

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **032294**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.05.31

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

(21) Номер заявки
201400552

(22) Дата подачи заявки
2008.07.28

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМОРФНОЙ ФОРМЫ ПРОИЗВОДНОГО N-(АРИЛАМИНО)СУЛЬФОНАМИДА, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ УКАЗАННОЕ ПРОИЗВОДНОЕ, И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ УКАЗАННОГО ПРОИЗВОДНОГО

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

Стьюарт, Кварт Барри, Майнер
Джеффри Н. (US)

(32) 2007.07.30; 2008.03.06; 2008.03.06;
2008.04.14

(74) Представитель:
Веселицкая И.А., Кузенкова Н.В.,
Веселицкий М.Б., Каксис Р.А.,
Белоусов Ю.В., Куликов А.В.,
Кузнецова Е.В. (RU)

(33) US

(43) 2014.09.30

(62) 201000268; 2008.07.28

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

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

(72) Изобретатель:
Вернье Жан-Мишель, Роулингс Колин
Эдуард, Жирарде Жан-Люк, Даймок

(57) Настоящее изобретение относится к способу получения полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, характеризующейся порошковой рентгенограммой, содержащей по меньшей мере 50% пиков, идентичных порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, включающему кристаллизацию аморфного N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из смеси гептана и этилацетата с получением указанного полиморфа. Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, которая содержит указанное соединение, и способу лечения нарушения, опосредуемого МЕК с помощью кристаллического полиморфа N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, который обладает по меньшей мере одним из следующих свойств: (а) порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа, (b) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или (с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

032294 B1

032294 B1

Перекрестные ссылки на родственные заявки

В настоящей заявке испрашивается приоритет на основании предварительной заявки US № 61/044886, поданной 14 апреля 2008 г., 61/034466, поданной 6 марта 2008 г., и 61/034464, поданной 6 марта 2008 г., каждая из которых, таким образом, в полном объеме включена в качестве ссылки. Также в настоящей заявке испрашивается приоритет на основании заявки US сер. № 11/830733, поданной 30 июля 2007 г., в которой заявляются преимущества предварительной заявки US сер. № 60/833886, поданной 28 июля 2006 г., и международной заявки сер. № PCT/US 2006/028326, 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 сер. № PCT/US 2006/028326 также испрашивается приоритет на основании предварительной заявки US сер. №№ 60/701814, поданной 21 июля 2005 г.; 60/706719, поданной 8 августа 2005 г., и 60/731633, поданной 28 октября 2005 г., каждая из которых, таким образом, в полном объеме включена в качестве ссылки.

Область техники

Настоящее изобретение относится к получению полиморфной формы N-(2-ариламино)арил-сульфонамидного соединения, которое является ингибитором MEK, которая проявляет специфический профиль порошковой рентгенограммы и/или специфический профиль дифференциальной сканирующей калориметрии. Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, которая содержит соединение, описанное в данной заявке, и способ лечения нарушения, опосредуемого MEK.

Предпосылки создания изобретения

Онкогены - гены, которые принимают участие в образовании злокачественных новообразований - обычно представляют собой мутированные формы обычных нормальных клеточных генов ("прото-онкогены"). 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 закоринены 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 настоящей заявке 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 внесклеточными 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 - подтверждает тот факт, что MEK-механизм действия может существенно отличаться от механизмов других протеинкиназ, что предоставляет возможность обнаружения селективных ингибиторов MEK. Возможно, такие ингибиторы будут действовать через аллостерические механизмы, а не посредством более обычного механизма, действующего блокирование сайта связыва-

ния АТР.

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 US 2003/0149015 (изобретатели Barrett и др.) и 2004/0029898 (изобретатели Boyle и др.).

Описано несколько примеров 1-замещенных-2-(п-замещенных-фениламино)арильных ингибиторов МЕК. В патентах US №№ 6440966 и 6750217 и соответствующей публикации WO 00/42003 описаны сложные эфиры карбоновой и гидроксамовой кислоты и N-замещенные амидные производные сложных эфиров сульфонамидзамещенных-2-(4-йодфениламино)бензойной кислоты и N-замещенных бензамидов, которые действуют в качестве МЕК ингибиторов. Сульфонамид также может быть N-замещенным.

В патенте US 6545030 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 US 2005/004186 описаны родственные соединения, в которых 4-йод-заместитель патента US 6545030 заменен очень большим классом компонентов, таких как алкил, алкокси, ацилокси, алкенил, карбамоил, карбамоилалкил, карбоксил, карбоксилалкил, N-ацилсульфонамидо и другие.

В патенте US 6469004 и соответствующей публикации WO 00/42022 описаны сложные эфиры карбоновой и гидроксамовой кислот группы гетероциклоконденсированных фениленовых соединений, т.е. бензимидазолы, бензооксазолы, бензотиазолы, бензотиадиазолы, хиназолины 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 US 2005/0554701. 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 US сер. № 10/333399 (US 2004/0054172) описаны гидроксизамещенные кислотные эфиры 1-оксаминовой кислоты-2-(4-галофениламино)-3,4-дифторбензола. В патенте US № 6891066 и соответствующей публикации WO 03/62191 описаны сходные соединения, в которых 4-гало-заместитель заменен очень большим классом структур. Заместителями в 4 положении являются метил, этил, этинил и 2-гидроксиэтил. Специфические сходные соединения описаны в патенте US № 6770778.

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

МЕК каскад также вовлечен в воспалительные заболевания и нарушения. В опубликованной заявке на патент US № 2006/0030610 (изобретатели Koch и др.), опубликованной заявке на патент US № 2006/0140872 (изобретатели Figue 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.

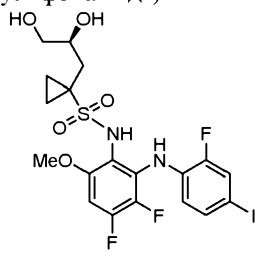
МЕК1 и МЕК2 являются обоснованными и признанными мишенями для антипролиферативных терапий, даже если онкогенная мутация не затрагивает структуру или экспрессию МЕК. См., например, опубликованные заявки на патент US 2003/0149015 (изобретатели Barrett и др.) и 2004/0029898 (изобретатели Boyle и др.).

Сущность изобретения

В настоящем изобретении обеспечивается получение полиморфной формы A N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, характеризующейся порошковой рентгенограммой, содержащей по меньшей мере 50% пиков, идентичных порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, включающей кристаллизацию аморфного N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из смеси гептана и этилацетата с получением указанного полиморфа.

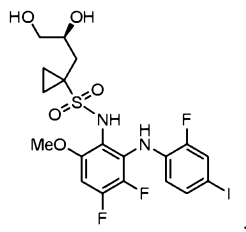
В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, которая содержит указанное выше соединение A и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, причем указанная полиморфная форма A при введении индивидууму имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мкг ч/мл от 0-12 ч.

Кристаллическая полиморфная форма А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида (также в настоящем изобретении обозначается как "соединение А" и "N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид")



которая проявляет специфическую порошковую рентгенограмму. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 50% пиков, представленных на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 70% пиков, представленных на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 90% пиков, представленных на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма является, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5. Соединение А характеризуется как S-изомер путем получения R и S-MTPA 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 способу лечения нарушения, опосредуемого MEK, у индивидуума, страдающего от указанного нарушения, включающему введение этому индивидууму терапевтически эффективного количества кристаллического полиморфа N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида



который обладает по меньшей мере одним из следующих свойств:

- (а) порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,
- (б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или
- (с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

В некоторых вариантах осуществления картина дифференциальной сканирующей калориметрии является, по существу, идентичной картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6.

В некоторых вариантах осуществления кристаллическая полиморфная форма А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, пригодная для лечения или предотвращения злокачественного новообразования или воспалительного заболевания. Изобретение дополнительно относится к способу лечения или предотвращения злокачественного новообразования или воспалительного заболевания, которые включают введение эффективного количества кристаллической полиморфной формы N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида субъекту, который в этом нуждается.

В других аспектах настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, в которых фармацевтически приемлемые носители содержат адъюванты, эксципиенты, 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.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в форме, подходящей для перорального введения. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,002 до приблизительно 6 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,005 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят больше четырех раз в сутки.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предназначена для введения млекопитающему. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления млекопитающим является человек.

Как указано выше, фармацевтическая композиция содержит фармацевтический носитель, эксципент и/или адъювант. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит по меньшей мере одно терапевтическое средство. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой таксол, ботрезомиб или оба средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. Также в настоящем изобретении обеспечиваются композиции и способы лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 1-100 мг соединения А. В некоторых вариантах осуществления композиция позволяет модифицировать высвобождение соединения. В некоторых вариантах осуществления композиция позволяет замедлить высвобождение соединения. В некоторых вариантах осуществления композиция позволяет отсрочить высвобождение соединения. В некоторых вариантах осуществления соединения присутствует в количестве приблизительно 1-50 мг. В некоторых вариантах осуществления соединения присутствует в количестве приблизительно 1-10 мг. В некоторых вариантах осуществления соединения присутствует в количестве приблизительно 10-20 мг. В некоторых вариантах осуществления соединения присутствует в количестве приблизительно 20-40 мг. В некоторых вариантах осуществления соединения присутствует в количестве приблизительно 40-50 мг.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются композиции и способы лечения злокачественного новообразования или воспаления с помощью композиций, содержащих приблизительно 1-50 мг соединения А, где композиция позволяет модифицировать высвобождение лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит микрокристаллическую целлюлозу. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит кроскармеллозу натрия. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит лаурилсульфат натрия. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит стеарат магния.

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 кристаллический полиморф имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит воды. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворителя.

Кристаллическая полиморфная форма А N-(-)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, которая проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, и композиции, содержащие это соединение. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит воды. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворителя.

Также в настоящем изобретении обеспечивается получение полиморфной формы А N-(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-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, из смеси гептана и этилацетата. В некоторых вариантах осуществления смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении от приблизительно 1-4 ч. этилацетата до приблизительно 2-10 ч. гептана. В некоторых вариантах осуществления смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении от приблизительно 2 ч. этилацетата до приблизительно 5 ч. гептана.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы лечения нарушения, опосредованного МЕК, у особи, страдающего от указанного нарушения, которые включают введение указанному индивиду эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В некоторых вариантах осуществления МЕК ингибитор вводят в комбинации с дополнительной терапией. В некоторых вариантах осуществления 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. В некоторых вариантах осуществления 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. В некоторых вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой гиперпролиферативное заболевание. В некоторых вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой злокачественное новообразование, опухоли, лейкозы, новообразования или карциномы. В некоторых вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой воспалительное заболевание. В некоторых вариантах осуществления указанное воспалительное заболевание представляет собой ревматоидный артрит или рассеянный склероз.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы лечения или профилактики пролиферативного заболевания у индивидуума, которые включают введение указанному индивиду эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В некоторых вариантах осуществления пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование, псориаз, рестеноз, заболевание или атеросклероз. В некоторых вариантах осуществления 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, глиобластома, фолликулярную лимфому, острый лейкоз предшественников В-клеток, В-клеточный хронический лимфолейкоз, рак желудка, мезотелиому или мелкоклеточный рак легких. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение по меньшей мере одного терапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления эта стадия включает введение по меньшей мере одной дополнительной терапии злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления 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.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы лечения или профилактики воспалительного заболевания у индивидуума, которые включают введение указанному индивиду эффективного

количества композиции, которая содержит соединение, как описано в данной заявке. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой ревматоидный артрит или рассеянный склероз.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы разрушения, ингибирования роста или уничтожения раковых клеток, которые включают контактирование клеток с количеством соединения или композиции, как описано в данной заявке, эффективным для разрушения, ингибирования роста или уничтожения раковых клеток. В некоторых вариантах осуществления раковые клетки включают раковые клетки головного мозга, молочной железы, легких, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, почки, желудка или ободочной и прямой кишки.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы ингибирования увеличения размера опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения пролиферации опухоли или предотвращения пролиферации опухоли у индивидуума, которые включают введение указанному индивидууму эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке, для ингибирования увеличения размера опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения пролиферации опухоли или предотвращения пролиферации опухоли. В некоторых вариантах осуществления опухоль возникает в головном мозге, молочной железе, легких, яичниках, поджелудочной железе, предстательной железе, почках, желудке, ободочной кишке или прямой кишке.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы лечения или предотвращения анкилозирующего спондилита, подагры, тендинита, бурсита или ишиалгии, которые включают введение субъекту, который в этом нуждается, эффективного количества соединения А.

В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения рака желудка путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения лейкемической меланомы или гепатомы путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке.

В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения немелкоклеточного рака легких путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения рака толстой кишки путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения рака ЦНС путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения рака яичника путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения рака почки путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения рака предстательной железы путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В настоящем изобретении также обеспечиваются способы лечения рака молочной железы путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке. В различных вариантах осуществления эти способы дополнительно включают введение по меньшей мере одного терапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления осуществляют по меньшей мере одну дополнительную противораковую терапию. В некоторых вариантах осуществления дополнительная противораковая терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы лечения или предотвращения псориаза путем введения терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в данной заявке в местной дозированной форме.

В различных вариантах осуществления композиции вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят один раз в сутки или два раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят один раз в сутки в течение по меньшей мере одной недели.

В некоторых вариантах осуществления при пероральном введении композиции, T_{\max} соединения достигается в промежутке от 1 до 3 ч после введения композиции страдающему субъекту. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту соединение достигает C_{\max} в промежутке от приблизительно 0,01 до приблизительно 1,0 мкг/мл в день 1. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту соединение достигает C_{\max} в промежутке от приблизительно 0,01 до приблизительно 0,8 мкг/мл в день 1. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту соединение достигает C_{\max} в промежутке от приблизительно 0,03 до приблизительно 0,5 мкг/мл в день 1. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 4,0 мкг·ч/мл в течение 0-12 ч. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,5 до приблизительно 3,0 мкг·ч/мл. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет T_{\max} в промежутке от 0,5 до 5,0 ч. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет T_{\max} в

промежутке от 1,0 до 3,0 ч. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет T_{\max} в промежутке от 1,0 до 2,5 ч. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет концентрацию в плазме больше чем приблизительно 0,01 мг/мл через 5 ч после введения разовой дозы. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет концентрацию в плазме больше чем приблизительно 0,01 мг/мл через 10 ч после введения разовой дозы. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет концентрацию в плазме больше чем приблизительно 0,01 мг/мл через 15 ч после введения разовой дозы.

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

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы уменьшения объема опухоли путем введения соединений и композиций, как описано в данной заявке. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 5 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 25%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 5 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 50%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 5 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 20-70%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 15 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 25%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 15 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 50%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 15 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 20-70%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 30 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 25%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 30 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 50%. В некоторых вариантах осуществления после ежедневного введения лекарственного средства в течение 30 дней объем опухоли уменьшается по меньшей мере приблизительно на 20-70%.

Также в настоящем изобретении обеспечиваются способы ингибирования роста опухоли путем введения соединений и композиций, как описано в данной заявке. В некоторых вариантах осуществления после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 20%. В некоторых вариантах осуществления после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 40%. В некоторых вариантах осуществления после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 60%. В некоторых вариантах осуществления после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется по меньшей мере приблизительно на 80%. В некоторых вариантах осуществления после введения лекарственного средства рост опухоли ингибируется в промежутке от приблизительно 20 до приблизительно 100%. В некоторых вариантах осуществления после введения лекарственного средства рост опухоли в значительной степени ингибирован.

В некоторых вариантах осуществления композицию вводят два раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят один раз в сутки.

В некоторых вариантах осуществления МЕК ингибитор не интерферирует с совместным введением другого средства, подавляющего опухоль.

В некоторых вариантах осуществления композиция находится в форме таблетки, капсулы, желатиновой капсулы, каплеты, пеллеты или гранулы. В некоторых вариантах осуществления композиция находится в дозированной форме в виде капсулы или таблетки, имеющей общий вес от приблизительно 50 до приблизительно 1000 мг. В некоторых вариантах осуществления 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. В некоторых вариантах осуществления композиция находится в форме капсулы или таблетки, имеющей общий вес от приблизительно 240 мг.

В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит по меньшей мере один наполнитель, выбранный из группы, включающей микрокристаллическую целлюлозу, силикатированную микрокристаллическую целлюлозу, лактозу, сжимаемый сахар, ксилит, сорбит, маннит, желати-

нированный крахмал, мальтодекстрин, фосфат кальция, карбонат кальция, крахмал и силикат кальция.

В некоторых вариантах осуществления 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, бетонит и вигум.

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

В некоторых вариантах осуществления 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.

В настоящей заявке обеспечиваются композиции 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. В некоторых вариантах осуществления 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. В некоторых вариантах осуществления 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. В некоторых вариантах осуществления 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.

В настоящем изобретении также обеспечиваются партии капсул или таблеток, каждая содержит от приблизительно 1 до приблизительно 50 мг соединения, как описано в данной заявке, и имеет приемочное число согласно USP относительно однородности состава меньше чем приблизительно 15.

Способы лечения

Изобретение относится к способам лечения или предотвращения злокачественного новообразования, которые включают введение субъекту, который в этом нуждается, эффективного количества фармацевтической композиции, которая содержит соединение А, как описано в данной заявке.

Изобретение относится к способам лечения или предотвращения воспалительного заболевания, которые включают введение субъекту, который в этом нуждается, эффективного количества фармацевтической композиции, которая содержит соединение А, как описано в данной заявке.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способам лечения или предотвращения анкилозирующего спондилита, подагры, тендинита, бурсита или ишиалгии, которые включают введение субъекту, который в этом нуждается, эффективного количества фармацевтической композиции, которая содержит соединение А, как описано в данной заявке.

В некоторых аспектах настоящее изобретение также относится к способу лечения заболевания у индивидуума, страдающего от указанного заболевания, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит соединение А.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения у млекопитающего, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения А.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения у человека, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения А.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения гиперпролиферативного нарушения у млекопитающего, включая человека, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения А.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения воспалительного заболевания, состояния или нарушения у млекопитающего, включая человека, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения А.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения или состояния, которое модулируется МЕК каскадом, у млекопитающего, включая человека, который включает введение указанному млекопитающему количества соединения А, эффективного для модуляции указанного каскада.

Подходящая доза для конкретного пациента может быть определена согласно известным способам специалистами в данной области техники.

Ингибирование МЕК фермента.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу ингибирования МЕК фермента. В некоторых вариантах осуществления способ включает контактирование указанного МЕК фермента с количеством композиции, которая содержит соединение А, достаточным для ингибирования указанного фермента, при котором указанный фермент ингибируется. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 1%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 2%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 3%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 4%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 5%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 10%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 20%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 25%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 30%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 40%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 50%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 60%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 70%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 75%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 80%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 90%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент, по существу, полностью ингибирован. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления МЕК фермент представляет собой МЕК киназу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления МЕК фермент представляет собой МЕК1. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления контактирование происходит в клетке. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления клетка представляет собой клетку млекопитающего. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления клетка млекопитающего представляет собой клетку человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления МЕК фермент ингибирован с помощью композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Нарушение, опосредованное МЕК.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения, опосредованного МЕК, у особи, страдающего от указанного нарушения, который включает введение указанному индивиду эффективного количества композиции, которая содержит соединение А. В некоторых вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в форме, подходящей для перорального введения. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтический носитель, эксципиент и/или адъювант.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. В дальнейших или дополнительных вари-

антах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

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

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиции, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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 гематопэтические факторы роста. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обеих средств.

В некоторых вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой воспалительное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой гиперпролиферативное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, выбирают из группы, включающей опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Обеспечиваемые эффекты.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу обеспечения эффекта у пациента, который включает введение эффективного количества композиции, которая содержит соединение, пациенту, где эффект выбирают из группы, включающей ингибирование различных злокачественных новообразований, иммунологических заболеваний и воспалительных заболеваний. В некоторых вариантах осуществления эффект представляет собой ингибирование различных злокачественных новообразований. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления эффект представляет собой ингибирование иммунологических заболеваний. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления эффект представляет собой ингибирование воспалительных заболеваний.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиции, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством.

В некоторых вариантах осуществления композиции вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии),

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

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу 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, где композиция содержит соединение. В некоторых вариантах осуществления раковые клетки включают клетки головного мозга, молочной железы, легкого, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, почки или ободочной и прямой кишки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию вводят по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой таксол, ботрезомиб или оба средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления противоопухолевые средства выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антимагнетины, эпидофиллотоксины, противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста. В некоторых вариантах осуществления раковые клетки разрушаются. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 1% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 2% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 3% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 4% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 5% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 10% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 20% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 25% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 30% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 40% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 50% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 60% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 70% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 75% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 80% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 90% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушается 100% раковых клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления разрушаются, по существу, все раковые клетки. В различных вариантах осуществления вышеуказанное разрушение происходит в течение одного дня, пяти дней, десяти дней, одного месяца, двух месяцев, шести месяцев или одного года.

В некоторых вариантах осуществления раковые клетки уничтожаются. В дальнейших или дополни-

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу уменьшения размера опухоли, ингибирования увеличения размера опухоли, уменьшения пролиферации опухоли или предотвращения пролиферации опухоли у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит соединение. В некоторых вариантах осуществления размер опухоли уменьшается. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 1%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 2%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 3%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 4%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 5%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 10%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 20%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 25%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 30%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 40%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 50%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 60%. В

дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 70%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 75%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 80%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 85%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 90%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 95%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления опухоль ликвидируется. В некоторых вариантах осуществления размер опухоли не увеличивается. В различных вариантах осуществления вышеуказанные влияния на размер опухоли происходят в течение одного дня, пяти дней, десяти дней, одного месяца, двух месяцев, шести месяцев или одного года.

В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 1%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 2%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 3%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 4%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 5%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 10%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 20%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 25%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 30%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 40%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 50%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 60%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 70%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 75%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 75%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 80%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 90%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли уменьшается по меньшей мере на 95%. В некоторых вариантах осуществления пролиферация опухоли предотвращается. В различных вариантах осуществления вышеуказанные влияния на пролиферацию клеток происходят в течение одного дня, пяти дней, десяти дней, одного месяца, двух месяцев, шести месяцев или одного года.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обеих средств.

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

дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Пролиферативные заболевания.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики пролиферативного заболевания у индивидума, который включает введение указанному индивидуму эффективного количества композиции, которая содержит соединение А. В некоторых вариантах осуществления пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование, псориаз, респираторное заболевание, аутоиммунное заболевание или атеросклероз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления пролиферативное заболевание представляет собой гиперпролиферативное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления пролиферативное заболевание выбирают из группы, включающей опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание. В дальнейших или дополнительных 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, рак желудка, рак головы и шеи или лейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления рак желудка, рак головного мозга, рак молочной железы, рак легких, мелкоклеточный рак легких, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак печени, рак предстательной железы, рак почки, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак почки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак ободочной и прямой кишки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой миелолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой глиобластому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мелкоклеточный рак легких. В дальнейших вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины, противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы

сы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/анти-гормональные терапевтические средства и гематопэтические факторы роста.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обеих средств. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально.

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

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, страдающий от пролиферативного заболевания, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Воспалительные заболевания.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики воспалительного заболевания у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит соединение А. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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, псориатический 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.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством.

В некоторых вариантах осуществления композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже

нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидум, страдающий от воспалительного заболевания, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Злокачественное новообразование.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики злокачественного новообразования у индивидума, который включает введение указанному индивидуму эффективного количества композиции, которая содержит соединение. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. В дальнейших или дополнительных 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 желудка, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления, злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак почки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак ободочной и прямой кишки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой миелолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой глиобластому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мелкоклеточный рак легких. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

В некоторых вариантах осуществления композицию вводят перорально, интрадуоденально, парен-

терально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Включение путем ссылки.

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

Краткое описание фигур

Новые особенности изобретения изложены более подробно в пунктах приложенной формулы изобретения. Лучшее понимание особенностей и преимуществ настоящего изобретения обеспечивает 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 показана диаграмма % ингибирования роста опухоли (% TGI) у мышей с ксенотрансплантатами 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 пу/пу 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, полученной 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, полученная с помощью дифференциального сканирующего калориметра TA Instruments Q1000. На графике представлен нормализованный тепловой поток в единицах (Вт/г) относительно измеренной температуры образца в °C.

На фиг. 7 представлен график 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), полученной 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 Instalment 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-сульфонамид.

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 ($GI_{50} = 11$ нМ); (B) A375 клеток ($GI_{50} = 22$ 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, зависящих от закоривания.

На фиг. 13(A) показано ингибирование роста клеток колоректальной карциномы человека Colo205, со значениями GI_{50} 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 от 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, п.о.; 10 мг/кг один раз в сутки, п.о. и 50 мг/кг один раз в сутки, п.о.).

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, п.о.; 10 мг/кг один раз в сутки, п.о. и 50 мг/кг один раз в сутки, п.о.).

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.

Подробное описание изобретения

Заголовки разделов, используемые в данной заявке, представлены только для организаторских целей и не должны истолковываться как ограничивающие описанный объем изобретения. Все документы или части документов, процитированные в заявке, 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 настоящей заявке, 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 настоящей заявке, если специально не указано иначе, полностью включены путем ссылки. В том случае, если существует множество определений для терминов, используемых в данной заявке, 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 настоящей заявке использование единственного числа 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 следует иное. Также следует отметить, что использование "или" обозначает "и/или", если специально не указано иначе. Кроме того, использование термина "включая", а также других форм, таких 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. тт. А (2000) и В (2001), Plenum Press, New York. Если специально не указано иначе, применяются общепринятые способы масс-спектропии, ЯМР, ВЭЖХ, ИК и спектроскопия 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 данной заявке, 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 данной заявке. 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 настоящей заявке. 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 данной заявке, 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 описании в данной заявке. " IC_{50} " представляет собой концентрацию ингибитора, которая уменьшает активность фермента (например, МЕК) на половину от максимального уровня. Было обнаружено, что соединения, раскрытые в данной заявке, 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 данной заявке.

Термин "субъект", "пациент" или "индивидуум", как используется в данной заявке, относится к индивидуумам, страдающим от нарушения, и т.д., и охватывает млекопитающих и немлекопитающих. Примерами 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, 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 настоящей заявке, 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, подвергнутого 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 настоящей заявке, относится к количеству по меньшей мере одного вводимого средства или соединения, которого 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 данной заявке, 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 воду" и "по существу, не содержит растворитель", как используется в настоящей заявке, 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 настоящей заявке, относится к порошковой рентгенограмме или картине дифференциальной сканирующей калориметрии, которая может не быть идентичной представленным в данной заявке, 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 настоящей заявке, 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, 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 данной заявке, 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 пред-

почтительных вариантах осуществления соединения и композиции, описанные в данной заявке, вводятся перорально.

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

Термин "фармацевтически приемлемый", как используется в настоящей заявке, относится к веществу, такому как носитель или разбавитель, которое не отменяет биологическую активность или свойства соединений, как описано в данной заявке, и является относительно нетоксичным, то есть 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 настоящей заявке, 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 настоящей заявке, относится к относительно нетоксичным химическим соединениям или средствам, которые облегчают включение соединения в клетки или ткани.

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

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

Термин "модулировать", как используется в настоящей заявке, 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, ограничение активности мишени или увеличение активности мишени.

Термин "модулятор", как используется в настоящей заявке, 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 настоящей заявке, обозначает повышение или пролонгирование эффективности или продолжительности желательного действия. Следовательно, что касается влияния терапевтических средств, термин "усиление" относится к способности повышать или пролонгировать либо эффективность или продолжительность действия других терапевтических средств на систему. "Усиливающее эффективное количество", как используется в настоящей заявке, 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 настоящей заявке, 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 данной заявке, 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 данной заявке, 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 настоящей заявке, охватывает введение выбранных терапевтических средств одному пациенту и охватывает 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 данной заявке, 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.

Термин "метаболит", как используется в настоящей заявке, относится к производному соединения,

которое образуется при превращении соединения в процессе обмена веществ.

Термин "активный метаболит", как используется в настоящей заявке, относится к биологически активному производному соединения, которое образуется при превращении соединения в процессе обмена веществ.

Термин "превращение соединения в процессе обмена веществ", как используется в настоящей заявке, относится к сумме процессов (включая, но не ограничиваясь только ими, реакции гидролиза и реакции, катализируемые ферментами), посредством которых конкретное вещество изменяется организмом. Таким образом, ферменты могут продуцировать специфические структурные изменения соединения. Например, цитохром P450 катализирует различные окислительные и восстановительные реакции, тогда как уридин-дифосфат-глюкозилтрансферазы катализируют перенос активированной молекулы глюконовой кислоты на ароматические спирты, алифатические спирты, карбоновые кислоты, амины и свободные сульфгидрильные группы. Дальнейшую информацию относительно метаболизма можно найти в The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9-е изд., McGraw-Hill (1996).

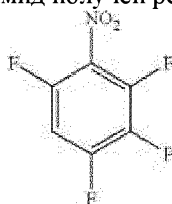
Соединение и способ его получения.

В настоящем изобретении описан способ получения полиморфной формы A N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, характеризующейся порошковой рентгенограммой, содержащей по меньшей мере 50% пиков, идентичных порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, включающий кристаллизацию аморфного N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из смеси гептана и этилацетата с получением указанного полиморфа.

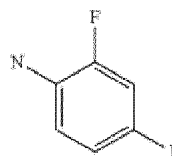
В некоторых вариантах изобретения смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении приблизительно 1-4 ч. этилацетата и приблизительно 2-10 ч. гептана, предпочтительно смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении приблизительно 2 ч. этилацетата и приблизительно 5 ч. гептана.

В некоторых вариантах изобретения объединяют вместе аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид и этилацетат и одновременно нагревают и перемешивают с образованием коричневого раствора, затем добавляют гептан и одновременно поддерживают флегму, затем останавливают нагревание и позволяют полученной в результате кристаллической смеси прийти в равновесие с комнатной температурой при перемешивании, посредством чего кристаллический материал образуется на поверхности стекла, затем обеспечивают равновесие полученной в результате суспензии во льду/воде и одновременно перемешивают, фильтруют суспензию, промывают образованные кристаллы гептаном и сушат воздухом под вакуумом.

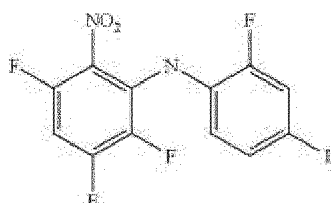
Аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид представляет собой аморфный рацемический N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид, предпочтительно аморфный рацемический N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид получен реакцией



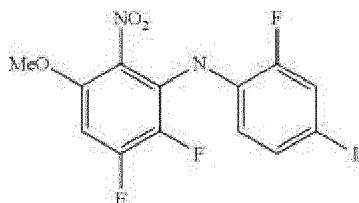
с



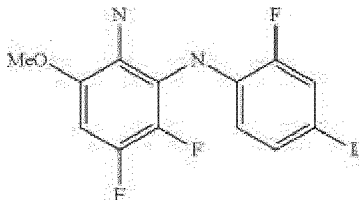
в присутствии LHMDs с получением



которое реагирует с NaOMe с получением



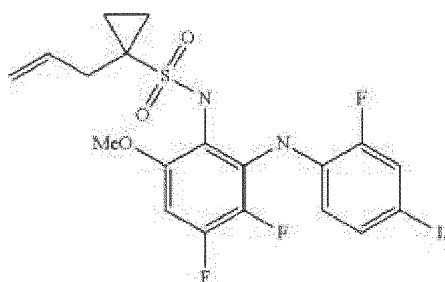
которое реагирует с H_2 с получением



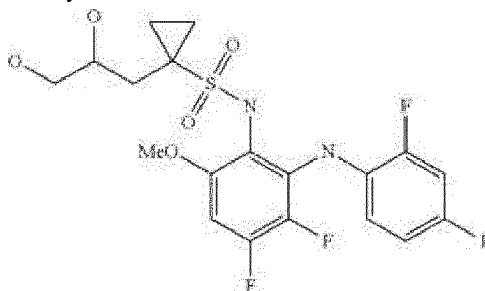
которое реагирует с



с получением



которое реагирует с OsO_4 с получением



В некоторых вариантах изобретения аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид представляет собой аморфный N-(R)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид, предпочтительно аморфный N-(R)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид получен путем хирального ВЭЖХ разделения аморфного рацемического N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

В некоторых вариантах изобретения аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид представляет собой аморфный N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид, предпочтительно аморфный N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид получен путем хирального ВЭЖХ разделения аморфного рацемического N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

В некоторых вариантах изобретения полиморф представляет собой кристаллический полиморф А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, который обладает по меньшей мере одним из следующих свойств:

(а) порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кри-

сталлического полиморфа, или

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

В некоторых вариантах изобретения полиморф представляет собой кристаллический полиморф А, который обладает по меньшей мере двумя из следующих свойств:

(а) порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

В некоторых вариантах изобретения полиморф представляет собой кристаллический полиморф А, который обладает всеми тремя следующими свойствами:

(а) порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, и

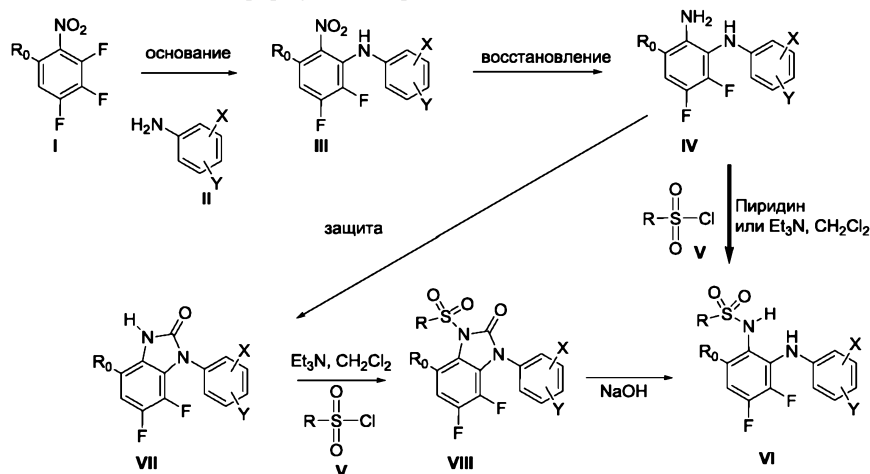
(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, которая содержит соединение А и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, причем указанная полиморфная форма А при введении индивидууму имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мкг·ч/мл от 0-12 ч.

Методика синтеза

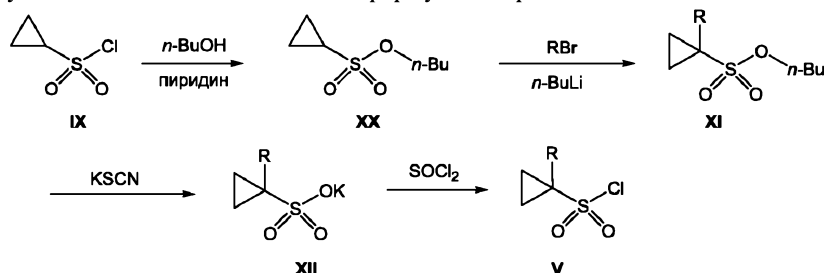
Приготовление соединений А.

I. Приготовление соединения формулы VI представлено ниже



На схеме I выше иллюстрируется способ получения сульфонамидных производных формулы VI. 1,2-Диаминовое производное (формула IV) легко может быть получено за две стадии из желательных нитропроизводных (формула I). Соединения AV можно подвергать реакции с производными сульфонилхлорида (формула V, см. следующую схему) с получением желательного сульфонамида. Альтернативно, 1,2-диаминовые производные IV могут быть защищены для имидазолидона (формула VII) перед взаимодействием с соответствующим сульфонилхлоридом. При снятии защиты с 1,2-диамина VIII в щелочных условиях получают желательный материал VI.

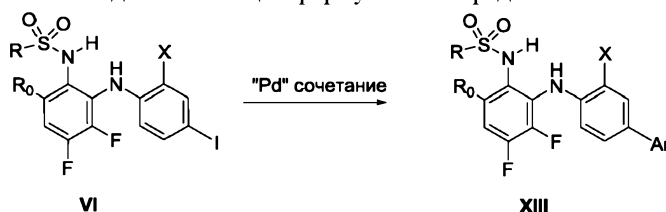
II. Общий путь синтеза соединения общей формулы V представлен ниже



На вышеприведенной схеме II представлен один пример получения комплекса сульфонилхлорида.

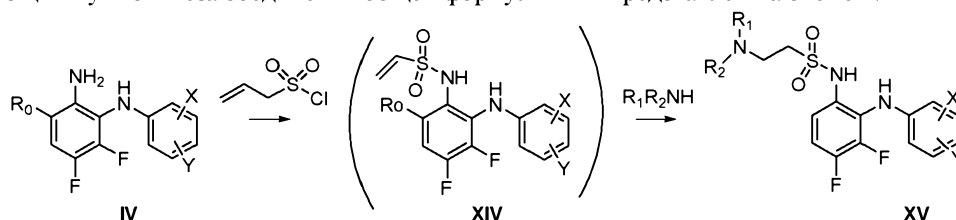
Соединение XX может быть синтезировано из IX, алкилировано и превращено в калиевую соль XII. При обработке соли с помощью SOCl_2 или POCl_3 получают желательные соединения. Другие более специфические методики получения уникальных сульфонилхлоридных производных описаны в экспериментальном разделе.

III. Общий путь синтеза соединения общей формулы XIII представлен на схеме 3.



На вышеприведенной схеме III иллюстрируется получение сульфонамидных производных общей формулы XIII. Например, эти соединения легко могут быть получены путем взаимодействия соединения VI с бороновой кислотой, используя палладиевый катализатор в условиях Сузуки.

IV. Общий путь синтеза соединения общей формулы XIII представлен на схеме 4.



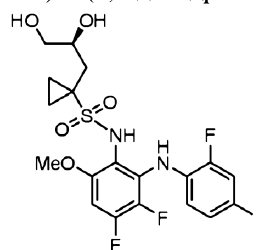
На вышеприведенной схеме IV иллюстрируется получение сульфонамидных производных общей формулы XV. Винилсульфонамид (XIV) подвергают реакции с аминами с образованием производных общих формул XV.

Полиморф соединений А.

В данной заявке описан способ получения полиморфа соединений А и способы лечения нарушений. Например, изобретение обеспечивает способы лечения заболеваний путем введения полиморфа соединения А. Полиморф соединений А вводится в виде фармацевтических композиций.

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



характеризующейся порошковой рентгенограммой, содержащей по меньшей мере 50% пиков, идентичных порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, включающей кристаллизацию аморфного N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из смеси гептана и этилацетата с получением указанного полиморфа. 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.

Кристаллическая полиморфная форма А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида проявляет специфическую картину дифференциальной сканирующей калориметрии, которая 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 фармацевтической композиции для лечения нарушения, опосредованного МЕК, включающей фармацевтически приемлемый носитель и полиморфную форму А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, характеризующуюся порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой

рентгенограмме, представленной на фиг. 5, причем указанная полиморфная форма А при введении индивидууму имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мкг·ч/мл от 0-12 ч.

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 способу лечения нарушения, опосредуемого МЕК, у индивидуума, страдающего от указанного нарушения, включающему введение этому индивидууму терапевтически эффективного количества кристаллического полиморфа N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, который обладает по меньшей мере одним из следующих свойств:

(а) порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

Дальнейшие аспекты изобретения относятся к способам лечения или профилактики пролиферативного заболевания, которые включают введение субъекту, который в этом нуждается, эффективного количества кристаллического полиморфа.

Фармацевтические композиции

В настоящем изобретении описаны фармацевтические композиции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат эффективное количество соединения А и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, причем полиморфная форма А при введении индивидууму имеет AUC, указанный выше. 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 дальнейших аспектах настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, которая содержит соединение А и 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.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в форме, подходящей для перорального введения. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,002 до приблизительно 6 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,005 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вво-

дят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предназначена для введения млекопитающему. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления млекопитающим является человек.

Фармацевтическая композиция содержит фармацевтический носитель, эксципиент и/или адъювант. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит по меньшей мере одно терапевтическое средство. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления противоопухолевое средство выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антимиетаболиты, эпидофиллотоксины, противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы платины, модификаторы биологического отклика и ингибиторы роста, гормональные/антигормональные терапевтические средства и гематопозитические факторы роста. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой таксол, ботрезомиб или оба средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтические композиции вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию.

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 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, идентифицированных на порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5. В некоторых вариантах осуществления порошковая рентгенограмма содержит по меньшей мере 90% пиков, идентифицированных 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 90% 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 в некоторых вариантах осуществления, порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления, по существу, все соединения в композиции проявляют 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 в некоторых вариантах осуществления, порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, присутствующий в композиции, имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит воду. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворитель.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере приблизительно 50% соединения, которое проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф имеет точку плавления проявляющую-

ся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит воду. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворитель.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере приблизительно 75% соединения, которое проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит воду. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворитель.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере приблизительно 90% соединения, которое проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит воду. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворитель.

В некоторых вариантах осуществления, по существу все соединения в композиции проявляют картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит воду. В некоторых вариантах осуществления кристаллический полиморф, по существу, не содержит растворитель.

В некоторых вариантах осуществления полиморфную форму N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида получают 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, например, смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении от приблизительно 1-4 ч. этилацетата до приблизительно 2-10 ч. гептана или более специфически в отношении от приблизительно 2 ч. этилацетата до приблизительно 5 ч. гептана.

В некоторых вариантах осуществления соединение приготавливают в виде лекарственного средства для быстрого высвобождения соединения. В некоторых вариантах осуществления соединение приготавливают в виде лекарственного средства для замедленного высвобождения соединения. В других вариантах осуществления соединения приготавливают в виде лекарственного средства для пролонгированного высвобождения соединения.

В некоторых вариантах осуществления композиция представлена в дозированной форме в виде таблетки. В других вариантах осуществления 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 тт. 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. В различных вариантах осуществления наполнитель или разбавитель выбирают из микрокристаллической целлюлозы, силикатированной микрокристаллической целлюлозы, лактозы, маннита, сжимаемого сахара, фосфата кальция, сульфата кальция, карбоната кальция, силиката кальция и крахмала. В других вариантах осуществления наполнитель или разбавитель представляет собой микрокристаллическую целлюлозу.

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

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

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

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 1 мг соединения А (как определено в любом из представленных выше вариантов осуществления);

приблизительно 222,2 мг микрокристаллической целлюлозы;

приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;

приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и

приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 10 мг соединения А (как определено в любом из представленных выше вариантов осуществления);

приблизительно 213,2 мг микрокристаллической целлюлозы;

приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;

приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и

приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 20 мг соединения А (как определено в любом из представленных выше вариантов осуществления);

приблизительно 203,2 мг микрокристаллической целлюлозы;

приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;

приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и

приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 40 мг соединения А (как определено в любом из представленных выше вариантов осуществления);

приблизительно 183,2 мг микрокристаллической целлюлозы;

приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;

приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и

приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 0,4 вес.% соединения А (как определено в любом из представленных выше вариантов осуществления) и приблизительно 99,6 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза составляет приблизительно 92,6 вес.% композиции. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит приблизительно 5 вес.% кроскармеллозы натрия; приблизительно 1 вес.% лаурилсульфата натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 4,2 вес.% соединения А (как определено в любом из представленных выше вариантов осуществления) и приблизительно 95,8 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза составляет приблизительно 88,8 вес.% композиции. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит приблизительно 5 вес.% кроскармеллозы натрия; приблизительно 1 вес.% лаурилсульфата натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей от приблизительно 2 до приблизительно 10 вес.% соединения А (как определено в любом из представленных выше вариантов осуществления) и от приблизительно 98 до приблизительно 90 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза составляет от приблизительно 85 до приблизительно 95 вес.% композиции. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит от приблизительно 1 до приблизительно 6 вес.% кроскармеллозы натрия; от приблизительно

приблизительно 1 мг соединения А;
 приблизительно 222,2 мг микрокристаллической целлюлозы;
 приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;
 приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и
 приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей
 приблизительно 10 мг соединения А;
 приблизительно 213,2 мг микрокристаллической целлюлозы;
 приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;
 приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и
 приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей
 приблизительно 20 мг соединения А;
 приблизительно 203,2 мг микрокристаллической целлюлозы;
 приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;
 приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и
 приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей
 приблизительно 40 мг соединения А;
 приблизительно 183,2 мг микрокристаллической целлюлозы;
 приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия;
 приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и
 приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 0,4 вес.% соединения А и приблизительно 99,6 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза составляет приблизительно 92,6 вес.% композиции. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит приблизительно 5 вес.% кроскармеллозы натрия; приблизительно 1 вес.% лаурилсульфата натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей приблизительно 4,2 вес.% соединения А и приблизительно 95,8 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза составляет приблизительно 88,8 вес.% композиции. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит приблизительно 5 вес.% кроскармеллозы натрия; приблизительно 1 вес.% лаурилсульфата натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

Изобретение также относится к композиции, содержащей от приблизительно 2 до приблизительно 10 вес.% соединения А и от приблизительно 98 до приблизительно 90 вес.% фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза составляет от приблизительно 85 до приблизительно 95 вес.% композиции. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит от приблизительно 1 до приблизительно 6 вес.% кроскармеллозы натрия; от приблизительно 0,1 до приблизительно 2 вес.% лаурилсульфата натрия и от приблизительно 0,25 до приблизительно 1,5 вес.% стеарата магния. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель содержит микрокристаллическую целлюлозу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза составляет от приблизительно 85 до приблизительно 95 вес.% композиции. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит от приблизительно 1 до приблизительно 6 вес.% кроскармеллозы натрия и от приблизительно 0,25 до приблизительно 1,5 вес.% стеарата магния.

Также в данной заявке 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 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 компо-

зиции предназначены для лечения или профилактики пролиферативных заболеваний.

Способы применения соединений, включая полиморфные формы, и композиций.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу обеспечения эффекта у пациента, который включает введение эффективного количества соединения А, где эффект выбирают из группы, включающей ингибирование различных злокачественных новообразований, иммунологических заболеваний и воспалительных заболеваний. В некоторых вариантах осуществления соединение А вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления эффект представляет собой ингибирование различных злокачественных новообразований. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления эффект представляет собой ингибирование иммунологических заболеваний. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления эффект представляет собой ингибирование воспалительных заболеваний.

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

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию или хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством.

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

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов, описанных в данной заявке, обеспечивают ингибиторы МЕК протеинкиназы, дополнительно содержащие соединение А, где соединение А присутствует в количестве от приблизительно 0,1 до приблизительно 200 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 0,2 до приблизительно 100 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 0,3 до приблизительно 90 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 0,4 до приблизительно 80 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 0,5 до приблизительно 70 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 0,4 до приблизительно 80 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 0,5 до приблизительно 70 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 1 до приблизительно 60 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 1,5 до приблизительно 50 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 2 до приблизительно 45 мг. В других вариантах осуществления ингибитор МЕК протеинкиназы содержит соединение А, и оно присутствует в количестве от приблизительно 2,5 до приблизительно 40 мг.

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов, описанных в данной заявке, обеспечивают ингибиторы МЕК протеинкиназы, дополнительно содержащие соединение А, где соединение А присутствует в количестве приблизительно 0,1, приблизительно 0,2, приблизительно 0,25, приблизительно 0,3, приблизительно 0,4, приблизительно 0,5, приблизительно 0,6, приблизительно 0,7, приблизительно 0,8, приблизительно 0,9, приблизительно 1, приблизительно 1,5, приблизительно 2, приблизительно 2,5, приблизительно 3, приблизительно 3,5, приблизительно 4,0, приблизительно 4,5, приблизи-

тельно 5, приблизительно 5,5, приблизительно 6, приблизительно 6,5, приблизительно 7, приблизительно 7,5, приблизительно 8, приблизительно 8,5, приблизительно 9, приблизительно 9,5, приблизительно 10, приблизительно 10,5, приблизительно 11, приблизительно 11,5, приблизительно 12, приблизительно 12,5, приблизительно 13, приблизительно 14 или приблизительно 15 мг.

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

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания у индивидума, страдающего от указанного заболевания, который включает введение указанному индивидуму эффективного количества композиции, которая содержит соединение А или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, полиморф, сложный эфир, таутомер или пролекарство.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения у млекопитающего, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, таутомера или пролекарства.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения у человека, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, таутомера или пролекарства.

Заболевания и нарушения, которые модулируются МЕК.

Также в данной заявке описаны способы модуляции МЕК активности путем контактирования МЕК с количеством соединения А, достаточным для модуляции активности МЕК. Модуляцией может являться ингибирование или активация МЕК активности. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности путем контактирования МЕК с количеством соединения А, достаточным для ингибирования активности МЕК. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в растворе путем контактирования указанного раствора с количеством соединения А, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном растворе.

В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в клетке путем контактирования указанной клетки с количеством соединения, как описано в данной заявке, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанной клетке. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в ткани путем контактирования указанной ткани с количеством соединения, как описано в данной заявке, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанной ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в организме путем контактирования указанного организма с количеством соединения, как описано в данной заявке, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном организме. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в животном путем контактирования указанного животного с количеством соединения, как описано в данной заявке, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном животном. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности у млекопитающего путем контактирования указанного млекопитающего с количеством соединения, как описано в данной заявке, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном млекопитающем. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности у человека путем контактирования указанного человека с количеством соединения, как описано в данной заявке, достаточным для ингибирования ак-

тивности МЕК у указанного человека.

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

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения или состояния, которое модулируется МЕК каскадом, у млекопитающего, включая человека, который включает введение указанному млекопитающему количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сложного эфира, пролекарства, сольвата, гидрата или производного, эффективного для модуляции указанного каскада. Подходящая доза для конкретного пациента может быть определена согласно известным способам специалистами в данной области техники.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу ингибирования МЕК фермента. В некоторых вариантах осуществления способ включает контактирование указанного МЕК фермента с количеством композиции, которая содержит соединение А или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, полиморф, сложный эфир, амид, таутомер или пролекарство, достаточным для ингибирования указанного фермента, при котором указанный фермент ингибируется. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 1%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 2%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 3%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 4%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 5%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 10%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 20%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 25%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 30%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 40%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 50%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 60%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 70%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 75%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 80%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент ингибирован по меньшей мере приблизительно на 90%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фермент, по существу, полностью ингибирован. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления МЕК фермент представляет собой МЕК киназу. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления МЕК фермент представляет собой МЕК1. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления МЕК фермент представляет собой МЕК2. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления контактирование происходит в клетке. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления клетка представляет собой клетку млекопитающего. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления клетка млекопитающего представляет собой клетку человека.

В дальнейших или дополнительных аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения нарушения, опосредованного МЕК, у особи, страдающей от указанного нарушения, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества композиции, которая содержит соединение А или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, полиморф, сложный эфир, амид, таутомер или пролекарство. В некоторых вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в форме, подходящей для перорального введения. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция находится в дозированных лекарственных формах, подходящих для однократного введения точных доз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтический носитель, эксципиент и/или адъювант.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от прибли-

зительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

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

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обеих средств.

В некоторых вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой воспалительное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, представляет собой гиперпролиферативное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления нарушение, опосредованное МЕК, выбирают из группы, включающей опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Изобретение также относится к способам модуляции МЕК активности путем контактирования МЕК с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для модуляции активности МЕК. Модуляцией может являться ингибирование или активация МЕК активности. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности путем контактирования МЕК с количеством кристаллической полиморфной формы А

N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в растворе путем контактирования указанного раствора с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном растворе. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в клетке путем контактирования указанной клетки с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанной клетке. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в ткани путем контактирования указанной ткани с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанной ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в организме путем контактирования указанного организма с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном организме. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности в животном путем контактирования указанного животного с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном животном. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности у млекопитающего путем контактирования указанного млекопитающего с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанном млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы ингибирования МЕК активности у человека путем контактирования указанного человека с количеством кристаллической полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, достаточным для ингибирования активности МЕК в указанного человека.

Злокачественное новообразование.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения, предотвращения или профилактики злокачественного новообразования у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества соединения. В некоторых вариантах осуществления соединение или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, полиморф, сложный эфир, амид, таутомер или пролекарство вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. В дальнейших или дополнительных 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, рак желудка или лейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. В дальнейших или дополнительных 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, меланому, рак щитовидной железы или базально-клеточный рак. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак почки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак ободочной и прямой кишки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой миелолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой глиобластому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. В дальнейших или

дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мелкоклеточный рак легких. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

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

В некоторых вариантах осуществления композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Аномальный рост клеток.

Также в данной заявке описаны соединения, фармацевтические композиции и способы ингибирования аномального роста клеток. В некоторых вариантах осуществления аномальный рост клеток происходит у млекопитающего. Способы ингибирования аномального роста клеток включают введение эффективного количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или производного, где ингибирован аномальный рост клеток. Способы ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего включают введение млекопитающему количество соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или производного, где количество соединения или соли эффективно для ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего.

В некоторых вариантах осуществления способы включают введение эффективного количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или производного в комбинации с количеством химиотерапевтического средства, где количество соединения или его соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, тау-

томера, пролекарства, гидрата или производного 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 соединениями по изобретению. В некоторых вариантах осуществления 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.

Также в настоящей заявке описаны способы ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего, которые включают введение млекопитающему количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или производного, в комбинации с лучевой терапией, где количество соединения или его соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или его производного применяют 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 данной заявке. Введение соединения А в этой комбинированной терапии можно определить, как описано в данной заявке.

Изобретение также относится к способу и фармацевтической композиции для ингибирования аномального роста клеток у млекопитающего, которая включает количество соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа, сложного эфира, амида, таутомера, пролекарства, гидрата или производного или их меченного радиоактивным изотопом производного 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 фармацевтической композициям, как описано в данной заявке. Примеры пригодных COX-11 ингибиторов включают CELEBREX™ (алекоксиб), вальдекоксиб и рофекоксиб. Примеры пригодных ингибиторов матриксных металлопротеиназ описан в WO 96/33172 (опубликованной 24 октября 1996 г.), WO 96/27583 (опубликованной 7 марта 1996 г.), европейской патентной заявке № 97304971.1 (поданной 8 июля 1997 г.), европейской патентной заявке № 99308617.2 (поданной 29 октября 1999 г.), WO 98/07697 (опубликованной 26 февраля 1998 г.), WO 98/03516 (опубликованной 29 января 1998 г.), WO 98/34918 (опубликованной 13 августа 1998 г.), WO 98/34915 (опубликованной 13 августа 1998 г.), WO 98/33768 (опубликованной 6 августа 1998 г.), WO 98/30566 (опубликованной 16 июля 1998 г.), европейской патентной публикации 606046 (опубликованной 13 июля 1994 г.), европейской патентной публикации 931788 (опубликованной 28 июля 1999 г.), WO 90/05719 (опубликованной 31 мая 1990 г.), WO 99/52910 (опубликованной 21 октября 1999 г.), WO 99/52889 (опубликованной 21 октября 1999 г.), WO 99/29667 (опубликованной 17 июня 1999 г.), международной заявке PCT № PCT/IB 98/01113 (поданной 21 июля 1998 г.), европейской патентной заявке № 99302232.1 (поданной 25 марта 1999 г.), патентной заявке GB № 9912961.1 (поданной 3 июня 1999 г.), предварительной заявке на патент US № 60/148464 (поданной 12 августа 1999 г.), патенте US 5863949 (выданном 26 июля 1999 г.), патенте US 5861510 (выданном 19 января 1999 г.) и европейской патентной публикации 780386 (опубликованной 25 июня 1997 г.), все эти источники полностью включены в данную заявку 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.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу 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, композиция содержит соединение. В некоторых вариантах осуществления раковые клетки включают клетки головного мозга, молочной железы, легкого, яичника, поджелудочной железы, предстательной железы, почки или ободочной и прямой кишки.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию вводят по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой таксол, ботрезомиб или оба средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления противоопухолевые средства выбирают из группы, включающей алкилирующие средства, антиметаболиты, эпидофиллотоксины, противоопухолевые ферменты, ингибиторы топоизомеразы, прокарбазины, митоксантроны, координационные комплексы плати-

[illegible][illegible]

Также в данной заявке описаны способы ингибирования аномального роста клеток. В некоторых

вариантах осуществления 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.

В некоторых вариантах осуществления 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 формы 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. В некоторых вариантах осуществления 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.

В некоторых вариантах осуществления 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 данной заявке.

Лечение гиперпролиферативного нарушения.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения гиперпролиферативного нарушения у млекопитающего, включая человека, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения, предотвращения или профилактики пролиферативного заболевания у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества соединения А. В некоторых вариантах осуществления соединения А вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления пролиферативное заболевание представляет собой злокачественное новообразование, псориаз, ретенноз, аутоиммунное заболевание или атеросклероз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления пролиферативное заболевание представляет собой гиперпролиферативное заболевание. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления пролиферативное заболевание выбирают из группы, включающей опухоли, лейкозы, новообразования, злокачественные новообразования, карциномы и злокачественное заболевание. В дальнейших или дополнительных 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 желудка, рак ободочной и прямой кишки или лейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления фиброгенетическое нарушение представляет собой склеродермию, полимиозит, системную волчанку, ревматоидный артрит, цирроз печени, келоидные образования, интерстициальный нефрит или фиброз легких. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак головного мозга или рак коры надпочечников. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак яичника. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак предстательной железы. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак почки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представ-

ляет собой рак ободочной и прямой кишки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой миелолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой глиобластому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой фолликулярную лимфому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой острый лейкоз предшественников В-клеток. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой В-клеточный хронический лимфолейкоз. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мелко-клеточный рак легких. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак желудка.

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомеба или обоих средств.

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

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, страдающий от пролиферативного заболевания, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Размер опухоли.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу уменьшения размера опухоли, ингибирование увеличения размера опухоли, уменьшения пролиферации опухоли или предотвращения пролиферации опухоли у индивидуума, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества соединения А. В некоторых вариантах осуществления соединение А вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления размер опухоли уменьшается. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 1%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей

мере на 2%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 3%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 4%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 5%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 10%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 20%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 25%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 30%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 40%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 50%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 60%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 70%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 75%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 80%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 85%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 90%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления размер опухоли уменьшается по меньшей мере на 95%. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления опухоль ликвидируется. В некоторых вариантах осуществления размер опухоли не увеличивается.

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

В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединение А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию, химиотерапию, хирургию или любую их комбинацию. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединение А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из группы, включающей цитотоксические средства, вещества против ангиогенеза и противоопухолевые средства. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления 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. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления терапевтическое средство выбирают из таксола, ботрезомиба или обоих средств.

В некоторых вариантах осуществления композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения

А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединение А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидум, страдающий от злокачественного новообразования, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидум представляет собой человека. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Воспалительное заболевание.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения, предотвращения или профилактики воспалительного заболевания у индивидума, который включает введение указанному индивидуму эффективного количества соединения А. В некоторых вариантах осуществления соединения А вводят в виде компонента композиции, которая дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления воспалительное заболевание выбирают из группы, включающей хронические воспалительные заболевания, ревматоидный артрит, ревматоидный артрит, спондилоартропатию, анкилозирующий спондилит, подагру, тендинит, бурсит, ишиалгию, подагрический артрит, остеоартрит, болезнь Стилла, острый ревматоидный артрит, энтеропатический артрит, невропатический артрит, псориазный 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. В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую соединения А, вводят в комбинации с дополнительной терапией. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления композицию, которая содержит соединения А, вводят в комбинации по меньшей мере с одним терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят перорально, интрадуоденально, парентерально (включая внутривенное, подкожное, внутримышечное, внутрисосудистое или путем инфузии), местно или ректально. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/кг веса тела/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А находится в интервале от приблизительно 0,5 до приблизительно 50 мг/кг/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 7 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,02 до приблизительно 5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,05 до приблизительно 2,5 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления количество соединения А составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 г/сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования ниже нижнего предела вышеуказанного интервала могут быть более чем достаточными. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления уровни дозирования выше верхнего предела вышеуказанного интервала могут быть необходимыми.

В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят в однократной дозе один раз в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят в многократных дозах больше одного раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят два раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят три раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят четыре раза в сутки. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления соединения А вводят больше четырех раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления индивидум, страдающий от воспалительного заболевания, представляет собой млекопитающее. В дальнейших или дополнительных вариантах осуществления индивидум представляет собой человека. В

дальнейших или дополнительных вариантах осуществления вводят эффективное количество композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения А.

Способы ведения.

В настоящей заявке описаны соединения А. Также описаны фармацевтические композиции, которые содержат соединение А. Соединения и композиции, описанные в данной заявке, могут вводить либо отдельно, либо в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или разбавителями в фармацевтической композиции, согласно стандартной фармацевтической практике.

Также в данной заявке 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 данной заявке, 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 соединения 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 внутриартериальную, внутрисердечную, внутрикожную, интрадуоденальную, интрамедуллярную, внутримышечную, внутрикостную, внутрибрюшинную, внутриболоочечную, внутрисосудистую, внутривенную, в стекловидное тело, эпидуральную и подкожную), ингаляционного, трансдермального, трансмукозального, подъязычного, трансбуккального и местного (включая накожное, 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 данной заявке, 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 данной заявке, 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 данной заявке, 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 известны 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 ("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 болуса, электуария или пасты.

Лекарственные средства, которые пригодны для перорального введения, включают таблетки, плот-

но 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 свободно-текучей 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. Плотные 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 депо-препарата. 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 ионообменными смолами, или в виде умеренно растворимых производных, например в виде умеренно растворимой соли.

Для трансбuccального или подъязычного введения композиции могут приготавливаться в виде таблеток, лепешки, пастилки или гелевых препаратов, приготовленных 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 суппозитории, 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 к пероральному, внутривенному, внутривенному, внутривенному 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 вдывания 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 данной заявке, 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 данной заявке, могут использоваться в любом из составов, обсуждаемых в этом разделе, которые не являются ограничивающими и не должны таким образом истолковываться.

Соединение А или композиции, описанные в данной заявке, 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., сс. 353-365, 1989). Соединения и фармацевтические композиции, описанные в данной заявке, 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 системе с контролируемым высвобождением можно помещать вблизи терапевтической цели (See, Goodson, Medical Applications of Controlled Release, 1984, т. 2, сс. 115-138). Фармацевтические композиции, описанные в данной заявке, 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, предназначенные для перорального применения, 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, силикагелированная 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 гидроксипропилме-

тилцеллюлоза 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 постадийно, 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, поливинил-пирролидон, 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-оксикетанол, 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 *n*-пропил *p*-гидроксibenзоат, 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, 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 α -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 сорбитмоноолеат. 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 инъ-

екций. 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 Deltec 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 растворителе 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 олеиновая кислота.

Фармацевтические композиции также могут вводиться в форме суппозитория 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 настоящей заявке, 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 трансдермальным 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 включают 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 вскармливаемого, 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

ние дня, если это является желательным. Количество и частота введения соединений, описанных в данной заявке, 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 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 от 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 заполнители, воду и различные органические растворители. Фармацевтические композиции могут содержать, если это является 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 со 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 применять 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).

Комбинированные терапии.

Соединение А может вводиться в виде единственной терапии или также может вводиться в комбинации с другой терапией или терапиями.

Также в данной заявке описан N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид (форма А), который 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 одного из соединений, описанных в данной заявке, является гипертония, то в таком случае подходящим может являться введение антигипертензивного средства в комбинации с соединением. Или

только в качестве примера терапевтическая эффективность одного из соединений, описанных в данной заявке, может быть усилена путем введения адъюванта (т.е. сам по себе адъювант 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 одного из соединений, описанных в данной заявке, с другим терапевтическим средством (что также включает схему лечения), которое также обладает терапевтическим преимуществом. Только в качестве примера при лечении диабетиков, включающем введение одного из соединений, описанных в данной заявке, 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 соединения, описанные в данной заявке, вводятся с другими терапевтическими средствами, соединения, описанные в данной заявке, 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 цис-платин, 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 осуществляться путем одновременного, последовательного или отдельного дозирования отдельных компонентов лечения.

Соединение А и композиции, описанные в данной заявке (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, антибластные антиметаболиты, соединения, содержащие платину, нацеливающие средства на липид- или протеинкиназы, IMiD, нацеливающие средства на протеин- или липидфосфатазы, 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 антиапоптозного метаболического пути, агонисты апоптозного метаболического пути, PPAR агонисты, RAR агонисты, ингибиторы изоформ Ras, ингибиторы теломеразы, ингибиторы протеазы, ингибиторы металлопротеиназы, ингибиторы аминопептидазы, 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, доксорубин, даунорубин, эпирубицин, идарубин, деторубин, карминомин, идарубин, эпирубицин, элрубицин, митоксантрон, блеомицины A, A₂ и B, камптотecin, иринотекан.RTM., топотекан.RTM., 9-аминокамптотecin, 10,11-метилendioксикамптотecin, 9-нитрокамптотecin, ботрезомиб, темозоломид, TAS103, NP10052, комбретастатин, комбретастатин A-2, комбретастатин A-4, калихеамицины, неокарциностатины, эпотилоны A, B, C, полусинтетические варианты, герцептин.RTM., ритуксан.RTM., антитела, аспарагиназа, интерлейкины, интерфероны, лейпролид и пегаспаргаза, 5-фторурацил, фтордезоксифуридин, пторафур, 5'-дезоксифторуридин, UFT, MITC, S-1 капецитабин, диэтилстильбестрол, тамоксифен, торемифен, толмудекс, тимитак, флутамид, флуоксиместерон, бикалутамид, финастерид, эстрадиол, триоксифен, дексаметазон, лейпрорелин ацетат, эстрамустин, дролоксифен, медроксипрогестерон, мегестерон ацетат, аминоглутетимид, тестолактон, тестостерон, диэтилстильбестрол, гидроксипрогестерон, митомицины A, B и C, порфирамицин, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, тетраплатин, платина-DACH, ормаплатин, талидомид, леналидомид, CI-973, теломестатин, CHIR258, Rad 001, SAHA, тубацин, 17-AAG, сорафениб, JM-216, подофиллотоксин, эпиподофиллотоксин, этопозид, тенипозиде, тарцева.RTM., иресса.RTM., иматиниб.RTM., милтефодин.RTM., перифозин.RTM., аминоптерин, метотрексат, метоптерин, дихлор-метотрексат, 6-меркаптопурин, 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 и фармацевтически приемлемые соли соединений 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, этдолак, диклофенак, меклофенамат натрия, напроксен, пироксикам, целекоксиб, циклобензаприн, баклофен, циклобенза-

прин/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, доксефин, 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 ибупрофену (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 пириимидина, ингибиторы лимфокина, ингибиторы цитокина, IKK ингибиторы, P38MAPK ингибиторы, ARRY-797, HSP90 ингибиторы, ингибиторы мульткиназы, бисфосфонаты, 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, Ridaura - Auranofin, фебукостат, пуриказа, препараты PEG-уриказы, бензбромарон, β -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. β -2 агонисты короткого действия, ипратропий (Atrovent), иммунотерапия-(аллергенспецифическая 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 (Cytosan), 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 лимфотоксина, стимулятор В-лимфоцитов, MCP-1 ингибиторы, MIF ингибиторы, ингибиторы для CD2, CD3, CD4, CD25, CD40 и CD40 лиганда CD152 (CTLA4), макридные иммунодепрессанты, селективные ингибиторы метаболизма нуклеотидов, ингибиторы хемотаксиса, ингибиторы CXCR рецептора и CXCR 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 и фармацевтически приемлемые соли соединений согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей β -блокаторы, ингибиторы карбонангидразы, α - и β -адренергические антагонисты, включая α -адренергические антагонисты, α 2 агонисты, миотические средства, аналоги простагландин, кортикостероиды и иммунодепрессивные средства.

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

Для лечения аутоиммунных нарушений соединения, фармацевтически приемлемые соли соединений согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей кортикостероиды, иммунодепрессивные средства, аналоги простагландин и антиметаболиты.

Для лечения аутоиммунных нарушений соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей дексаметазон, преднизон, метилпреднизолон, азатиоприн, циклоспорин, иммуноглобулины, латанопрол, травопрол, биматопрол, 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, противосудоро-

рожные 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, метилпреднизолон, 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, 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, Ridaura - Auranofin, фебукостат, пуриказа, препараты PEG-уриказы, бензбромарон, β -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 β -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 IL7, 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 CD152 (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 и фармацевтически приемлемые соли соединений согласно настоящему изобретению могут вводиться со средством, выбранным из группы, включающей инсулин, производные и миметики инсулина, стимуляторы секреции инсулина, сенситизаторы инсулина, бигуанидные средства, ингибиторы α -глюкозидазы, инсулинотропные лиганды рецептора сульфонилмочевины, ингибиторы протеинтирозин-фосфатазы-1В (PTP-1B), ингибиторы GSK3 (киназы-3 гликогенсинтазы), GLP-1 (глюкагонподобного пептида-1), GLP-1 аналоги, ингибиторы DPPIV (дипептидилпептидазы IV), ингибиторы RXR лигандов натрийзависимого котранспортера глюкозы, ингибиторы гликогенфосфорилазы А, AGE разрушитель, модуляторы PPAR, модуляторы LXR и FXR, агонист неглитазонового типа PPARS, селективные антагонисты глюкокортикоидов, метформин, глипизид, глибурид, амарил, меглитиниды, натеглинид, 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, вилдаглиптин, МК-0431, саксаглиптин, GSK23A, пиоглитазон, росиглитазон, (R)-1-{4-[5-метил-2-(4-трифторметилфенил)оксазол-4-илметоксид]бензолсульфонил}2,3-дигидро-1Н-индол-2-карбоновая кислота, описанная в патентной заявке WO 03/043985 в качестве соединения 19 в примере 4 и GI-262570.

Заболевания.

В настоящей заявке описаны способы лечения заболевания, опосредуемого МЕК, у индивидуума, страдающего от указанного заболевания, который включает введение указанному индивидууму эффективного количества соединения А.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к профилактике или лечению любого заболевания или нарушения, в котором принимает участие МЕК 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 МЕК ингибитора для лечения такого заболевания или нарушения.

Заболевания или нарушения, в которых принимает участие МЕК 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, реперфузию/ишемию при ударе, гиперплазию сосудов, гипоксию органа, гипертрофию миокарда, индуцированную тромбином агрегацию 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, пролиферацию, индуцированную 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 указанную 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 данной заявке, 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, внутривенных желчных протоков, желчного пузыря, поджелудочной железы или других желчных или пищеварительных органов; рак гор-тани, 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 данной заявке, являются аденокарцинома, злокачественная гемангиома, астроцитомы, невринома слухового нерва, анапластическая астроцитомы, базально-клеточный рак, бластогиома, хондросаркома, хориокарцинома, хордома, краниофарингиома, кожная меланома, цистаденокарцинома, эндотелиосаркома, эмбриональный рак, эпендимома, саркома Юинга, эпителиальная карцинома, фибросаркома, рак желудка, рак мочеполового тракта, мультиформная глиома, гемангиобластома, печечно-клеточный рак, гепатомы, саркома Капоши, крупноклеточный рак, лейомиосаркома, липосаркома, лимфангиосаркома, лимфангиоэндотелиальная саркома, медуллярный рак щитовидной железы, медуллобластома, менингиома мезотелиома, миеломы, миксосаркома нейробластома, неврифибросаркома, олигодендроглиома, остеогенная саркома, эпителиальный рак яичника, папиллярный рак, папиллярная аденокарцинома, опухоли парашитовидной железы, феохромоцитомы, пинеалома, плазмацитома, ретинобластома, рабдомиосаркома, рак слюнной железы, семинома, злокачественные новообразования кожи, меланома, мелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак, рак потовой железы, синовиома, рак щитовидной железы, увеальная меланома и опухоль Вильмса.

Также в настоящей заявке описаны способы лечения гиперпролиферативного нарушения у млекопитающего, которые включают введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения А 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, антиметаболиты, 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 данной заявке, 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 истинную полицитемию, миелофиброз и идиопатическую тромбоцитемию.

Соединение А, композиции и способы, описанные в данной заявке, могут быть полезными в качестве противовоспалительных средств с дополнительным преимуществом, заключающимся в существенно меньших побочных действиях. Соединения, композиции и способы, описанные в данной заявке 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 данной заявке, также пригодны для лечения остеопороза и других родственных поражений костей. Такие соединения, композиции и способы, описанные в данной заявке, 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 данной заявке, также могут быть полезными для лечения воспаления легких, таких как связанные с вирусными инфекциями и кистозным фиброзом. Дополнительно соединения, композиции и способы, описанные в данной заявке, также пригодны для лечения пациентов с трансплантированными органами либо отдельно, либо в комбинации с общепринятыми иммуномодуляторами. Дополнительно соединения, композиции и способы, описанные в данной заявке, полезны для лечения зуда и витилиго. В частности, соединения, композиции и способы, как описано в данной заявке, 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 данной заявке, также связаны с продукцией простагландин-эндопероксидазы-синтазы-2 (COX-2). Провоспалительные медиаторы циклооксигеназного метаболического пути, производные арахидоновой кислоты, такие как простагландины, проду-

цируются с помощью индуцибельного COX-2 фермента. Регуляция COX-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 сенсибилизация болевых рецепторов и отек. Следовательно, дополнительные состояния, опосредованные МЕК киназой, которые можно предотвращать или лечить, включают отек, аналгезию, лихорадку и боль, такую как нервно-мышечная боль, головная боль, зубная боль, боль при артритах и боль, вызванная злокачественным новообразованием.

Дополнительно заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данной заявке, 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), дегенерацию желтого пятна, закрытоугольную и открытоугольную глаукому, дегенерацию ганглий сетчатки, ишемию глаз, ретинит, ретинопатии, увеит, глазную фотофобию и воспаления и боль, связанную с острым повреждением глазной ткани. Соединения, композиции и способы, описанные в данной заявке, полезны для лечения глаукомной ретинопатии и/или диабетической ретинопатии. Соединения, композиции и способы, описанные в данной заявке, 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 данной заявке, 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 данной заявке, полезны для лечения специфических аутоиммунных заболеваний - ревматоидного артрита и рассеянного склероза.

Дополнительно заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данной заявке, 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 злокачественные новообразования 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 данной заявке, могут быть пригодными для лечения резистентности к инсулину и других метаболических нарушений, таких как атеросклероз, которые обычно связаны с патологически увеличенной передачей воспалительных сигналов.

Соединение А, композиции и способы, описанные в данной заявке, 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 данной заявке, также могут быть полезными для лечения аллергического ринита, респираторного дистресс-синдрома, синдрома эндотоксинового шока и атеросклероза.

Дополнительно заболеванием, которое можно лечить с помощью соединений, композиций и способов, описанных в данной заявке, 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 пролиферацию, индуцированную 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 спосо-

бов, описанных в данной заявке, может быть неврологическое нарушение. В определенных вариантах осуществления указанное неврологическое нарушение выбирают из группы, включающей болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, деменцию 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 данной заявке, 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), ретенноз, или предстательной железы (например, доброкачественная гипертрофия предстательной железы (BPH)).

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

Пациенты, которых можно лечить с помощью соединения А, описанного в данной заявке, в соответствии со способами в соответствии с настоящим изобретением включают, например, пациентов, у которых диагностирован псориаз; ретенноз; атеросклероз; BPH; 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 аденокарциному; 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 протока поджелудочной железы и аденокарцинома в протоке поджелудочной железы; рак мочевого пузыря, такой как переходо-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 миелолифферативные 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, медуллярный 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; 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 злокачественная опухоль оболочки периферических нервов (MPNST), включая нейрофибромы и невриномы, злокачественную фиброзную цитому, злокачественную фиброзную гистогистицитому, злокачественную менингиому, злокачественную мезотелиому и злокаче-

ственную 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.

Соединение А, композиции и способы, описанные в данной заявке, обеспечивают наборы для лечения нарушений, таких как описанные в данной заявке. Эти наборы включают соединение, соединения или композиции, описанные в данной заявке, в контейнере и, необязательно, инструкции по применению набора согласно различным способам и подходам, как описано в данной заявке. 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, задействуя модели *in vivo*, и исследования, основанные на клинических опытах на людях. Наборы, как описано в данной заявке, 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.

Соединение А, описанные в данной заявке, могут использоваться в качестве диагностических средств и в качестве экспериментальных реагентов. Например, соединения, описанные в данной заявке, 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, локализации в клетке, уровню экспрессии, размеру, структуре или функции 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. Предполагается, 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 ч. 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. арилийодида, 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 CH_2Cl_2 (10 мл) и воды (10 мл). Органический слой последовательно промывали разв. HCl (2×20 мл, 2н.) и насыщенным раствором NaHCO_3 (2×10 мл). После этого CH_2Cl_2 слой высушивали (MgSO_4) и упаривали, получая неочищенный продукт. Загрязненный продукт очищали в условия препаративной ВЭЖХ, получая чистые продукты с выходом 50-60%.

Биологическая активность в условиях *in vitro*.

Пример 1. Получение данных IC_{50} .

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 миеленовый белок (MBP) получали от Gibco BRL (Rockville, MD). EasyTides аденозин 5'-трифосфат (ATP) ($[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]$) (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 (ДМСО) в 1×HMEDE (20 mM HEPES pH 7,2, 1 mM MgCl_2 , 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 мКи $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]$ 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^{CA} 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 меченых 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 высушиваться 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 MEK, для которой необходима активация Raf киназой.

Пример 2. 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°C 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} .

Обозначение: A, $\text{EC}_{50} < 2,0$ нМ; B, $\text{EC}_{50} = 2,0\text{-}15$ нМ; C, $\text{EC}_{50} = 15$ нМ-100 нМ; D, $\text{EC}_{50} > 100$ нМ, $\text{IC}_{50} < 20$ мкМ; F, $\text{EC}_{50} > 100$ нМ, $\text{IC}_{50} > 20$ мкМ.

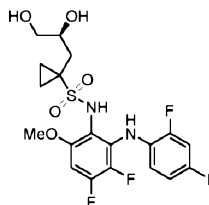
№ соединения	Структура	Актив-ность, мкМ
1021 (S изомер) Соединение А		А

Биологическая активность в условиях *in vivo*.

Пример 3.

Соединения и композиции, описанные в данной заявке, 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 (RA). Соединения и композиции, описанные в данной заявке, также пригодны для перорального 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 RA.

Тестирования соединения структуры, представленной ниже (соединение А, приготовленное, как описано в данной заявке), в условиях *in vivo* описано в этом примере



Опухоли человека имплантировали пи/пи 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 (TTE) 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 TTE 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 оболочной 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, зависимом 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 4А. Ингибирование роста раковых клеток (GI₅₀).

Ингибирование зависимого 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 (GI₅₀) 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 4В. Противоопухолевая активность на ксенотрансплантатах.

Самкам мышей nu/nu имплантировали клетки 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 4С. 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

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

(объем опухоли, обработанной наполнителем_{конечный} – объем

опухоли_{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 4D. ED₅₀ 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 соединения А и экстраполирования значения для групп с более низкой дозой, 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 4Е. Ингибирование роста опухоли с A375 ксенотрансплантатами.

Мышам с A375 ксенотрансплантатами вводили соединение А 50 мг/кг QD, 25 мг/кг BID, 50 мг/кг QD и 12,5 мг/кг BID. % TGI рассчитывали и представляли графически и изображали на фиг. 2.

Пример 4F. Концентрации в плазме у мышей.

Самкам мышей nu/nu имплантировали A375 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 4G.

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

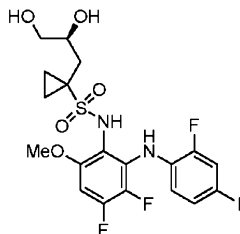
Самкам мышей nu/nu, которые имплантировали Colo205 опухолевые клетки, вводили однократную дозу наполнителя или соединения А при 2,5, 5, 10 или 25 мг/кг. В образцах плазмы определяли концентрации соединений и в образцах опухоли и головного мозга определяли уровни pERK, собранные через 2, 6, 12 и 24 ч 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.

Приготовления капсул.

Пример 5A.

Готовили синие твердые желатиновые капсулы размера 1, которые содержат сухую порошкообразную измельченную композицию в дозах 1 мг и 10 мг соединения А (см. табл., представленную в примере 3 выше) структуры



Соединение А готовили, как описано в данной заявке, 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) и 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 ^a	240,0	100,0	240,0	100,0
Синие твердые желатиновые капсулы размера 1 с оболочкой	1		1	

^aЦелевую 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 ^a	2400
Синие твердые желатиновые капсулы размера 1 с оболочкой	10 тыс.

^aЦелевую 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 ^a	2400
Синие твердые желатиновые капсулы размера 1 с оболочкой ^b	10 тыс.

^aЦелевую массу наполнения доводили на основе действительной активности смеси.

Активность у людей в условиях *in vivo*.

Пример 6. Введение капсул, описанных в примере 5А, людям со злокачественными образованиями.

Пациентам со злокачественными новообразованиями вводили однократно в капсулах в дозе 1 мг или 10 мг композиции, описанной выше в примере 5А. 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× капсула 10 мг; для дозы 20 мг пациентам давали 2×10 мг капсулы.

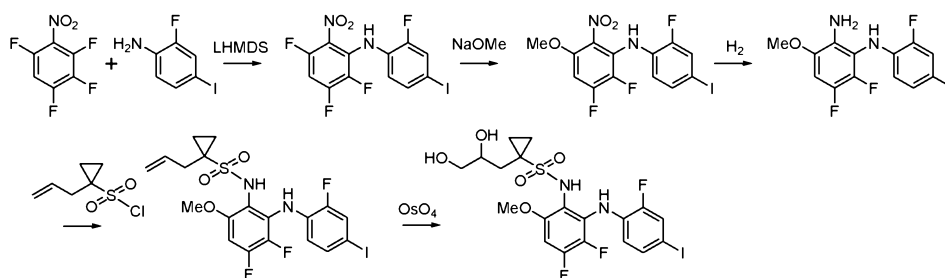
Наблюдали за профилями концентрации в зависимости от времени, результаты представлены на фиг. 4 и в таблице ниже

Доза (мг)	День	T _{max} (ч)	C _{max} (нг/мл)	C _{12hr} (нг/мл)	AUC _{0-12hr} (нг·ч/мл)	AUC _τ (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 7. 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 ($\text{LiN}(\text{SiMe}_3)_2$) "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 другого часа. Добавляли 2,3,4,6-тетрафторнитробензол и 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%). $m/z = 424 [\text{M}+\text{H}]^+$.

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 (MgSO_4) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем колоночной флэш-хроматографии на диоксиде кремния, получая указанный в заглавии продукт.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 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).

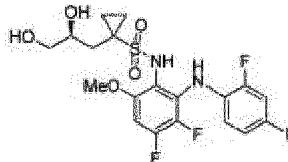
Стадия E. N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид.

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 H_2O) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Этилацетат добавляли и органическую фазу промывали водой, высушивали (MgSO_4) 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 (CDCl_3 , 300 МГц): δ 7,38 (dd, $J = 1,7$ & $10,3$ Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, $J = 6,8$ & $11,4$ Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, $J = 3,7$ & $11,1$ Гц, 1H), 3,49 (dd, $J = 6,4$ & $11,1$ Гц, 1H), 2,3 (dd, $J = 9,7$ & $16,1$ Гц, 1H), 1,77 (dd, $J = 1,9$ & $16,0$ Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H); $m/z = 571 [\text{M}-1]^+$.

Пример 8. Получение N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-

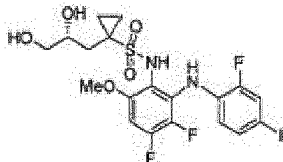
дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида



Чистый S-изомер получали путем хирального ВЭЖХ разделения рацемической смеси.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц): δ 7,38 (dd, $J = 1,7$ & $10,3$ Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, $J = 6,8$ & $11,4$ Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, $J = 3,7$ & $11,1$ Гц, 1H), 3,49 (dd, $J = 6,4$ & $11,1$ Гц, 1H), 2,3 (dd, $J = 9,7$ & $16,1$ Гц, 1H), 1,77 (dd, $J = 1,9$ & $16,0$ Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H); $m/z = 571$ $[\text{M}-1]^+$.

Пример 9. 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 (CDCl_3 , 300 МГц): δ 7,38 (dd, $J = 1,7$ & $10,3$ Гц, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,53 (dd, $J = 6,8$ & $11,4$ Гц, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,63 (dd, $J = 3,7$ & $11,1$ Гц, 1H), 3,49 (dd, $J = 6,4$ & $11,1$ Гц, 1H), 2,3 (dd, $J = 9,7$ & $16,1$ Гц, 1H), 1,77 (dd, $J = 1,9$ & $16,0$ Гц, 1H), 1,37 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,21 (m, 2H), 0,86 (m, 2H); $m/z = 571$ $[\text{M}-1]^+$.

Пример 10. 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 высохнуть на воздухе в вакууме. Кристаллы дополнительно высушивали при $40^\circ\text{C}/<1$ 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 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 гептаном и позволяли высохнуть на воздухе в вакууме. Кристаллы дополнительно высушивали при $40^\circ\text{C}/<1$ 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 пластиной.

кой. 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 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 с фильтрационным материалом Ватманн № 1. Собранные кристаллы промывали и позволяли высохнуть 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 11. 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 пластиной. 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 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 гептанами (1 л) и позволяли высохнуть на воздухе в вакууме. Кристаллы дополнительно высушивали при 40°C/<1 торр в течение 20 ч.

Пример 12. 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]. Основным миеллиновым белком (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 (ДМСО) 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. 10 мкл 2,5× 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 2,5× 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 меченых 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 MEK, для которой необходима активация Raf киназой.

Пример 13. Получение данных EC₅₀.

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°C в увлажненном CO₂ 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 EC₅₀.

Пример 14. Данные активности соединений.

Соединения, описанные выше, тестировали в исследованиях, описанных выше. Результаты обобщены в таблице ниже (A, EC₅₀ < 2,0 нМ; B, EC₅₀ = 2,0-15 нМ)

№ соединения	Структура	Активность
Пр. 97 (Рацемическое)		A
Eg. 98 (S изомер)		A
Eg. 99 (R изомер)		B

Пример 15. 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 CuKα облучение при разрешении 0,03° 2θ. Напряжение и силу тока на трубке устанавливали равными 40 кВ и 30 мА соответственно. Картины просматривали в интервале от 2,5 до 40° 2θ 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 данной заявке) 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 16. 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 неогфрированной 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 (Вт/г) относительно измеренной температуры образца в °C.

Пример 17. 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 несущественное изменение веса при осуществлении эксперимента.

Пример 18. Термогравиметрия (TG).

Анализы осуществляли на термогравиметрическом анализаторе TA Instrument 2950. Стандартами для калибровки были никель и Alumel™. Каждый образец помещали на алюминиевую ювету 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 несущественную потерю веса вплоть до 140°C, указывая на то, что полиморф, форма А является несольватированной.

Пример 19. Скрининг злокачественного новообразования в условиях *in vitro*.

Линии опухолевых клеток человека выращивали в RPMI 1640 среде, содержащей 5% фетальную бычью сыворотку и 2 mM L-глутамин. Клетки инокулировали в микротитровальные планшеты на 96 лунок в 100 мкл при плотности посева в интервале от 5 тыс. 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 (Tz). N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид солубилизировали 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 желательно 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 и планшеты промывали пять раз водопроводной водой и высушивали на воздухе. В каждую лунку добавляли сульфорохамин 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 mM 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

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

$$(\text{концентрации, для которых } Ti \geq Tz) \quad (C - Tz)$$

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

$$(\text{концентрации, для которых } Ti < Tz) \quad Tz$$

Рассчитывали три параметра дозозависимого эффекта. Ингибирование роста на 50% (GI_{50}) рассчитывали из $[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100 = 50$, 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 $Ti = Tz$. 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 $[(Ti-Tz)/Tz] \times 100 = -50$. 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	GI_{50} (мкМ)	LC_{50} (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-435	0,035	41,687	12,303
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 20. 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 (GI₅₀) по отношению к нескольким линиям опухолевых клеток, несущих различные мутации; (2) активность (GI₅₀) 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 раполнитель 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 и окрашивали в 0,1% Тритон X-100, 200 мкг/мл РНКазы без ДНКазы и 25 мкг/мл пропиций 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 зависящего 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 лунки 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 B-Raf мутантные клетки A375 (меланома человека), A431 (меланома), Colo205 (рак ободочной кишки), HT29 (аденокарцинома ободочной и прямой кишки), MDA-MB231 (аденокарцинома молочной железы) и BxPC3 (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 часов 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 B-Raf мутантных клеточных линиях (A375, Colo205 и HT29), а также в одном пути передачи сигналов gas/gaf/MEK/MAPK 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		
BxPC3	>1 мкМ		

В отдельном исследовании делящиеся в фазе логарифмического роста B-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 EC₅₀ значение для MEK 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 A375 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 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 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 свидетельствуют 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 заякоривания роста.

Количественно анализировали независимый от заякоривания 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. GI₅₀ значения представлены ниже.

Клеточная линия	Среднее значение	Коэф. 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 (GI₅₀ = 11 нМ); (В) А375 клеток (GI₅₀ = 22 нМ) и (С) ингибирование MDA-MB231 клеток, которые не проявляют индифферентной 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 заякоривания.

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 (1мкМ) 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 о 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 B-Raf мутантных клетках меланомы человека А375.

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

Ингибирование независимого от заякоривания роста.

Независимый от заякоривания рост количественно оценивали в формате микропланшета на 96 лунок. На фиг. 13А показано ингибирование роста клеток колоректальной карциномы человека Colo205, со значениями GI₅₀ для концентраций 6 и 11 нМ соответственно. На фиг. 13В показано ингибирование роста А375 клеток со значениями GI₅₀ 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-сульфонамидом и контроле (только наполнитель).

		Фаза %		
		G1	S	G2
Контроль		61,8	27,1	11,1
N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид	111 нМ	84,7	11,8	3,5
	37 нМ	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 A375 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 дня 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 АТР 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 свежесейанных первичных гепатоцитах человека. Для RPTEC наблюдали дозозависимое истощение АТР и очевидный лизис клеток при 30 мкМ.

Соединение А	АТР (% 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 GI_{50} значениями в интервале 70-89 нМ в исследованиях зависимой от заякоривания 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 GI_{50} значениями 51 и 22 нМ в исследованиях зависимой и независимо от заякоривания 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 заякоривания роста в A375 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 к первичным нормальным гепатоцитам человека эпителиальным клеткам проксимальных канальцев почки человека и гепатоцитам почки.

Пример 21. 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 новообразованиями после введения многократных доз.

Доза (мг)	N	T_{max} (ч)	C_{max} (мкг/мл)	C_{24hr} (мкг/мл)	AUC_{τ} (мкг·ч/мл)	$t_{1/2}^*$ (ч)	$R_{ac} C_{max}$	$R_{ac} AUC_{\tau}$
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	0,105	0,0313	1,39	14,9	1,49	1,91
		(33,3)	(41,0)	(41,1)	(42,7)	(0,992)	(21,6)	(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 22. 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 23. 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 ATP, используя CellTiterGlo (Promega, Madison, WI) и анализировали значения люминесценции, используя LJI Biosystems Analyst HT (Sunnyvale, CA). Уровни ATP 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 24. 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 АТР, используя CellTiterGlo (Promega, Madison, WI) и анализировали значения люминесценции, используя LJI Biosystems Analyst HT (Sunnyvale, CA). Уровни АТР для каждой дозы определяли в трех повторениях, 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 дней 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 25. 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 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 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 относительной 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 ME/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 1×10⁸ 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 (1×10⁶ 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. КремофорEL 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 рака печени человека Hep3В2,1-7 получали из американской коллек-

ции 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 являются более стабильными при инокуляции в присутствии их внеклеточного матрикса.

Приготовление и введение соединения. КремофорEL. 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:

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 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	-	-
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, КремофорEL.Солевой раствор (1:9, об./об.) вводили и.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 КремофорEL: 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 дозирующем 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 объем 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

<i>Измеряемые данные</i>	<i>Схема</i>
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.
<i>Отбор образцов</i>	
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, U.S.A.) 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 мышь 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 дней 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-фторурацил (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 фиг. 17 (вес опухолей печени - только мыши, несущие опухоль).

Пример 26. 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 относительной 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. КремофорEL 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. КремофорEL: 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 ниже:

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, кремофорEL:солевой раствор (1:9, об./об.), вводили и.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 кремофорEL: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 дозирующем 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 дозирующем 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

<i>Измеряемые данные</i>	<i>Схема</i>
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 опухоль	Из всех мышей в группе 6 (контроль 'скорости поглощения') посмертно, в день 7 исследования.
Слепая кишка и опухоль	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, U.S.A.) 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 Sig-

maStat 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 меньше предполагаемого. Это может быть обусловлено отсутствием достоверного отличия среднего веса слепой кишки и веса опухоли 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 (КремофорEL: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				
2	Соединение А @ 2 мг/кг	172014	0,506	0,176	0,296	0,033	0,033	0,030
		175867	0,347	0,001				
		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				
		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				
5	5FUT TM в дозе 75 мг/кг	174501	0,463	0,026	0,391	0,050	0,069	0,041
		171322	0,355	0,245				
		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 НТ-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 27. 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 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 ч. на млн Cl) 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% кремофорEL в 5% декстрозе в воде (D5W). Паклитаксел дозировали при 30 мг/кг.

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

Мыши в группе 1 получали наполнитель, состоящий из 10% кремофор EL в солевом растворе путем принудительного перорального питания (п.о.) ежедневно в виде сорока доз (qd × 14), и они являлись контрольными для анализа прогрессирования опухоли. Животным в группе 2 вводили внутривенного (в.в.) 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; и 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 умерщвляли после достижения опухоли размера конечной точки 2000 мм³ или в конечный день исследования (день 60) в зависимости от того, какое из этих событий наступило первым.

Время до контрольной точки (ТТЕ) для каждой мыши рассчитывали согласно следующему уравнению:

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

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 трех последовательных наблюдений, 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). Животным, классифицированным 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 времени до контрольной точки (ТТЕ) в леченной группе по сравнению с контрольной группой $\text{TGD} = T - C$, выраженное в днях, или в виде процента среднего значения ТТЕ контрольной группы

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

где T = среднее значение ТТЕ для леченной группы, C = 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. Двусторонние 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 TTE	T-C	%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 А375 опухолей у контрольных мышей (группа 1). Животные в группе 1 получали 10% кремофор EL/солевой раствор наполнитель, п.о., qd×14. Опухоли у контрольных мышей росли прогрессивно до 2000 мм объема контрольной точки со средним TTE 22,8 дней, устанавливая максимально возможное T-C в исследовании 37,1 дня или 163% TGD.

Эффект лечения паклитакселом (группа 2). Животным в группе 2 вводили паклитаксел в качестве сравнительного средства, 30 мг/кг, в.в., qod×5. Все девять животных достигали объема опухоли в конечной точке. Опухоли росли параллельно и были незначительно сдвинуты вправо по сравнению с контрольной группой. Среднее TTE 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, связанных с лечением паклитакселом.

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-сульфонамида, но согласно менее интенсивной схеме qd×14. Все девять животных в группе 5 достигали объема 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 А375 при пероральном введении доз как один раз в сутки, так и два раза в сутки. Дозирование дважды в сутки обладает 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 28. Активность по отношению к подкожным ксенотрансплантатам Colo 205 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 ч. на млн Cl) 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 Colo 205 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 и 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, 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 мм 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 Colo 205 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 доз 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.

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

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. qod×5). 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 того, какое из этих событий наступило 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 (ТТЕ) для каждой мыши рассчитывали согласно следующему уравнению:

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

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 достигали 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). Животным, классифицированным 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) День 74	Количество					Среднее BW
						PR	CR	TFS	TR	NTR	
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 Colo 205 опухолей у контрольных мышей (группа 1).

В группе 1 опухоли проявляли медленный, гетерогенный рост. Опухоли 7 из 9 обработанных наполнителей группы 1 контрольных мышей достигали объема опухоли конечной точки 800 мм³ и две мыши оставались при окончании исследования. В группе 1 среднее TTE составляло 41,0 дней, таким образом, максимальное TGD, возможное в этом 74-дневном исследовании, составляло 33,0 дней (80%).

Эффект лечения с паклитакселом (группа 2).

Восемь мышей в группе 2 (n = 9), которые получали лечение паклитакселом, оставались в исследовании в день 74 с MTV 143 мм³. 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 достигал 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 Colo 205. 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 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, но проявляет более быстрый рост опухоли по сравнению с ростом при лечении паклитакселом.

Пример 29. 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, 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 сердечная 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 гипертензия, 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), кетоконазола, 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, связанный 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 30. 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, с 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 31. Индуцированный каррагенаном отек лапы (СРЕ) у крыс.

Соединение А (6, 20 & 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 существенной противовоспалительной активности на модели отека лапы у крыс, вызванного каррагенаном, для всех доз в опытных группах.

Пример 32. 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 1 ч 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 33. 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 & 10 мг/кг QD) или дексаметазон (1 мг/кг QD) вводили в течение 0-4 дней, тогда как энбрел вводили подкожно в дни 1 и 3. Осуществляли внутривенную 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 34. 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 настоящую заявку 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-дезоксидефтор-глюкозой (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-меченых 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 35. Исследование апоптоза *in vivo*.

МЕК 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 данную заявку в качестве ссылки, затем 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 уровня апоптоза с использованием липополисахарид-связывающего белка и прибора для сканирования далее в настоящей заявке обозначается как "способ апоптоза *in vivo*".

Пример 36. 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. Способ получения полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, характеризующейся порошковой рентгенограммой, содержащей по меньшей мере 50% пиков, идентичных порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, включающий кристаллизацию аморфного N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида из смеси гептана и этилацетата с получением указанного полиморфа.

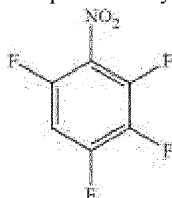
2. Способ по п.1, в котором смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении приблизительно 1-4 части этилацетата и приблизительно 2-10 частей гептана.

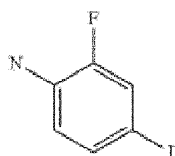
3. Способ по п.1, в котором смесь этилацетата и гептана содержит в количественном отношении приблизительно 2 части этилацетата и приблизительно 5 частей гептана.

4. Способ по п.1, в котором объединяют вместе аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид и этилацетат и одновременно нагревают и перемешивают с образованием коричневого раствора, затем добавляют гептан и одновременно поддерживают флегму, затем останавливают нагревание и позволяют полученной в результате кристаллической смеси прийти в равновесие с комнатной температурой при перемешивании, посредством чего кристаллический материал образуется на поверхности стекла, затем обеспечивают равновесие полученной в результате суспензии во льду/воде и одновременно перемешивают, фильтруют суспензию, промывают образованные кристаллы гептаном и сушат воздухом под вакуумом.

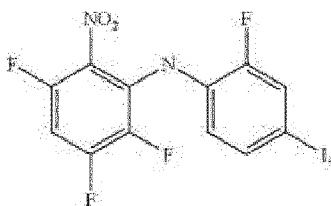
5. Способ по п.1, в котором аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид представляет собой аморфный рацемический N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид.

6. Способ по п.5, в котором аморфный рацемический N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид получен реакцией

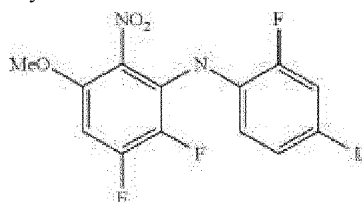




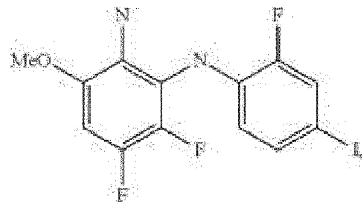
в присутствии LHMDS с получением



которое реагирует с NaOMe с получением



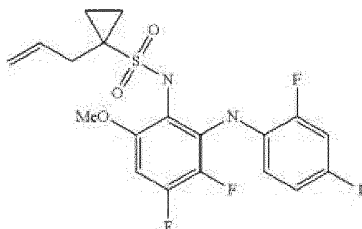
которое реагирует с H₂ с получением



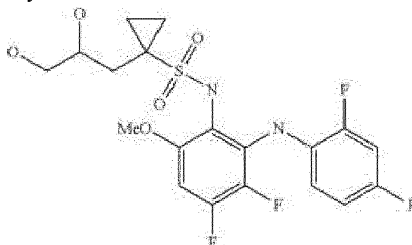
которое реагирует с



с получением



которое реагирует с OsO₄ с получением



7. Способ по п.1, в котором аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид представляет собой аморфный N-(R)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид.

8. Способ по п.7, в котором аморфный N-(R)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид получен путем хирального ВЭЖХ разделения аморфного рацемического N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

9. Способ по п.1, в котором аморфный N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид представляет собой аморфный N-

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

10. Способ по п.9, в котором аморфный N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамид получен путем хирального ВЭЖХ разделения аморфного рацемического N-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида.

11. Способ по п.1, в котором полиморф представляет собой кристаллический полиморф А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, который обладает по меньшей мере одним из следующих свойств:

(а) порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

12. Способ по п.11, в котором полиморф представляет собой кристаллический полиморф А, который обладает по меньшей мере двумя из следующих свойств:

(а) порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

13. Способ по п.11, в котором полиморф представляет собой кристаллический полиморф А, который обладает всеми тремя следующими свойствами:

(а) порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, и

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

14. Фармацевтическая композиция для лечения нарушения, опосредуемого МЕК, включающая фармацевтически приемлемый носитель и полиморфную форму А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, характеризующуюся порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, причем указанная полиморфная форма А при введении индивидууму имеет AUC в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мкг·ч/мл от 0-12 ч.

15. Фармацевтическая композиция по п.14, включающая приблизительно от 1 до 100 мг указанного кристаллического полиморфа.

16. Фармацевтическая композиция по п.14, включающая приблизительно от 1 до 50 мг указанного кристаллического полиморфа.

17. Фармацевтическая композиция по п.14, дополнительно включающая микрокристаллическую целлюлозу.

18. Фармацевтическая композиция по п.14, включающая приблизительно 1 мг указанного кристаллического полиморфа; приблизительно 222,2 мг микрокристаллической целлюлозы; приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия; приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

19. Фармацевтическая композиция по п.14, включающая приблизительно 10 мг указанного кристаллического полиморфа; приблизительно 213,2 мг микрокристаллической целлюлозы; приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия; приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

20. Фармацевтическая композиция по п.14, включающая приблизительно 20 мг указанного кристаллического полиморфа; приблизительно 203,2 мг микрокристаллической целлюлозы; приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия; приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

21. Фармацевтическая композиция по п.14, включающая приблизительно 40 мг указанного кристаллического полиморфа; приблизительно 183,2 мг микрокристаллической целлюлозы; приблизительно 12,0 мг кроскармеллозы натрия; приблизительно 2,4 мг лаурилсульфата натрия и приблизительно 2,4 мг стеарата магния.

22. Фармацевтическая композиция по п.14, в которой указанный кристаллический полиморф при введении индивидууму имеет T_{\max} в промежутке от 0,5 до 5,0 ч.

23. Фармацевтическая композиция по п.14, в которой указанный кристаллический полиморф при введении индивидууму достигает C_{\max} в промежутке от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мкг/мл от 0-12 ч.

24. Способ лечения нарушения, опосредуемого МЕК, у индивидуума, страдающего от указанного нарушения, включающий введение этому индивидууму терапевтически эффективного количества полиморфной формы А N-(S)-(3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йодфениламино)-6-метоксифенил)-1-(2,3-дигидроксипропил)циклопропан-1-сульфонамида, который обладает по меньшей мере одним из следующих свойств:

(а) порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

25. Способ по п.24, в котором полиморф представляет собой кристаллический полиморф, который обладает по меньшей мере двумя из следующих свойств:

(а) порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, или

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

26. Способ по п.24, в котором полиморф представляет собой кристаллический полиморф, который обладает всеми тремя следующими свойствами:

(а) порошковая рентгенограмма, по существу, идентична порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа,

(б) проявляет картину дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, идентичную картине дифференциальной сканирующей калориметрии, представленной на фиг. 6, для указанного кристаллического полиморфа, и

(с) имеет точку плавления, проявляющуюся, как определено с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии, приблизительно при 143°C.

27. Способ по п.24, в котором полиморф представляет собой кристаллический полиморф, который обладает порошковой рентгенограммой, по существу, идентичной порошковой рентгенограмме, представленной на фиг. 5, для указанного кристаллического полиморфа.

28. Способ по п.24, в котором нарушения, опосредуемые МЕК, представляют собой нарушения, опосредуемые цитокином.

29. Способ по п.24, в котором нарушения, опосредуемые МЕК, выбраны из группы, включающей иммунные заболевания, воспалительные заболевания, инфекции, пролиферативные заболевания и их комбинации.

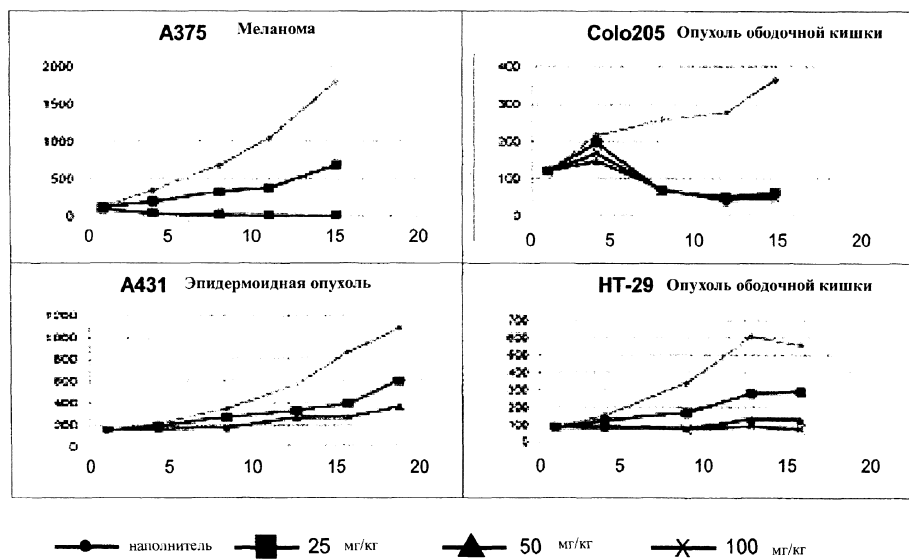
30. Способ по п.24, в котором нарушения, опосредуемые МЕК, представляют собой рак.

31. Способ по п.24, в котором нарушения, опосредуемые МЕК, представляют собой фиброгенетические нарушения.

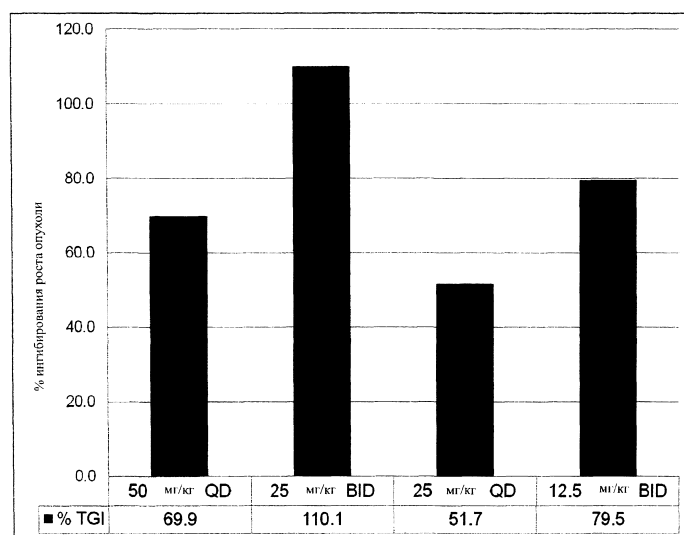
32. Способ по п.24, дополнительно включающий совместное введение второго активного агента.

33. Способ по п.24, дополнительно включающий совместное введение цитотоксического агента, ангиогенезного агента, противоопухолевого средства или их комбинации.

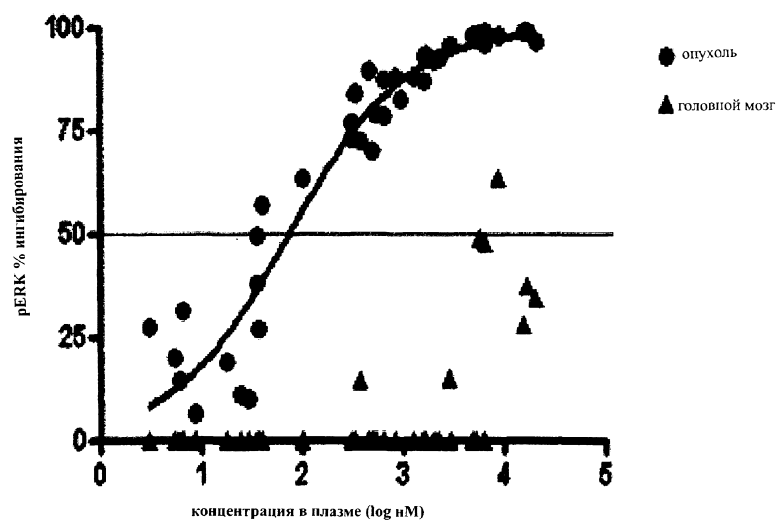
34. Способ по п.24, дополнительно включающий хирургическую и/или лучевую терапию.



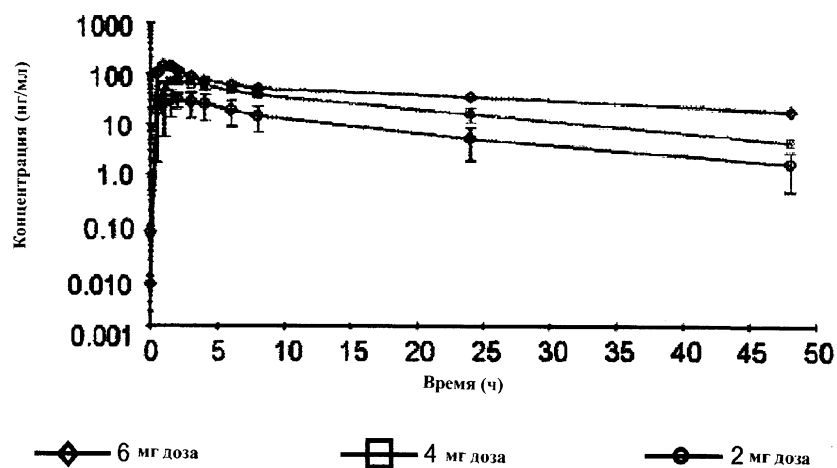
Фиг. 1



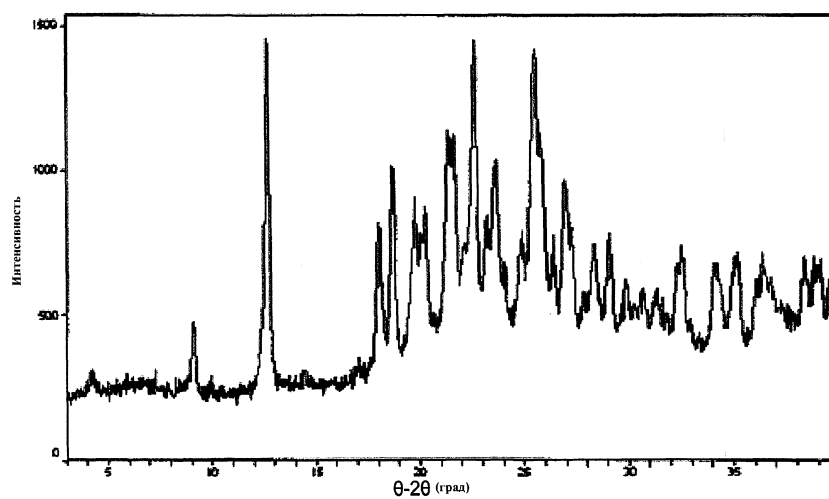
Фиг. 2



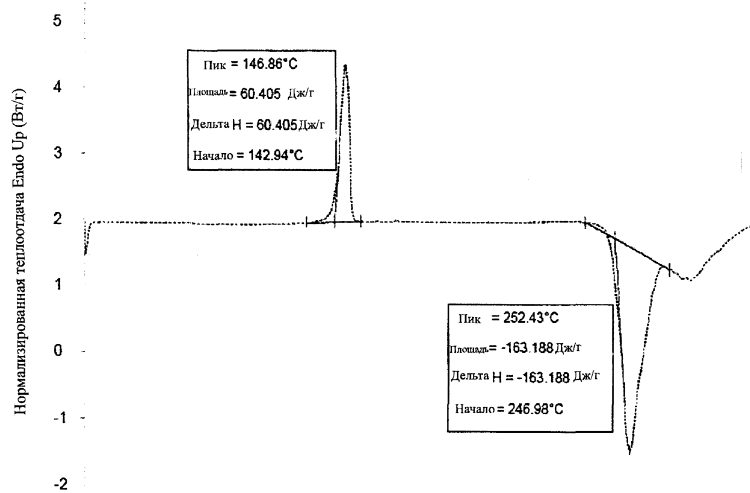
Фиг. 3



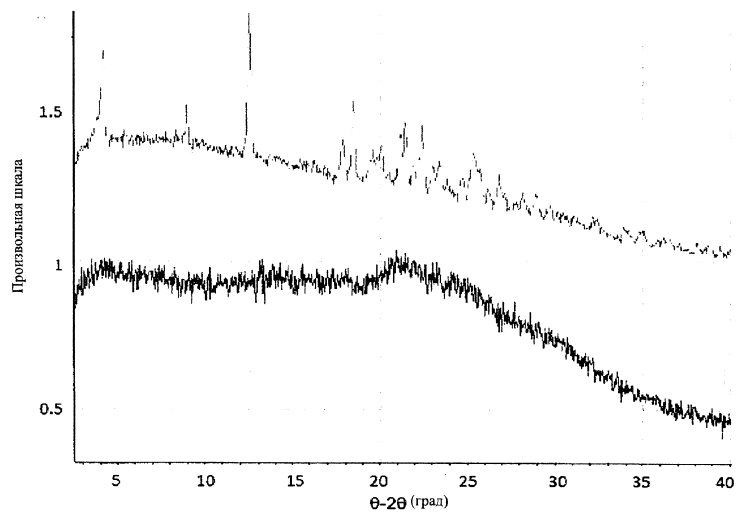
Фиг. 4



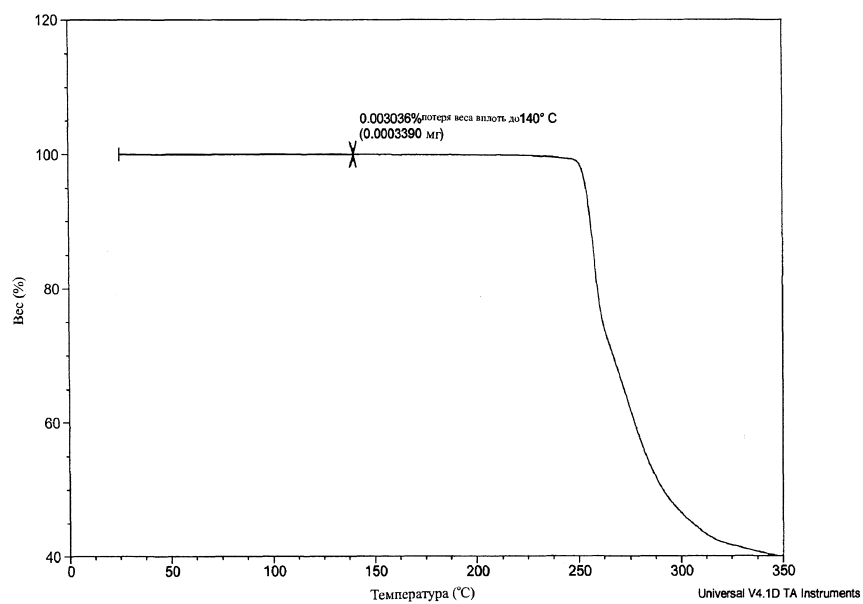
Фиг. 5



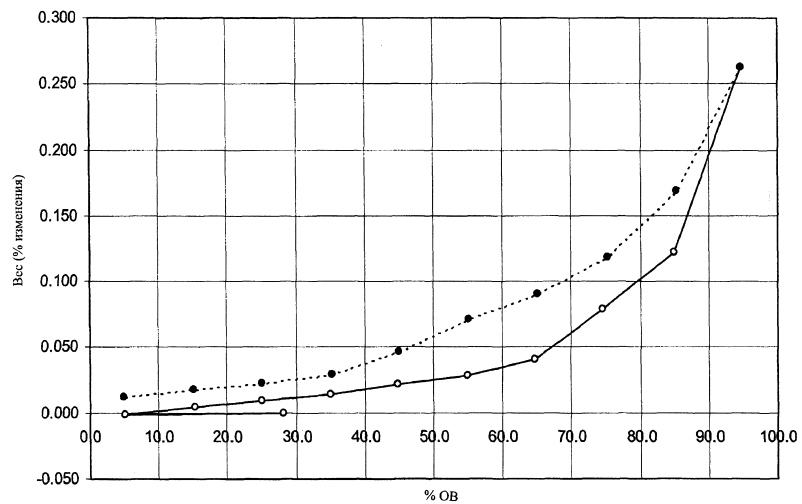
Фиг. 6



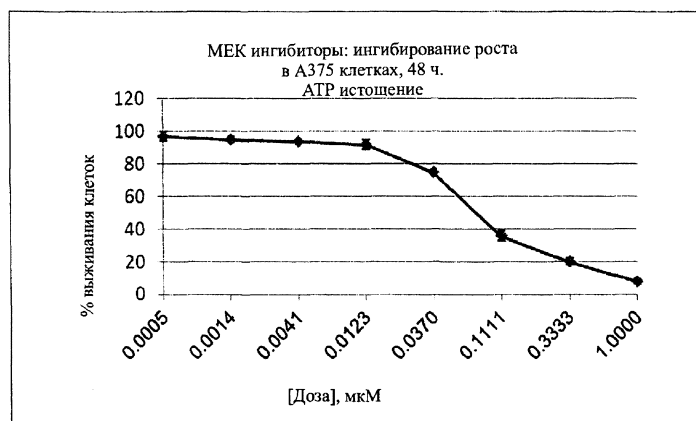
Фиг. 7



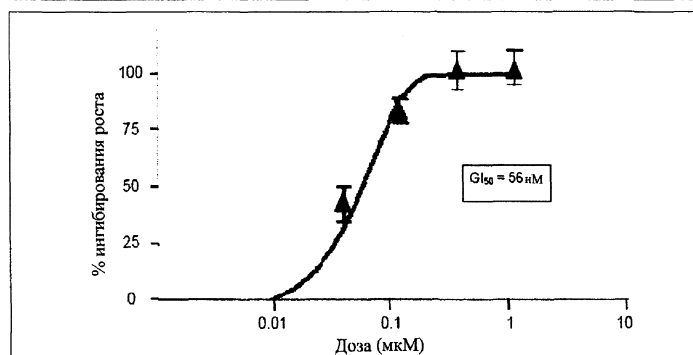
Фиг. 8



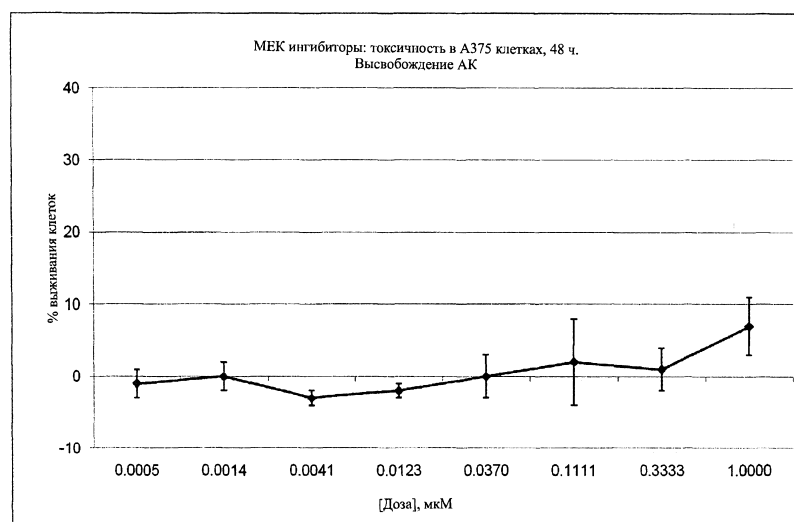
Фиг. 9



Фиг. 10(А)

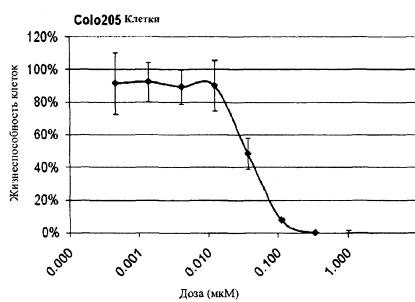


Фиг. 10(В)

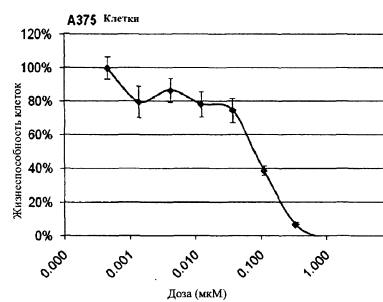


Фиг. 11

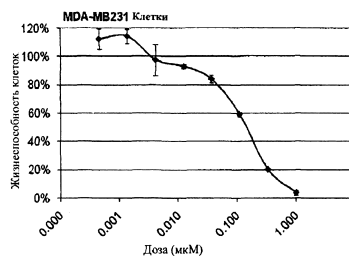
7 день, MTS исследование: 3 день ингибирование роста



Фиг. 12 (А)

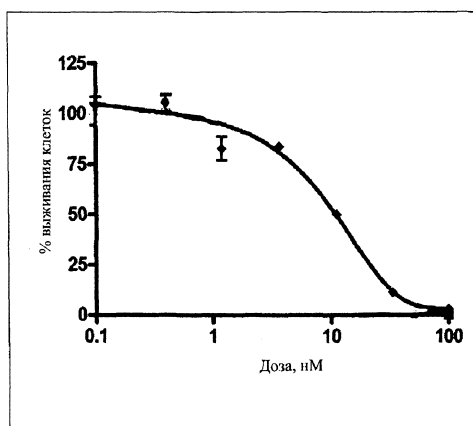


Фиг. 12 (В)

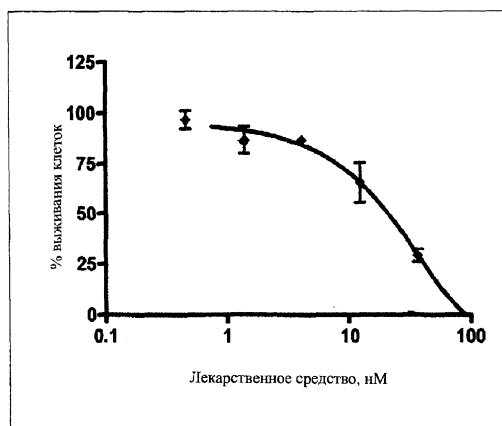


Фиг. 12 (С)

Фиг. 12

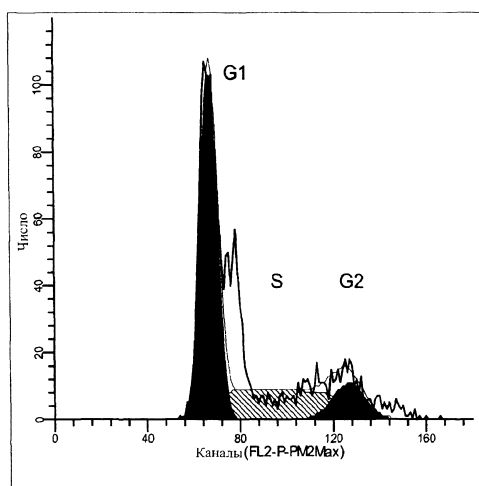


Фиг. 13(А)

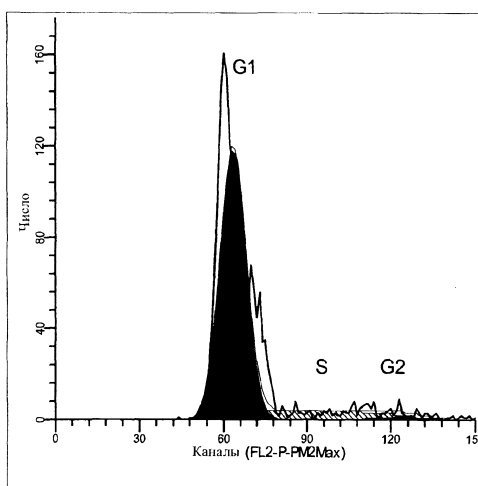


Фиг. 13(В)

Фиг. 13



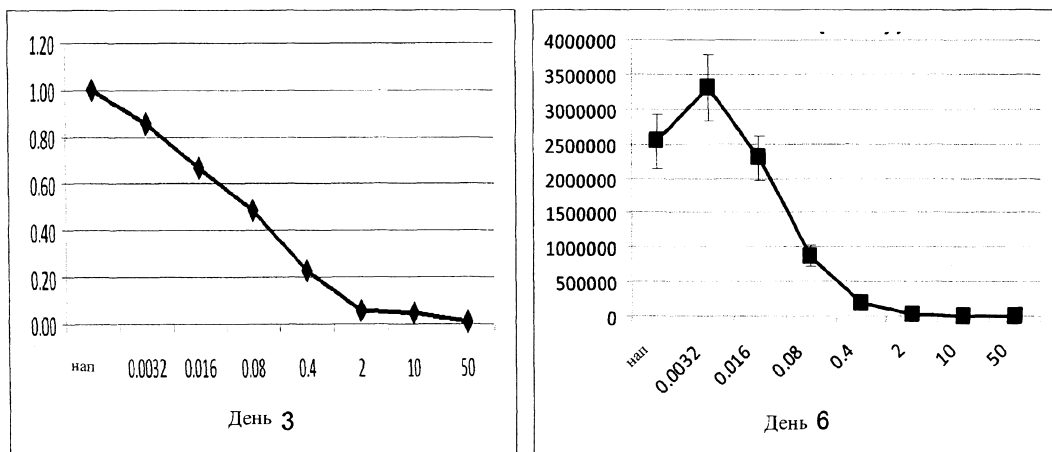
Фиг. 14(А)



Фиг. 14(В)

Фиг. 14

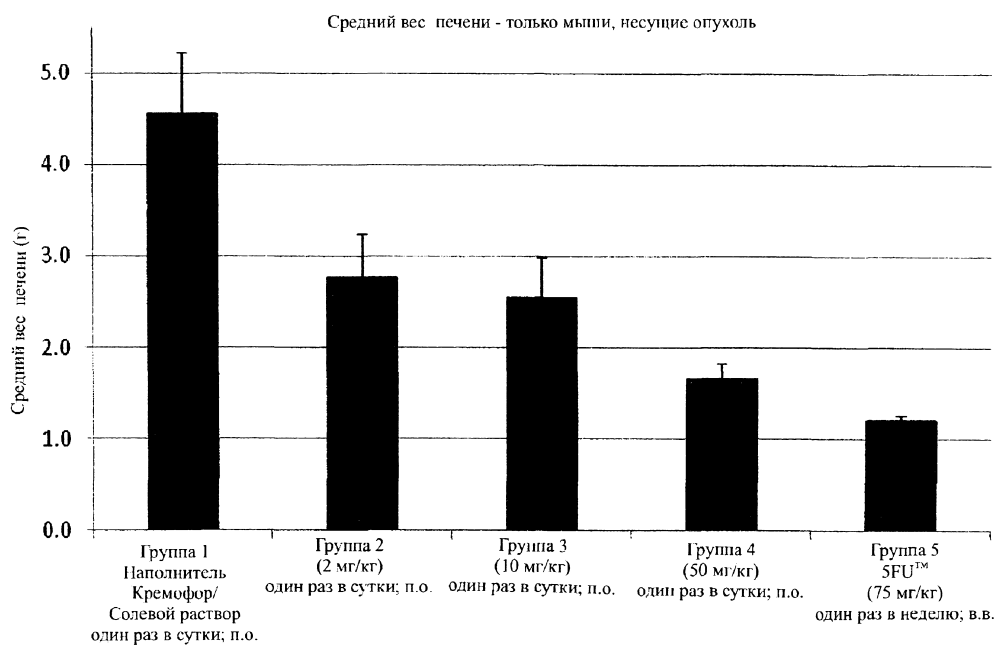
Ингибирование пролиферации AGS клеток



Фиг. 15(A)

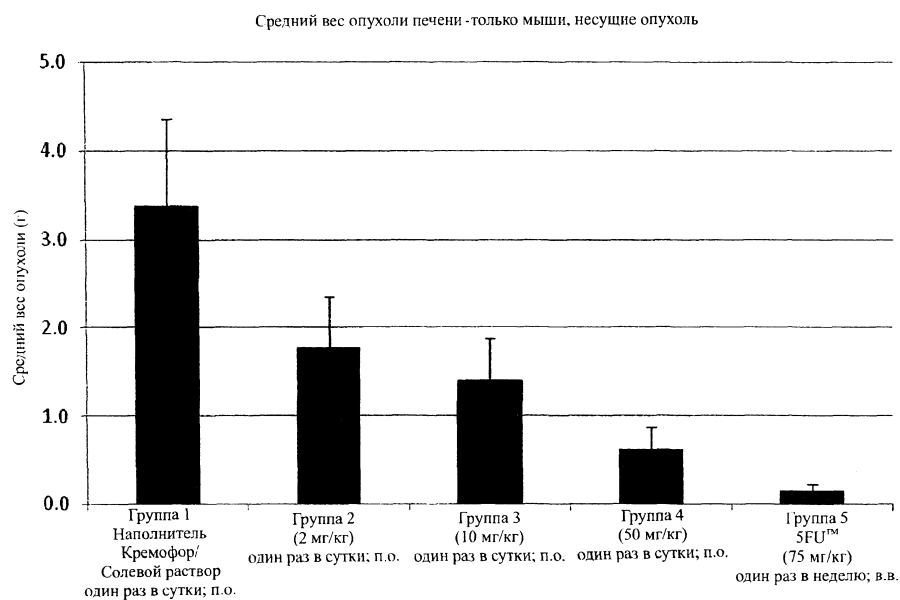
Фиг. 15(B)

Фиг. 15



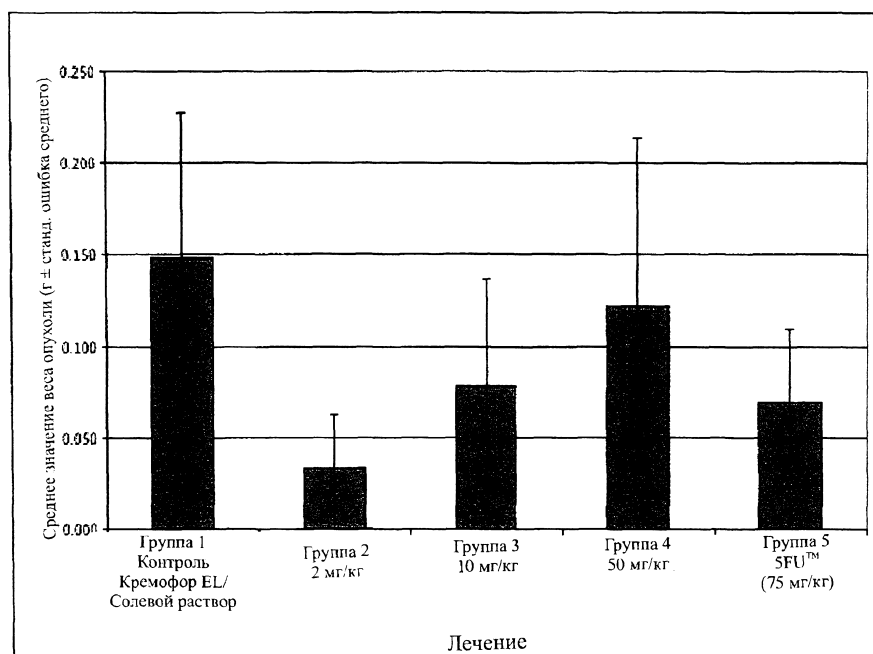
Лечение

Фиг. 16



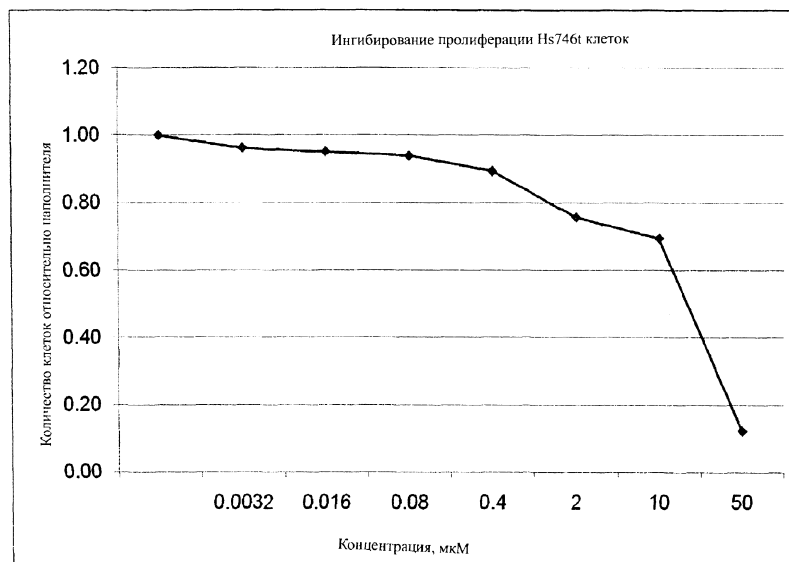
Лечение

Фиг. 17



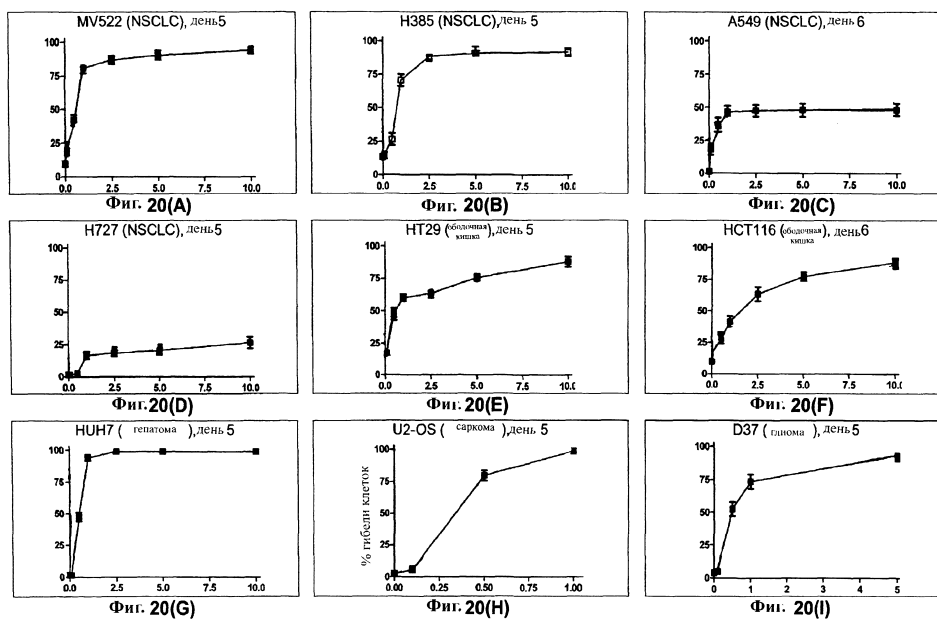
Лечение

Фиг. 18



Фиг. 19

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



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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