



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113875** (13) **C2**
(51) МПК (2017.01)

A61K 9/06 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/4155 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 17/00
A61P 17/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2014 12609	(72) Винахідник(и): Агарвал Панкаж (US), Кумар Вінод (US), Се Цин (US)
(22) Дата подання заявки: 22.04.2013	(73) Власник(и): НОВАРТИС АГ, Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland (CH)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 27.03.2017	(74) Представник: Шпакович Тетяна Іванівна, реєстр. №240
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/637,390, 61/782,565	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2008098104 A1, 14.08.2008 WO 2010088331 A1, 05.08.2010 WO 2011146710 A1, 24.11.2011 WO 2011044414 A1, 14.04.2011 WO 2006027346 A2, 16.03.2006
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 24.04.2012, 14.03.2013	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US, US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.12.2014, Бюл.№ 24	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.03.2017, Бюл.№ 6	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/EP2013/058249, 22.04.2013	

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ СТЕРОЇДЗАЛЕЖНИХ ДЕРМАТОЗІВ

(57) Реферат:

Винахід належить до галузі медицини і стосується способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, що потребують цього, який включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі та N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі.

UA 113875 C2

ГАЛУЗЬ ВІНАХОДУ

Даний винахід відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавця, особливо людини, за допомогою введення сполуки, вибраної з групи, що складається з: N-
 5 { (1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, наприклад солі гідрохлориду; і N-
 { (1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі.

ПОПЕРЕДНІЙ РІВЕНЬ ТЕХНІКИ ВІНАХОДУ

10 N-
 { (1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксамід (далі в даному описі як сполука А) являє собою сполуку, яка описана і заявлена, разом з її фармацевтично прийнятними солями, як застосовні в лікуванні раку та артриту, в міжнародній заявці № PCT/US08/053269, що має дату міжнародної подачі 7 лютого 2008; у міжнародній публікації номер WO 08/098104 і дата міжнародної публікації 14 серпня 2008 (сполука прикладу 96). Повний вміст яких включений у вигляді посилання.

15 Кристалічна сіль гідрохлорид сполуки А: гідрохлорид N-
 { (1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду (далі в даному описі сполука В) являє собою сполуку, яка описана і заявлена, як застосовна в лікуванні раку та артриту в міжнародній заявці № PCT/US2010/022323, що має дату міжнародної подачі 28 січня 2010; міжнародній публікації номер WO 2010/088331 і дата міжнародної публікації 5
 20 серпня 2010. Повний вміст яких включений у вигляді посилання.

N-
 { (1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксамід, або його фармацевтично прийнятна сіль (далі в даному описі сполука С) являє собою сполуку, яка описана і заявлена, як застосовна в лікуванні раку та артриту, в міжнародній заявці № PCT/US08/053269, що має дату міжнародної подачі 7 лютого 2008; міжнародній публікації номер WO 08/098104 і дата міжнародної публікації 14 серпня 2008 (сполука прикладу 224).

Відповідно, даний винахід стосується нового терапевтичного застосування сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, відповідно нового терапевтичного застосування сполуки В, відповідно нового терапевтичного застосування сполуки С.

СУТЬ ВІНАХОДУ

Даний винахід відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з групи, що складається з: N-
 35 { (1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, і N-
 { (1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки гідрохлориду N-
 40 { (1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду, де сполуку застосовують місцево.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-
 45 { (1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, де сполуку застосовують місцево.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-
 50 { (1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду, де сполуку застосовують місцево.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-
 55 { (1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, де сполуку застосовують місцево.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-
 { (1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-

хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду, де сполуку застосовують місцево.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, де сполуку вводять перорально.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-((1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, де сполуку вводять перорально.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, де сполуку вводять парентерально.

Даний винахід також відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, який включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки N-((1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі, де сполуку вводять парентерально.

У даний винахід включені фармацевтичні композиції, що містять фармацевтичний носій і сполуки, застосовні в способах за винаходом.

Також у даний винахід включені способи спільного введення сполук, застосовних у способах за винаходом з додатковими активними інгредієнтами.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Даний винахід відноситься до способів лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, що потребують цього, які включають введення такому ссавцеві терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з групи, що складається з: N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду (сполука А) або його фармацевтично прийнятної солі, і N-((1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі. Відповідно фармацевтично прийнятною сіллю сполуки А є сіль гідрохлорид або гідрохлорид N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду (сполука В).

Стероїдзалежними дерматозами є дерматологічні захворювання, які відповідають на місцеве лікування кортикостероїдами. Специфічні стероїдзалежні дерматози можна лікувати відповідно до даних способів за винаходом. Відповідно винахід відноситься до способу лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, де дерматози вибирають з: контактного дерматиту, екземи, дитячої екземи, атопічного дерматиту, іхтіозу, псоріазу, ксеродермії, себорейного дерматиту, монетовидного дерматиту, герпетиформного дерматиту, нейродерміту, застійного дерматиту, хронічного простого лишая, мікотичного дерматиту, кандидозу, попрілості, корости, рожевого лишая, плескатоного лишая, червоного волосистого лишая, бульозного пемфігоїду, пітніці, гострої і хронічної екземи, червоного вовчаку, фотоалергічних реакцій, свербіння та їх комбінацій.

Відповідно дерматози вибирають з: контактного дерматиту, екземи, дитячої екземи, атопічного дерматиту, псоріазу, себорейного дерматиту, монетовидного дерматиту, герпетиформного дерматиту, нейродерміту, статичного дерматиту, мікотичного дерматиту, гострої екземи та хронічної екземи.

Відповідно, дерматози вибирають з: екземи, атопічного дерматиту й псоріазу.

Відповідно дерматозом є: псоріаз.

Стероїдзалежні дерматози, які лікують способами за даним винаходом, можуть мати безліч причин. Декілька необмежуваних прикладів таких причин включають гіперчутливість, опосередкованість IgE, анти-мембранні антитіла, захворювання імунних комплексів, клітинний імунітет та їх комбінації.

Стероїдзалежні дерматози також можуть бути викликані пошкодженням тканини ссавців, що мають дерматози. Декілька необмежуваних прикладів таких пошкоджень включають фізичне пошкодження, хімічне пошкодження, пошкодження чинниками довкілля, місцеве пошкодження, внутрішнє пошкодження та їх комбінації.

Стероїдзалежні дерматози можуть бути вторинною фізіологічною відповіддю на первинне захворювання. Декілька необмежуваних прикладів таких первинних захворювань, що викликають стероїдзалежні дерматози, включають інфекцію, алергічну відповідь, гіперпроліферативні стани, імунологічні розлади, метаболічні розлади, відповіді, індуковані лікарськими засобами, розлад, пов'язаний з відповідною або патологічною функцією органу, та їх комбінації.

Способи та композиції за винаходом є застосовними в лікуванні стероїдзалежних дерматозів незалежно від причини захворювання.

Псоріаз являє собою захворювання, опосередковане Т клітинами, яке характеризується присутністю ефекторних клітин пам'яті (CD45RO+), і підвищеною проліферацією і зниженням диференціюванням кератиноцитів у ділянках пошкодження шкіри (Schon and Boehncke. N Engl J Med. 2005). Відповідно, винахід відноситься до способу лікування псоріазу.

Терміном "лікування" і його похідними, як використовується в даному описі, позначають профілактичну або лікувальну терапію. Профілактична терапія застосовується, наприклад, коли передбачають, що пацієнт має високий ризик розвитку стероїдзалежних дерматозів, наприклад, коли пацієнт має в родинному анамнезі стероїдзалежні дерматологічні захворювання, або коли у пацієнта в анамнезі мали місце повторювані або сезонні стероїдзалежні дерматологічні захворювання.

Профілактичне застосування сполуки за даним винаходом передбачається завжди, коли у пацієнта є декілька причинних чинників. Профілактичне застосування способів за даним винаходом включає, без обмеження, лікування пацієнта з повторюваними або сезонними стероїдзалежними дерматологічними захворюваннями в анамнезі до діагностики захворювання.

Фразами "в терапевтичній мірі", "лікування" і "терапевтично ефективна кількість" і їх похідними, як використовується в даному описі, якщо не вказано інакше, означають, що сполука А або її фармацевтично прийнятна сіль, або сполука В, або сполука С, які викликають біологічну або медичну відповідь тканини, системи, ссавця або людини, яка чекає, наприклад, дослідник або клініцист. Більш того, термін "терапевтично ефективна кількість" позначає будь-яку кількість, яка при порівнянні з відповідним пацієнтом, який не отримував такої кількості, приводить до поліпшення лікування, загосення, запобігання, зниження тяжкості або полегшення стероїдзалежних дерматозів.

Як вказано вище, відомо, що стероїдзалежні дерматози мають безліч причинних чинників. Даний винахід відноситься до лікування стероїдзалежних дерматозів, незалежно від чинника або чинників, що викликають стан. Фармацевтично активні сполуки за даним винаходом також є застосовними в лікуванні стероїдзалежних дерматозів, особливо псоріазу, коли причинний чинник або чинники стану невідомі або ще не були ідентифіковані.

Досвідчений лікар здатний визначити відповідну ситуацію, в якій пацієнти страждають від або можуть страждати на стероїдзалежні дерматози, особливо псоріазу, за допомогою застосування способів за даним винаходом.

Певні сполуки, описані в даному описі, можуть містити один або більш хіральних атомів, або можуть іншим чином бути здатними існувати у вигляді двох енантіомерів. Відповідно, сполуки за даним винаходом включають суміші енантіомерів, а також очищені енантіомери або енантіомерно збагачені суміші. Також, розуміють, що всі таутомери і суміші таутомерів включені в рамки сполук за винаходом.

Певні сполуки, описані в даному описі, можуть утворювати сольват, який розуміють як комплекс змінних, стехіометрично утворених розчиною речовиною (наприклад, сполукою А або її фармацевтично прийнятною сіллю) і розчинником. Такі розчинники для цілей винаходу не повинні впливати на біологічну активність розчиною речовини. Приклади придатних розчинників включають, без обмеження, воду, метанол, етанол та оцтову кислоту. Переважно використовуваним розчинником є фармацевтично прийнятний розчинник. Приклади придатних фармацевтично прийнятних розчинників включають, без обмеження, воду, етанол та оцтову кислоту. Відповідно, використовуваним розчинником є вода.

Фармацевтично прийнятні солі сполук за винаходом легко отримують фахівці в галузі техніки.

Лікування стероїдзалежних дерматозів, як описано в даному описі, здійснюється за допомогою введення сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, або сполуки В, або сполуки С, і не обмежується яким-небудь певним механізмом дії.

Відносно лікування стероїдзалежних дерматозів, терміном "спільне введення" і його похідні, як використовується в даному описі, позначають або одночасне введення або будь-який варіант окремого послідовного введення сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, або сполуки В, або сполуки С і додаткового активного інгредієнта або інгредієнтів, відомих як застосовні в

лікуванні стероїдзалежних дерматозів. Термін додатковий активний інгредієнт або інгредієнти, як використовується в даному описі, включає будь-яку сполуку або терапевтичний засіб, який демонструє переважні властивості при введенні пацієнтові, що потребує лікування стероїдзалежних дерматозів. Переважно, якщо введення не є одночасним, сполуки вводять близько за часом відносно одна одної. Більш того, не обов'язково вводити сполуки в одній стандартній лікарській формі, наприклад, одну сполуку можна вводити місцево і іншу сполуку можна вводити перорально.

Зазвичай будь-які засоби, які мають активність відносно стероїдзалежних дерматозів, які лікують, можуть вводитися спільно в лікуванні стероїдзалежних дерматозів за даним винаходом.

Даний винахід відноситься до застосування сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, сполуки В, і сполуки С протягом стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людей.

Здатність сполук за винаходом лікувати стероїдзалежні дерматози демонструють по активності в наступному аналізі.

Аналіз №1

Скринінг з високою пропускнуою здатністю використовували для порівняння варіантів експресії мРНК у шкірі пацієнтів з псоріазом (клінічні зразки) і нормальній людській шкірі (клінічні зразки) і асоціювали відмінності з ефектами фармацевтично активних сполук. Скринінг зазвичай відповідає методиці Lamb et al., Science 313, 1929 (2006).

Загальний вигляд протоколу експерименту показаний нижче.

Загальний протокол експерименту

Посів клітин: День 1

Клітини вирощували в культурі протягом близько 24 годин для отримання T-225 колби MCF7, які легко посіяти для аналізу.

Середовище для зростання аспірували з клітин.

Моношар клітин промивали однократно 10-15 мл DPBS, потім аспірували.

Додавали 2 мл 0,05 % трипсин-EDTA, і колбу нахилили для покриття дна. Колбу інкубували при 37°C протягом ~2 хвилин для дисоціації клітин.

Дисоційовані клітини збирали з культуральним середовищем ~10 мл/колбу.

Суспензії зібраних клітин об'єднували і ресуспендували для отримання гомогенної суспензії.

Суспензію ділили на приблизно 1×10^6 клітин на лунку.

Клітини об'єднували і ресуспендували в свіжому культуральному середовищі до 1×10^6 клітин/2 мл середовища.

2 мл відрегульованої суспензії клітин вводили в кожну лунку 6-лункових планшетів.

6-лункові планшети інкубували протягом ночі при приблизно 37°C: 5 % CO₂.

Обробка сполукою: День 2 (AM)

Аналітичному блоку, що містить 3 мкл 10 мМ сполуки (дрібна молекула) /лунку, дозволяли повернутися до кімнатної температури.

Культуральне середовище нагрівали до 37°C.

600 мкл культурального середовища додавали до кожної лунки аналітичного блоку (що містить 3 мкл 10 мМ сполуки). (=200× розведення).

Проміжне розведення потім складало 50 мкМ.

500 мкл проміжного розведення переносили безпосередньо на клітини в 6-лункових планшетах (у 2 мл) з попереднього дня. (=5× розведення)

Після цього клітини містили на собі 2,5 мл середовища. Кінцева концентрація сполуки потім складала 10 мкМ, кінцева концентрація DMSO потім складала 0,1 %.

Оброблені клітини потім повертали в інкубатор і відмічали час обробки.

Як приклад, якщо кінцева концентрація обробки дещо відрізнялася від 10 мкМ, вихідний розчин спочатку необхідно відрегулювати в DMSO, так аби 1000× розведення все ще доставляло остаточно 0,1 % DMSO. Наприклад, досліджувана сполука в 1 мкМ кінцевої концентрації повинна містити 1 мМ вихідної сполуки в 100 % отриманому DMSO, потім 3 мкл в 600 мкл середовища і 500 мкл на 2 мл стадії будуть однаковими.

Альтернативно, пептид або не-DMSO вихідну сполуку необхідно розводити в 600 мкл середовища, в якому розчиняли 3 мкл DMSO.

Забір зразка: День 2 (PM)

Отримували свіжий буфер RLT (QIAGEN) +2-Me.

Після 6 годин обробки 6-лункові планшети прибирали з інкубатора.

Тестовану сполуку аспірували з клітинного моношару.

350 мкл буфера RLT додавали на лунку.

Клітини відскрібали і вміст кожної лунки переносили у відповідно помічену мікроцентрифужну пробірку.

Заморожували і зберігали зразки при -80°C.

Профілювання РНК та отримання даних

5 Заморожені зразки транспортували в Expression Analysis, Inc. Durham NC (EA) для отримання даних профілювання РНК. Для отримання повних геномних профілів експресії РНК зразки обробляли відносно очищення і гібридизації РНК з IlluminaHT-12-V4 Expression BeadChips. Первинні дані профілювання РНК, отримані з EA, додатково аналізували для отримання переліку генів, побудованого по змінах експресії мРНК, індукованих сполукою.

10 Загалом, аналіз отриманих зразків складається із отримання оцінки збагачення між необхідним захворюванням і кожним профілем експресії, специфічним для сполуки, з використанням непараметричного, рангового зіставлення зразків на підставі статистики Колмогорова-Смирнова Subramanian et al. Proc.Natl.Acad.Sci. Vol. 102 № 43 15,545-15550 (2005). Достовірність певної групи сполук, що цікавлять, оцінювали за значенням підставленого р. Результати аналізу 1 для сполук С і В представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Результати аналізу CMap з використанням характеристик захворювання псоріазу відносно профілів сполуки, отриманих від клітин MCF7, оброблених сполуками С і В

Сполука	Значення р	Специфічність	n	Середній бал CMap	Оцінка збагачення	Розподіл балу CMap	Конц. сполуки	Тип клітин
С	0	0,0104	6	-0,1867	-0,8835	(-0,17-0,17 -0,17-0,20 -0,20-0,21)	10 мкМ	MCF7
В	0,013	0,2304	3	-0,1633	-0,8121	(-0,13-0,16 -0,20)	10 мкМ	MCF7

На підставі результатів вищезгаданого аналізу, сполуки В і С створювали ряд змін експресії генів, які негативно корелювали із змінами експресії генів, спостережуваними при псоріазі, демонструючи обґрунтування їх застосування при псоріазі та інших стероїдзалежних дерматозах.

Аналіз №2

Загальну методику аналізу №1 повторювали із сполукою С із заміною первинними кератиноцитами. Первинні кератиноцити купували в Zen-Bio, Inc. і вирощували в середовищі для зростання дорослих людських кератиноцитів Zen-Bio, Inc. (номер за каталогом КМ-2).

Слідуючи загальній методиці аналізу №1 для дня 1, кератиноцити, посіяні на колби T225, трипсинізували і ресуспендували в 17,4 мл середовища КМ-2. Потім клітини сіяли в 6-лункові планшети з $0,5 \times 10^6$ клітин на лунку у всього 4 мл середовища КМ-2.

30 Слідуючи загальній методиці аналізу №1 для дня 2, кератиноцити обробляли сполукою з кінцевими концентраціями 1 мкМ і 10 мкМ протягом 6 годин. Середовище КМ-2, що містить тестовану сполуку, аспірували з моношару клітин. На лунку додавали 350 мкл буфера RLT, вміст кожної лунки відшкрябували і переносили у відповідно мічені мікроцентрифужні пробірки. Зразки заморожували і зберігали при -80°C.

35 Подальшу обробку зразка, очищення РНК і гібридизацію з кристалами для мікроматричного аналізу проводили за допомогою Expression Analysis, Inc. Durham NC (EA). Вихідні дані, отримані з EA, додатково аналізували для отримання списку генів, ранжованих по змінах експресії мРНК, індукованих сполукою. Результати аналізу 2 для сполуки С показані в таблиці 2.

Таблиця 2

Результати СМар аналізу з використанням характеристик захворювання псоріазу відносно профілів сполук, отриманих від кератиноцитів, оброблених сполукою С

Сполука	Вихідний бал	Оцінка за шкалою	Ks верх	Ks низ	День	Конц. сполуки	Тип клітин
С	-0,332382	-0,6723	-0,22	0,112	1	1 мкМ	кератиноцит
С	-0,420439	-0,85041	-0,248	0,172	2	1 мкМ	кератиноцит
С	- 0,262476	-0,530904	-0,139	0,124	3	1 мкМ	кератиноцит
С	-0,325131	-0,657634	-0,213	0,112	1	10 мкМ	кератиноцит
С	-0,41045	-0,830207	-0,296	0,115	2	10 мкМ	кератиноцит
С	-0,355069	-0,718188	-0,241	0,114	3	10 мкМ	кератиноцит

На підставі результатів вищезгаданого аналізу №2, сполука С створювала ряд змін експресії генів, які негативно корелювали з рядом змін експресії генів, спостережуваних при псоріазі, демонструючи обґрунтування для їх застосування при псоріазі та інших стероїдозалежних дерматозах.

Клінічні результати

Сполука С знаходилася в людських клінічних дослідженнях по лікуванню раку. У дослідженні PCS113124, пацієнт 1200 увійшов з легкими бляшками псоріазу, які загалом стали кращими і навіть зникли під час лікування сполукою С.

Більш того, аналізи, застосовні для ідентифікації сполук, які проявляють терапевтичну активність при псоріазі, добре відомі фахівцям в галузі техніки. Вказані аналізи також є застосовними в підтвердженні того, що сполука А або її фармацевтично прийнятна сіль, сполука В, і сполука С є застосовними в лікуванні псоріазу та інших стероїдозалежних дерматозів.

Багато існуючих варіантів лікування стероїдозалежних дерматозів, особливо стероїдне лікування, є токсичними для пацієнта та/або відомими як такі, що викликають небажані явища, включаючи нечіткий зір, ореоли довкола світлових плям, нерегулярне серцебиття, безсоння, зміни настрою, збільшення маси тіла, слабкість, почервоніння, утворення бульбашок, опіки, свербіння, лущення, стоншування шкіри та стрії. Такі небажані явища особливо поширені у дітей. Однією перевагою сполук за винаходом є те, що сполуки є нестероїдними сполуками і не асоційовані з небажаними явищами стероїдних сполук. Така перевага в лікуванні стероїдозалежних дерматозів може бути реалізована, коли сполуку А або її фармацевтично прийнятну сіль, сполуку В, або сполуку С, вводять окремо або спільно з іншим засобом для лікування стероїдозалежних дерматозів.

Даний винахід отже забезпечує спосіб лікування стероїдозалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину, де дерматологічне захворювання вибирають з групи, що складається з: контактного дерматиту, екземи, дитячої екземи, atopічного дерматиту, іхтіозу, псоріазу, ксеродермії, себореїного дерматиту, монетовидного дерматиту, герпетичного дерматиту, застійного дерматиту, хронічного плескатої лишая, мікотичного дерматиту, кандидозу, попрілості, корости, рожевого лишая, червоного плескатої лишая, червоного волосистого лишая, бульозного пемфігоїду, пітніці, гострої і хронічної екземи, червоного вовчаку, фотоалергічних реакцій, свербіння і їх комбінацій, який включає введення ефективної кількості сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, або сполуки В, або сполуки С, ссавцеві, включаючи людину, що потребує цього.

У іншому варіанті здійснення винаходу людиною є пацієнт дитина.

Сполуки за винаходом можна вводити пацієнтові, що потребує цього, за допомогою будь-якого звичайного шляху введення, включаючи, без обмеження, місцевий, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, пероральний, підшкірний, внутрішньошкірний та парентеральний. Відповідно, сполуки за винаходом наносять місцево. При використанні в комбінації кожну активну сполуку можна вводити окремо або разом. Сполуки можна вводити місцево або в комбінації одна з одною, або послідовно у будь-якому порядку. Наприклад, першу активну сполуку можна вводити з подальшою другою активною сполукою. В іншому варіанті здійснення винаходу, щонайменше, одну активну сполуку можна вводити шляхом, відмінним від іншої сполуки(сполук). Наприклад, першу активну сполуку можна застосовувати місцево і другу активну сполуку можна вводити перорально, і ін.

Сполуки за даним винаходом включають в звичайні лікарські форми, як-от місцеві композиції, капсули, таблетки або ін'єкційні препарати. Використовують тверді або рідкі фармацевтичні носії. Тверді носії включають крохмаль, лактозу, дигідрат сульфату кальцію, сульфат кальцію, сахарозу, тальк, желатин, агар, пектин, гуміарабік, стеарат магнію й стеаринову кислоту. Рідкі носії включають сироп, арахісове масло, оливкове масло, сольовий розчин та воду. Схожим чином носій або розчинник можуть включати будь-який матеріал пролонгованого вивільнення, як-от гліцерилмоностеарат або гліцерилдистеарат, окремо або з воском. Кількість твердого носія варіюється широко, але переважно складає від близько 25 мг до близько 1 г на стандартну лікарську форму. Коли використовують рідкий носій, препарат зазвичай знаходиться у формі сиропу, еліксиру, емульсії, м'яких желатинових капсул, стерильної ін'єкційної рідини, як-от ампула, або водної або неводної рідкої суспензії.

Фармацевтичні препарати отримують, слідуючи звичайним методикам фармацевтичної хімії, що включають перемішування, гранулювання й пресування, коли необхідно у формі таблеток, або перемішування, наповнення і розчинення інгредієнтів, якщо необхідно, для отримання бажаних пероральних або парентеральних продуктів.

Відповідно, сполуки за винаходом застосовують місцево. Фармацевтичні композиції, адаптовані для місцевого застосування, можуть бути рецептовані як мазі, креми, суспензії, лосьйони, порошки, розчини, пасти, гелі, спреї, аерозолі або масла.

Кількість активного інгредієнта, необхідна для терапевтичного ефекту при місцевому застосуванні, буде, звичайно варіюватися залежно від вибраної сполуки, природи і тяжкості патологічного стану, який лікують, і ссавця, що лікується, і кінець кінцем від вирішення лікаря. Відповідна доза кожного активного інгредієнта може незалежно складати від близько 0,5 мг до 500 мг для місцевого застосування, відповідно від 1 мг до 100 мг, наприклад від 2 до 25 мг, що вводяться від одного до шести раз на день, відповідно від одного до трьох раз на добу.

Під місцевим введенням позначають несистемне введення і воно включає зовнішнє нанесення активного інгредієнта на епідерміс, ділянку щоки і інстиляції вказаної сполуки у вухо, очі й ніс, і коли сполука істотно не проникає в кровотік, відповідно за допомогою нанесення активного інгредієнта на епідерміс. Під системним введенням позначають пероральне, внутрішньовенне, інтраперитонеальне й внутрішньом'язове введення.

Тоді як можливо вводити активний інгредієнт окремо у вигляді вихідної хімічної речовини, переважно представляти її у вигляді фармацевтичної композиції. Кожен активний інгредієнт може включати для місцевого введення від 0,001 % до 10 % мас/мас, наприклад, від 1 % до 2 % по масі композиції, хоча він може складати настільки багато як 10 % мас/мас, але переважно не перевершує 5 % мас/мас і переважніше від 0,1 % до 1 % мас/мас композиції.

Місцеві композиції за даним винаходом і для ветеринарного і для людського медичного застосування включають активний інгредієнт разом з одним або прийнятнішим носієм(ями) і необов'язково будь-яким іншим терапевтичним інгредієнтом(ами). Носій(і) має бути 'прийнятним' у сенсі сумісним з іншими інгредієнтами композиції і не шкідливим для реципієнта.

Композиції, придатні для місцевого застосування, включають рідкі або напіврідкі препарати, придатні для проникнення через шкіру в місці запалення, як-от лініменти, лосьйони, креми, мазі або пасти.

Лосьйони відповідно до даного винаходу включають такі, придатні для нанесення на шкіру або очі. Лосьйон для очей може включати стерильний водний розчин, що необов'язково містить бактерицидну речовину, і може бути отриманий способами, схожими з такими для отримання крапель. Лосьйони або лініменти для нанесення на шкіру також можуть включати засіб для прискорення висихання і охолодження шкіри, як-от спирт або ацетон, та/або зволожувач, як-от гліцерин, або олія, як-от рицинова олія або арахісова олія.

Креми, мазі або пасти за даним винаходом являють собою напівтверді композиції активного інгредієнта для зовнішнього застосування. Вони можуть бути отримані шляхом змішування активного інгредієнта в дрібно подрібненій або порошкоподібній формі, окремо або в розчині або суспензії у водній або неводній рідині, за допомогою відповідного устаткування, з маслянистою або немаслянистою основою. Основа може включати вуглеводні, як-от твердий, м'який або рідкий парафін, гліцерин, бджолиний віск, віск, металеве мило; клей; олію натурального походження, таку як мигдалеву, кукурудзяну, арахісову, рицинову або оливкову олію; ланолін або його похідні або жирні кислоти, як-от стеаринова або олеїнова кислота разом із спиртом, як-от пропіленгліколь. Композиція може включати будь-яку придатну поверхнево-активну речовину, як-от аніонну, катіонну або неіонну поверхнево-активну речовину, як-от складні ефіри або їх похідні поліоксietилену. Також можуть бути включені суспендуючі засоби, як-от натуральні камеді, похідні целюлози або неорганічні матеріали, як-от кам'яні діоксиди кремнію і інші інгредієнти, як-от ланолін.

Пероральні дози сполук за винаходом у фармацевтичних стандартних лікарських формах будуть ефективними, нетоксичними кількостями, переважно вибраними з діапазону 0,001-100 мг/кг активної сполуки, переважно 0,001-50 мг/кг. При лікуванні пацієнта людини, що потребує лікування стероїдзалежних дерматозів, вибрану дозу вводять переважно 1-6 разів на добу.

Стандартні пероральні лікарські форми для введення людині відповідно містять від 0,05 до 350 мг, відповідно від 0,1 до 300 мг, відповідно від 5 до 250 мг активної сполуки.

Оптимальні дозування для введення легко можуть бути визначені фахівцем в галузі техніки і варіюються залежно від певної використовуваної сполуки, сили препарату, типу введення і вираженості патологічного стану. До необхідності корекції дози приводять додаткові чинники, залежні від певного пацієнта, який отримує лікування, включаючи вік пацієнта, масу тіла, харчування та час введення.

Спосіб лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людей, за даним винаходом, включає введення пацієнтові, що потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, сполуки В, або сполуки С.

Даний винахід відноситься до застосування сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, сполуки В, або сполуки С, в лікуванні стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину.

Даний винахід відноситься до застосування сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, сполуки В, або сполуки С *in vivo*, в лікуванні стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людину.

Винахід також забезпечує застосування сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, сполуки В, або сполуки С, в отриманні лікарського препарату для застосування в лікуванні стероїдзалежних дерматозів у ссавців, включаючи людей.

Винахід також забезпечує застосування сполуки А або її фармацевтично прийнятної солі, сполуки В, або сполуки С, в отриманні лікарського препарату для застосування в терапії.

Винахід також забезпечує фармацевтичну композицію для застосування в лікуванні стероїдзалежних дерматозів, яка включає сполуку А або її фармацевтично прийнятну сіль, сполуку В, або сполуку С, і фармацевтично прийнятний носій.

Крім того, фармацевтично активні сполуки за даним винаходом можуть вводитися спільно з додатковими активними інгредієнтами, як-от інші сполуки, відомі для лікування стероїдзалежних дерматозів.

Вважають, що фахівець в галузі техніки може без подальших розробок з використанням попереднього опису використовувати даний винахід найбільшою мірою. Наступні приклади отже, розцінюються як чисто ілюстративні і необмежуючі рамки даного винаходу яким-небудь чином.

Деталі експериментів

Приклад 1- Композиція капсули

Пероральну лікарську форму для застосування за даним винаходом отримують шляхом заповнення стандартної твердої желатинової капсули з двох частин інгредієнтами в пропорціях, показаних в таблиці 3 нижче.

Таблиця 3

Інгредієнти	Кількості
Гідрохлорид N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду	25 мг
Маніт	55 мг
Тальк	16 мг
Стеарат магнію	4 мг

Приклад 2 - Ін'єкційна парентеральна композиція

Ін'єкційну форму для застосування за даним винаходом отримують шляхом перемішування 1,5 % по масі: N-((1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду у 10 % за об'ємом пропіленгліколю у воді.

Приклад 3 - Композиція таблеток

Сахарозу, мікрокристалічну целюлозу і сполуку за винаходом, як показано в таблиці 4 нижче, змішували і гранулювали у вказаних пропорціях з 10 % розчином желатину. Вологі гранули просіювали, сушили, перемішували з крохмалем, тальком і стеариновою кислотою, потім просіювали і пресували в таблетку.

Таблиця 4

Інгредієнти	Кількості
Гідрохлорид N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду	20 мг
Мікрокристалічна целюлоза	30 мг
Сахароза	4 мг
Крохмаль	2 мг
Тальк	1 мг
Стеаринова кислота	0,5 мг

Приклад 4 - Місцева композиція №1

Стеариловий спирт (60 грамів) нагрівали до 80°C. Оливкову олію USP (940 грамів) нагрівали до тієї ж температури. При 80°C стеариловий спирт додавали до заздалегідь нагрітої оливкової олії. 20 грамів гліцерину, 20 грамів три-стеарину, 1 грам антиоксидантної суміші додавали при перемішуванні. 1 грам N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду додавали і суміш вливали в контейнери (25 грамів пробірки) і дозволяли спонтанно остигнути. При охолоджуванні суміші до температури довшілля вона поступово ставала напівтвердою.

Приклад 5 - Місцева композиція №2

Бегеніловий спирт (10 грамів) нагрівали до 80°C. Легке парафінове масло (90 грамів) нагрівали до тієї самої температури. При 80°C бегеніловий спирт додавали до заздалегідь нагрітого масла. Додавали один грам гідрохлориду N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду і суміш розливали в контейнери (5 грамів пробірки) і дозволяли спонтанно остигнути. При охолоджуванні суміші до температури довшілля, вона поступово перетворювалася на напівтверду речовину.

Приклад 6 - Місцева композиція №3

Бегенову кислоту (10 грамів) нагрівали до 80°C. Легке парафінове масло (90 грамів) нагрівали до вказаної температури. При 80°C, бегенову кислоту додавали до заздалегідь нагрітого масла. Десять грамів гліцерину, 10 грамів тристеарину і 1 грам антиоксидантної суміші додавали при перемішуванні. Додавали 1 грам N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду і суміш розливали в контейнери (5 грамів пробірки) і дозволяли спонтанно остигнути. При охолоджуванні суміші до температури довшілля, вона поступово перетворювалася на напівтверду речовину.

Приклад 7 - Місцева композиція №4

12-гідроксистеаринову кислоту (10 грамів) нагрівали до 80°C. Легке парафінове масло (90 грамів) нагрівали до тієї самої температури. При 80°C 12-гідроксистеаринову кислоту додавали до заздалегідь нагрітого масла. Десять грамів гліцерину, 10 грамів тристеарину та 1 грам антиоксидантної суміші додавали при перемішуванні. Додавали 2,4 грама гідрохлориду N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду і суміш розливали в контейнери (10 грамів пробірки) і дозволяли спонтанно остигнути. При охолоджуванні суміші до температури довшілля, вона поступово перетворювалася на напівтверду речовину.

Тоді як переважні варіанти здійснення винаходу проілюстровані вище, розуміють, що винахід не обмежений точними інструкціями, описаними в даному описі, і що зберігається право на будь-які модифікації, що підпадають у рамки наступної формули винаходу.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб лікування стероїдзалежних дерматозів у ссавця, що потребує цього, який включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з: N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі; і N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі вказаному ссавцеві.

2. Спосіб за п. 1, де сполукою, що вводять, є N-{{(1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксамід або його фармацевтично прийнятна сіль.

3. Спосіб за п. 1 або 2, де сполукою, що вводять, є гідрохлорид N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду.
4. Спосіб за п. 1, де сполукою, що вводять, є N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксамід.
- 5 5. Спосіб за п. 1, де сполукою, що вводять, є N-((1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксамід.
6. Спосіб за п. 1, де сполукою, що вводять, є N-((1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксамід або його фармацевтично прийнятна сіль.
- 10 7. Спосіб за будь-яким з пп. 1-6, де стероїдзалежні дерматози вибрані з групи, яка складається з: контактного дерматиту, екземи, дитячої екземи, atopічного дерматиту, іхтіозу, псоріазу, ксеродерми, себореїного дерматиту, монетовидного дерматиту, герпетиформного дерматиту, нейродерміту, застійного дерматиту, хронічного простого лишая, мікотичного дерматиту, кандидозу, попрілості, корости, рожевого лишая, червоного плескатоного лишая, червоного волосистого лишая, бульозного пемфігоїду, пітниць, гострої і хронічної екземи, червоного вовчаку, фотоалергічних реакцій, свербіння та їх комбінацій.
- 15 8. Спосіб за п. 7, де стероїдзалежним дерматозом є псоріаз.
9. Спосіб за будь-яким з пп. 1-8, де сполуку вводять перорально.
10. Спосіб за будь-яким з пп. 1-8, де сполуку застосовують місцево.
- 20 11. Спосіб за будь-яким з пп. 1-10, де ссавцем є людина.
12. Застосування N-((1S)-2-аміно-1-[(3-фторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-тіофенкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі в отриманні лікарського препарату для застосування у лікуванні стероїдзалежних дерматозів.
- 25 13. Застосування N-((1S)-2-аміно-1-[(3,4-дифторфеніл)метил]етил}-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1H-піразол-5-іл)-2-фуранкарбоксаміду або його фармацевтично прийнятної солі в отриманні лікарського препарату для застосування у лікуванні стероїдзалежних дерматозів.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601