



УКРАЇНА

(19) UA (11) 82071 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 31/497 (2006.01)

A61P 35/00

A61P 23/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ N-(3-МЕТОКСИ-5-МЕТИЛПІРАЗИН-2-ІЛ)-2-(4-[1,3,4-ОКСАДІАЗОЛ-2-ІЛ]ФЕНІЛ)ПІРИДИН-3-СУЛЬФОНАМІДУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗЛОЯКІСНОГО НОВОУТВОРЕННЯ ТА БОЛЮ, ПОВ'ЯЗАНОГО З НИМ

1

2

(21) а200502486

(22) 20.08.2003

(24) 11.03.2008

(86) PCT/GB2003/003653, 20.08.2003

(31) 0219660.8

(32) 23.08.2002

(33) GB

(72) ТОНГ ДЕВІД ВІЛЛЬЯМ, ТЕЙЛОР СІАН
ТОМКО, БОЙЛ ФРАНСІС ТОМАС, ХЬЮЗ ЕНДРЮ
МАРК, ДЖОНСТОН ДОННА, GB/GB, АШФОРД
МЕРІАНН БЕРНІС, БАРАСС НАЙДЖЕЛ ЧАРЛЬЗ
(73) АСТРАЗЕНЕКА АБ(56) WO 96/40681 A, 19.12.1996
WO 01/44239 A, 21.06.2001
CARDUCCI M A ET AL: "ENDOTHELIN RECEPTOR
ANTAGONIST, ABT-627, FOR PROSTATE
CANCER: INITIAL TRIAL RESULTS" JOURNAL OF
UROLOGY, BALTIMORE, MD, US, vol. 161, no. 4,
SUPPL, April 1999 (1999-04), page 176,
XP001037609NELSON J B ET AL: "THE ROLE OF ENDOTHELIN-
1 AND ENDOTHELIN RECEPTOR ANTAGONISTS
IN PROSTATE CANCER" BJU INTERNATIONAL,
BLACKWELL SCIENCE, OXFORD, GB, vol. 85, no.
SUPPL 2, April 2000 (2000-04), pages 45-48,
XP008007943

(57) 1. Застосування N-(3-метокси-5-метилпіразин-2-іл)-2-(4-[1,3,4-оксадіазол-2-іл]феніл)піридин-3-сульфонамідів або його фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для лікування злоякісного новоутворення у теплокровної тварини, такої як людина.

2. Застосування сполуки за п. 1 або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для зменшення атипової проліферації злоякісних клітин або індукування диференціації злоякісних клітин у теплокровної тварини, такої як людина.

3. Застосування сполуки за п. 1 або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для індукування апоптозу в злоякісних клітинах у теплокровної тварини, такої як людина.

4. Застосування сполуки за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак стравоходу, мієлому, печінково-клітинний рак, рак підшлункової залози, рак шийки матки, дифузійну ендотеліому кісток, нейробластому, саркому Капоши, рак яєчників, рак молочної залози, рак прямої кишки, рак передміхурової залози, рак сечового міхура, меланому, рак легені – недрібноклітинний рак легені (NSCLC) і дрібноклітинний рак легені (SCLC), рак шлунка, рак голови та шиї, рак нирки, лімфому і лейкоз.

5. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак передміхурової залози.

6. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою SCLC, NSCLC, рак прямої кишки, рак яєчників і/або рак молочної залози.

7. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак сечового міхура, рак стравоходу, рак шлунка, меланому, рак шийки матки і/або рак нирки.

8. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак ендометрію, печінки, шлунка, щитовидної залози, прямої кишки і/або головного мозку.

9. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою SCLC.

10. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою NSCLC.

11. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак прямої кишки.

12. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак яєчників.

13. Застосування за п. 1, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак молочної залози.

14. Застосування за будь-яким з пп. 1 та 8-13, у якому злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії.

15. Застосування за будь-яким з пп. 1 та 8-13, у якому злоякісне новоутворення знаходиться на неметастатичній стадії.

16. Застосування за будь-яким з пп. 1 та 8-13, у якому злоякісне новоутворення являє собою рак

(13) C2

(11) 82071

(19) UA

нирки, щитовидної залози, легені, молочної залози або передміхурової залози, який утворює метастази в кістковому мозку.

17. Застосування сполуки за п. 1 або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування як інгібітора метастазів у кістках і інгібітора інвазії у теплокровної тварини, такої як людина.

18. Застосування сполуки за п. 1 або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування як інгібітора метастазів у кістках у теплокровної тварини, такої як людина.

19. Застосування сполуки за п. 1 або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для

запобігання метастазам у кістках у теплокровної тварини, такої як людина.

20. Застосування сполуки за п. 1 або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для лікування метастазів у кістках у теплокровної тварини, такої як людина.

21. Застосування N-(3-метокси-5-метилпіразин-2-іл)-2-(4-[1,3,4-оксадіазол-2-іл]феніл)піридин-3-сульфонамід або його фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для запобігання або лікування болю, пов'язаного з злоякісним новоутворенням у теплокровної тварини, такої як людина.

Дана заявка стосується N-(3-метокси-5-метилпіразин-2-іл)-2-(4-[1,3,4-оксадіазол-2-іл]феніл)піридин-3-сульфонамід або його фармацевтично прийнятної солі, надалі "сполука (I)", і його застосування для лікування злоякісного новоутворення в теплокровної тварини, такої як людина. Винахід також стосується застосування фармацевтичних композицій, які містять сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, у способі лікування злоякісного новоутворення в теплокровної тварини, такої як людина, і застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування в способі лікування злоякісного новоутворення в теплокровної тварини, такої як людина. Винахід також стосується застосування фармацевтичних композицій, які містять сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, у способі лікування болю в теплокровної тварини, такої як людина, і застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для лікування болю в теплокровної тварини, такої як людина.

Від злоякісних новоутворень, за приблизними підрахунками, страждають 10млн. людей в усьому світі. Ці дані включають захворюваність, поширення і смертність. В Азії виявлено понад 4,4млн. випадків злоякісних пухлин, включаючи 2,5млн. випадків в Східній Азії, яка є регіоном світу з найвищим коефіцієнтом захворюваності. Для порівняння, у Європі виявлено 2,8млн. випадків, у Північній Америці 1,4млн. випадків і в Африці - 627 тисяч випадків.

Наприклад, у Великобританії й у США більш ніж в однієї людини з трьох розвивається злоякісне новоутворення протягом життя. У США злоякісні новоутворення викликають смерть, відповідно до підрахунків, близько 600 тисяч людей у рік і є причиною смертності в одному з чотирьох випадків, займаючи друге місце за рівнем смертності після серцевих захворювань, а також є другою причиною смертності дітей у віці

від 1 до 14 років. В даний час у США щорічно виявляється близько 1млн. 380 тисяч нових випадків захворювань, за винятком близько 900 тисяч випадків немеланомних новоутворень шкіри (базальних і сквамозних клітин).

Рак також є основною причиною захворюваності у Великобританії, і в 1997 році було зареєстровано близько 260 тисяч нових випадків (крім немеланомного раку шкіри). Злоякісні пухлини є захворюванням, яке уражує переважно людей літнього віку, близько 65% випадків захворювання виявляється в людей, старше 65. Оскільки очікується збільшення середньої тривалості життя у Великобританії майже в два рази в порівнянні із серединою дев'ятого століття, то ризик захворювання населення на рак зростає. Коефіцієнт смертності від інших захворювань, які викликають смерть, таких як захворювання серця, в останні роки знижується, тоді як смертність від злоякісних новоутворень залишається відносно постійною. Це приведе до того, що в однієї людини з трьох протягом життя буде діагностовано злоякісне новоутворення і одна з чотирьох людей помре від раку. У людей до 75 років смертність від злоякісних новоутворень чисельно перевершує смертність від захворювань серцево-судинної системи, включаючи ішемічну хворобу серця й удар. У 2000 році було зареєстровано 151 тисяч 200 смертей від раку. Більше однієї п'ятої (22%) цих смертей було викликано раком легень і четверта частина (26%) - раком ободової кишки, молочної залози і передміхурової залози.

В усьому світі захворюваність і смертність внаслідок певних типів злоякісних новоутворень (шлунка, молочної залози, передміхурової залози, шкіри і т.д.) характеризуються значними територіальними відмінностями, які пояснюють расовими, культурними впливами і, особливо, впливом довкілля. Виявлено понад 200 різних типів злоякісних новоутворень, але чотири основні типи, а саме легень, молочної залози, передміхурової залози і прямої кишки, складають більше половини всіх діагностованих випадків раку

у Великобританії і США. Рак передміхурової залози займає четверте місце за поширеністю серед злоякісних захворювань у чоловіків в усьому світі і щорічно діагностується 400 тисяч нових випадків захворюваності, що становить 3,9% усіх нових виявлених випадків раку.

Зараз для лікування злоякісних новоутворень застосовують хірургічне видалення, променеву терапію з зовнішнім опроміненням і/або системну хіміотерапію. При одних видах раку вони є значно ефективними, однак при інших видах вони не ефективні. Існує очевидна потреба в новому терапевтичному лікуванні.

Нестероїдні протизапальні лікарські засоби (НПЗЗ) і опіати є основними класами лікарських засобів для послаблення болю. Однак обидва ці класи мають небажані побічні дії. Відомо, що НПЗЗ викликають подразнення шлунково-кишкового тракту, а опіати викликають залежність. Таким чином, також існує очевидна потреба в новому лікуванні для усунення і лікування болю.

Останнім часом антагоністи рецептора ендотеліну А були ідентифіковані як ефективні засоби при лікуванні злоякісних новоутворень [Cancer Research, 56, 663-668, 15-е лютого, 1996 і Nature Medicine, том 1, №9, вересень 1999, 944-949].

Ендотеліни являють собою сімейство ендегенних пептидів, які складаються з 21 амінокислоти, яке включає три ізоформи: ендотелін-1 (ЕТ-1), ендотелін-2 і ендотелін-3. Ендотеліни утворюються шляхом розщеплення ендотелініперетворювальним ферментом зв'язку Trp²¹-Val²² їх відповідних проендотелінів. Ендотеліни є одними з найбільш відомих ефективних судинозвужувальних засобів і характеризуються значною тривалістю дії. Також вони мають багато інших дій, включаючи дію на проліферацію клітин, мітоз, трансудацію і хемотаксис, а також взаємодіють з багатьма іншими вазоактивними засобами.

Ендотеліни секретуються багатьма тканинами і клітинами, включаючи ендотелій судин, судини гладеньких м'язів, нирки, печінку, матку, дихальні шляхи, кишечник і лейкоцити. Секреція може стимулюватися гіпоксією, вібраційним стресом, фізичною травмою і багатьма гормонами та цитокінами. Підвищені рівні ендотеліну були виявлені при багатьох хворобливих станах у людей, включаючи злоякісні новоутворення.

Даний винахід стосується несподіваного виявлення того факту, що сполука (I) є надзвичайно ефективним протираковим засобом. Сполука (I) описана як антагоніст рецептора ендотеліну в [WO 96/40681], і хоча з [WO 96/40681] відомо, що підвищені рівні ендотеліну виявлені при багатьох хворобливих станах у людей, включаючи певні види злоякісних новоутворень, не було натяку чи припущення, що сполука може мати значну корисну ефективність, метаболічні і токсикологічні профілі, що робить її ефективним протираковим засобом. У [WO 96/40681] заявляється, що описані рецептори ендотеліну застосовні тільки для серцево-судинних захворювань. Наприклад, у вступі вказується, що ці сполуки придатні для лікування або

захворювань медичних станів, включаючи "гіпертонію, легеневу гіпертонію, серцево-судинне захворювання або порушення мозкового кровообігу і захворювання нирок". Заявлений перелік включає наступні хворобливі стани: "гіпертонію, легеневу гіпертонію, застійну серцеву недостатність, дисліпідемію, атеросклероз, рестеноз, гостру і хронічну ниркову недостатність, ішемічний удар, субарахноїдальний крововилив, переміжну кульгавість, загрозливу ішемію кінцівки, астму або недостатність органа після загального хірургічного втручання або трансплантації"¹¹. Немає ні натяку чи припущення в [WO 96/40681], що ця сполука може мати значну корисну ефективність, метаболічні і токсикологічні профілі, що робить її ефективним протираковим засобом. У дійсності, винахідники даного винаходу несподівано виявили, що сполука (I) є специфічним антагоністом ендотеліну-А (ЕТ_A) і не виявляє вимірної активності стосовно ендотеліну-В (ЕТ_B).

Було показано, що рецептор ЕТ_A за допомогою різних механізмів є більш важливим патологічним рецептором із двох ідентифікованих рецепторів ендотеліну в онкології: при зниженні проліферації атипичних клітин [Bagnato і ін., (1995), Clin Cancer Res 1, 1059-1066]; як антиапоптотичний засіб [Wu Wang і ін., (1997), Biochem J. 328, 733-737]; як антиангіогенний засіб [Spinella і ін., (2002), J. Biol. Chem, 277(31), 27850-27855]; і як інгібітор метастаз у кістках [Guise і ін., ASCO (2000) реферат 331 і Nelson, і ін., (1999), Urology 53,1063-1069], і крім того, при опосередкованні болю, який звичайно супроводжує злоякісне новоутворення. Було показано [Dahlof і ін., (1990), J Hypertens, 8, 811-817], що високі дози ендотеліну-1 викликають біль і больову сенсibiliзацію, але ця дія може інгібуватися антагоністом ЕТ_A [напр., Davar і ін., (1998), Neuroreport 9, 2279-2283 і De Mello і ін., (1998), Pain, 77, 261-269]. Отже, в іншому варіанті здійснення винаходу, сполука (I) вводиться для запобігання або лікування болю, опосередкованого ендотеліновою системою, особливо зв'язаного з підвищеними рівнями ендотеліну-1.

Навпаки, несподівано виявлені дані [напр., Cattaruzza і ін., (2002), FASEB J. 14(7), 991-998 і Okazawa і ін., (1998), J Biol Chem, 273, 12581-12592], що рецептор ЕТ_B задіяний у передачу апоптотичного сигналу. Блокування проапоптотичних метаболічних шляхів при лікуванні злоякісного новоутворення може бути небажаним, отже, сполука, яка специфічно націлена на рецептор ЕТ_A, у той час як не діє на рецептор ЕТ_B, є надзвичайно корисною при лікуванні злоякісного новоутворення. Сполука (I) є такою сполукою.

Сполука (I), яка специфічно діє на рецептор ЕТ_A, має багато переваг в порівнянні з антагоністами ендотеліну, які мають також вимірну дію на ЕТ_B. Наприклад, сполука (I) може вводиться пацієнту без адміністратора або розпорядження лікуючого лікаря, що здійснює необхідне титрування дози сполуки (I) залежно від симптомів активності ЕТ_B, що виявляються, (наприклад

набряку). Більш того, потенційно можуть вводитися великі дози, оскільки не виявляється побічних дій, зв'язаних з ЕТ_В.

Іншим недоліком інгібування ЕТ_В є те, що воно викликає підвищення концентрації ендотеліну в плазмі. Потенційно протягом курсу лікування для змішаного ЕТ_А/ЕТ_В інгібітора або сполуки, яка селективно націлена на рецептор ЕТ_А, однак усе-таки має вимірну активність відносно ЕТ_В, може виникати необхідність у збільшенні великих доз інгібітора для досягнення такої ж корисної дії відносно ЕТ_А. Специфічний інгібітор ЕТ_А дозволяє уникнути цієї проблеми.

Таким чином, відповідно до даного винаходу забезпечується сполука (I) або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування для лікування злоякісного новоутворення в теплокровній тварині, такої як людина.

В одному варіанті здійснення, посилення на сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль стосуються лише однієї сполуки. В іншому варіанті здійснення це посилення стосується фармацевтично прийнятної солі сполуки (I).

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується сполука (I) або її фармацевтично прийнятна сіль для приготування лікарського засобу для застосування для лікування злоякісного новоутворення в теплокровній тварині, такої як людина.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу забезпечується спосіб лікування злоякісного новоутворення, який передбачає введення ефективної кількості сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі теплокровній тварині, такої як людина.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу забезпечується фармацевтична композиція, яка містить сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування для лікування злоякісного новоутворення в теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для зменшення атипової проліферації злоякісних клітин або індукування диференціації злоякісних клітин у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для зменшення атипової проліферації злоякісних клітин або індукування диференціації злоякісних клітин у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб зменшення атипової проліферації злоякісних клітин або індукування диференціації злоякісних клітин, який передбачає введення ефективної кількості сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі теплокровній тварині, такої як людина.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу забезпечується фармацевтична композиція, яка містить сполуку (I) або її

фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування для зменшення атипової проліферації злоякісних клітин або індукування диференціації злоякісних клітин у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для індукування апоптозу в злоякісних клітинах у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для індукування апоптозу в злоякісних клітинах у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб індукування апоптозу в злоякісних клітинах, який передбачає введення ефективної кількості сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі теплокровній тварині, такої як людина.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу забезпечується фармацевтична композиція, яка містить сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування для індукування апоптозу в злоякісних клітинах у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі як антиангіогенного засобу і засобу, націленого на судини, у кровоносних судинах, які кровопостачають злоякісні клітини, у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування як антиангіогенного засобу і засобу, націленого на судини, у кровоносних судинах, які кровопостачають злоякісні клітини, у теплокровній тварині, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб антиангіогенної дії і засобу, націленого на судини, у кровоносних судинах, які кровопостачають злоякісні клітини, який передбачає введення ефективної кількості сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі теплокровній тварині, такої як людина.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу забезпечується фармацевтична композиція, яка містить сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування як антиангіогенного засобу і засобу, націленого на судини, у кровоносних судинах, які кровопостачають злоякісні клітини, у теплокровній тварині, такої як людина.

Під терміном "засіб, націлений на судини", мають на увазі, що місце дії сполуки (I) скоріше

фармацевтично прийнятної солі для запобігання або лікування болю, зв'язаного з підвищеним виробленням ендотеліну-1 у теплокровної тварини, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для запобігання або лікування болю, зв'язаного з підвищеним виробленням ендотеліну-1 у теплокровної тварини, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб лікування болю, зв'язаного з підвищеним виробленням ендотеліну-1, який передбачає введення ефективної кількості сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі теплокровній тварині, такій як людина.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу забезпечується фармацевтична композиція, яка містить сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування для запобігання або лікування болю, зв'язаного з підвищеним виробленням ендотеліну-1 у теплокровної тварини, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для запобігання або лікування болю в теплокровної тварини, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для запобігання або лікування болю в теплокровної тварини, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб лікування болю, який передбачає введення ефективної кількості сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі теплокровній тварині, такій як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для запобігання або лікування болю, зв'язаного зі стимуляцією рецептора ET_A, у теплокровної тварини, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі для приготування лікарського засобу для застосування для запобігання або лікування болю, зв'язаного зі стимуляцією рецептора ET_A, у теплокровної тварини, такої як людина.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб лікування болю, зв'язаного зі стимуляцією рецептора ET_A, який передбачає введення ефективної кількості сполуки (I) або її фармацевтично прийнятної солі теплокровній тварині, такій як людина.

Посилання на злоякісне новоутворення переважно стосується раку стравоходу, мієломи, печінково-клітинного раку, раку підшлункової залози, раку шийки матки, дифузійної ендотеліоми кісток, нейробластоми, саркоми Капоши, раку

яєчників, раку молочної залози, раку прямої кишки, раку передміхурової залози, раку сечового міхура, меланоми, раку легені - недрібноклітинного раку легені (NSCLC) і дрібноклітинного раку легені (SCLC), раку шлунка, раку голови і шиї, раку нирки, лімфоми і лейкозу. Більш переважно воно стосується раку передміхурової залози. Крім того, воно переважно стосується SCLC, NSCLC, раку прямої кишки, раку яєчників і/або раку молочної залози. Крім того, воно більш переважно стосується SCLC. Крім того, воно більш переважно стосується NSCLC. Крім того, воно більш переважно стосується раку прямої кишки. Крім того, воно більш переважно стосується раку яєчників. Крім того, воно переважно стосується раку молочної залози. Також воно більш переважно стосується раку сечового міхура, раку стравоходу, раку шлунка, меланоми, раку шийки матки і/або раку нирки. Додатково воно стосується раку ендометрію, печінки, шлунка, щитовидної залози, прямої кишки і/або головного мозку. В іншому варіанті здійснення винаходу, злоякісне утворення не являє собою меланому. В іншому варіанті здійснення винаходу переважно злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії і більш переважно раку утворює метастази в кістках. В подальшому варіанті здійснення винаходу переважно злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії і більш переважно раку утворює метастази в шкірі. В подальшому варіанті здійснення винаходу переважно злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії і більш переважно раку утворює метастази в лімфатичній системі. В подальшому варіанті здійснення винаходу злоякісне новоутворення знаходиться на неметастатичній стадії.

Мається на увазі, що якщо злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії, то сполука (I) діє як на первинну пухлину, так і на метастази. Сполука (I) як запобігає метастазам, а також їх лікує і інгібує.

В одному варіанті здійснення винаходу, якщо присутнє посилення на біль, то цей біль зв'язаний з підвищеними рівнями ендотеліну-1. В іншому варіанті здійснення винаходу він являє собою біль, зв'язаний із стимуляцією рецептора ET_A, яка є наслідком того, що інгібування ET_B приводить до атипової стимуляції ET_A і/або підвищенню рівнів ендотеліну-1. Переважно цей біль зв'язаний зі злоякісним новоутворенням. Більш переважно, цей біль зв'язаний з раком передміхурової залози.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу забезпечується фармацевтична композиція, яка містить сполуку (I) або її фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування для запобігання або лікування болю, зв'язаного зі стимуляцією рецептора ET_A, у теплокровної тварини, такої як людина.

Додатково, сполука (I), як вважають, є придатною для лікування і/або профілактики болю різного походження і причин, включаючи гострі, а також хронічні больові стани. Прикладами є болі, викликані хімічними, механічними, променевими

(включаючи сонячні), термічними (включаючи опіки), інфекційними або запальними тканинними пошкодженнями або злоякісним новоутворенням, післяопераційні болі, післяпологові болі, болі, зв'язані з захворюваннями суглобів (такими як ревматоїдний артрит і остеоартрит), болю, зв'язані з захворюваннями зубів (такими як карієс зубів і гінгівіт), міофасціальні болі і болі в нижніх ділянках спини, болі, зв'язані з захворюваннями кісток (такими як остеопороз, злоякісна гіперкальціємія і деформуюча остеодинтрофія) і болі, зв'язані із спортивними травмами і розтягненнями.

Також неврологічні больові стани центрального і периферичного походження можуть піддаватися лікуванню або запобіганню за допомогою сполуки (I). Прикладами таких больових станів є біль, зв'язаний з невралгією трійчастого нерва, біль, зв'язаний з постгерпетичною невралгією (PHN), біль, зв'язаний з діабетичною монополі невротією, біль, зв'язаний із травмою нерва, біль, зв'язаний із травмою спинного мозку, біль, зв'язаний з ушкодженням центрального штифта, біль, зв'язаний з розсіяним склерозом, і біль, зв'язаний із хворобою Паркінсона.

Інші больові стани вісцерального походження, такі як, викликані виразкою, дисменореєю, ендометріозом, синдромом подразненої товстої кишки, диспепсією, болями в ділянці таза і т.д. також можуть піддаватися лікуванню або запобіганню за допомогою сполуки (I).

Додатково, сполука (I), як вважають, буде придатною для лікування і/або профілактики додаткових видів болю, наприклад, комплексного регіонарного больового синдрому, болю при звуженні судин/ішемічних болів (наприклад, синдром Раунауда) і болю в кістках.

В подальшому варіанті здійснення винаходу забезпечується застосування сполуки (I) для перорального лікування невротичного болю або больових станів центрального походження.

Придатні фармацевтично прийнятні солі включають, наприклад, солі з лужним металом (таким як натрій, калій або літій), лужноземельними металами (такими як кальцій або магній), солі амонію і солі з органічними основами, які утворюють фізіологічно прийнятні катіони, такі як солі з метиламіном, диметиламіном, триметиламіном, піперидином і морфоліном. Крім того, придатні фармацевтично прийнятні солі включають фармацевтично прийнятні кислото-адитивні солі з галогенідами водню, сірчаною кислотою, фосфорною кислотою й органічними кислотами, такими як лимонна кислота, малеїнова кислота, метансульфонова кислота і п-толуолсульфонова кислота.

Підписи на фігурах

Фігура 1: Показане інгібування сполукою (I) індукованого ET-1 фосфорилування MAPK у клітинній лінії остеобластів MC3T3.E1/J1 з дослідження 2, описаного нижче, при вестерн-блоттингу. Білки розганяли в гелі, потім перенесли на нітроцелюлозну мембрану, де їх досліджували з первинними і вторинними антитілами. Використані наступні скорочення:

СМС: середовище, яке містить сироватку

СБС: середовище без сироватки

Фігура 2: На цій фігурі графічно показано інгібування сполукою (I) індукованого ET-1 фосфорилування MAPK у клітинній лінії остеобластів MC3T3.E1/J1 також з дослідження 2.

Наступні дослідження в умовах *in vivo* і *in vitro* можуть застосовуватися для визначення ефективності сполуки (I) в онкології.

1) Дослідження зв'язування рецептора ендотеліну людини

Рекомбінантні рецептори ET_A або ET_B експресували в клітинах еритролейкозу мишей (MEL) і підготовляли мембрани для дослідження конкурентного зв'язування, використовуючи ET-1, мічений ¹²⁵I, як радіоактивний ліганд. Інкубації здійснювали в трьох повторах у присутності сполуки (I), 10⁻¹⁰-10⁻⁴М зі збільшенням концентрації з напівлогарифмічним інтервалом і інгібування зв'язування ET-1 виражали як середнє геометричне значення pIC₅₀ з 95% границями довірчого інтервалу.

Результати

pIC₅₀ (негативний логарифм концентрації сполуки, необхідної для 50% витиснення ліганду) для сполуки (I) у рецепторі ET_A становить 8,27 [8,23-8,32] (n=4). Криві витиснення є стандартними з подібними кутами нахилу. Сполука (I) не має вимірної спорідненості до рецептора ET_B при значеннях витиснення 1,2±0,7% (n=3) при концентрації 10⁻⁴М, як впливає з фігури в межах чутливості дослідження.

Висновок

Сполука (I) є лігандом із сильною спорідненістю для рецептора ET_A людини і специфічна до ET_A, не маючи істотної спорідненості до рецептора ET_B.

2) Сполука (I) для лікування метастатичного раку: Дослідження остеобластів - інгібування сполукою (I) індукованої ET-1 стимуляції MAPK

Сполука (I) дійсно може бути корисною для лікування не лише первинних пухлин, але також і метастатичних пухлин і патологічного утворення нових кісток у метастазі і навколо нього. Далі описане експериментальне підтвердження корисності сполуки (I) при лікуванні патології остеобластів у кістках.

Значна клінічна патологія спостерігається в метастатичних ділянках у кістках хворих із прогресуючим раком передміхурової залози, які представлені у вигляді невідповідної стимуляції остеобластів, тобто присутність метастаз пухлини передміхурової залози в кістках приводить до утворення сітчастої структури нової кістки й у підсумку до підвищення щільності кістки навколо метастазу [див. огляд у Cancer Metastasis Rev. 2001; 20(3-4): 333-49]. Можливий механізм, який лежить в основі цієї патології, полягає у вивільненні ET-1 з метастатичної клітини передміхурової залози на початку утворення вторинної пухлини в кістці.

Стимуляція ET-1 остеобластів описана як ключовий етап у патологічному утворенні нової кістки при метастазах раку передміхурової залози в кістках [Invest New Drugs. 2002; 20(2): 173-82]. Показано, що ET-1 діє безпосередньо, індукуючи проліферацію і диференціацію остеобласта, а

також стимулює остеобласт до вироблення інших факторів росту за допомогою стимуляції рецептора ET_A і наступного фосфорилування MAP кінрази [Bone. 1999; 24(4): 315-20 і J Bone Miner Res. 2002; 17(10): 1774-84]. При такому шляху стимуляції рецептора ET_A викликається як ріст кістки, так і виживання і ріст метастатичних пухлинних клітин шляхом вивільнення факторів росту в локальне навколишнє середовище. Отже, пухлинні клітини і клітини остеобластів у метастазі беруть участь у "дефектному циклі", при якому їх проліферативні відповіді підтримують одна одну, долаючи при цьому нормальні регуляторні механізми, які контролюють і обмежують утворення кістки [Nat Rev Cancer. 2002; 2(8): 584-93].

В експериментах, описаних нижче, автори даного винаходу, по-перше, підтверджують здатність ET-1 стимулювати MAP кінразу в клітинах остеобластів. Ця стимуляція сприяє проліферації клітин і активує метаболічні шляхи, які, як відомо, є важливими для вивільнення факторів росту з остеобластів.

Потім винахідники підтверджують, що сполука (I), ET_A антагоніст, є ефективним антагоністом такої стимуляції ET-1.

Спосіб

Клітинну лінію MC3T3. E1/J1 виділяли з батьківської клітинної лінії MC3T3-E1 (доступної з Invitrogen), яка, у свою чергу, була отримана з C57BL/6 склепіння черепа новонароджених мишей. Лінія MC3T3 E1/J1 описана як лінія остеобластів. Для початку експериментів, описаних нижче, клітини MC3T3.E1/J1 поміщали в планшети при щільності $2,4 \times 10^4$ клітин/лунку (24 лунковий планшет) у середовище, яке містить сироватку, і інкубували протягом 48 годин. Клітини двічі промивали в PBS і повторно інкубували приблизно протягом 17 годин у середовищі, збідненому сироваткою.

На цій стадії потім клітини інкубували зі сполукою (I) або без неї протягом 30 хвилин і після цього стимулювали фактором росту (PDGF або ET-1) протягом 3 хвилин. Потім усе середовище видаляли і клітини лізували і зберігали при -20°C для електрофорезу/вестерн-блотингу, при яких локалізували проби, фосфорилувані MAPK і фосфорилувані Akt з анти-фосфо-p44/42 MAPK (Thr 202/204) і анти-фосфо AKT (Ser 473) антитілами (обидва комерційно доступні від Cell Signalling Technology). Білкові смуги кількісно визначали шляхом денситометрії і виражали у вигляді довільних денситометричних одиниць. Рівні фосфорилуваної MAPK нормували до загального рівня MAPK.

Результати

Стимуляція клітин ET-1 протягом 3 хвилин приводить до підвищення фосфорилування MAPK у клітинній лінії остеобластів MC3T3.E1/J1. Стимуляція клітин звичайним фактором росту, PDGF, також приводить до підвищення фосфорилування MAPK. Сполука (I) інгібує індуковане ET-1 фосфорилування MAPK в остеобластах.

Таблиця 1

Інгібування сполукою (I) індукованого ET-1 фосфорилування MAPK у клітинній лінії остеобластів MC3T3.E1/J1

Навколишнє середовище	Середнє
Повне середовище	151,70
Середовище без сироватки	100,00
ET-1 100нМ	312,78
ET-1 100нМ	369,85
+ сполука (I) 20мкМ	109,18
+ сполука (I) 10мкМ	105,15
+ сполука (I) 1мкМ	157,41
+ сполука (I) 0,1мкМ	422,11

Ці дані представлені на фігурах 1 і 2.

Примітка: Вищеописаний експеримент не залежить від застосування, зокрема, клітинної лінії MC3T3.E1/J1, його можна здійснювати, наприклад, використовуючи комерційно доступну батьківську лінію MC3T3-E1.

3) Сполука (I) як інгібітор ангіогенезу

Активізація рецептора ET_A за допомогою ET-1 вносить вклад у ріст пухлини і прогресування, опосередковані різними механізмами, і в літературі передбачається, що специфічне інгібування ET_A буде забезпечувати сприятливий вплив на первинні пухлини, повністю відокремлюючи його дію на метастазування в кістках. Ці механізми включають анти-апоптоз, пряме і непряме стимулювання росту і стимулювання рухливості клітин [Nat Rev Cancer. 2003; 3(2): 110-6].

Останнім часом зростає інтерес до ролі ET-1, опосередкованої рецептором ET_A , як основних учасників ангіогенезу (розвитку кровоносних судин) пухлини [J Cardiovasc Pharmacol. 2000; 36: S135-9]. В даний час при вивченні цих механізмів було показано, що рецептор ET_A є важливим для вироблення сильнодіючого ангіогенного фактора VEGF [Life Sci. 1998; 63(6): 477-84] шляхом безпосередньої індукції фактора HIF-1 α , викликаного гіпоксією [J Biol Chem. 2002; 277: 27850-5]. Значні літературні дані, які підтверджують роль ендотеліну й ET_A рецептора в ангіогенезі пухлини, узагальнені в недавньому огляді Bagnato і Spinella [Trends Endocrinol Metab. 2003; 14(1): 44-50].

У дослідженні, описаному нижче, нами було показано на тваринних моделях дія сполуки (I) на ангіогенез, індукований новоствореними пухлинами після прищеплювання пухлинних клітин людини.

Спосіб

Пухлинні клітини прищеплювали внутрішньошкірно голим мишам, і їм один раз на добу перорально вводили 25 або 50мг/кг сполуки (I) або наповнювач, першу дозу вводили на наступний день після імплантації клітин і через 5 днів мишей забивали. Досліджували ділянку площею 1cm^2 у центрі пухлини і підраховували кількість кровоносних судин, які розгалужуються в цій ділянці, які кровопостачають пухлину. Порівнювали кількість судин, які кровопостачають пухлину, у тварин, яким вводили тестований

лікарський засіб і наповнювач і дію сполуки (I) розраховували у вигляді відсотка зменшення підрахованих кровоносних судин.

Результати

Сполука (I) викликає зменшення щільності кровоносних судин навколо пухлин в оброблених тварин у порівнянні з контрольними тваринами, яким вводили наповнювач. Зменшення кількості підрахованих кровоносних судин сполукою (I) спостерігається навколо пухлин, індукованих як клітинними лініями ободової кишки, так і клітинними лініями передміхурової залози, у п'ятих дослідженнях в умовах *in vivo*.

Інгібування ангиогенезу в первинних пухлинах

Лінія клітин	Тип пухлини	Доза сполуки (I) (мг/кг)	Відповідь на введення сполуки (I) (ангіогенезу) (%)
LOVO	ободова кишка	50	відповідь на введення сполуки (I) (ангіогенезу) (%)
LOVO	ободова кишка	50	($p=0,0210$) залежно від дозування
LOVO	ободова кишка	25	досліджуваних доз. Це свідчить про те, що сполука (I) є антагоністом ендотеліну в ендотеліновій системі людини
DU145	передміхурова залоза	50	($p=0,005$) ендотеліну в ендотеліновій системі людини
DU145	передміхурова залоза	25	($p=0,001$) ендотеліну в ендотеліновій системі людини

¹ статистичний аналіз здійснювали за допомогою тесту ANOVA у порівнянні з контрольним наповнювачем

Вищенаведені клітинні лінії є комерційно доступними. Одним джерелом одержання є ATCC (Американська колекція типових культур). LOVO має ATCC №=CCL-229. DU145 має ATCC №=HTB-81.

Обговорення

Нами було показано, що в умовах *in vitro* сполука (I) є ефективним інгібітором опосередкованої ET-1 активації MAP кінрази в остеобластах, а також є ефективним інгібітором ангиогенезу в первинних пухлинах в умовах *in vivo*. Це підтверджує можливості цього засобу як лікування метастатичного раку передміхурової залози, тому що він може мати сприятливі дії відносно запобігання патологічного підвищення щільності кістки (шляхом інгібування проліферації остеобластів), опосередкованого метаболічним шляхом MAPK, а також інгібування вивільнення факторів росту, що підтримують виживання і ріст пухлинних клітин у мікросередовищі кістки додатково до анти-ангіогенної дії на первинну пухлину.

4) Сполука (I) як антагоніст рецептора ендотеліну в ендотеліновій системі людини

Кровотік у передпліччі людини може бути оцінений шляхом тимчасової затримки венозного відтоку з верхньої кінцівки шляхом застосування пневматичної манжети на плечі, яку потім накачували для негайного підвищення венозного тиску. У результаті артеріальний кровотік у верхній кінцівці не відповідав венозному відтоку, що приводить до переповнення кров'ю і набрякання верхньої кінцівки, які можна визначити за допомогою чутливого тензіометричного датчика. Введення артеріального судинозвужувального засобу ET-1 у плечову артерію приводить до зменшення розтягання передпліччя внаслідок зниження артеріального припливу. Дія цього

судинозвужувального засобу опосередковується рецепторами ендотеліну в ендотелії судин і в супутніх гладеньких м'язах.

Спосіб

Дослідження проводили для вивчення здатності сполуки (I) протидіяти судинозвужувальній дії ET-1 за допомогою рецепторів ендотеліну на цій моделі в здорових чоловіків у віці від 18 до 65 років. Відомі суб'єкти одержували перорально однократну дозу 10 мг сполуки (I), 30мг сполуки (I) і плацебо в рандомізованому подвійному сліпому дослідженні принаймні впродовж 7 днів окремо. Звуження судин передпліччя у відповідь на дію ET1 оцінювали між 2 і 4 годинами після введення сполуки (I).

Результати сполукою (I)

У цілому, сполука (I) викликає статистично значиме зменшення кількості кровоносних судин у відповідь на введення сполуки (I) порівнянні з плацебо ($p=0,0210$) залежно від дозування в межах досліджуваних доз. Це свідчить про те, що сполука (I) є антагоністом ендотеліну в ендотеліновій системі людини

5) Сполука (I) у дослідженні підвищення дози для визначення переносимості і фармакокінетика сполуки (I) при пероральному введенні один раз на добу пацієнтам з метастатичним раком передміхурової залози

Наступне дослідження може бути почате для визначення максимальної добре переносимої дози (MWTД) сполуки (I) у хворих на метастатичний рак передміхурової залози. Це дослідження дозволяє спостерігати дію сполуки (I) на специфічний антиген передміхурової залози (PSA), спостерігати дію сполуки (I) на серологічний біомаркер метастазу в кістках і надає можливість одержати фармакокінетичні характеристики сполуки (I) у хворих на метастатичний рак передміхурової залози.

Спосіб

Хворі на рак передміхурової залози, у яких були задокументовані метастази (підтверджені скануванням кісток протягом 3-х місяців від початку дослідження), можуть використовуватися для цього дослідження. Сполука (I) може вводитися перорально один раз на добу у вигляді таблеток. Як початкову дозу можна використовувати 120мг. Пацієнтів можна піддавати дослідженню медикаментозного лікування протягом 28 або днів доти, поки не з'являються критерії, за якими потрібно припинити лікування. Кожен рівень доз може вводитися трьома новим суб'єктам з метастатичним раком передміхурової залози.

Формальну оцінку переносимості можна здійснити в кожного суб'єкта через один тиждень введення сполуки (I). Підвищення дози можна здійснити, якщо два суб'єкти з будь-якої групи не відчувають токсичності, яка обмежує дозу (DLT), через один тиждень безперервного введення сполуки (I). Дозу можна збільшувати шляхом підвищення її в два рази на кожному етапі. Якщо в одного суб'єкта при конкретному рівні дози виявляється DLT, тоді для того, щоб здійснити підвищення дози на наступний рівень, у двох

інших суб'єктів при такому ж рівні дози не повинно спостерігатися DLT.

Суб'єкти можуть продовжувати лікування протягом 28 днів, поки не з'являться критерії, за якими потрібно припинити лікування. Якщо мінімум у двох суб'єктів у будь-якій групі при введенні певної дози виявляється, що вона погано переносима в будь-який час після введення, то підвищення дози припиняють і остаточна доза перед цією вважається максимальною добре переносимою дозою MWTD.

Можуть спостерігатися наступні результати:

- сфера поширення і тяжкість побічних дій;
- концентрація PSA (загальна і співвідношення вільного до загального) через 1, 2 і 4 тижня в суб'єктів, підданих лікуванню сполукою (I);

- зміна концентрації PSA (загальної і співвідношення вільного до загального) перед введенням сполуки (I) і через 1, 2 і 4 тижні після введення сполуки (I);

- зміна концентрації в сироватці маркера, задіяного в метастазуванні в кістках (лужної фосфатази кістки), перед введенням сполуки (I) відносно значень через 1, 2 і 4 тижні після введення сполуки (I); і

- концентрації в плазмі сполуки (I) і її зміна після введення в разовій дозі і багаторазових дозах у стабільному стані.

Дослідження ослаблення болю

Аналгезивна дія сполуки (I) може бути оцінена, наприклад, на мишиній моделі болю при злоякісному новоутворенні, описаній [Wasnik і ін., Journal of Neuroscience (2001), 21, 9355].

В подальшому варіанті здійснення даного винаходу сполука (I) або її фармацевтично прийнятну сіль вводять у клітину або особині перед розвитком злоякісного новоутворення. Наприклад, особина з ризиком розвитку злоякісного новоутворення може піддаватися лікуванню сполукою (I) або її фармацевтично прийнятною сіллю для запобігання або інгібування розвитку злоякісного новоутворення і/або для запобігання розвитку метастаз.

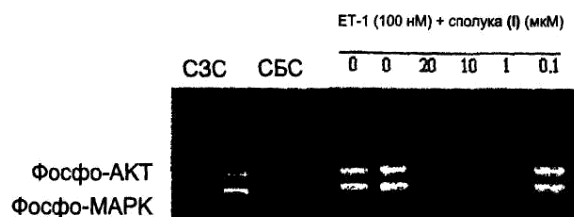
Сполука (I) або її фармацевтично прийнятна сіль може вводитися з терапевтичною або профілактичною метою теплокровній тварині, такий як людина, способами, відомими в даній галузі. Введення можна здійснювати безпосередньо в пухлину, або, переважно, системним способом.

Сполука (I) або її фармацевтично прийнятна сіль може вводитися з терапевтичною або профілактичною метою теплокровній тварині, такий як людина, у вигляді звичайних фармацевтичних композицій. Композиція може знаходитися у формі, яка придатна для перорального введення, наприклад, у вигляді таблетки або капсули, для парентерального введення (включаючи внутрішньовенне, підшкірне, внутрішньом'язове, внутрішньосудинне введення або інфузію) у вигляді стерильного розчину, суспензії або емульсії, для місцевого введення у вигляді мазі або паст, або для ректального введення у вигляді супозиторію. Загалом, вищенаведені композиції можуть бути приготовлені звичайним способом при використанні звичайних наповнювачів. Наприклад, лікарська форма у вигляді таблетки

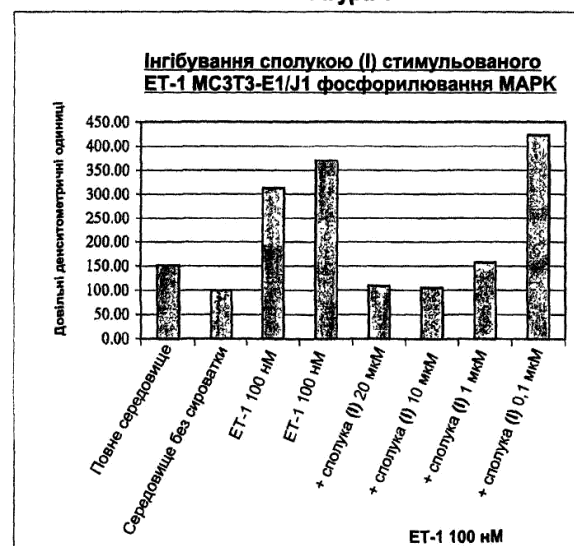
може бути приготовлена на основі сполуки (I), використовуючи наступні наповнювачі

сполука (I);
моногідрат лактози (наповнювач);
кроскармеллоза натрію (засіб, який розпадається);
повідон (в'яжуче);
стеарат магнію (змащувальна речовина);
гіпромелоза (компонент плівкового покриття);
поліетиленгліколь 300 (компонент плівкового покриття); і
діоксид титану (компонент плівкового покриття).

Кількість сполуки (I), яка вводиться, або її фармацевтично прийнятної солі повинна бути достатньою для забезпечення бажаної фармацевтичної дії. Наприклад, сполука (I) може вводитися теплокровній тварині перорально в стандартній дозі менше 1г щодня. Переважно сполука (I) може вводитися теплокровній тварині в стандартній дозі менше 250мг на день. В іншому варіанті здійснення винаходу сполука (I) може вводитися теплокровній тварині в стандартній дозі менше 130мг на день. В подальшому варіанті здійснення винаходу сполука (I) може вводитися теплокровній тварині в стандартній дозі менше 50мг на день.



Фігура 1



Фігура 2