приблизительно 4,0 мг, приблизительно 4,5 мг, приблизительно 5 мг, приблизительно 5,5 мг, приблизительно 6 мг, приблизительно 6,5 мг, приблизительно 7 мг, приблизительно 7,5 мг, приблизительно 8 мг, приблизительно 8,5 мг, приблизительно 9 мг, приблизительно 9,5 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 10,5 мг, приблизительно 11 мг, приблизительно 11,5 мг, приблизительно 12 мг, приблизительно 12,5 мг, приблизительно 13 мг, приблизительно 13,5 мг, приблизительно 14 мг, приблизительно 14,5 мг или приблизительно 15 мг.

Критерии включения в исследование основывались на следующих факторах.

Гистологически/патологически местнораспространенный нерезектабельный или погранично нерезектабельный рак поджелудочной железы, и без признаков метастатического заболевания.

Диагноз местнораспространенного нерезектабельного рака поджелудочной железы устанавливали на основе двухфазного КТ сканирования и/или эндоскопического ультразвукового исследования (EUS) (EUS описано в приложении F).

Поддающееся измерению заболевание согласно RECIST и полученное с помощью двухфазного КТ сканирования в течение 14 дней перед регистрацией для протокола исследования.

Размер опухоли больше или равен 2 при исследовании с помощью двухфазного КТ сканирования.

Достаточная функция органа, задокументирована в течение 14 дней регистрации, что подтверждается: абсолютное число нейтрофилов $> 1500/\text{мм}^3$; количество тромбоцитов; $100 \text{ тыс.}/\text{мм}^3$; гемоглобин $\geq 9 \text{ г/дл}$ при отсутствии необходимости переливания крови за предыдущие 4 недели; общий билирубин $\leq 1,5$ раза выше верхней границы нормы (ULN); трансаминазы (AST и/или ALT) $\leq 2,5 \times \text{ULN}$; PT (или INR) $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ и aPTT в пределах нормы (пациенты, которые получали лечения антикоагулянтами с такими средствами, как варфарин или гепарин, могут быть включены в исследование; для пациентов, получавших варфарин, параметры необходимо тщательно контролировать по меньшей мере еженедельно до тех пор, пока INR не станет стабильным согласно измерениям при предварительном введении, что определяется с помощью местного стандарта ухода; клиренс креатинина $> 60 \text{ мл/мин}$, рассчитанный согласно формуле Cockcroft-Gault.

Критериями исключения из исследования являлись: предшествующее лечение с помощью соединения А в течение 6 месяцев перед регистрацией; клинический признак инвазии опухоли в слизистую оболочку двенадцатиперстной кишки (что документально подтверждено согласно эндоскопии или эндоскопического ультразвукового исследования); амбулаторная хирургическая операция (например, аспирационная диагностическая пункция или аспирационная биопсия) в течение 14 дней регистрации исследования; обширное хирургическое вмешательство, значительное травматическое повреждение, или тяжелая незаживающая рана, язва или перелом кости в течение 21 дней регистрации исследования; любой из перечисленных ниже симптомов в течение 6 месяцев перед исследованием введения лекарственных средств: тяжелая/нестабильная стенокардия (симптомы стенокардии в состоянии покоя), вновь возникающая стенокардия (начавшаяся в течение последних 3 месяцев) или инфаркт миокарда, застойная сер-

дечная недостаточность, желудочковая аритмия, требующая антиаритмического лечения; случаи тромбоза или эмболии в анамнезе, такие как острое нарушение мозгового кровообращения или переходящее нарушение мозгового кровообращения в течение последних 6 месяцев; аневризма или артериовенозный врожденный порок в анамнезе; наличия инфицирования вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) или хронического гепатита В или С; активная клинически тяжелая инфекция, превышающая степень 2 согласно СТСАЕ 2; прием любых исследовательских средств в течение 4 недель регистрации исследования; неконтролируемая гипертония, определяемая как систолическое артериальное давление выше 150 мм.рт.ст. или диастолическое давление выше 90 мм.рт.ст., несмотря на оптимальное медицинское лечение; легочное кровотечение/эпизодическое кровотечение, больше чем степень 2 согласно СТСАЕ 2 в течение 4 недель регистрации исследования; любое другое кровотечение/эпизодическое кровотечение, больше чем степень 2 согласно СТСАЕ 3 в течение 4 недель регистрации исследования; случай или в истории болезни геморрагический диатез или коагулопатия, ежедневное лечение с помощью аспирина или других нестероидных противовоспалительных лекарственных средств; применение зверобоя, рифампина (рифампицина), дотоконазола, итраконазола, ритонавира, или грейпфрутового сока; известная или предполагаемая аллергия на соединение А; любое состояние, которое нарушает способность пациента глотать целые пилюли; любые проблемы всасывания; другое тяжелое, острое или хроническое медицинское или психиатрическое состояние, или отклонение лабораторных показателей от нормы, которые могут повысить риск, связанные с участием в исследовании или исследованием введения лекарственного средства, или могут мешать интерпретации результатов исследования, и по мнению исследователя, могут являться неподходящими для включения пациента в это исследование; коллагеновая болезнь в анамнезе; любые противопоказания для осуществления магниторезонансного исследования.

Пример 120.

Клиническое исследование на людях.

Рандомизированное, двойное слепое, открытое, с историческим контролем, с распределением в отдельные группы, безопасности/эффективности клиническое испытание в фазе I на людях с применением соединения А у пациентов, ранее не проходивших курс химиотерапии, местнораспространенным или метастатическим раком желудка осуществляли аналогично описанному в примере 117, за исключением того, что у пациентов, включенных в исследование, была диагностирована или лимфома, желудочные стромальные опухоли, или карциноидные опухоли желудка.

Пример 121.

Индукцированный каррагенаном отек лапы (СРЕ) у крыс.

Соединение А (6, 20 и 60 мг/кг) или индометацин (3 мг/кг) вводили перорально за 2 ч до инъекции 1% суспензии каррагенана в правую заднюю подушечку лапы самцов крыс Sprague-Dawley (N=6 на леченную группу). Отек задней лапы измеряли через 3 ч путем измерения объема лапы с помощью плетизмографии. Уменьшение отека задней лапы на 30% или больше указывало на существенную противовоспалительную активность. Индометацин (Indo) использовали в качестве положительного контрольного лекарственного средства. На фиг. 22 представлены данные повышения объема лапы в каждой из леченных групп, указывающие на то, что пероральное введение соединения А приводит к существенному противовоспалительной активности на модели отека лапы у крыс, вызванного каррагенаном, для всех доз в опытных группах.

Пример 122.

Исследование воспалительного артрита, вызванного адьювантом, у крыс.

На модели артрита, вызванного адьювантом, у крыс полный адьювант Фрейнда (CFA) инъецировали в правую заднюю лапу крыс для индуцирования патологии, сходной с ревматоидным артритом у людей. Соединение А вводили перорально в течение 5 последовательных дней в дозах 2, 6 и 20 мг/кг. Дексаметазон в дозах 5 мг/кг также вводили перорально в течение 5 дней. Энбрел в дозе 10 мг/кг вводили путем подкожной инъекции в дни 1 и 4. CFA инъецировали в правую заднюю лапу через один час после введения первой дозы в день 1. Определяли процент ингибирования припухлости правой задней лапы относительно контрольных животных, которым вводили наполнитель, в дни 1 и 5 для острой фазы, тогда как для замедленной фазы определяли процент ингибирования припухлости левой задней лапы относительно контрольных животных, которым вводили наполнитель, в дни 14 и 18. Полиартрит оценивали при наличии припухлости передних лап, хвоста, носа или ушей.

На фиг. 23А и 23В представлены проценты ингибирования припухлости относительно контроля для различных леченных групп. Соединение А в дозе 20 мг/кг проявляет существенное уменьшение припухлости как в острой, так и замедленной фазах. Для оценки полиартрита, у всех 6 животных в леченной группе, которым вводили наполнитель, обнаруживалась припухлость передних лап и хвоста. Для группы с дозой 20 мг/кг соединения А, у 2 из 6 животных не обнаруживали припухлости передних лап и у 4 из 6 животных не обнаруживали припухлости хвоста. Для группы, получавшей энбрел, не наблюдалось защиты для животных относительно припухлости передних лап и у 3 из 6 животных не обнаруживалось припухлости хвоста.

Пример 123.

Ингибирование артрита, индуцированного антителом к коллагену (CAIA), у мышей.

Самцам мышей Balb/c (N=8 на леченную группу) внутривенно инъецировали (хвостовую вену) 2 мг коктейля антитела к коллагену (Chondrex) в день 0. RDEA119 (1, 3 и 10 мг/кг QD) или дексаметазон (1 мг/кг QD) вводили в течение 0-4 дней, тогда как энбрел вводили подкожно в дни дней 1 и 3. Осуществляли внутрибрюшинную инъекцию LPS (50 мг) в день 3 всем мышам, за исключением животных, не подверженных эксперименту. На всех конечностях оценивали степень артритических проявлений и данные представляли на фиг. 24 (максимальная оценка 16). Для всех тестируемых средств и сравнительных лекарственных средств отмечали наличие существенной противовоспалительной активности. В качестве положительных контролей использовали энбрел и дексаметазон.

Пример 124.

Исследование пролиферации клеток *in vivo*.

Способ определения пролиферации клеток, включающий подсчет раковых клеток, обработанных ингибитором MEK протеинкиназы, известен в данной области и описан в Kenny, L.M. и др., Positron Emission Tomography (PET) Imaging of Cell Proliferation in Oncology, Clinical Oncology, 16:176-185 (2004), которая таким образом полностью включена в настоящее изобретение в качестве ссылки. Ингибитор MEK протеинкиназы (например, соединение А) исследовали в условиях *in vivo* для определения влияния на пролиферацию раковых клеток. В данное исследование включали добровольно 50 пациентов, у которых был диагностирован рак поджелудочной железы на сходной стадии развития злокачественного новообразования. 25 пациентам вводили комбинацию соединения А. Другим 25 пациентам вводили плацебо. Каждому пациенту вводили суточную ежедневную дозу в течение 14 дней с радиоактивным индикатором, например меченой фтор-2-дезоксидеозой (FDG).

После лечения в течение 14 дней обученный специалист с помощью прибора для неинвазивной позитронно-эмиссионной томографии (PET) определял пролиферацию опухолевых клеток. Кроме того, обученный специалист будет подсчитывать пролиферацию клеток как в опухолевой, так и в нормальной ткани пациентов, леченных с помощью соединения А и плацебо. Полученные результаты свидетельствуют о снижении пролиферации клеток при обработке ингибитором MEK протеинкиназы (например, соединением А) по сравнению с плацебо. Это исследование для определения пролиферации клеток с использованием радиоактивно-меченных индикаторов и PET визуализации далее в настоящем изобретении обозначается как "способ пролиферации клеток *in vivo*". Другие способы пролиферации клеток *in vivo* известны в данной области техники.

Аналогичные анализы можно использовать для определения уменьшения размера опухоли.

Пример 125.

Исследование апоптоза *in vivo*.

MEK ингибитор, например соединение А, исследовали в условиях *in vivo* для определения его влияния на апоптоз раковых клеток. В данное исследование включали добровольно 40 пациентов, у всех из них был диагностирован рак поджелудочной железы на сходной стадии развития злокачественного новообразования. 20 пациентам вводили соединение А и 20 пациентам вводили плацебо. Каждому пациенту вводили суточную дозу в течение 14 дней.

Через 14 дней каждый пациент употреблял обнаруживаемый реагент липополисахарид-связывающий белок (LBP), связанный с меткой. В соответствии с WO 2006/054068, которая таким образом полностью включена в данное изобретение в качестве ссылки, каждого пациента исследовали с помощью сканирующего прибора для определения потребленного реагента, связанного с мертвыми клетками. Количество мертвых клеток может коррелировать с уровнем апоптоза у каждого пациента. Уровни апоптоза у пациентов, которым вводили комбинации, и тех, которым вводили единственное лекарственное средство, можно сравнить между собой, а также с контрольной группой, которым вводили плацебо. Это исследование для определения уровней апоптоза с использованием липополисахарид-связывающего белка и прибора для сканирования далее в настоящем изобретении обозначается как "способ апоптоза *in vivo*".

Пример 126.

Исследования растворения.

Капсулы, содержащие соединение А, готовили согласно описанному в предыдущих примерах. Получали следующие данные растворения, используя метод растворения USP<711>.

	форма 1 мг	форма 10 мг
Время (мин.)	% высвобождения (%RSD)	% высвобождения (%RSD)
15	78 (8,3)	80 (7,3)
30	82 (7,1)	87 (9,2)
45	82 (6,7)	92 (9,6)
60	88 (6,3)	92 (7,2)
70	86 (5,7)	95 (5,4)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическая полиморфная форма А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которая имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере 50% пиков, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

2. Кристаллическая полиморфная форма А по п.1, где порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 70%, в особенности по меньшей мере 90% пиков, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

3. Кристаллическая полиморфная форма А по п.1, где порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

4. Кристаллическая полиморфная форма А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида по пп.1-3, которая проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6.

5. Кристаллическая полиморфная форма А по любому из пп.1-3 или 4, которая имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

6. Кристаллическая полиморфная форма А по любому из пп.4 или 5, которая, по существу, не содержит воду.

7. Кристаллическая полиморфная форма А по любому из пп.4, 5 или 6, которая, по существу, не содержит растворителя.

8. Фармацевтическая композиция для лечения нарушения, опосредованного МЕК, которая содержит кристаллическую полиморфную форму А по любому из пп.1-7 в эффективном количестве и по меньшей мере один наполнитель или носитель.

9. Кристаллическая полиморфная форма А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида по п.1, полученная с помощью способа, включающего стадию кристаллизации аморфного N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из смеси этилацетата и гептана.

10. Применение кристаллической полиморфной формы А по любому из пп.1-7 и 9 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения нарушения, опосредованного МЕК, у индивидуума, страдающего от указанного нарушения.

11. Применение композиции по п.8 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения нарушения, опосредованного МЕК, у индивидуума, страдающего от указанного нарушения.

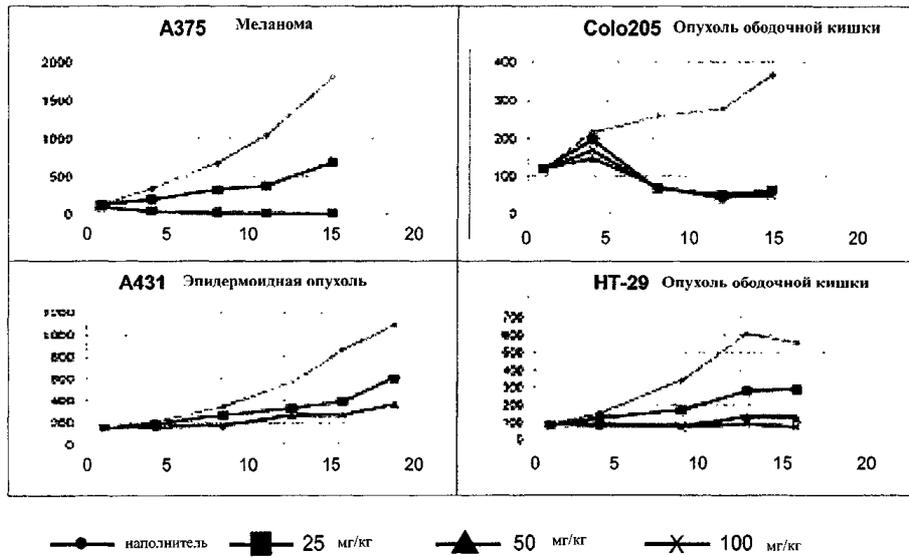
12. Применение по п.10 или 11, где указанное нарушение, опосредованное МЕК, выбрано из группы, включающей воспалительные заболевания, инфекции, аутоиммунные нарушения, удар, ишемию, нарушение сердечной деятельности, неврологические нарушения, фиброгенетические нарушения, пролиферативные нарушения, гиперпролиферативные нарушения, опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы, метаболические заболевания и злокачественные заболевания.

13. Применение кристаллической полиморфной формы А по любому из пп.1-7 и 9 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или профилактики пролиферативного заболевания у индивидуума.

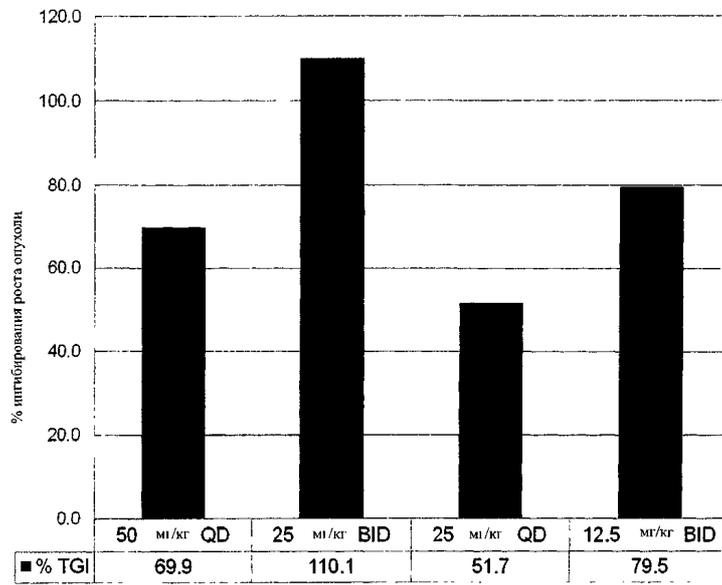
14. Применение композиции по п.8 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или профилактики пролиферативного заболевания у индивидуума.

15. Применение по п.13 или 14, где указанное пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование, псориаз, рестеноз, заболевание или атеросклероз.

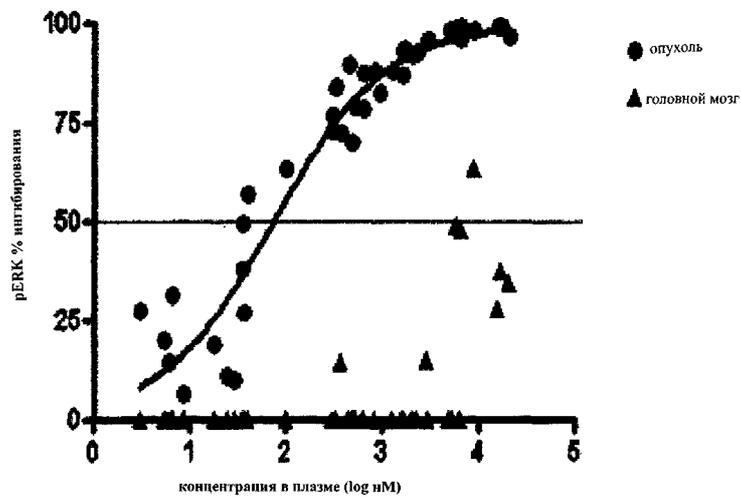
16. Применение по п.15, где указанное злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга, рак молочной железы, рак легкого, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки, лейкоз, миелобластому, фолликулярную лимфому, острый лейкоз предшественников В-клеток, В-клеточный хронический лимфолейкоз, рак желудка, мезотелиому или мелкоклеточный рак легких.



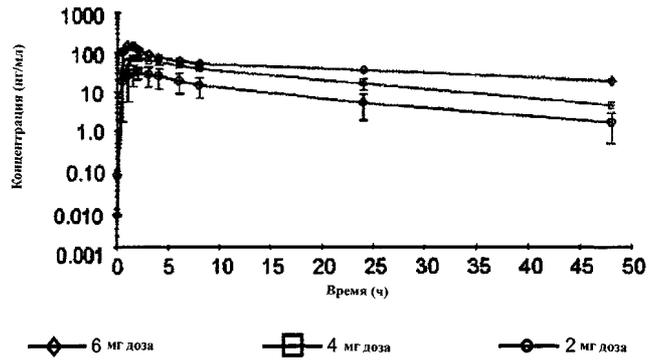
Фиг. 1



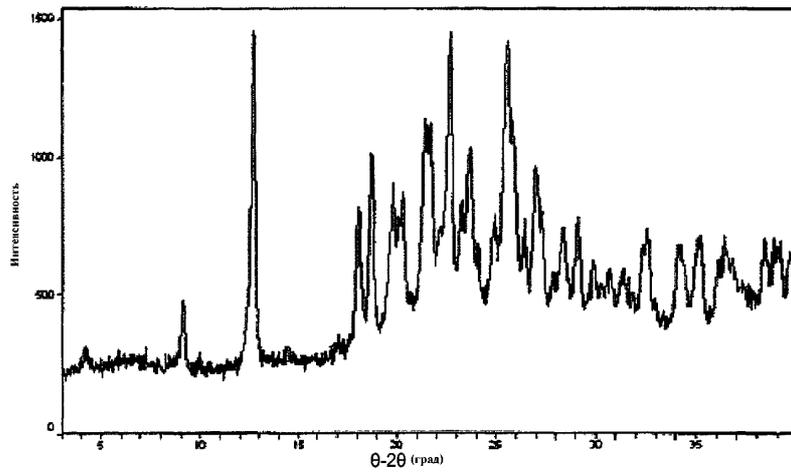
Фиг. 2



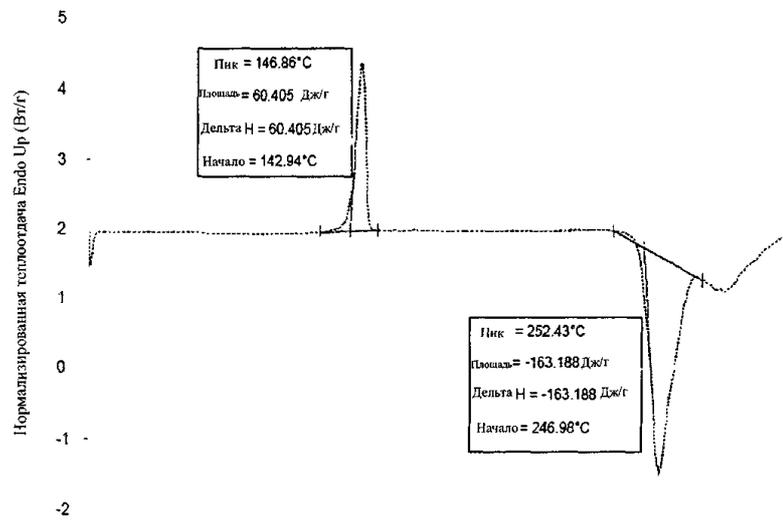
Фиг. 3



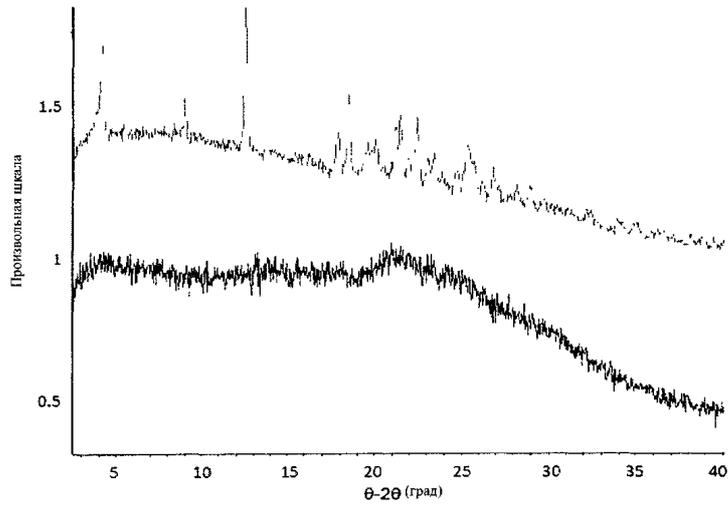
Фиг. 4



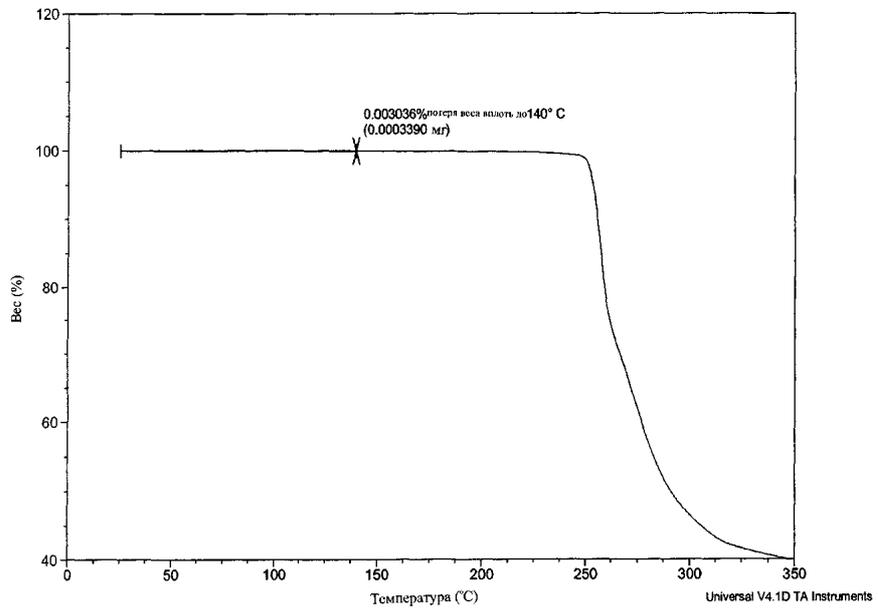
Фиг. 5



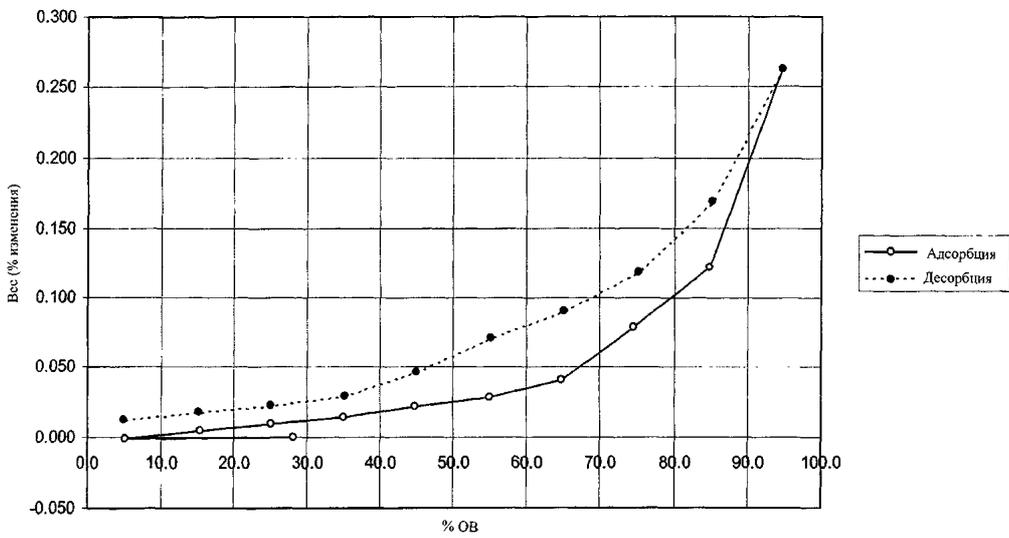
Фиг. 6



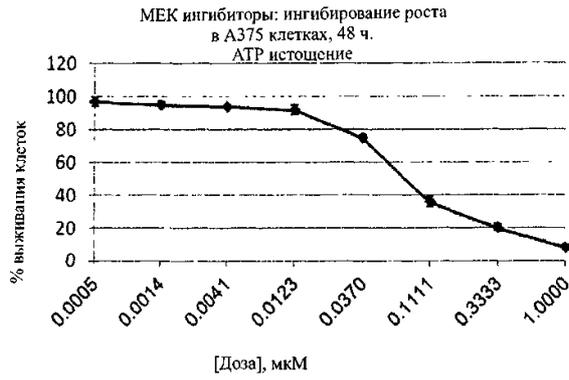
Фиг. 7



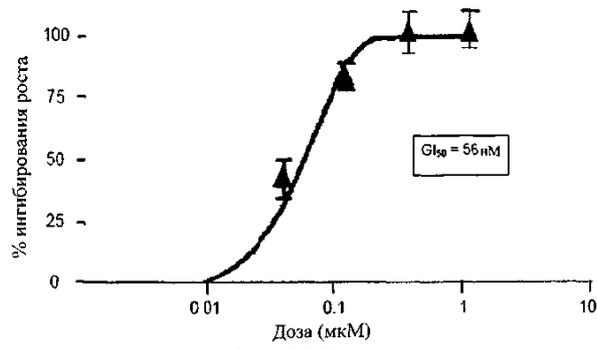
Фиг. 8



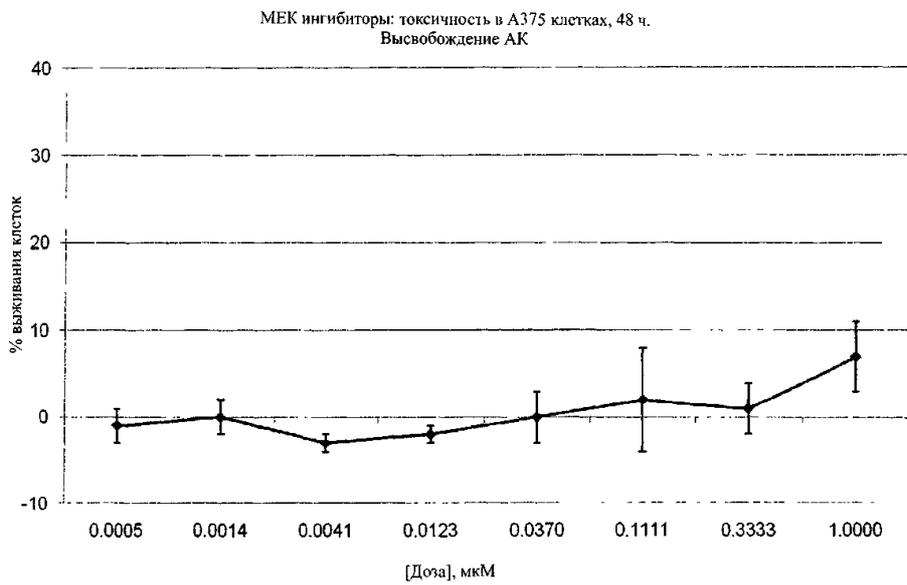
Фиг. 9



Фиг. 10(А)

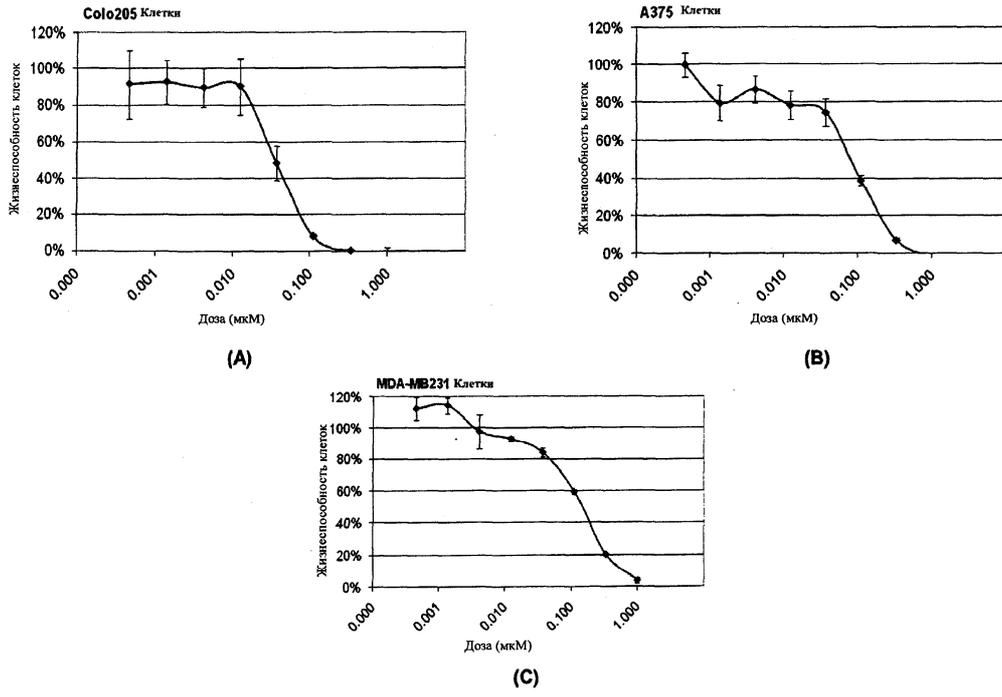


Фиг. 10(В)

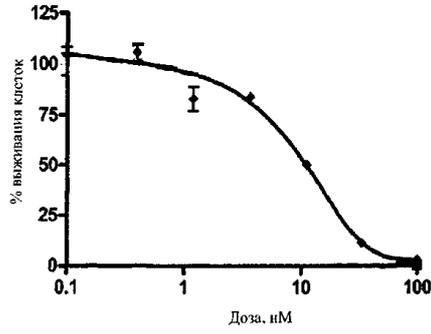


Фиг. 11

7 день, MTS исследование: 3 день ингибирование роста



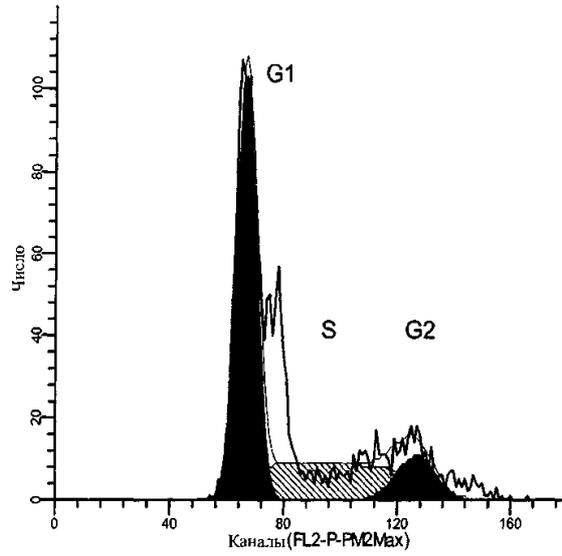
Фиг. 12



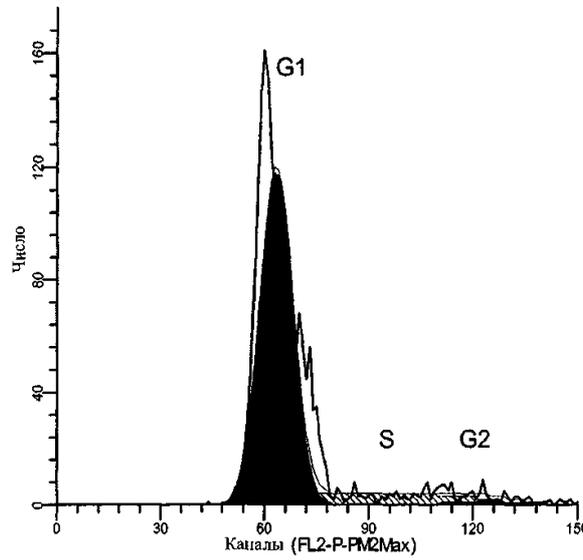
Фиг. 13(A)



Фиг. 13(B)

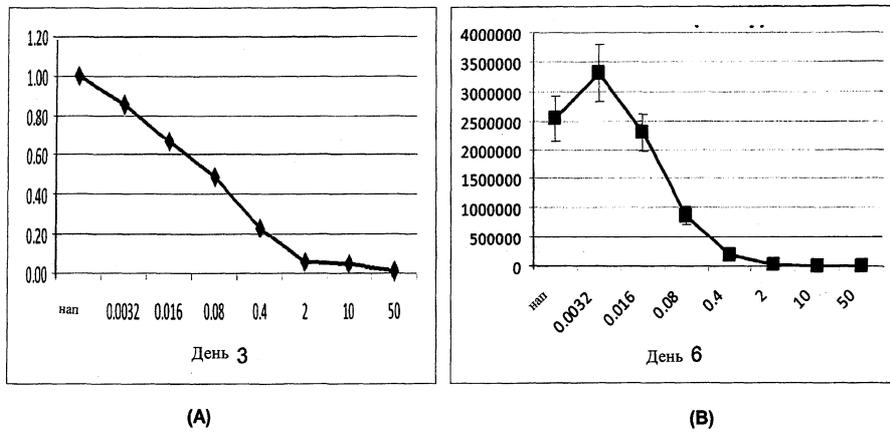


Фиг. 14(A)

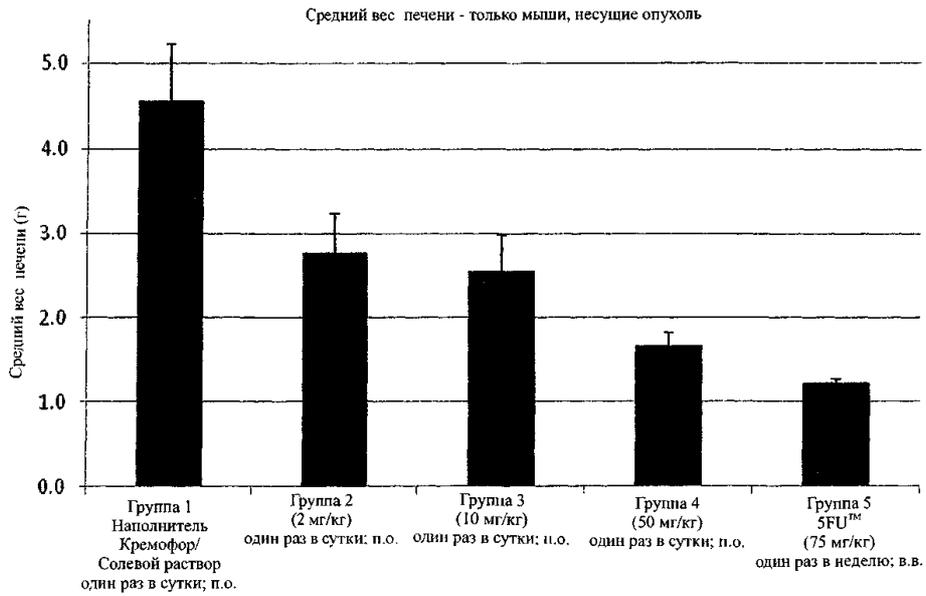


Фиг. 14(B)

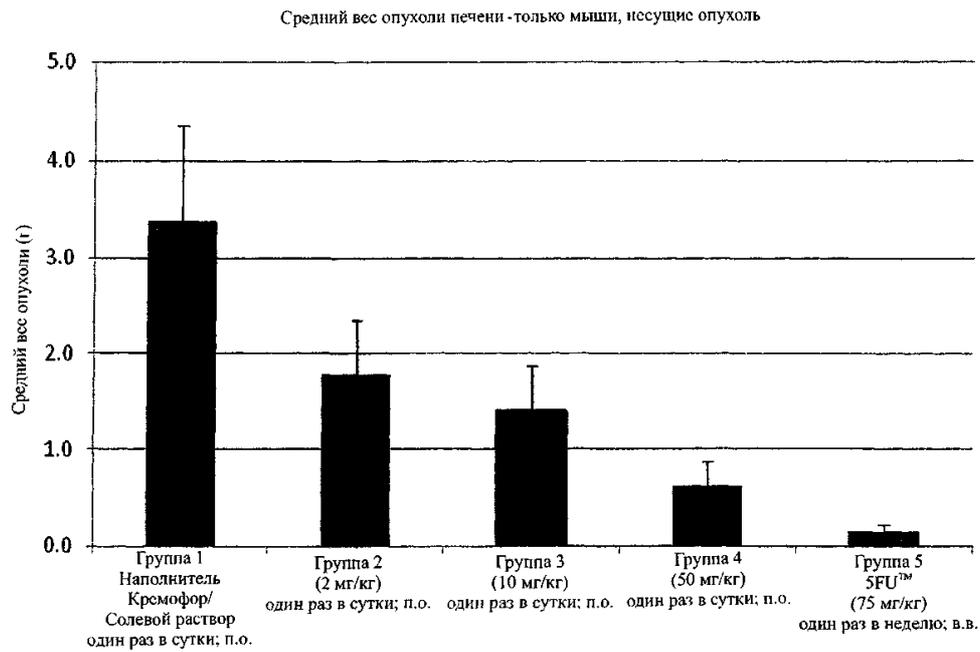
Ингибирование пролиферации AGS клеток



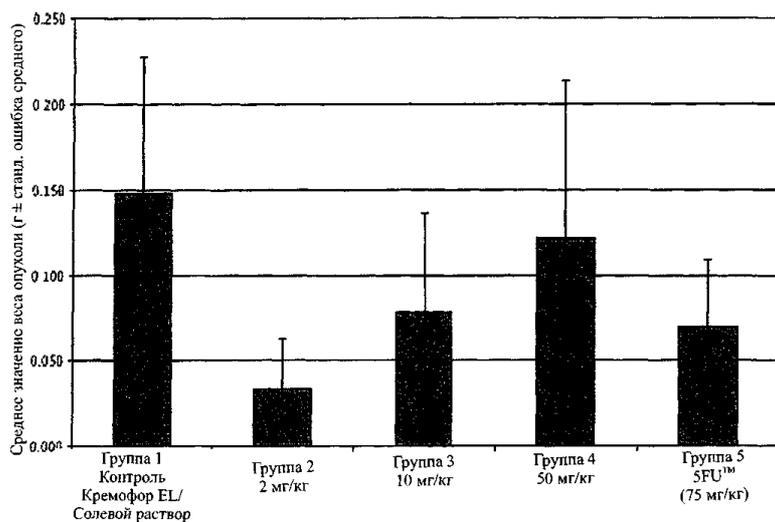
Фиг. 15



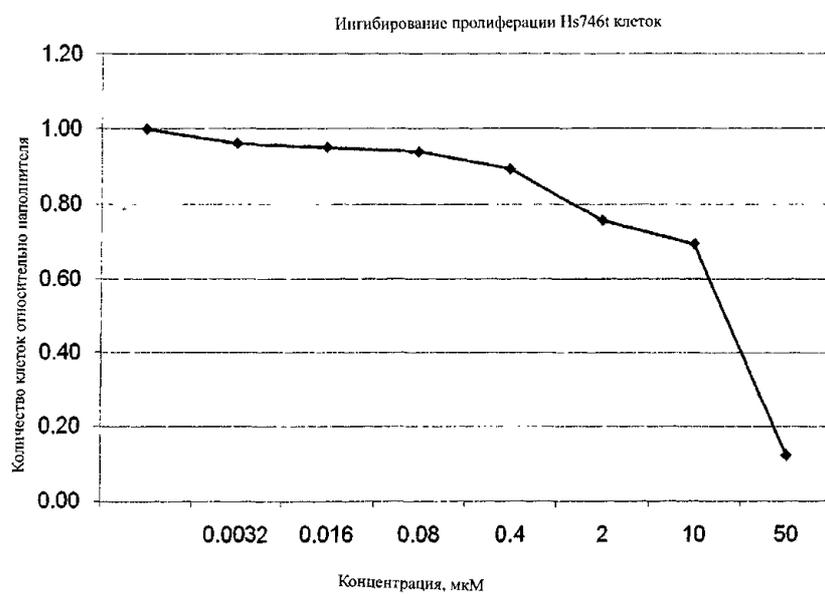
Лечение
Фиг. 16



Лечение
Фиг. 17

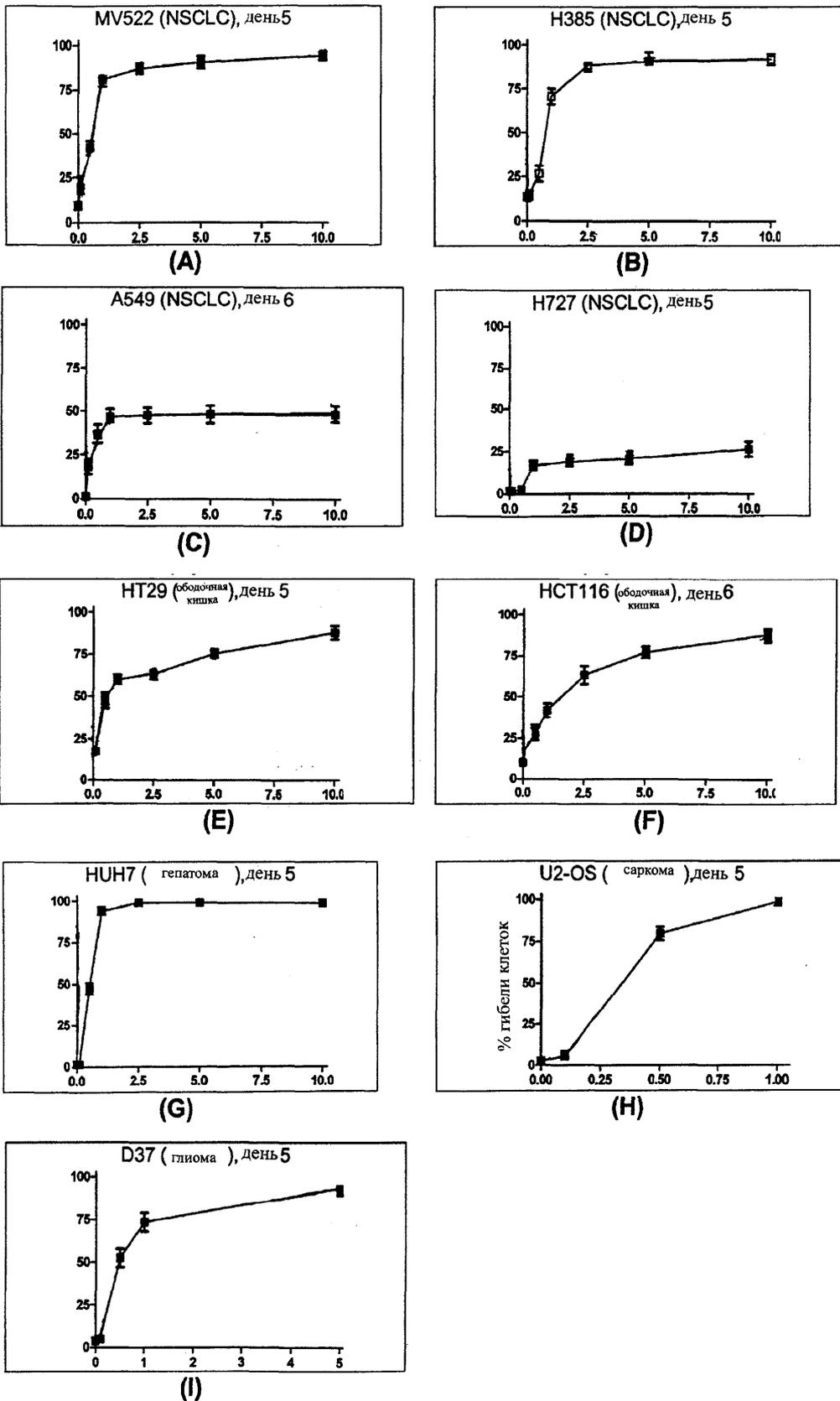


Лечение
Фиг. 18



Фиг. 19

Все фигуры: горизонтальная ось = конц. (мкМ); вертикальная ось = % гибели клеток



Фиг. 20



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2