

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035288**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.05.25

(21) Номер заявки
201390031

(22) Дата подачи заявки
2011.07.27

(51) Int. Cl. *A61K 31/37* (2006.01)
A61K 31/35 (2006.01)
A61K 31/34 (2006.01)
C07D 311/30 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **МОДИФИКАТОРЫ АРИЛУГЛЕВОДОРОДНОГО РЕЦЕПТОРА (AhR) В КАЧЕСТВЕ
НОВЫХ ПРОТИВОРАКОВЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ**

(31) **61/368,042**

(32) **2010.07.27**

(33) **US**

(43) **2013.05.30**

(86) **PCT/US2011/045526**

(87) **WO 2012/015914 2012.02.02**

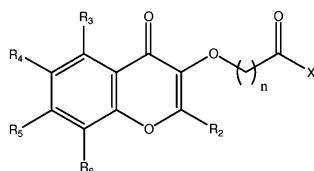
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ТРАСТИС ОФ БОСТОН
ЮНИВЕРСИТИ; НОРСИСТЕРН
ЮНИВЕРСИТИ; БОСТОН
МЕДИКАЛ СЕНТЕР КОРПОРЕЙШН
(US)**

(56) **US-A-04065574
US-B2-7419992
US-B2-7569352
US-B2-7098376
US-B1-6346626
US-A1-2006-0142211**

(72) Изобретатель:
**Шерр Дэвид Х., Полластри Майкл,
Шлецингер Дженифер, Хай Молина
Сара, Шаус Скотт, Гигуере Джошуа
Роберт (US)**

(74) Представитель:
Лыу Т.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к средствам, которые модулируют активность AhR для применения в терапевтических композициях и их способах для ингибирования пролиферации злокачественных клеток и инвазии и метастазирования опухолевых клеток. Средства включают в себя ингибиторы AhR или неконститутивный агонист AhR формулы (Ia) для лечения рака

**B1****035288****035288****B1**

Область техники

В основном настоящее изобретение относится к композициям и способам модулирования активности AhR.

Правительственная поддержка

Настоящее изобретение было подготовлено при правительственной поддержке согласно контрактам №№ ES 011624 и CA 134882, заключенным с Национальным институтом здравоохранения (NIH). Правительство обладает определенными правами на изобретение.

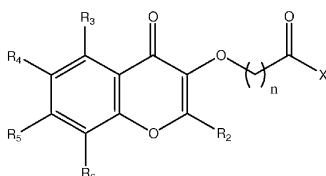
Уровень техники

Злокачественные опухоли остаются одной из самых смертоносных угроз здоровью человека. В США злокачественные опухоли ежегодно поражают приблизительно 1,3 миллиона новых пациентов, и они являются второй ведущей причиной смертности после заболевания сердца, являясь причиной приблизительно 1 из 4 смертей. Также прогнозируют, что злокачественные опухоли могут опередить сердечно-сосудистые заболевания в качестве первой причины смертности в следующем десятилетии. Сolidные опухоли ответственны за большинство из этих смертей. Несмотря на то, что были достигнуты существенные достижения в медицинском лечении определенных злокачественных опухолей, общий 5-летний коэффициент выживаемости для всех злокачественных опухолей был улучшен лишь приблизительно на 10% за последние 20 лет. Злокачественные опухоли, или злокачественные новообразования, метастазируют и быстро растут неконтролируемым образом, делая своевременное обнаружение и лечение чрезвычайно сложным.

В США стандартизированный по возрасту рост заболеваемости злокачественными опухолями молочной железы увеличивался на ~1% ежегодно с 1940 по 1990 гг. (27,28) и на 0,4% ежегодно с 1987 по 2002 гг. (29), частично вследствие возросшего воздействия канцерогенов окружающей среды. На сегодняшний день злокачественная опухоль молочной железы является второй наиболее распространенной злокачественной опухолью (после злокачественной опухоли кожи) у женщин, характеризуясь ежегодно 225000 новых случаев в США и 40000 летальных исходов, связанных со злокачественными опухолями молочной железы. По оценкам у 1 из 8 женщин, рожденных в этом году, будет диагностирована злокачественная опухоль молочной железы в течение жизни (34). Общее количество женщин с диагностированными злокачественными опухолями молочной железы, вероятно, значительно вырастет в течение следующих 20 лет, поскольку демографические показатели населения сдвигаются в направлении старения населения (34).

Сущность изобретения

В одном аспекте настоящее изобретение представляет собой фармацевтическую композицию для лечения рака, содержащую один или более фармацевтически приемлемых носителей, вспомогательных веществ или стабилизаторов и терапевтически эффективное количество модулятора арилуглеводородного рецептора (AhR) формулы (Ia)



где

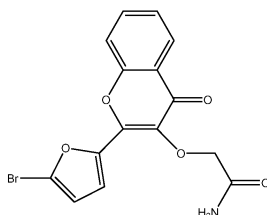
X' представляет собой H, C₁-C₆алкил, аминосульфони́л, C₁-C₆алкокси, amino, арил или 5-14-членный гетероарил, содержащий 1-9 гетероатомов, выбранных из N, O или S, каждый из которых необязательно замещен 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо; и где арил выбран из группы, состоящей из фенила, нафтила, антраценила, азуленила, флюоренила, инданила, инденила и тетрагидронафтила;

n равно 0-6;

R₂ представляет собой 5-14-членный гетероарил, содержащий 1-9 гетероатомов, выбранных из N, O или S, где 5-14-членный гетероарил необязательно замещен 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, C₁-C₆алкил или галоген; и его фармацевтически приемлемых солей или стереоизомеров.

В дополнительном аспекте модулятор AhR представляет собой CB 7993113, характеризующийся следующей химической структурой:



В дополнительном аспекте в формуле (Ia) X' представляет собой C₁-C₆алкил, C₁-C₆алкокси, amino или amino, замещенный 1-2 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

n равно 0-6;

R₂ представляет собой 5-14-членный гетероарил или 5-14-членный гетероарил, замещенный 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, галоген.

В дополнительном аспекте в формуле (Ia) X' представляет собой C₁-C₆алкил, C₁-C₆алкокси, amino или amino, замещенный 1-2 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

n равно 0 или 1;

R₂ представляет собой 5-14-членный гетероарил или 5-14-членный гетероарил, замещенный 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

R₃, R₄, R₅ и R₆ представляют собой H.

В дополнительном аспекте в формуле (Ia) 5-14-членный гетероарил R₂ замещен одним заместителем, выбранным из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо.

В дополнительном аспекте в формуле (Ia) 5-14-членный гетероарил R₂ замещен 1-4 заместителями, представляющими собой галоген.

В дополнительном аспекте в формуле (Ia) 5-14-членный гетероарил R₂ замещен одним галогеном.

В дополнительном аспекте в формуле (Ia) X' представляет собой C₁-C₆алкил или amino, замещенный 1-2 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

n равно 1,

R₂ представляет собой 5-14-членный гетероарил, замещенный 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

R₃, R₄, R₅ и R₆ представляют собой H.

В дополнительном аспекте в формуле (Ia)

X' представляет собой amino, замещенный 1 C₁-C₆алкилом,

n равно 1,

R₂ представляет собой 5-членный гетероарил, замещенный 1 галогеном;

R₃, R₄, R₅ и R₆ представляют собой H.

В другом аспекте изобретением является применение указанной выше композиции в качестве терапевтического средства для лечения рака.

В дополнительном аспекте изобретением является применение указанной выше композиции для лечения рака.

В дополнительном аспекте изобретением является применение указанной выше композиции для ингибирования инвазивности опухолевых клеток у больного раком.

В дополнительном аспекте рак выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, плоскоклеточного рака, рака легкого, рака брюшины, печеночно-клеточного рака, рака желудка, рака поджелудочной железы, глиобластомы, рака шейки матки, рака яичника, рака печени, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака толстой кишки, колоректального рака, эндометриальной или маточной карциномы, карциномы слюнной железы, рака почки, или ренального рака, рака предстательной железы, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака головы и шеи, В-клеточной лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL); острого лимфобластного лейкоза (ALL), волосатоклеточного лейкоза или хронического миелобластного лейкоза.

В дополнительном аспекте рак представляет собой рак молочной железы.

В дополнительном аспекте изобретением является применение указанной выше композиции для модулирования конститутивной активности AhR у субъекта, нуждающегося в этом.

Определения.

Для удобства здесь собраны определенные термины, используемые в настоящем документе в описании изобретения, примерах и приложенной формуле изобретения. Если иное не указано или не подразумевается контекстом, следующие термины и фразы предусматривают значения, представленные ниже. Если только иное четко не предусмотрено или не очевидно из контекста, термины и фразы ниже не исключают того значения, которое термин или фраза приобрели в настоящей области техники, к которой они принадлежат. Определения представлены для помощи в описании конкретных вариантов осуществления и не предусмотрены для ограничения заявленного изобретения, поскольку объем настоящего изобретения ограничивается только формулой изобретения. Если не определено иное, все используемые в настоящем документе технические и научные термины имеют такие же значения, которые являются в большинстве случаев понятными для специалиста в настоящей области техники, к которой принадлежит

настоящее изобретение.

Используемый в настоящем документе термин "модулятор арилуглеводородного рецептора (AhR)" относится к средству, которое вызывает или облегчает качественное или количественное изменение, перестройку или модификацию в одном или нескольких процессах, механизмах, эффектах, ответах, функциях, активностях или путях, опосредованных рецептором AhR. Такие изменения, опосредованные описанным в настоящем документе модулятором AhR, таким как ингибитор или неконститутивный агонист AhR, могут относиться к снижению или повышению активности или функции AhR, такому как снижение, ингибирование или изменение направления конститутивной активности AhR.

Термины "ингибитор AhR" или "AhR ингибитор" относятся к средству или соединению, которое ингибирует один или несколько путей передачи сигнала AhR и нижележащих эффекторов, включая в себя передачу сигнала конститутивного AhR, как эти термины используются в настоящем документе. Таким образом, термин ингибитор AhR относится к средству, которое ингибирует экспрессию полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR, или средству, которое связывается, частично или полностью блокирует стимуляцию, снижает, предотвращает, замедляет активацию, инактивирует, десенсибилизирует или отрицательно регулирует активность полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR. Такие ингибиторы AhR могут, например, ингибировать экспрессию AhR, например, трансляцию AhR, посттрансляционный процессинг AhR, стабильность, деградацию или ядерную или цитоплазматическую локализацию полипептида AhR или транскрипцию, посттранскрипционный процессинг, стабильность или деградацию полинуклеотида, кодирующего AhR, или связываться, частично или полностью заблокировать стимуляцию, связывание ДНК или активность транскрипционного фактора AhR. Ингибитор AhR может действовать прямо или опосредованно.

"Антагонист AhR" относится к ингибитору AhR, который не провоцирует биологический ответ сам по себе при специфическом связывании с полипептидом AhR или полинуклеотидом, кодирующим AhR, но блокирует или ослабляет опосредованные агонистом или опосредованные лигандом ответы, т.е. антагонист AhR может связывать, но не активирует полипептид AhR или полинуклеотид, кодирующий AhR, и связывание разрушает взаимодействие, перемещает агонист AhR и/или ингибирует функцию агониста AhR. Таким образом, используемый в настоящем документе AhR антагонист не функционирует как индуктор активности AhR при связывании с AhR, т.е. они функционируют как чистые ингибиторы AhR.

Используемые в настоящем документе термины "неконститутивный агонист AhR", "неконститутивный AhR агонист", "неконститутивный активатор AhR" или "неконститутивный AhR активатор" относятся к средству или соединению, которое связывается с AhR и гиперактивирует или изменяет направление путей передачи сигнала конститутивного AhR и нижележащих эффекторов, как эти термины используются в настоящем документе. Такие неконститутивные агонисты AhR могут увеличивать экспрессию полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR, или связываться с AhR, и частично или полностью изменять направление передачи сигнала конститутивного AhR и последующую активность, такую как рост злокачественных клеток и инвазивные свойства опухоли. Соответственно неконститутивный агонист AhR может изменять направление передачи сигнала конститутивного AhR приблизительно по меньшей мере на 10% или больше, по меньшей мере на 20% или больше, по меньшей мере на 30% или больше, по меньшей мере на 40% или больше, по меньшей мере на 50% или больше, по меньшей мере на 60% или больше, по меньшей мере на 70% или больше, по меньшей мере на 80% или больше, по меньшей мере на 90% или больше, по меньшей мере на 95% или больше или по меньшей мере на 100% или полностью по сравнению с эталонным или контрольным уровнем при отсутствии неконститутивного агониста AhR.

Описанные в настоящем документе агонисты AhR, неконститутивные агонисты AhR, ингибиторы AhR и антагонисты AhR могут быть встречающимися в природе и синтетическими лигандами, антагонистами, агонистами, малыми химическими молекулами, антителами или их связывающими антиген фрагментами, ингибирующими молекулами РНК (т.е. миРНК или антисенсовой РНК) и подобным. Анализы для идентификации агонистов AhR, неконститутивных агонистов AhR, ингибиторов AhR и антагонистов AhR предусматривают, например, нанесение предполагаемых соединений-модуляторов AhR на клетки в присутствии или при отсутствии полипептида или полинуклеотида и затем определения функциональных эффектов на полипептид или полинуклеотид.

Термины "субъект" и "индивидуум" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и относятся к животному, например человеку, реципиенту описанных в настоящем документе низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II). Для лечения таких болезненных состояний, которые являются специфическими для конкретного животного, такого как субъект - человек, термин "субъект" относится к такому конкретному животному. Термины "не относящиеся к человеку животные" и "не относящиеся к человеку млекопитающие" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и включают в себя таких млекопитающих, как крысы, мыши, кролики, овцы, кошки, собаки, коровы, свиньи и не относящиеся к человеку приматы. Термин "субъект" также предусматривает любого позвоночного, включая в себя без ограничения млекопитающих, пресмыкающихся, земноводных и рыб.

Термины "злокачественная опухоль" и "злокачественный" относятся к или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое, как правило, характеризуется нерегулируемым ростом или

пролиферацией клеток, которая препятствует нормальному функционированию органов и систем организма. Злокачественные опухоли, которые мигрируют из их исходного расположения и засевают жизненно важные органы, могут, в конце концов, привести к смерти субъекта из-за функционального нарушения пораженных органов. Гематопоэтические виды злокачественных опухолей, такие как лейкоз, способны вытеснять нормальные гематопоэтические компартменты у субъекта, тем самым приводя к гематопоэтической недостаточности (в форме анемии, тромбоцитопении и нейтропении), в конечном счете приводя к смерти. В данное определение включают злокачественные опухоли более или менее доброкачественного или злокачественного течения, а также латентные опухоли или микрометастазы.

Термин "противораковая терапия" относится к терапии или терапевтическому средству, применимому в лечении злокачественной опухоли. Примеры противораковых терапевтических средств включают в себя без ограничения, например, операцию, химиотерапевтические средства, ингибирующие рост средства, цитотоксические средства, используемые в лучевой терапии средства, антиангиогенные средства, апоптотические средства, антифолликулярные средства и другие средства для лечения злокачественной опухоли, такие как антитела к HER-2 (например, Herceptin™), антитела к CD20, антагонист рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, ингибитор тирозинкиназы), HER1/EGFR ингибитор (например, эрлотиниб (Tarceva™), ингибиторы тромбоцитарного фактора роста (например, Gleevec™ (Imatinib Mesylate)), ингибитор COX-2 (например, целекоксиб), интерфероны, цитокины, антагонисты (например, нейтронизирующие антитела), которые связываются с одной или несколькими из следующих мишеней: рецептор(ы) ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-бета, BlyS, APRIL, BCMA или VEGF, TRAIL/Apo2 и другие биоактивные и органические химические средства и т.д. Их комбинации также включены в варианты осуществления, описанные в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин "скрининг" относится к применению клеток и тканей в лаборатории и предусматривающих их способов для идентификации средств со специфической функцией, например модулированием активности. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описаны способы скрининга для идентификации средств (например, соединений или лекарственных средств), которые ингибируют или иным образом модулируют активность AhR.

Используемый в настоящем документе термин "содержащий" или "содержит" используют в отношении композиций, способов и их соответствующего компонента(ов), которые являются существенными для настоящего изобретения, при этом он открыт для включения неспецифических элементов, будь-то существенные или нет.

Используемый в настоящем документе термин "состоящий, по существу, из" относится к элементам, которые являются необходимыми для данного варианта осуществления. Термин разрешает присутствие дополнительных элементов, которые существенно не воздействуют на основную и новую или функциональную характеристику(и) данного варианта осуществления настоящего изобретения.

Термин "состоящий из" относится к композициям, способам и их соответствующим компонентам, как описано в настоящем документе, которые исключают какой-либо элемент, не перечисленный в данном описании настоящего варианта осуществления.

Используемые в настоящем описании изобретения и приложенной формуле изобретения формы единственного числа включают в себя ссылки на формы множественного числа, если контекст ясно не диктует иное. Таким образом, например, ссылки на "способ" предусматривают один или несколько способов и/или стадий типа, описанного в настоящем документе, и/или которые будут очевидны специалистам в настоящей области техники при прочтении настоящего раскрытия и т.д.

За исключением рабочих примеров или если указано иное, все используемые в настоящем документе числа, выражающие количества ингредиентов или условия реакций, нужно понимать как модифицированные во всех случаях с помощью термина "приблизительно". Термин "приблизительно" при использовании в отношении процентов может означать $\pm 1\%$.

Если иное в настоящем документе не указано, научные и технические термины, используемые в отношении настоящей заявки, должны иметь значения, которые являются в большинстве случаев понятными для специалиста в настоящей области техники, к которой принадлежит настоящее раскрытие. Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретной методологией, протоколами и реактивами и т.п., описанными в настоящем документе, и что они могут изменяться. Используемая в настоящем документе терминология представлена только с целью описания конкретных вариантов осуществления, а не для ограничения объема настоящего изобретения, который определяется исключительно формулой изобретения. Определения общепринятых терминов в иммунологии и молекулярной биологии можно найти в следующих работах: The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 18-е изд., опубликованное Merck Research Laboratories, 2006 (ISBN 0-911910-18-2); Robert S. Porter et. al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, опубликованная Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); и Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, опубликованное VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8); Immunology by Werner Luttmann, опубликованное Elsevier, 2006. Определения общепринятых терминов в молекулярной биологии можно найти в следующих работах: Benjamin Lewin, Genes IX, опубликованное Jones & Bartlett Publishing, 2007 (ISBN-13:

9780763740634); Kendrew et. al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, опубликованная Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); и Robert A. Meyers (ed.), Maniatis et. al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., USA (1982); Sambrook et. al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2 ed.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., USA (1989); Davis et. al., Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier Science Publishing, Inc., New York, USA (1986); или Methods in Enzymology: Guide to Molecular Cloning Techniques Vol.152, S.L. Berger and A.R. Kimmmerl Eds., Academic Press Inc., San Diego, USA (1987); Current Protocols in Molecular Biology (CPMB) (Fred M. Ausubel, et. al. ed., John Wiley and Sons, Inc.), Current Protocols in Protein Science (CPPS) (John E. Coligan, et. al., ed., John Wiley and Sons, Inc.) и Current Protocols in Immunology (CPI) (John E. Coligan, et. al., ed. John Wiley and Sons, Inc.), все из которых включены посредством ссылки в настоящий документ во всей полноте.

Понятно, что вышеизложенное подробное описание и следующие примеры являются только иллюстративными и не должны рассматриваться как ограничения объема настоящего изобретения. Различные изменения и модификации раскрытых вариантов осуществления, которые будут очевидными специалистам в настоящей области техники, могут быть осуществлены, не отклоняясь от сущности и объема настоящего изобретения. Кроме того, все упомянутые патенты, патентные заявки и публикации в точности включены в настоящий документ посредством ссылки с целью описания и раскрытия, например, методологий, описанных в таких публикациях, которые могут быть использованы в связи с настоящим изобретением. Эти публикации представлены исключительно для их раскрытия до даты подачи настоящей заявки. Ничего в этом отношении не должно быть истолковано как допущение того, что авторы настоящего изобретения не наделены правом предшествовать такому раскрытию на основании предыдущего изобретения или по какой-либо другой причине. Все заявления относительно даты или представления относительно содержания этих документов основаны на информации, доступной заявителям, и не составляют допущения относительно правильности дат или содержания этих документов.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показано, что ингибирование AhR с помощью AhRR положительно регулирует p21 и снижает рост MCF-10F. Вставка: содержание белка p21 в контроле или AhRR-трансдуцированных клетках.

На фиг. 2 показано, что ингибирование AhR с помощью AhRR ингибирует инвазию опухоли в матриксе.

На фиг. 3 показано, что отрицательная регуляция AhR с помощью миРНК AhR ингибирует инвазию в камерах Бойдена. Число клеток выше и ниже содержащей матригель мембраны определяли через 48 ч и рассчитывали процентное отношение клеток в нижней камере: * $p < 0,04$; ** $p < 0,03$.

На фиг. 4А-4В показан скрининг с высокой пропускной способностью (HTS) в отношении агонистов и антагонистов AhR. На фиг. 4А показаны клетки H1G1, экспрессирующие управляемый AhR GFP репортерный конструктор и обработанные кандидатными модификаторами AhR отдельно (темная линия) или вместе с BNF, известным агонистом AhR (светлая линия). Темным кружком показан ингибитор AhR, тогда как светлым кружком показан агонист. На фиг. 4В показаны данные, полученные от нетоксического соединения, обозначенного в "А", которое титровали в присутствии BNF для расчета IC_{50} . Свыше 4000 соединений подвергли скринингу в этом полуавтоматизированном анализе.

На фиг. 5А-5В показано, что CH223191 и CMLD-2166 ингибируют конститутивную активность AhR и клеточный рост. На фиг. 5А показаны данные, полученные от злокачественных BP1 и иммортализованных MCF-10F клеток, которые транзитивно трансфектировали с чувствительным к AhR pGudLuc и обрабатывали с помощью наполнителя (DMSO), CH223191 или 2166. На фиг. 5В показаны данные, полученные от клеток BP1 и MCF-10F, которые выращивали в течение 18 ч в присутствии DMSO, CH223191 или 2166 и определяли включение 3Н-тимидина: * $p < 0,05$.

На фиг. 6 показано, что CB7993113 блокирует транслокацию AhR в ядро после стимуляции клеток с помощью DMBA, агониста AhR. Клетки Нера-1 обрабатывали с помощью наполнителя или 1-10 мкМ CH223191. Через один час клетки обрабатывали с помощью 0,1 мкМ DMBA (где это показано) и инкубировали в течение 30 мин. Клетки собирали и экстрагировали белки из цитоплазмы и ядер. Экстрагированные белки подвергали AhR- или в качестве контроля нагрузки β -актин-специфическим анализам вестерн-иммуноблоттинга. Представлены данные 3 независимых экспериментов.

На фиг. 7А -7В показано, что CH223191, CMLD-2166 и CMLD2186 ингибировали инвазию опухоли. Клетки Hs578T культивировали в камерах Бойдена (фиг. 7А) или в матриксе (фиг. 7В) в присутствии DMSO, 10^{-5} М CMLD-2166, CMLD2186 (2166 энантиомер) или CH223191 и анализировали в отношении инвазии через 2 дня (камеры Бойдена) или 7 дней (матригель).

На фиг. 8А-8В показано, что CB7993113 способен блокировать острые токсические эффекты сильного лиганда AhR и прототипного РАН, DMBA, *in vivo*, и что все три субпопуляции клеток костного мозга, находящиеся под воздействием DMBA, спасали путем лечения с помощью CB7993113. На фиг. 8А показаны данные, полученные от 6 мышей C57BL (6 на группу), которым вводили инъекцией и.п. в день -1 и день 0 наполнитель (масло) или 50 мг/кг CB7993113. Мышам затем вводили инъекцией 50 мг/кг DMBA. Мышей умерщвляли через 48 ч. Гематopoэтические клетки костного мозга удаляли из кости и

подсчитывали жизнеспособные клетки. Данные представлены как среднее число жизнеспособных белых кровяных клеток + SE. $^{**}p < 0,01$, $^{***}p < 0,001$, критерий Стьюдента. На фиг. 8B подтверждаются данные, показанные на фиг. 8A, и дополнительно показано, что все три субпопуляции клеток костного мозга, находящиеся под воздействием DMBA, спасали путем лечения с помощью CB7993113. 6 мышей C57BL (6 на группу) обрабатывали, как в описании фиг. 8A. Процентное отношение и число жизнеспособных про-В клеток, пре-В клеток и нейтрофилов костного мозга определяли через 48 ч с помощью проточной цитометрии. Данные представлены как среднее число жизнеспособных клеток каждого подтипа + SE. ($^{*}p < 0,05$, $^{**}p < 0,01$, критерий Стьюдента).

На фиг. 9 изображены вычислительные стратегии для поиска сходства формы и сходства электростатических параметров.

На фиг. 10 показано, что соединения CMLD-2166 и CB7993113 связывают AhR человека. Соединения CMLD-2166 и CB7993113 смешивали с *in vitro* транслированным AhR человека и радиомеченым TCDD (диоксином), высокоаффинным лигандом AhR. Комплексы затем разделяли на градиенте сахарозы и фракции анализировали в отношении радиоактивности. Снижение сигнала (перемещение радиомеченого TCDD) можно наблюдать во фракциях 13-16, что указывает на связывание исследуемого соединения с AhR и перемещение TCDD. Эти результаты показывают, что указанные соединения являются конкурентными ингибиторами AhR.

На фиг. 11 показано, что ингибиторы AhR не существенно блокируют опосредованную PPAR γ транскрипцию. Данные были объединены от 4 экспериментов. В отличие от способности блокировать управляемую AhR репортерную активность ингибиторы AhR не характеризовались эффектом на управляемую PPAR γ репортерную активность.

На фиг. 12 показано, что трансфекция миРНК AhR блокирует инвазию опухоли в матрикеле. Опухолевые клетки молочной железы человека BP1 или Hs578T транзиторно трансфектировали с контрольной миРНК или миРНК AhR для нокдауна экспрессии AhR и клетки культивировали в матрикеле в течение 6 дней. Показаны колонии опухолевых клеток, которые вырастают из отдельных клеток в течение этих 6 дней.

На фиг. 13 показано, что индуцируемая доксициклином кшПНК AhR блокирует инвазию опухоли в матрикеле. Клетки Hs578T стабильно трансдуцировали с индуцируемой доксициклином контрольной (скремблированной/не молчащей) кшПНК (слева) или AhR-специфической кшПНК (справа). Клетки обрабатывали доксициклином для активации как контрольных векторов, так и векторов кшПНК AhR и клетки культивировали в матрикеле в течение 5 дней.

На фиг. 14 показано, что ингибитор AhR CB993113 блокирует инвазию опухоли BP1 в матрикеле. Клетки BP1 культивировали в присутствии наполнителя (слева) или 5 мкМ CB7993113 в матрикеле в течение 5 дней. CB7993113 является нетоксическим при самых высоких исследуемых дозах, 10 мкМ.

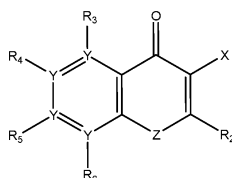
На фиг. 15 представлена схема, изображающая, как ингибиторы и неконкурентные агонисты AhR могут ингибировать инвазию опухоли.

На фиг. 16A-16B показано, что агонисты AhR снижают инвазию опухолевых клеток молочной железы человека (BP1) в матрикеле. Клетки BP1 культивировали в матрикеле в присутствии наполнителя, 5 мкМ DIM (16A), наполнителя или 5 мкМ CB7950998 (16B) в течение 5 дней.

Подробное описание изобретения

В настоящем документе раскрыты новые средства, которые модулируют активность AhR, для применения в терапевтических композициях и основанных на них способах ингибирования пролиферации злокачественных клеток и инвазии и метастазирования опухолевых клеток. Эти композиции и способы основаны на новом открытии авторов настоящего изобретения того, что фармацевтические композиции, содержащие описанные в настоящем документе низкомолекулярные соединения формулы (I) и (II), модулируют активность AhR, такую как конститутивная активность AhR. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что такие малые молекулы могут связываться с AhR и блокировать или ингибировать эти функции и пути передачи сигнала, регулируемые с помощью AhR, что влияет на рост и пролиферацию злокачественных клеток и инвазивность опухолевых клеток. Авторы настоящего изобретения дополнительно обнаружили, что фармацевтические композиции, содержащие описанные в настоящем документе низкомолекулярные соединения формулы (I) и (II), могут действовать либо как ингибиторы AhR, либо неконститутивные агонисты AhR, и дополнительно представили новые способы и анализы, чтобы отличить типы модуляторов AhR. Соответственно в настоящем документе представлены новые терапевтические фармацевтические композиции и предусматривающие их способы, содержащие ингибиторы AhR или неконститутивные агонисты AhR формулы (I) и (II) для ингибирования роста и параметров злокачественных клеток, которые характеризуют метастазирование опухоли, например инвазивность опухолевых клеток.

Соответственно в настоящем документе описаны новые модуляторы AhR. Согласно некоторым описанным в настоящем документе аспектам в настоящем изобретении описаны фармацевтические композиции, включающие в себя модулятор арилуглеводородного рецептора (AhR) формулы (I)



где

Y представляет собой C или N;

X представляет собой OR₁, NHR₁, SR₁, CH₂(n)R₁, галоген или H;

n равно 0-6;

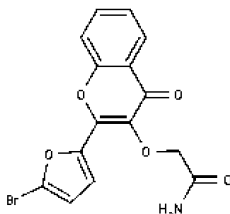
Z представляет собой O, S или NH;

R₁ и R₂ независимо представляют собой H, алкил, алкенил, алкинил, amino, аминосульфони́л, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

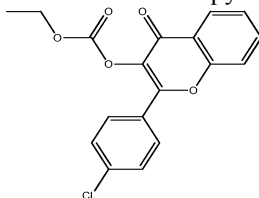
R₃, R₄, R₅ и R₆ отсутствуют или независимо представляют собой H, галоген, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

его фармацевтически приемлемые соли.

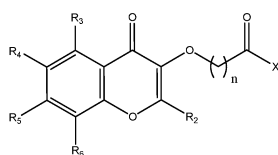
Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов модулятор AhR формулы (I) представляет собой ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор AhR представляет собой соединение CB7993113, характеризующееся химической структурой



Согласно некоторым вариантам осуществления неконститутивный агонист AhR представляет собой соединение CB7950998, характеризующееся химической структурой



Согласно некоторым аспектам фармацевтическая композиция содержит модулятор AhR формулы (Ia)



где

X' представляет собой H, алкил, аминосульфони́л, алкокси, amino, ацил, арил или гетероарил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

n равно 0-6;

R₂ представляет собой H, алкил, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкил, ацил, галоген, арил или гетероарил, каждый из которых может быть необязательно замещен; и

его фармацевтически приемлемые соли.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитора AhR формулы (Ia) X' представляет собой алкил, алкокси, amino или аминосульфони́л;

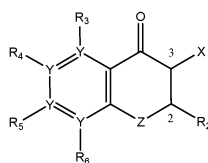
n равно 0 или 1;

R₂ представляет собой арил, замещенный арил, гетероарил или замещенный арил; и

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкокси, алкил или галоген.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех описанных в настоящем документе таких аспектов модулятор AhR формулы (Ia) представляет собой ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR.

Согласно другим аспектам в настоящем документе раскрыты композиции, содержащие соединение формулы (II)



где

Y представляет собой C или N;

X представляет собой OR₁, NHR₁, SR₁, CH₂(n)R₁, галоген или H;

n равно 0-6;

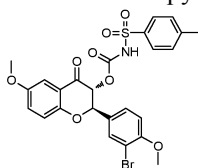
Z представляет собой O, S или NH;

R₁ и R₂ независимо представляют собой H, алкил, алкенил, алкинил, amino, аминосульфони́л, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

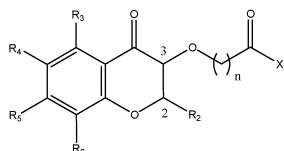
R₃, R₄, R₅ и R₆ отсутствуют или независимо представляют собой H, галоген, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен; и его стереоизомеры.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов C в положении 2 находится в R-конфигурации, а C в положении 3 находится в S-конфигурации. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов C в положении 2 находится в S-конфигурации, а C в положении 3 находится в R-конфигурации. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов C в положении 2 находится в R-конфигурации, а C в положении 3 находится в S-конфигурации. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов C в положении 2 находится в S-конфигурации и C в положении 3 находится в S-конфигурации.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов соединение представляет собой соединение CMLD-2166, характеризующееся химической структурой



Согласно некоторым аспектам в настоящем документе раскрыты композиции, содержащие соединение формулы (IIa)



где

X' представляет собой H, алкил, аминосульфони́л, алкокси, ацил, арил или гетероарил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

n равно 0-6;

R₂ представляет собой H, алкил, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкил, ацил, галоген, арил или гетероарил, каждый из которых может быть необязательно замещен; и его стереоизомеры.

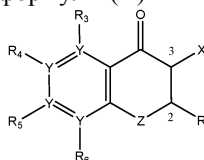
Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех описанных в настоящем документе таких аспектов X' представляет собой алкил, алкокси, аминосульфони́л;

n равно 0 или 1;

R₂ представляет собой арил, замещенный арил, гетероарил или замещенный арил; и

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкокси, алкил или галоген.

Согласно некоторым аспектам в настоящем документе раскрыты композиции, содержащие модулятор арилуглеводородного рецептора (AhR) формулы (II)



где

Y представляет собой C или N;

X представляет собой OR_1 , NHR_1 , SR_1 , $CH_2(n)R_1$, галоген или H;

n равно 0-6;

Z представляет собой O, S или NH;

R_1 и R_2 независимо представляют собой H, алкил, алкенил, алкинил, amino, аминосульфони́л, алкокси, ацил, арил, гетероарил, ариалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

R_3 , R_4 , R_5 и R_6 отсутствуют или независимо представляют собой H, галоген, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, ацил, арил, гетероарил, ариалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

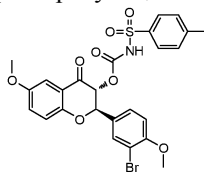
его стереоизомер и

его фармацевтически приемлемые соли.

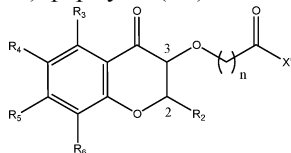
Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех описанных в настоящем документе таких аспектов его стереоизомеры включают в себя C в положении 2 в R-конфигурации, а C в положении 3 в S-конфигурации. Согласно некоторым вариантам осуществления аспекта его стереоизомеры включают в себя C в положении 2 в S-конфигурации, а C в положении 3 в R-конфигурации. Согласно некоторым вариантам осуществления аспекта его стереоизомеры включают в себя C в положении 2 в R-конфигурации и C в положении 3 в R-конфигурации. Согласно некоторым вариантам осуществления аспекта его стереоизомеры включают в себя C в положении 2 в S-конфигурации и C в положении 3 в S-конфигурации.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов модулятор AhR формулы (II) представляет собой ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятор AhR формулы (II) представляет собой соединение CMLD-2166, характеризующееся химической структурой



Согласно некоторым аспектам в настоящем документе раскрыты композиции, содержащие модулятор арилуглеводородного рецептора (AhR) формулы (IIa)



где

X' представляет собой H, алкил, аминосульфони́л, алкокси, ацил, арил или гетероарил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

n равно 0-6;

R_2 представляет собой H, алкил, ацил, арил, гетероарил, ариалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

R_3 , R_4 , R_5 и R_6 независимо представляют собой H, алкил, ацил, галоген, арил или гетероарил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

его стереоизомеры и

его фармацевтически приемлемые соли.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятора AhR формулы (IIa)

X' представляет собой алкил, алкокси, аминосульфони́л;

n равно 0 или 1;

R_2 представляет собой арил, замещенный арил, гетероарил или замещенный арил; и

R_3 , R_4 , R_5 и R_6 независимо представляют собой H, алкокси, алкил или галоген.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов модулятор AhR формулы (IIa) представляет собой ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR.

Согласно некоторым аспектам в настоящем документе описаны способы модулирования конститутивной активности AhR у субъекта, нуждающегося в этом. Такие способы предусматривают введение субъекту с конститутивной активностью AhR терапевтически эффективного количества любой из фармацевтических композиций, содержащих описанный в настоящем документе модулятор AhR, такой как ингибитор AhR (например, CB7993113 или CMLD-2166), или неконститутивный агонист AhR (например,

CB7950998) формул (I), (Ia), (II) или (IIa). Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов способы дополнительно предусматривают стадию выбора субъекта с конститутивной активностью AhR.

Согласно другим аспектам в настоящем документе описаны способы лечения злокачественной опухоли или состояния злокачественной опухоли путем модулирования активности AhR. Такие способы предусматривают введение больному злокачественной опухолью или состоянием злокачественной опухоли терапевтически эффективного количества любой из фармацевтических композиций, содержащих описанный в настоящем документе модулятор AhR, такой как ингибитор AhR (например, CB7993113 или CMLD-2166), или неконститутивный агонист AhR (например, CB7950998) формул (I), (Ia), (II) или (IIa).

Согласно некоторым аспектам в настоящем документе описаны способы ингибирования инвазивности опухолевых клеток у больного злокачественной опухолью, состоянием злокачественной опухоли или опухолью. Такие способы предусматривают введение больному злокачественной опухолью или опухолью терапевтически эффективного количества любой из фармацевтических композиций, содержащих описанный в настоящем документе модулятор AhR, такой как ингибитор AhR (например, CB7993113 или CMLD-2166), или неконститутивный агонист AhR (например, CB7950998) формул (I), (Ia), (II) или (IIa).

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов способы дополнительно предусматривают стадию выбора больного злокачественной опухолью, состоянием злокачественной опухоли или опухолью.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих способов злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль молочной железы, плоскоклеточный рак, злокачественную опухоль легкого, злокачественную опухоль брюшины, печеночно-клеточную злокачественную опухоль, злокачественную опухоль желудка, злокачественную опухоль поджелудочной железы, глиобластому, злокачественную опухоль шейки матки, злокачественную опухоль яичника, злокачественную опухоль печени, злокачественную опухоль мочевого пузыря, гепатому, злокачественную опухоль толстой кишки, колоректальную злокачественную опухоль, эндометриальную или маточную карциному, карциному слюнной железы, злокачественную опухоль почки, или почечно-клеточную, злокачественную опухоль предстательной железы, злокачественную опухоль вульвы, злокачественную опухоль щитовидной железы, злокачественную опухоль головы и шеи, В-клеточная лимфома, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL); острый лимфобластный лейкоз (ALL), волосатоклеточный лейкоз или хронический миелобластный лейкоз. Согласно некоторым таким вариантам осуществления злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль молочной железы.

Некоторые варианты осуществления этих способов могут дополнительно предусматривать введение или лечение одним или несколькими дополнительными противораковыми видами терапии. Согласно некоторым таким вариантам осуществления дополнительная противораковая терапия предусматривает операцию, лучевую терапию, биотерапию, иммунотерапию, химиотерапию или любую их комбинацию.

Некоторые варианты осуществления этих способов могут дополнительно предусматривать введение или лечение с помощью одного или нескольких противораковых терапевтических средств. Согласно некоторым таким вариантам осуществления противораковое терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство, средство - ингибитор роста, антиангиогенное средство, цитотоксическое средство, антигормональное средство, пролекарство или цитокин.

Также в настоящем документе представлены согласно другим аспектам фармацевтические композиции, содержащие модулятор AhR, такой как ингибитор AhR (например, CB7993113 или CMLD-2166), или неконститутивный агонист AhR (например, CB7950998) формул (I), (Ia), (II) или (IIa), для применения в модулировании конститутивной активности AhR у субъекта, нуждающегося в этом.

Согласно некоторым аспектам фармацевтические композиции, содержащие модулятор AhR, такой как ингибитор AhR (например, CB7993113 или CMLD-2166), или неконститутивный агонист AhR (например, CB7950998) формул (I), (Ia), (II) или (IIa), представлены для применения в лечении злокачественной опухоли или состояния злокачественной опухоли путем модулирования активности AhR.

Согласно некоторым аспектам фармацевтические композиции, содержащие модулятор AhR, такой как ингибитор AhR (например, CB7993113 или CMLD-2166), или неконститутивный агонист AhR (например, CB7950998) формул (I), (Ia), (II) или (IIa), представлены для применения в ингибировании инвазивности опухолевых клеток у больного злокачественной опухолью, состоянием злокачественной опухоли или опухолью.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов применение дополнительно предусматривает стадию выбора больного злокачественной опухолью, состоянием злокачественной опухоли или опухолью. Согласно некоторым таким вариантам осуществления злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль молочной железы, плоскоклеточный рак, злокачественную опухоль легкого, злокачественную опухоль брюшины, печеночно-клеточную злокачественную опухоль, злокачественную опухоль желудка, злокачественную опухоль поджелудочной железы, глиобластому, злокачественную опухоль шейки матки, злокаче-

венную опухоль яичника, злокачественную опухоль печени, злокачественную опухоль мочевого пузыря, гепатому, злокачественную опухоль толстой кишки, колоректальную злокачественную опухоль, эндометриальную или маточную карциному, карциному слюнной железы, злокачественную опухоль почки, или почечно-клеточную, злокачественную опухоль предстательной железы, злокачественную опухоль вульвы, злокачественную опухоль щитовидной железы, злокачественную опухоль головы и шеи, В-клеточную лимфому, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL); острый лимфобластный лейкоз (ALL), волосатоклеточный лейкоз или хронический миелобластный лейкоз. Согласно некоторым таким вариантам осуществления злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль молочной железы.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов применение дополнительно предусматривает один или несколько дополнительных видов противораковой терапии. Согласно некоторым таким вариантам осуществления дополнительная противораковая терапия предусматривает операцию, лучевую терапию, биотерапию, иммунотерапию или химиотерапию.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов и всех таких описанных в настоящем документе аспектов применение дополнительно предусматривает одно или несколько противораковых терапевтических средств. Согласно некоторым таким вариантам осуществления противораковое терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство, средство - ингибитор роста, антиангиогенное средство, цитотоксическое средство, антигормональное средство, пролекарство или цитокин.

Другие описанные в настоящем документе аспекты представляют новые способы скрининга для идентификации модулятора AhR, такого как ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR формул (I), (Ia), (II) или (IIa). Согласно одному такому аспекту представлен способ скрининга идентификации модулятора AhR, причем способ предусматривает:

а) контакт клетки, содержащей последовательность, кодирующую рецептор AhR, функционально связанную с последовательностью, кодирующей репортерную молекулу с сильным активатором AhR, причем экспрессия репортерной молекулы клеткой указывает на то, что рецептор AhR активируется сильным активатором AhR

б) контакт клетки согласно а) с исследуемым средством, причем снижение экспрессии репортерной молекулы в присутствии исследуемого средства указывает на то, что исследуемое средство представляет собой модулятор AhR; и

с) контакт клетки, содержащей последовательность, кодирующую рецептор AhR, функционально связанную с последовательностью, кодирующей репортерную молекулу с модулятором AhR при отсутствии сильного активатора AhR, причем отсутствие экспрессии репортерной молекулы клеткой указывает на то, что модулятор AhR представляет собой ингибитор AhR, и причем экспрессия репортерной молекулы клеткой указывает на то, что модулятор AhR представляет собой частичный агонист AhR.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего аспекта и всех таких описанных в настоящем документе аспектов способ скрининга дополнительно предусматривает контакт частичного агониста AhR с аналитической системой определения опухолевой активности, содержащей (i) опухолевую клетку и (ii) смесь, содержащую один или несколько компонентов внеклеточного матрикса, причем ингибирование опухолевой активности с помощью частичного агониста AhR указывает на то, что частичный агонист AhR представляет собой неконститутивный агонист AhR, и причем увеличение опухолевой активности с помощью частичного агониста AhR указывает на то, что частичный агонист AhR представляет собой конститутивный агонист AhR.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе способов скрининга репортер представляет собой флуоресцентный белок, такой как GFP (зеленый флуоресцентный белок) или RFP (красный флуоресцентный белок). Согласно некоторым вариантам осуществления способов скрининга сильный активатор AhR представляет собой TCDD или BNF.

Согласно некоторым вариантам осуществления способов скрининга опухолевая активность, подлежащая измерению в аналитической системе определения опухолевой активности, представляет собой пролиферацию опухолевых клеток или инвазивность опухолевых клеток. Согласно некоторым вариантам осуществления способов скрининга опухолевая клетка представляет собой опухолевую клетку молочной железы человека. Согласно некоторым вариантам осуществления способов скрининга смесь, содержащая один или несколько компонентов внеклеточного матрикса, представляет собой матригель. Согласно некоторым таким вариантам осуществления один или несколько компонентов внеклеточного матрикса содержат ламинин и коллаген.

Согласно настоящему изобретению описаны новые композиции и способы, предусматривающие средства, которые модулируют активность AhR. Авторы настоящего изобретения открыли новые низкомолекулярные соединения формулы (I) и (II), как описано в настоящем документе, которые модулируют конститутивную активность AhR и могут быть использованы для лечения и ингибирования таких пролиферативных нарушений, как злокачественная опухоль, на основании способности ингибировать рост злокачественных клеток и другие параметры, которые характеризуют метастазирование опухоли, такие

как инвазивность опухолевых клеток.

Арилуглеводородный рецептор и его модуляторы.

Арилуглеводородный рецептор ("AhR") представляет собой зависимый от лиганда представитель семейства основных факторов транскрипции типа спираль-петля-спираль, который, как было обнаружено, активируется различными структурно различающимися синтетическими и встречающимися в природе соединениями, такими как полициклические ароматические углеводороды, индолы и флавоноиды. При отсутствии связанного лиганда AhR присутствует в латентной конформации в цитоплазматическом компартменте клетки, связанный с двумя молекулами молекулярного шаперона - белка теплового шока 90 ("hsp90") (Perdew, J. Biol. Chem. 263:13802-13805 (1988) и Wilhelmsson et. al., EMBO J. 9:69-76 (1990)), иммунофилинподобного белка, XAP2 (Carver et. al., J. Biol. Chem. 272:11452-11456 (1997); Ma et. al., J. Biol. Chem. 272:8878-8884 (1997); и Meyer et. al., Mol. Cell. Biol. 18:978-988 (1998)) и взаимодействующего с hsp90 белка, p23 (Kazlauskas et. al., J. Biol. Chem. 274:13519-13524 (1999)). Связывание лиганда инициирует каскад событий, который предусматривает транслокацию в ядро, высвобождение hsp90 и гетеродимеризацию с ARNT (Schmidt et. al., Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 12:55-89 (1996) и Rowlands et. al., Crit. Rev. Toxicol. 27:109-134 (1997)). Связанный с лигандом AhR-ARNT комплекс способен распознавать консенсусные последовательности, имеющие чувствительные к диоксину элементы ("DRE"), расположенные в промоторном участке CYP1A1, и другие чувствительные гены, тем самым активируя транскрипцию (Schmidt et. al., Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 12:55-89 (1996) и Rowlands et. al., Crit. Rev. Toxicol. 27:109-134 (1997)). Известные примеры связанных с AhR белков включают в себя без ограничения hsp90 p23, XAP2, p60, hsp70 и p48.

Белок AhR содержит несколько доменов, критически важных для функции, и его классифицируют как представитель семейства основных транскрипционных факторов типа спираль-петля-спираль/Per-Arnt-Sim (bHLH/PAS). Мотив bHLH расположен на N-конце белка. Представители надсемейства bHLH характеризуются двумя функционально различными и высококонсервативными доменами. Первый домен представляет собой основной участок (b), который вовлечен в связывание фактора транскрипции с ДНК. Второй представляет собой участок типа спираль-петля-спираль (HLH), который облегчает белок-белковые взаимодействия. Также в AhR содержится два PAS домена, PAS-A и PAS-B, которые представляют собой участки из 200-350 аминокислот, которые проявляют высокую гомологию последовательностей с белковыми доменами, которые исходно были обнаружены в генах period (Per) дрозофилы и single minded (Sim) и в партнере димеризации AhR, ядерном транслокаторе арилуглеводородного рецептора (ARNT). Домены PAS поддерживают специфические вторичные взаимодействия с другими содержащими домен PAS белками, как в случае с AhR и ARNT, так чтобы могли образоваться гетерозиготные и гомозиготные белковые комплексы. Сайт связывания с лигандом AhR содержится в пределах домена PAS-B и содержит несколько консервативных остатков, критически важных для связывания лиганда. В заключение, Q-обогащенный домен расположен в C-концевом участке белка и вовлечен в рекрутирование коактиватора и трансактивацию.

Соответственно используемый в настоящем документе термин "арилуглеводородный рецептор" или "AhR" относится к 848 аминокислотному полипептиду, который характеризуется следующей аминокислотной последовательностью:

```

MNSSANITYASRKRKPVQKTVKPIPAEGIKSNPSKRHRDRNLNTELDRLASLLPFPQD
VINKLDKLSVLRSLSVYLRAKSFDDVALKSSPTERNGGQDNCRAANFREGNLQEGEFL
LQALNGFVLVVTDALVFYASSTIQDYLGFGQSDVIHQSVYELIHTEADAEFQRQLHW
ALNPSQCTESGGGIEEATGLPQTVVCYNPDQIPPENSPLMERCFCRLRCLLDNSSGFLA
MNFQGGKLYLHGQKKKGKDGSLPPQLALFAIATPLQPPSILEIRTKNFIFRTKHKLDFT
PIGCDACKRIVLYGTEAELCTRGSGYQFIHAADMLYCAESHIRMIKTGESGMIVFRLLT
KNNRWTWVQSNARLLYKNGRPDIIVTQRPLTDEEGTEHLKRNTKLPFMFTTGEAVL
YEATNPFPAMDPLRLTKNGTSGKDSATTSTLSKDSLNPSSLLAAMMQQDESIYLYPA
SSTSTAPFENNFFNESMNECRNWQDNTAPMGNDTILKHEQIDQPQDVNSFAGGHPGL
FQDSKNSDLYSIMKNLGDIFDIRHMQNEKFFRNDFSGEVDFRDIIDLDEILTYVQDLS
KSPFIPSDYQQQSLALNSSCMVQEHLHLEQQQHMQQVVEPQQQLCQKMKHMQ
VNGMFENWNSNQFVPFNCPPQDPQYVFTDLHGISEQEFYKSEMDSPYTONFISCN
QPVLQHSKCTELDYPMGSFEPSPYPTTSLEDFVTCLQLPENQKHGLNPQSAITPQTC
YAGAVSMYQCQPEPQHTHVGMQYNPVLPQGQAFNLKFNQNGVLNETYPAELNNINN
TQTTTHLQPLHHHPSEARPPFDLTSSGFL (SEQ ID NO:1),

```

как описывается, например, NP_001612, вместе с любыми встречающимися в природе ее аллельными, сплайс-вариантами и процессированными формами. Как правило, AhR относится к AhR человека. Термин AhR также используется для обозначения укороченных форм или фрагментов полипептида AhR, содержащих, например, специфические домены AhR. Ссылка на любые такие формы AhR может быть указана в настоящей заявке, например, с помощью "AhR (122-224)".

В ходе классической передачи сигнала цитозольный AhR связывается с лигандом, таким как подходящая малая молекула, которая облегчает транслокацию AhR в ядро и, в конечном счете, приводит к de novo транскрипции целевых генов. Промоторы целевых генов AhR содержат чувствительный элемент 5'-TNGCGTG-3', имеющий название "DRE" или "XRE" для "чувствительных к диоксину элементов" или

"чувствительных к ксенобиотику элементов". Гены для метаболизирующих ксенобиотик ферментов (например, цитохрома P450) являются хорошо известными мишенями AhR и называются в настоящем документе "гены батареи AhR". Сотни других генов также содержат DRE. Выяснение биохимии классической передачи сигнала AhR выявило некоторые параметры, которые могут тонко регулировать активность AhR. Они предусматривают характеристики лиганда, адапторные молекулы и транскрипционные коактиваторы или корепрессоры, которые регулируют необычную клеточно-специфическую активность AhR (C. Esser et. al., Trends in Immunology 2009, Vol. 30: 9, pp. 447-454).

Также были описаны альтернативные пути передачи сигнала AhR. Например, AhR может связываться с белком ретинобластомы, рецептором эстрогена (ER), фактором транскрипции E2F1 и с субъединицами NFκB пути RelA и RelB. Также сообщалось о доказательстве наличия перекрестной помехи AhR с другими путями передачи сигнала, такими как пути передачи сигнала посредством киназ (src, INK, p38, MAPK) или конкуренции с транскрипционными кофакторами. AhR может действовать как убиквитинлигаза, нацеливающая ER на протеасомную деградацию. В этих путях передачи сигнала AhR и другие белки иногда обоюдно подавляют функцию друг друга. Более того, биоинформационный анализ указывает на существование комплекса перекрестной помехи сигналов между AhR и дальнейшими факторами транскрипции или коактиваторами транскрипции (C. Esser et. al., Trends in Immunology 2009, Vol. 30: 9, pp. 447-454).

Ряд низкомолекулярных химических соединений относятся к эндогенным или физиологическим "лигандам AhR", иными словами, они характеризуются константами диссоциации связывания (Kd) и эффективными концентрациями на уровне, предполагаемом для физиологически релевантного лиганда AhR. Все из физического сдвигового напряжения жидкости (который вызывает окисление липопротеинов низкой плотности), вторичных мессенджеров cAMP и Ca²⁺, компонентов сыворотки и ростовых сред активируют ответы AhR (C. Esser et. al., Trends in Immunology 2009, Vol. 30: 9, pp. 447-454). AhR еще не был подвергнут кристаллизации, поэтому на данный момент отсутствует информация о связанных с лигандом структурных изменениях. Исследования расщепления протеазой, защищенной лигандом, показывают, что существует только один карман связывания для лигандов (S. Kronenberg et. al., Nucleic Acids Res. 28 (2000), pp. 2286-2291).

Лигандам AhR необходимо лишь соответствовать минимальным требованиям относительно размера и двумерной формы, чтобы встроиться в карман связывания AhR. Следовательно, широкий диапазон низкомолекулярных химических соединений может активировать AhR, несмотря на различные аффинности, лежащие в диапазоне от 10⁻¹² до 10⁻³ М. Многие лиганды содержат две системы углеродных колец, такие как производные триптофана, флавоноиды и бифенилы. Система AhR является генетически полиморфной, и различные аллели влияют на чувствительность к лигандам AhR (C. Esser et. al., Trends in Immunology 2009, Vol. 30: 9, pp. 447-454). Лиганды AhR можно, в общем, классифицировать на две категории, синтетические или встречающиеся в природе. Первыми открыли лиганды, которые были синтетическими и являлись представителями галогенированных ароматических углеводородов (дибензодиоксины, дибензофураны и бифенилы) и полициклическими ароматическими углеводородами (3-метилхолантрен, бензо(а)пирен, бензантрацены и бензофлавоны).

Встречающиеся в природе соединения, которые были идентифицированы как лиганды AhR, включают в себя производные триптофана, такие как индиго и индирубин, тетрапиролы, такие как билирубин, метаболиты арахидоновой кислоты, липоксин A4 и простагландин G, модифицированный липопротеин низкой плотности и несколько пищевых каротиноидов.

Иллюстративные лиганды AhR включают в себя без ограничения эндогенные лиганды, такие как FICZ или 6-формилиндола[3,2-b]карбазол и 6,12-диформилиндола[3,2-b]карбазол или dFICZ (фотопродукты триптофана), билирубин (продукт метаболизма гема в печени), липоксин A4 (эйкозаноид с противовоспалительными свойствами), ITE [метиловый эфир 2-(1'H-индол-3'-карбонил)-тиазол-4-карбоновой кислоты] (выделенный из тканей легкого); загрязняющие окружающую среду вещества (образованные в ходе сгорания органического материала), такие как 2,3,7,8-тетрахлордibenzo-p-диоксин (TCDD), и бенз[а]пирен; пищевые лиганды, такие как кверцетин (присутствующий в яблоках и луке), индол-3-карбинол (присутствующий во многих Brassicaceae, например, капусте), ресвератрол (присутствующий в красном вине) и куркумин (специя); и лекарственные средства (синтетические), такие как M50367 {3-[2-(2-фенилэтил)бензоимидазол-4-ил]-3-гидроксипропановая кислота и VAF347 {[4-(3-хлор-фенил)-пиримидин-2-ил]}.

Два из наиболее сильных и хорошо описанных антагонистов AhR включают в себя синтетический флавоноид, 3'-метокси-4'нитрофлавоон ("3M4NF"), и производное индола 3,3'-дииндолилметан ("DIM"). Эти соединения, как было показано, функционируют посредством прямой конкуренции за связывание с сайтом связывания лиганда AhR (Henry et. al., Mol. Pharmacol. 55:716-725 (1999); Hestermann et. al., Mol. Cell. Biol. 23:7920-7925 (2003)). Участь AhR при связывании с этими структурно различными антагонистами очень отличается. Связывание 3M4NF с AhR ингибирует опосредованную TCDD ядерную локализацию, димеризацию ARNT и связывание ДНК (Henry et. al., Mol. Pharmacol. 55:716-725 (1999)). 3M4NF, как полагают, ингибирует конформационное изменение в пределах комплекса AhR, необходимое для воздействия последовательности ядерной локализации, приводящей к задержке AhR в цитоплазматиче-

ском компартменте клетки. Наоборот, связывание DIM с AhR обеспечивает ядерную локализацию, димеризацию ARNT и последующее связывание ДНК. Тем не менее, в отличие от связанного с TCDD димера AhR-ARNT, этот связанный с DIM комплекс не способен к рекрутингу необходимых кофакторов, ответственных за ингибирование транскрипции (Hestermann et. al., Mol. Cell. Biol. 23:7920-7925 (2003)). Галогенированные и нитрозамещенные флавоны могут проявлять зависимость от структуры активности агониста и антагониста арилуглеводородного рецептора (AhR), сравнимые с таковыми для 2,3,7,8-тетрахлордibenzo-*p*-диоксина (TCDD) (F. Lu et. al., Biochemical Pharmacology. 51. 1077 (1996)).

Модуляторы AhR.

Авторы настоящего изобретения открыли, что новые соединения флавона и гидрофлавона - модуляторы AhR, описанные в настоящем документе, такие как малые молекулы формулы (I) и формулы (II), например CB7993113, CB9950998 и CMLD-2166, модулируют конститутивную активность AhR, путем функционирования в качестве ингибиторов AhR или неконститутивных агонистов AhR. Кроме того, они открыли, что такие соединения - модуляторы AhR могут ингибировать рост злокачественных клеток, а также инвазию опухоли, и абсорбируются *in vivo* и могут быть использованы в фармакологически эффективных дозах для нацеливания на периферические органы, такие как костный мозг. Соответственно в настоящем документе описаны новые низкомолекулярные модуляторы AhR и конститутивной передачи сигнала AhR для применения в терапевтических композициях и способах лечения и ингибирования роста злокачественных опухолей и инвазии опухолевых клеток и других гиперпролиферативных нарушений.

AhR опосредует разнообразные функциональные ответы, содержащие без ограничения *de novo* транскрипцию целевых генов или генов батареи AhR, характеризующихся чувствительным к DRE или XRE элементом 5'-TNGCGTG-3'. Также были описаны альтернативные пути передача сигнала AhR, такие как связывание с белком ретинобластомы, рецептором эстрогена (ER), фактором транскрипции E2F1 и с субъединицами NFκB пути RelA и RelB. AhR может также действовать как убиквитинлигаза. Соответственно передача сигнала посредством AhR содержит множество путей, включая в себя конститутивные и неконститутивные пути передачи сигнала или сигнальную активность AhR, в том виде, как эти термины определены в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин "конститутивная передача сигнала AhR" относится к одному или нескольким путям передачи сигнала, опосредованным или регулируемым с помощью AhR, которые активируются или управляются с помощью одного или нескольких эндогенных лигандов AhR или одного или нескольких лигандов из окружающей среды, таких как токсины или загрязняющие вещества, которые вызывают конститутивную или длительную транслокацию AhR в ядро, и активирование или модулирование одного или нескольких генов батареи AhR, вовлеченных в нерегулируемый рост и пролиферацию клеток, инвазивность опухолевых клеток или их комбинацию.

Соответственно "конститутивный агонист AhR" представляет собой агонист AhR, который селективно связывается с AhR и может индуцировать активность или передачу сигнала AhR или активировать функцию AhR сам по себе, что измеряют или оценивают с использованием любого способа, известного специалисту в настоящей области техники, такого как *in vitro* AhR репортерный анализ, и может вызывать нерегулируемый клеточный рост, инвазивность опухолевых клеток или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления конститутивный агонист AhR положительно регулирует экспрессию CYP1A1, CYP1B1 или их комбинации. Активация с помощью агониста AhR достигается, когда значение активности AhR является по меньшей мере на 10% больше, по меньшей мере на 25% больше, по меньшей мере на 50% больше, по меньшей мере на 75% больше, по меньшей мере на 100% больше, по меньшей мере в 2 раза больше, по меньшей мере в 5 раз больше, по меньшей мере в 10 раз больше, по меньшей мере в 25 раз больше, по меньшей мере в 50 раз больше, по меньшей мере в 100 раз больше, по меньшей мере в 1000 раз больше или больше по отношению к контролю при отсутствии агониста AhR.

Используемый в настоящем документе термин "неконститутивная передача сигнала AhR" относится к одному или нескольким путям передачи сигнала, опосредованным или индуцированным с помощью AhR, которые не вызывают ни конститутивную или длительную транслокацию AhR в ядро, ни активирование или модулирование одного или нескольких генов батареи AhR, вовлеченных в нерегулируемый клеточный рост, инвазивность опухолевых клеток или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления неконститутивная передача сигнала AhR не вызывает положительной регуляции экспрессии CYP1A1, CYP1B1 или их комбинации.

Соответственно используемый в настоящем документе термин "модулятор AhR" относится к средству, такому как малая молекула формулы (I), например малые молекулы формулы (Ia), или формулы (II), например малые молекулы формулы (IIa), которое модулирует, или вызывает, или облегчает качественное или количественное изменение, перестройку или модификацию в одном или нескольких процессах, механизмах, эффектах, ответах, функциях, активностях или путях, опосредованных рецептором AhR. Такие изменения, опосредованные модулятором AhR, таким как ингибитор или неконститутивный агонист AhR, описанные в настоящем документе, могут относиться к снижению или повышению экспрессии, активности или функции AhR, такому как снижение, ингибирование или изменение направления конститутивной активности AhR. Термин "экспрессия" относится к клеточным процессам, вовлеченным в продукцию РНК и белков и в соответствующих случаях секреторных белков, предусматривая там,

где это применимо, без ограничения, например, транскрипцию, трансляцию, укладку, модификацию и процессинг. "Продукты экспрессии" включают в себя РНК, транскрибированную из гена, и полипептиды, полученные путем трансляции иРНК, транскрибированной из гена.

Термин "модулировать" в отношении модулятора AhR используется сообразно с его применением в настоящей области техники, например, обозначая содействие или облегчение качественного или количественного изменения, перестройки или модификации в одном или нескольких биологических процессах, механизмах, эффектах, ответах, функциях, активностях, путях или других явлениях, представляющих интерес. Соответственно используемый в настоящем документе термин "модулировать" относится к качественному или количественному изменению, перестройке или модификации в одном или нескольких процессах, механизмах, эффектах, ответах, функциях, активностях или путях, опосредованных рецептором AhR.

Используемый в настоящем документе термин "средство" в отношении модулятора AhR означает любое соединение или вещество, такое как без ограничения малая молекула, нуклеиновая кислота, полипептид, пептид, лекарственное средство, ион и т.д. "Средство" может быть любым химическим средством, целой молекулой или фрагментом, включая в себя без ограничения синтетические и встречающиеся в природе белковые и небелковые молекулы. Согласно некоторым вариантам осуществления средство представляет собой нуклеиновую кислоту, аналог нуклеиновой кислоты, белок, антитело, пептид, аптамер, олигомер нуклеиновых кислот, аминокислоту или углевод и включает в себя без ограничения белки, олигонуклеотиды, рибозимы, ДНКзимы, гликобелки, миРНК, липопротеины, аптамеры и их модификации и комбинации и т.д. Согласно определенным вариантам осуществления, как описано в настоящем документе, средства представляют собой малые молекулы, содержащие химический фрагмент. Например, химические фрагменты включают в себя незамещенный или замещенный алкил, ароматические или гетероциклические фрагменты. Соединения могут, как известно, характеризоваться необходимой активностью и/или свойством, например модулируют активность AhR, или могут быть выбраны из библиотеки различных соединений с использованием, например, описанных в настоящем документе способов скрининга.

Используемый в настоящем документе термин "малая молекула" относится к химическому средству, которое может включать в себя без ограничения пептид, пептидомиметик, аминокислоту, аналог аминокислоты, полинуклеотид, аналог полинуклеотида, аптамер, нуклеотид, аналог нуклеотида, органическое или неорганическое соединение (например, предусматривая гетероорганические и органометаллические соединения), характеризующиеся молекулярной массой меньше чем приблизительно 10000 грамм на моль, органические или неорганические соединения, характеризующиеся молекулярной массой меньше чем приблизительно 5000 грамм на моль, органические или неорганические соединения, характеризующиеся молекулярной массой меньше чем приблизительно 1000 грамм на моль, органические или неорганические соединения, характеризующиеся молекулярной массой меньше чем приблизительно 500 грамм на моль, и соли, сложные эфиры и другие фармацевтически приемлемые формы таких соединений.

Согласно некоторым вариантам осуществления модулятор AhR селективно связывается с AhR. Используемый в настоящем документе термин "селективно связывается" или "специфически связывается" относится к способности агониста AhR или ингибитора AhR, такого как антагонист AhR, описанного в настоящем документе, связываться с мишенью, такой как полипептид AhR, с K_D 10^{-5} М (10000 нМ) или меньше, например 10^{-6} М или меньше, 10^{-7} М или меньше, 10^{-8} М или меньше, 10^{-9} М или меньше, 10^{-10} М или меньше, 10^{-11} М или меньше или 10^{-12} М или меньше. Например, если агонист или ингибитор, описанный в настоящем документе, связывается с полипептидом AhR с K_D 10^{-5} М или ниже, но не с другими молекулами, или родственным гомологом, то говорят, что средство специфически связывается с полипептидом AhR. Специфическое связывание может находиться под воздействием, например, аффинности и avidности агониста или ингибитора и концентрации используемого агониста или ингибитора. Специалист в настоящей области техники может определить соответствующие условия, при которых описанные в настоящем документе агонисты или ингибиторы селективно связываются с использованием любых подходящих способов, таких как титрование агониста AhR или ингибитора AhR в подходящем анализе клеточного связывания, таком как те, что описаны в настоящем документе.

По отношению к мишени AhR термин "сайт взаимодействия с лигандом" на AhR означает сайт, эпитоп, антигенную детерминанту, часть, домен или участок аминокислотных остатков на AhR, который представляет собой сайт для связывания с лигандом, рецептором или другим партнером связывания, каталитический сайт, сайт расщепления, сайт для аллостерического взаимодействия, сайт, вовлеченный в мультимеризации (такой как гомодимеризация или гетеродимеризация) AhR; или любой другой сайт, эпитоп, антигенную детерминанту, часть, домен или участок аминокислотных остатков на AhR, который вовлечен в биологическую деятельность или механизм мишени, т.е. AhR. В более общем смысле "сайт взаимодействия с лигандом" может быть любым сайтом, эпитопом, антигенной детерминантой, частью, доменом или участком аминокислотных остатков на полипептиде AhR, с которым ингибитор или агонист, описанный в настоящем документе, может связаться, так чтобы модулировалась активность AhR и/или экспрессия (и/или любой путь, взаимодействие, передача сигнала, биологический механизм или

биологический эффект, в который вовлечен AhR).

Согласно некоторым аспектам композиций и способов, описанных в настоящем документе, модуляторы AhR представляют собой ингибиторы AhR, содержащие химические структуры формул (I), (Ia), (II) или (IIa), описанные в настоящем документе.

Используемые в настоящем документе термины "ингибитор AhR" или "AhR ингибитор" относятся к средству или соединению, такому как малые молекулы формулы (I) или формулы (II), описанным в настоящем документе, например CB7993113 и CMLD-2166 соответственно, которое ингибирует одну или несколько путей передачи сигнала AhR и путей нижележащих эффекторов, включая в себя конститутивную передачу сигнала AhR, как эти термины используются в настоящем документе. Таким образом, термин ингибитор AhR относится к средству, которое ингибирует экспрессию полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR, или к средству, которое связывается, частично или полностью блокирует стимуляцию, снижает, предотвращает, замедляет активацию, инактивирует, десенсибилизирует или отрицательно регулирует активность полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR. Такие ингибиторы AhR могут, например, ингибировать экспрессию AhR, например трансляцию AhR, посттрансляционный процессинг AhR, стабильность, деградацию или ядерную или цитоплазматическую локализацию полипептида AhR, или транскрипцию, посттранскрипционный процессинг, стабильность или деградацию полинуклеотида, кодирующего AhR, или связываться, частично или полностью блокировать стимуляцию, связывание ДНК или активность фактора транскрипции AhR. Ингибитор AhR может действовать напрямую или опосредовано. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор AhR селективно связывается с AhR.

Все используемые в настоящем документе термины "ингибировать", "уменьшать" и "снижать", в общем, означают снижение на статистически значимую величину. Соответственно ингибирование AhR достигается, когда значение активности полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR, является приблизительно по меньшей мере на 10% меньше, по меньшей мере на 20% меньше, по меньшей мере на 30% меньше, по меньшей мере на 40% меньше, по меньшей мере на 50% меньше, по меньшей мере на 60% меньше, по меньшей мере на 70% меньше, по меньшей мере на 80% меньше, по меньшей мере на 90% меньше, по меньшей мере на 95% меньше, по меньшей мере на 98% меньше, по меньшей мере на 99% меньше, вплоть до включая 100% или меньше, т.е. отсутствующий или не обнаруживаемый, по сравнению с эталонным или контрольным уровнем при отсутствии ингибитора. Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе аспектов ингибиторы AhR ингибируют конститутивную активность AhR.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов ингибитор AhR представляет собой "антагонист AhR". Антагонист AhR относится к ингибитору AhR, который не вызывает биологический ответ сам по себе при специфическом связывании с полипептидом AhR или полинуклеотидом, кодирующим AhR, но блокирует или ослабляет опосредованные агонистом или опосредованные лигандом ответы, т.е. антагонист AhR может связываться, но не активировать полипептид AhR или полинуклеотид, кодирующий AhR, и связывание разрушает взаимодействие, перемещает агонист AhR и/или ингибирует функцию агониста AhR. Согласно некоторым таким вариантам осуществления ингибитор AhR представляет собой антагонист AhR, который предотвращает или ингибирует связывание 2,3,7,8-тетрахлордibenzo-p-диоксина (TCDD) с AhR. Согласно некоторым таким вариантам осуществления антагонист AhR идентифицируют как низкомолекулярное соединение, которое блокирует активацию AhR с помощью сильного активатора AhR, такого как BNF или TCDD, но не индуцирует активность или передачу сигнала AhR сам по себе, что измеряют или оценивают с использованием любого способа, известного специалисту в настоящей области техники, такого как *in vitro* AhR репортерные анализы. Таким образом, используемый в настоящем документе антагонист AhR не функционирует как индуктор активности AhR при связывании с AhR, т.е. они функционируют как чистые ингибиторы AhR. Согласно некоторым вариантам осуществления антагонист AhR селективно связывается с AhR.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов описанные в настоящем документе ингибиторы AhR, такие как малые молекулы формулы (I) или формулы (II), например CB7993113 и CMLD-2166 соответственно, блокируют конститутивные эффекторные функции AhR, которые опосредуют рост и прогрессирование развившихся опухолей. Согласно другим вариантам осуществления низкомолекулярные ингибиторы AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7993113 и CMLD-2166, описанные в настоящем документе, действуют как химиопрофилактические средства путем блокирования AhR-опосредованной индукции CYP1A1 и продукции мутагенов на воздействие лигандов окружающей среды.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов низкомолекулярные ингибиторы AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7993113 и CMLD-2166, описанные в настоящем документе, ингибируют ранние вклады конститутивно активного AhR в управление злокачественной трансформацией. Согласно некоторым вариантам осуществления низкомолекулярные ингибиторы AhR формулы (I) или формулы (II), например CB 7993113 и CMLD-2166, описанные в настоящем документе, ингибируют опосредованную конститутивной передачей сигнала AhR злокачественную опухоль или рост опухолевых клеток. Согласно некоторым вариантам осуществления низкомолекулярные ингибиторы AhR формулы

(I) или формулы (II), например CB7993113 и CMLD-2166, описанные в настоящем документе, ингибируют опосредованную конститутивной передачей сигнала AhR инвазию опухоли в управлении злокачественной трансформацией.

Согласно другим аспектам описанные в настоящем документе модуляторы AhR являются неконститутивными агонистами AhR, содержащими химические структуры формулы (I) или формулы (II), такие как CB7950998.

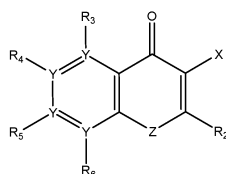
Используемые в настоящем документе термины "неконститутивный агонист AhR", "неконститутивный AhR агонист", "неконститутивный активатор AhR" или "неконститутивный AhR активатор" относятся к малой молекуле формулы (I) или формулы (II), описанной в настоящем документе, например CB7950998, которая связывается с AhR и гиперактивирует или изменяет направление конститутивной передачи сигнала AhR и пути нижележащих эффекторов, как эти термины используются в настоящем документе. Такие низкомолекулярные неконститутивные агонисты AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7950998, могут повышать экспрессию полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR, или связываться с AhR, и частично или полностью изменять направление конститутивной передачи сигнала AhR и последующую активность, такую как рост злокачественных клеток и инвазивные свойства опухоли. Согласно некоторым вариантам осуществления неконститутивный агонист AhR селективно связывается с AhR.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов неконститутивный агонист AhR блокирует или ослабляет конститутивные эндогенные опосредованные лигандом ответы, т.е. не конститутивный агонист AhR может связываться и передавать сигнал через AhR, но не активирует конститутивную активность полипептида AhR или полинуклеотида, кодирующего AhR, и связывание разрушает взаимодействие и/или ингибирует функцию эндогенного лиганда AhR, активирующего конститутивный путь AhR. Соответственно неконститутивный агонист AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7950998, может изменять направление конститутивной передачи сигнала AhR приблизительно по меньшей мере на 10% или больше, по меньшей мере на 20% или больше, по меньшей мере на 30% или больше, по меньшей мере на 40% или больше, по меньшей мере на 50% или больше, по меньшей мере на 60% или больше, по меньшей мере на 70% или больше, по меньшей мере на 80% или больше, по меньшей мере на 90% или больше, по меньшей мере на 95% или больше или по меньшей мере на 100% или полностью по сравнению с эталонным или контрольным уровнем при отсутствии неконститутивного агониста AhR.

Согласно предпочтительным вариантам осуществления этих аспектов неконститутивные агонисты AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7950998, описанные в настоящем документе, связываются с AhR и опосредуют неконститутивную передачу сигнала AhR, и ингибируют или блокируют конститутивные эффекторные функции AhR, которые опосредуют рост и прогрессирование развившихся опухолей. Согласно другим вариантам осуществления неконститутивные агонисты AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7950998, описанные в настоящем документе, действуют как химиопрофилактические средства путем блокирования AhR-опосредованной CYP1A1 индукции и продукции мутагенов на воздействие лигандов AhR, которые опосредуют конститутивную передачу сигнала AhR. Согласно некоторым вариантам осуществления неконститутивные агонисты AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7950998, описанные в настоящем документе, ингибируют ранние вклады конститутивного активного AhR в управлении злокачественной трансформацией. Согласно некоторым вариантам осуществления неконститутивные агонисты AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7950998, описанные в настоящем документе, ингибируют или предотвращают злокачественную опухоль или рост опухолевых клеток, опосредованный, частично или полностью, конститутивной передачей сигнала AhR. Согласно некоторым вариантам осуществления неконститутивные агонисты AhR формулы (I) или формулы (II), например CB7950998, описанные в настоящем документе, ингибируют или предотвращают инвазивность опухоли, опосредованную, частично или полностью, конститутивной передачей сигнала AhR.

Согласно некоторым вариантам осуществления неконститутивный агонист AhR идентифицируют как низкомолекулярное соединение, которое связывается с AhR и может смещать связывание с помощью активатора AhR, такого как BNF или TCDD; может активировать AhR, что измеряют или анализируют с использованием любого способа, известного специалисту в настоящей области техники; и не вызывает и предпочтительно ингибирует рост или пролиферацию злокачественных клеток или инвазивность опухоли, что измеряют с использованием любого анализа, известного специалисту в настоящей области техники. Активация AhR с помощью неконститутивного агониста может быть измерена с использованием, например, любого из *in vitro* AhR репортерных анализов, описанных в настоящем документе. Анализы для определения того, функционирует ли AhR агонист как неконститутивный агонист AhR, который ингибирует рост и пролиферацию злокачественных клеток, может быть основан на любом способе, известном специалисту в настоящей области техники, таком как анализ с использованием матригеля, описанные в определении CB7950998 на фиг. 14A-14B.

Соответственно для применения в различных описанных в настоящем документе аспектах раскрыты низкомолекулярный ингибитор AhR и соединения неконститутивного агониста AhR формулы (I)



где

Y представляет собой C или N;

X представляет собой OR₁, NHR₁, SR₁, CH₂(n)R₁, галоген или H;

n равно 0-6;

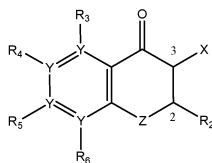
Z представляет собой O, S или NH;

R₁ и R₂ независимо представляют собой H, алкил, алкенил, алкинил, amino, аминосульфони, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

R₃, R₄, R₅ и R₆ отсутствуют или независимо представляют собой H, галоген, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

их фармацевтически приемлемые соли.

Также для применения в различных описанных в настоящем документе аспектах раскрыты соединения формулы (II)



где

Y представляет собой C или N;

X представляет собой OR₁, NHR₁, SR₁, CH₂(n)R₁, галоген или H;

n равно 0-6;

Z представляет собой O, S или NH;

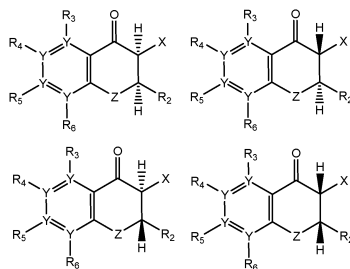
R₁ и R₂ независимо представляют собой H, алкил, алкенил, алкинил, amino, аминосульфони, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

R₃, R₄, R₅ и R₆ отсутствуют и независимо представляют собой H, галоген, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, ацил, арил, гетероарил, арилалкил, циклоалкил, гетероарилалкил, гетероциклил или галогеналкил, каждый из которых может быть необязательно замещен;

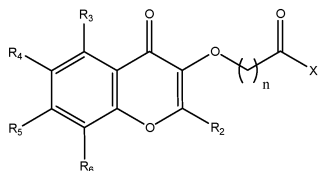
их стереоизомеры и

фармацевтически приемлемые соли.

Как будет отмечено специалистом настоящей области, могут быть получены различные стереоизомеры формулы (II). Например, стереоизомеры, направленные на два хиральных центра (отмеченные 2 и 3 на формуле (II)), представляют собой (2R, 3S), (2S, 3R), (2R, 3R) и (2S, 3S) стереоизомера соединения. Конечно, ориентирован ли хиральный центр в R-конфигурации или в S-конфигурации, будет зависеть от заместителей, представленных различным переменным. Следующие типичные стереоизомеры являются примерами различных (2R, 3S), (2S, 3R), (2R, 3R) и (2S, 3S) конфигураций формулы (II)



Согласно некоторым вариантам осуществления соединение формулы (I) может быть представлено как соединение формулы (Ia)



где

X' представляет собой H, алкил, аминосульфони́л, алкокси, а́мино, а́цил, а́рил или гетероа́рил, ка́ждый из которых может быть необязательно замещен;

n равно 0-6;

R₂ представляет собой H, алкил, а́цил, а́рил, гетероа́рил, а́рилалки́л, циклоа́лкил, гетероа́рилалки́л, гетероци́клил или галоге́налки́л, ка́ждый из которых может быть необязательно замещен;

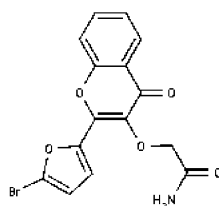
R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкил, а́цил, гало́ген, а́рил или гетероа́рил, ка́ждый из которых может быть необязательно замещен; и

его фармацевтически приемлемые соли.

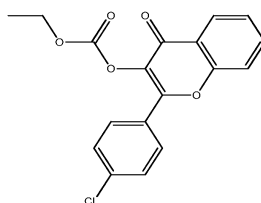
Согласно другим вариантам осуществления формулы (Ia) X' представляет собой алкил, алкокси, а́мино, а́миносу́льфони́л (необязательно замещенный ари́лом или ара́лкильными группами, такими как толуол); n равно 0 или 1; R₂ представляет собой а́рил, заме́щенный а́рил, гетероа́рил или заме́щенный а́рил; и R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкокси, алки́л или гало́ген.

Типичные соединения формулы I включают в себя следующие соединения

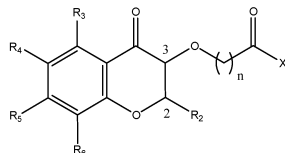
CB7993113



CB7950998



Согласно другим вариантам осуществления соединение формулы (II) может быть представлено как соединение формулы (IIa)



где

X' представляет собой H, алкил, аминосульфони́л, алкокси, а́цил, а́рил или гетероа́рил, ка́ждый из которых может быть необязательно замещен;

n равно 0-6;

R₂ представляет собой H, алкил, а́цил, а́рил, гетероа́рил, а́рилалки́л, циклоа́лкил, гетероа́рилалки́л, гетероци́клил или галоге́налки́л, ка́ждый из которых может быть необязательно замещен;

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкил, а́цил, гало́ген, а́рил или гетероа́рил, ка́ждый из которых может быть необязательно замещен;

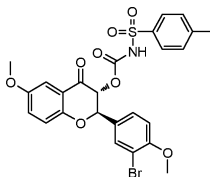
его стереоизомеры и

его фармацевтически приемлемые соли.

Согласно другим вариантам осуществления формулы (IIa) X' представляет собой алкил, алкокси, а́миносу́льфони́л (необязательно замещенный ари́лом или ара́лкильными группами, такими как толуол); n равно 0 или 1; R₂ представляет собой а́рил, заме́щенный а́рил, гетероа́рил или заме́щенный а́рил; и R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, алкокси, алки́л или гало́ген.

Типичные соединения формулы (II) включают в себя следующее соединение:

CMLD-2166



Для упрощения химические фрагменты, как определено и упомянуто во всем описании, могут представлять собой одновалентные химические фрагменты (например, алкил, арил и т.д.) или многовалентные фрагменты при соответствующих структурных условиях, понятных специалистам настоящей

области. Например, согласно некоторым вариантам осуществления "алкильный" фрагмент может относиться к одновалентному радикалу (например, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), или согласно другим вариантам осуществления двухвалентный связывающий фрагмент может представлять собой "алкил", при этом специалисты настоящей области будут понимать, что алкил представляет собой двухвалентный радикал (например, $\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), что является эквивалентным термину "алкилен". Подобным образом в случаях, при которых необходимы двухвалентные фрагменты и они обозначены как "алкокси", "алкиламино", "арилокси", "алкилтио", "арил", "гетероарил", "гетероциклический", "алкил", "алкенил", "алкинил", "алифатический" или "циклоалкил", специалистам настоящей области будет понятно, что термины "алкокси", "алкиламино", "арилокси", "алкилтио", "арил", "гетероарил", "гетероциклический", "алкил", "алкенил", "алкинил", "алифатический" или "циклоалкил" относятся к соответствующему двухвалентному фрагменту.

Термин "галоген" относится к любому радикалу фтора, хлора, брома или йода.

Термин "ацил" относится к алкилкарбонилловому, циклоалкилкарбонилловому, арилкарбонилловому, гетероциклическому карбонилловому или гетероарилкарбонилловому заместителю, каждый из которых может быть дополнительно замещен заместителями. Иллюстративные ациловые группы включают в себя без ограничения ($\text{C}_1\text{-C}_6$)алканойл (например, формил, ацетил, пропионил, бутирил, валерил, капроил, трет-бутилацетил и т.д.), ($\text{C}_3\text{-C}_6$)циклоалкилкарбонил (например, циклопропилкарбонил, циклобутилкарбонил, цикlopентилкарбонил, циклогексилкарбонил и т.д.), гетероциклический карбонил (например, пирролидинилкарбонил, пирролил-2-он-5-карбонил, пиперидинилкарбонил, пиперазинилкарбонил, тетрагидрофуранилкарбонил и т.д.), ароил (например, бензоил) и гетероароил (например, тиофенил-2-карбонил, тиофенил-3-карбонил, фуранил-2-карбонил, фуранил-3-карбонил, 1Н-пирроил-2-карбонил, 1Н-пирроил-3-карбонил, бензо[b]тиофенил-2-карбонил и т.д.). Кроме того, фрагмент алкила, циклоалкила, гетероцикла, арила гетероарила ацильной группы может представлять собой любую из групп, описанную в соответствующих определениях.

Термин "алкил" относится к насыщенным неароматическим углеводородным цепям, которые могут представлять собой неразветвленную цепь или разветвленную цепь, содержащую обозначенное число атомов углерода (он включает в себя без ограничения метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, в которые необязательно введены N, O, S, SS, SO_2 , C(O), C(O)O, OC(O), C(O)N или NC(O)). Например, $\text{C}_1\text{-C}_6$ означает, что группа может содержать в себе от 1 до 6 (включительно) атомов углерода.

Термин "алкенил" относится к алкилу, который включает в себя по меньшей мере одну двойную связь. Иллюстративные алкенильные группы включают в себя без ограничения, например, этенил, пропенил, бутенил, 1-метил-2-бутен-1-ил и т.д.

Термин "алкинил" относится к алкилу, который включает в себя по меньшей мере одну тройную связь.

Термин "алкокси" относится к -О-алкильному радикалу.

Термин "аминоалкил" относится к алкилу, замещенному амино.

Термин "арил" относится к моноциклической, бициклической или трициклической ароматической кольцевой системе, в которой 0, 1, 2, 3 или 4 атома каждого кольца могут быть замещены заместителем. Иллюстративные арильные группы включают в себя без ограничения фенил, нафтил, антраценил, азуленил, флюоренил, инданил, инденил, нафтил, фенил, тетрагидронафтил и т.п.

Термин "арилалкил" относится к алкилу, замещенному арилом, или арилу, замещенному алкилом.

Термин "циклоалкил" относится к насыщенным и частично ненасыщенным циклическим углеводородным группам, содержащим от 3 до 12 атомов углерода, например от 3 до 8 атомов углерода и, например, от 3 до 6 атомов углерода, причем циклоалкильная группа дополнительно может быть необязательно замещена. Иллюстративные циклоалкильные группы включают в себя без ограничения циклопропил, циклобутил, цикlopентил, цикlopентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклооктил и т.д.

Термин "гетероарил" относится к ароматической 5-8-членной моноциклической, 8-12-членной бициклической или 11-14-членной трициклической кольцевой системе, содержащей 1-3 гетероатома, если моноциклическая, 1-6 гетероатомов, если бициклическая, или 1-9 гетероатомов, если трициклическая, указанные гетероатомы выбраны из O, N или S (например, атомы углерода и 1-3, 1-6 или 1-9 гетероатомов N, O или S, если моноциклическая, бициклическая или трициклическая соответственно), где 0, 1, 2, 3 или 4 атома каждого кольца могут быть замещены заместителем. Иллюстративные гетероарильные группы включают в себя без ограничений пиридил, фурил или фуранил, имидазолил, бензимидазолил, пиримидинил, тиофенил или тиенил, пиридазинил, пиразинил, хиолинил, индолил, тиазолил, нафтиридинил и т.д.

Термин "гетероарилалкил" относится к алкилу, замещенному гетероарилом.

Термин "гетероциклический" относится к неароматической 5-8-членной моноциклической, 8-12-членной бициклической или 11-14-членной трициклической кольцевой системе, содержащей 1-3 гетероатома, если моноциклическая, 1-6 гетероатомов, если бициклическая, или 1-9 гетероатомов, если трициклическая, указанные гетероатомы выбраны из O, N или S (например, атомы углерода и 1-3, 1-6 или 1-9 гетероатомов N, O или S, если моноциклическая, бициклическая или трициклическая соответственно), где 0, 1, 2 или 3 атома каждого кольца могут быть замещены заместителем. Иллюстративные гетероциклические группы включают в себя без ограничения пиперазинил, пирролидинил, диоксанил, морфолинил,

тетрагидрофуранил и т.д.

Термин "галогеналкил" относится к алкильной группе, содержащей один, два, три или несколько присоединенных к ней атомов водорода. Иллюстративные галогеналкильные группы включают в себя без ограничения хлорметил, бромэтил, трифторметил и т.д.

Термин "необязательно замещенный" означает, что конкретная группа или фрагмент, например, незамещенный или который замещен одним или несколькими (типично, 1-4 заместителями), независимо выбранными из группы заместителей, перечисленных в настоящем документе в определении "заместителей" или определенных иначе. Заместители могут быть "отдельными" заместителями, например галогеновая группа и алкоксигруппы, связанные с различными атомами углерода в бензольном кольце, или заместители могут быть "сложены" друг на друге, например ацильная группа (такая как формил), которая замещена аминосульфониальной группой, которая замещена арилалкилом (таким как толуол).

Термин "заместители" относится к группе, которая замещает водород на любом атоме замещенной группы или фрагмента, а также группа "замещена" на алкильной, алкенильной, алкинильной, циклоалкильной, арильной, гетероциклической, гетероарильной, ацильной, аминогруппе на любом атоме этой группы. Подходящие заместители включают в себя без ограничения галоген, гидроксильная, оксо, нитро, галогеналкил, алкил, алкенил, алкинил, алкарил, арил, аралкил, алкокси, арилокси, амина, аминосульфони, ациламино, алкилкарбаноил, арилкарбаноил, аминал, алкоксикарбонил, карбокси, гидроксикал, алкилтио, CF₃, N-морфолино, фенилтио, алкансульфонил, аренсульфонил, алкансульфонамидо, аренсульфонамидо, аралкилсульфонамидо, алкилкарбонил, ацилокси, циано или уреидо. В некоторых случаях два заместителя вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, могут образовывать кольцо.

Во многих случаях защитные группы используют в течение получения соединений согласно изобретению. Используемый в настоящем документе термин "защищенный" означает, что указанный фрагмент содержит присоединенную к нему защитную группу. Согласно некоторым предпочтительным вариантам осуществления изобретения соединения содержат одну или несколько защитных групп. Большое разнообразие защитных групп может быть применено в способах настоящего изобретения. В большинстве случаев защитные группы представляют химические функциональные группы, инертные к конкретным химическим условиям, и могут быть присоединены к и удалены из таких функциональных групп в молекуле без значительного повреждения остатка молекулы.

Типичные гидроксильные защитные группы, например, раскрыты в Beaucage et. al. (Tetrahedron 1992, 48, 2223-2311). Кроме того, гидроксильные защитные группы, а также другие иллюстративные защитные группы раскрыты в Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Chapter 2, 2d ed., John Wiley & Sons, New York, 1991 и Oligonucleotides and Analogues A Practical Approach, Ekstein, F. Ed., IRL Press, N.Y., 1991. Примеры гидроксильных защитных групп включают без ограничения трет-бутил, трет-бутоксиметил, метоксиметил, тетрагидропиранил, 1-этоксипропан, 1-(2-хлорэтоксипропан)этил, 2-триметилсилилэтил, параклорфенил, 2,4-динитрофенил, бензил, 2,6-дихлорбензил, дифенилметил, пара,пара'-динитробензилгидрид, паранитробензил, трифенилметил, триметилсилил, триэтилсилил, тетрабутилдиметилсилил, тетра-бутилдифенилсилил, трифенилсилил, бензиолформиат, ацетат, хлорацетат, трихлорацетат, трифторацетат, пивалат, бензоат, парафенилбензоат, 9-флуоренилметилкарбонат, мезилат и тозилат.

Азот- или аминозащитные группы, стойкие к обработке кислотой, выборочно удаляли обработкой основанием, и их использовали для образования реакционноспособных аминогрупп, выборочно доступных для замещения. Иллюстративные аминозащитные группы включают в себя без ограничения такие карбаматзащитные группы, как 2-триметилсилилэтоксикарбонил (Teos), 1-метил-1-(4-бифенил)этоксикарбонил (Bpsc), трет-бутоксикарбонил (BOC), аллилкарбонил (Alloc), 9-флуоренилметилкарбонил (Fmoc) и бензилкарбонил (Cbz); такие амидзащитные группы, как формил, ацетил, тригалогенацетил, бензиол и нитрофенилацетил; такие сульфониламинозащитные группы, как 2-нитробензолсульфонил; и такие имин- и циклические имидзащитные группы, как фталимидо и ди-тиасукциноил.

Модуляторы AhR: терапевтическое применение и фармацевтические композиции.

В настоящем документе описаны новые низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II) для применения в способах лечения субъекта, характеризующегося или подверженного риску развития пролиферативного нарушения, такого как злокачественная опухоль. Низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), описанные в настоящем документе, такие как ингибиторы AhR, например CB7993113 и CMLD-2166, и неконститутивные агонисты AhR, например CB7950998, могут вводиться субъекту, нуждающемуся в этом, любым приемлемым путем, что приводит к эффективному лечению субъекта.

Соответственно согласно некоторым аспектам в настоящем документе представлены способы модулирования конститутивной активности AhR у субъекта. Такие способы предусматривают введение субъекту с конститутивной активностью AhR терапевтически эффективного количества низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятор AhR представляет собой ингибитор AhR

формулы (I), например СВ7993113. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятор AhR представляет собой ингибитор AhR формулы (II), например CMLD-2166. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятор AhR представляет собой неконститутивный агонист AhR формулы (I), например СВ7950998, или формулы (II).

Термины "субъект" и "индивидуум" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и относятся к животному, например человеку, реципиенту низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе, например ингибиторов AhR, таких как СВ7993113 и CMLD-2166, и неконститутивных агонистов AhR, таких как СВ7950998. Для лечения таких болезненных состояний, которые являются специфическими для конкретного животного, такого как субъект - человек, термин "субъект" относится к такому конкретному животному. Термины "не относящиеся к человеку животные" и "не относящиеся к человеку млекопитающие" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и включают в себя млекопитающих, таких как крысы, мыши, кролики, овцы, кошки, собаки, коровы, свиньи и не относящиеся к человеку приматы. Термин "субъект" также предусматривает любого позвоночного, включая в себя без ограничения млекопитающих, пресмыкающихся, земноводных и рыб.

Согласно некоторым аспектам в настоящем документе представлены способы лечения больного злокачественной опухолью или состоянием злокачественной опухоли или субъекта, подверженного риску развития злокачественной опухоли или состояния злокачественной опухоли, причем способы предусматривают введение больному злокачественной опухолью или состоянием злокачественной опухоли или субъекту, подверженному риску развития злокачественной опухоли или состояния злокачественной опухоли, терапевтически эффективного количества низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятор AhR представляет собой ингибитор AhR формулы (I), например СВ7993113.

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятор AhR представляет собой ингибитор AhR формулы (II), например CMLD-2166. Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов модулятор AhR представляет собой неконститутивный агонист AhR формулы (I), например СВ7950998, или формулы (II).

Термины "злокачественная опухоль" и "злокачественный" относятся к или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое, как правило, характеризуется нерегулируемым ростом или пролиферацией клеток, что препятствует нормальному функционированию органов и систем организма. Соответственно используемые в настоящем документе термины "злокачественная опухоль" или "опухоль" относятся к неконтролируемому росту клеток, который препятствует нормальному функционированию органов и систем организма, включая в себя злокачественные стволовые клетки и сосудистые ниши опухоли. Больной злокачественной опухолью или опухолью представляет собой субъекта, содержащего объективно измеримые злокачественные клетки, присутствующие в организме субъекта. Злокачественные опухоли, которые мигрируют от их исходного расположения и засевают жизненно важные органы, могут, в конце концов, привести к смерти субъекта из-за функционального нарушения пораженных органов. Гематопозитические виды злокачественных опухолей, такие как лейкоз, способны вытеснять нормальные гематопозитические компартменты у субъекта, тем самым, приводя к гематопозитической недостаточности (в форме анемии, тромбоцитопении и нейтропении), в конечном счете вызывая смерть. В настоящее определение включены доброкачественные и злокачественные опухоли, а также латентные опухоли или микрометастазы.

Термин "метастазирование" относится к распространению злокачественной опухоли из ее первичного сайта на другие участки организма. Злокачественные клетки могут отрываться от первичной опухоли, проникать в лимфатические и кровеносные сосуды, циркулировать в кровотоке и расти в отдаленном очаге (давать метастазы) в нормальных тканях где-либо в организме. Метастазирование может быть местным или отдаленным. Метастазирование представляет собой последовательный процесс, зависящий от отрыва опухолевых клеток от первичной опухоли, циркуляции по кровотоку и остановки в отдаленном участке. На новом месте клетки устанавливают кровоснабжение и могут расти до образования опасной для жизни массы. Как стимулирующие, так и ингибирующие молекулярные пути внутри опухолевой клетки регулируют ее поведение, и взаимодействия между опухолевой клеткой и клетками хозяина в отдаленном участке также являются существенными.

Метастазы наиболее часто обнаруживают посредством отдельного или комбинированного использования сканирований с помощью магнитно-резонансной томографии (MRI), сканирований с помощью компьютерной томографии (СТ), анализа крови и определения количества тромбоцитов, исследований функций печени, рентгенографии органов грудной клетки и сканирований костей скелета в дополнение к мониторингу специфических симптомов.

Соответственно злокачественные опухоли, которые можно лечить с использованием композиций и способов, описанных в настоящем документе в различных аспектах, включают в себя без ограничения карциному, лимфому, blastому, саркому и лейкоз. Более конкретные примеры таких злокачественных опухолей включают в себя без ограничения следующее: злокачественную опухоль молочной железы; базальноклеточную карциному, злокачественную опухоль желчного протока; злокачественную опухоль

мочевого пузыря; злокачественную опухоль кости; злокачественную опухоль головного мозга и ЦНС; злокачественную опухоль брюшины; злокачественную опухоль шейки матки; хориокарциному; злокачественную опухоль толстой и прямой кишки; злокачественную опухоль из соединительной ткани; злокачественную опухоль органов пищеварительной системы; злокачественную опухоль эндометрия; злокачественную опухоль пищевода; злокачественную опухоль глаза; злокачественную опухоль головы и шеи; злокачественную опухоль желудка (включая в себя злокачественную опухоль желудочно-кишечного тракта); глиобластому; карциному печени; гепатому; интраэпителиальное новообразование; злокачественную опухоль почки, или почечно-клеточную; злокачественную опухоль гортани; лейкоз; злокачественную опухоль печени; злокачественную опухоль легкого (например, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого и сквамозную карциному легкого); лимфому, включая в себя ходжскинскую и неходжскинскую лимфому; меланому; миелому; нейробластому; глиобластому; злокачественную опухоль рта (например, губы, языка, рта и глотки); злокачественную опухоль яичника; злокачественную опухоль поджелудочной железы; злокачественную опухоль предстательной железы; ретинобластому; рабдомиосаркому; злокачественную опухоль прямой кишки; злокачественную опухоль органов дыхательной системы, карциному слюнной железы; саркому; злокачественную опухоль кожи; плоскоклеточный рак; злокачественную опухоль желудка; злокачественную опухоль яичка; злокачественную опухоль щитовидной железы; злокачественную опухоль матки или эндометрия; злокачественную опухоль органов мочевой системы; злокачественную опухоль вульвы; а также другие карциномы и саркомы; а также В-клеточную лимфому (включая в себя следующее: неходжскинскую лимфому (NHL) низкой степени злокачественности/фолликулярную NHL; мелкоклеточную лимфоцитарную (SL) NHL; NHL средней степени злокачественности/фолликулярную NHL; диффузную NHL средней степени злокачественности; иммунобластную NHL высокой степени злокачественности; лимфобластную NHL высокой степени злокачественности; мелкоклеточную NHL с нерассеченными ядрами высокой степени злокачественности; генерализованную лимфаденопатию NHL; лимфому из клеток мантии; СПИД-ассоциированную лимфому и макроглобулинемию Вальденстрема); хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL); острый лимфобластный лейкоз (ALL); волосатоклеточный лейкоз; хронический миелобластный лейкоз и посттрансплантационное лимфопролиферативное нарушение (PTLD), а также аномальную сосудистую пролиферацию, связанную с факотомозом, отек (такой как связанный с опухолями головного мозга) и синдром Мейгса.

Согласно некоторым вариантам осуществления злокачественная опухоль может быть солидной опухолью. Используемый в настоящем документе термин "солидная опухоль" относится к аномальной массе ткани, которая обычно не содержит кист или жидких областей. Солидные опухоли могут быть доброкачественными или злокачественными. Различные типы солидных опухолей называют по типу клеток, из которых они образованы. Не ограничивающие примеры солидных опухолей представляют собой саркомы, карциномы и лимфомы. Лейкозы и другие злокачественные опухоли крови, как правило, не образуют солидные опухоли и, следовательно, их не включают в используемый в настоящем документе термин "солидная опухоль".

Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе аспектов термин "субъект" относится к человеку, больному злокачественной опухолью или подверженному повышенному риску развития состояния злокачественной опухоли. Больной злокачественной опухолью или опухолью представляет собой субъекта, содержащего объективно измеримые злокачественные клетки, присутствующие в организме субъекта. Субъект, который подвержен повышенному риску развития состояния злокачественной опухоли, включает субъектов, характеризующихся известным генетическим фактором риска развития злокачественной опухоли, или у которых есть злокачественная опухоль в семейном анамнезе. Согласно некоторым таким вариантам осуществления описанных в настоящем документе аспектов злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль молочной железы. Согласно некоторым таким вариантам осуществления описанных в настоящем документе аспектов злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе аспектов способы лечения злокачественной опухоли или состояния злокачественной опухоли дополнительно предусматривают этап выбора, диагностики или идентификации больного злокачественной опухолью или состоянием злокачественной опухоли. Согласно таким вариантам осуществления субъект идентифицируют как содержащий злокачественную опухоль путем объективного определения присутствия злокачественных клеток или опухоли в организме субъекта специалистом в настоящей области техники. Такие объективные определения можно осуществить посредством индивидуального или комбинированного применения биопсий тканей, анализа крови и определения количества тромбоцитов, анализа мочи, сканирования с помощью магнитной резонансной томографии (MRI), сканирования с помощью компьютерной томографии (СТ), исследований функции печени, рентгенографий органов грудной клетки и сканирования костей скелета в дополнение к мониторингу специфических симптомов, связанных со злокачественной опухолью.

Введение, дозировки и сроки.

Низкомолекулярный модулятор AhR формулы (I) или формулы (II), описанный в настоящем доку-

менте, например ингибиторы AhR, такие как CB7993113 и CMLD-2166, и неконститутивные агонисты AhR, такие как CB7950996, могут составлять, дозировать и вводить таким образом, который согласуется с надлежащей медицинской практикой для применения в лечении злокачественных опухолей и состояний злокачественных опухолей, описанных в настоящем документе, таких как злокачественную опухоль молочной железы. Рассматриваемые в данном контексте факторы предусматривают конкретное нарушение или тип нарушения, например злокачественной опухоли, подлежащей лечению, конкретного субъекта, подлежащего лечению, клиническое состояние отдельного субъекта, причину нарушения, место доставки средства, способ введения, составление схемы введения и другие факторы, известные практикующим врачам.

Соответственно "терапевтически эффективное количество" низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибиторов AhR, таких как CB7993113 и CMLD-2166, и неконститутивных агонистов AhR, таких как CB7950996, подлежащее введению, определяется такими соображениями, и, как используется в настоящем документе, относится к минимальному количеству, необходимому для профилактики, улучшения или лечения или стабилизации нарушения или состояния, например, опосредованного конститутивной активностью AhR.

Согласно таким аспектам и вариантам осуществления, относящимся к злокачественной опухоли или другим пролиферативным нарушениям, терапевтически эффективное количество низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, представляет собой минимальное количество, необходимое, например, для увеличения времени до прогрессирования (длительность периода выживаемости без прогрессирования), для ингибирования или предотвращения инвазии опухоли или для лечения или профилактики появления или рецидива опухоли, латентной опухоли или микрометастазов. Согласно некоторым таким вариантам осуществления низкомолекулярный модулятор AhR формулы (I) или формулы (II), описанный в настоящем документе, например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, необязательно составляют с одним или несколькими средствами, обычно используемыми для профилактики или лечения злокачественной опухоли или риска развития злокачественной опухоли. Эффективное количество таких других средств зависит от количества ингибитора AhR или неконститутивного агониста AhR, присутствующего в составе, типа нарушения или лечения и других обсуждаемых в настоящем документе факторов и как понятно специалисту в настоящей области техники. Эти средства, как правило, используют в таких же дозировках и вводят такими же путями введения, которые используются в настоящем документе, до или приблизительно от 1 до 99% от дозировок, используемых до настоящего времени.

Используемое в настоящем документе эффективное количество также предусматривает количество, достаточное для задержки развития симптом злокачественной опухоли, изменения течения злокачественной опухоли (например, без ограничения, замедление прогрессирования симптома злокачественной опухоли, такого как рост опухоли), или обратного развития симптома злокачественной опухоли или опухоли. Таким образом, невозможно точно определить выражение "эффективное количество". Тем не менее, для любого данного случая адекватное "эффективное количество" может быть определено специалистом в настоящей области техники с использованием проведения только рутинных экспериментов.

Эффективные количества, токсичность и терапевтическая эффективность низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, могут быть определены с помощью стандартных фармацевтических процедур в клеточных культурах или на экспериментальных животных, например, для определения LD₅₀ (дозы, летальной для 50% популяции) и ED₅₀ (дозы, терапевтически эффективной для 50% популяции). Дозировка может варьировать в зависимости от используемой лекарственной дозы и применяемого пути введения. Соотношение дозы между токсическими и терапевтическими эффектами представляет собой терапевтический индекс, и он может быть выражен как соотношение LD₅₀/ED₅₀. Композиции и способы, которые проявляют большие терапевтические индексы, являются предпочтительными. Терапевтически эффективная доза может оцениваться вначале на основании анализов клеточных культур. Кроме этого, дозу можно составить на животных моделях для достижения диапазона циркулирующей концентрации в плазме, который включает в себя IC₅₀ (т.е. концентрацию ингибитора AhR или неконститутивного агониста AhR), который достигает половину максимального ингибирования симптомов, что определяют в клеточной культуре или на соответствующей животной модели. Содержание в плазме можно измерить, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Эффекты любой конкретной дозировки можно подвергнуть мониторингу с помощью подходящего биоанализа. Дозировка может быть определена врачом и отрегулирована при необходимости, чтобы соответствовать наблюдаемым эффектам лечения.

В зависимости от типа и тяжести заболевания приблизительно 1 мкг/кг - 100 мг/кг (например, 0,1-20 мг/кг) низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, представляет собой начальный кандидатный диапазон дозировки для введения субъекту, либо, например, с помощью одного или нескольких отдельных введений, либо с

помощью непрерывной инфузии. Типичная ежедневная дозировка может находиться в диапазоне от приблизительно 1 мкг/кг до приблизительно 100 мг/кг или больше в зависимости от факторов, упомянутых выше. Для повторных введений в течение нескольких дней или дольше в зависимости от состояния лечение поддерживают, пока производят лечение злокачественной опухоли, что измеряют с помощью способов, описанных выше или известных в настоящей области техники. Тем не менее, могут быть применимы другие схемы дозировки. Прогресс терапевтических способов, описанных в настоящем документе, подвергают раннему мониторингу с помощью общепринятых техник и анализов, таких как те, что описаны в настоящем документе или известны специалисту в настоящей области техники. Согласно другим вариантам осуществления такую схему дозировки используют в комбинации со схемой химиотерапии в качестве терапии первой линии для лечения местно рецидивирующего или метастазирующей злокачественной опухоли молочной железы.

Длительность описанных в настоящем документе терапевтических способов может продолжаться в течение времени согласно медицинскому назначению или пока не будет достигнут необходимый терапевтический эффект (например, те, что описаны в настоящем документе). Согласно определенным вариантам осуществления введение модулятора AhR, т.е. "терапия ингибитором AhR" или "терапия неконститутивным агонистом AhR" продолжается в течение по меньшей мере 1 месяца, по меньшей мере 2 месяцев, по меньшей мере 4 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 1 года, по меньшей мере 2 лет, по меньшей мере 3 лет, по меньшей мере 4 лет, по меньшей мере 5 лет, по меньшей мере 10 лет, по меньшей мере 20 лет или в течение по меньшей мере периода вплоть до продолжительности жизни субъекта.

Описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, могут быть введены субъекту, например субъекту-человеку, согласно известным способам, таким как внутривенное введение в виде болюса или с помощью непрерывной инфузии в течение периода времени, с помощью внутримышечный, интраперитонеальный, интрацереброспинальный, подкожный, внутрисуставной, интрасиновиальный, интратекальный, пероральный, местного или ингаляционного путей. Местное введение может быть использовано, если, например, обширные побочные эффекты или токсичность связаны с ингибитором AhR или неконститутивным агонистом AhR. Стратегия *ex vivo* также может быть использована для терапевтического применения.

Иллюстративные способы введения описанных в настоящем документе низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, предусматривают без ограничения инъекцию, инфузию, ингаляцию (например, интраназальную или интратрахеальную), прием внутрь, ректальное и местное (включая в себя буккальное и сублингвальное) введение. Используемые в настоящем документе фразы "парентеральное введение" и "введенный парентерально" относятся к способам введения, отличным от энтерального и местного введения, обычно с помощью инъекции. Используемый в настоящем документе термин "инъекция" включает в себя без ограничения внутривенную, внутримышечную, интраартериальную, интратекальную, интравентрикулярную, интракапсулярную, интраорбитальную, интракардиальную, интрадермальную, интраперитонеальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, интрацереброспинальную и интратермальную инъекцию и инфузию. Используемые в настоящем документе фразы "системное введение", "введенный системно", "периферическое введение" и "введенный периферически" относятся к введению низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, отличного от прямого в целевое место, ткань или орган, такой как легкое, так чтобы он проник в кровеносную систему субъекта и, таким образом, подвергся метаболизму и другим подобным процессам.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, вводят с помощью внутривенной инфузии или инъекции. Согласно некоторым вариантам осуществления, когда необходимо местное лечение, например на или около места опухоли, такой как опухоль в молочной железе у больного злокачественной опухолью молочной железы, низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), описанные в настоящем документе, например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, могут быть введены с помощью внутриочагового введения. Дополнительно, согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор AhR или неконститутивные агонисты AhR, описанные в настоящем документе, могут быть введены с помощью импульсной инфузии, в частности, со снижением доз ингибиторов или неконститутивных агонистов. Предпочтительно дозирование производят с помощью инъекций, наиболее предпочтительно внутривенных или подкожных инъекций, частично в зависимости от того, является ли введение коротким или постоянным.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе низкомолеку-

лярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, вводят местно, например, с помощью прямых инъекций, если позволяет нарушение или расположение опухоли, и инъекции можно периодически повторять. Описанные в настоящем документе ингибиторы AhR или неконститутивные агонисты AhR могут также быть доставлены субъекту либо напрямую к опухолевым клеткам, например к опухоли или ложу опухоли, после хирургического иссечения опухоли, для того чтобы предотвратить или снизить местный рецидив или метастазирование, например, латентной опухоли или микрометастазов.

Фармацевтические составы.

Терапевтические составы ингибиторов AhR могут быть получены согласно некоторым аспектам путем смешивания низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, характеризующегося необходимой степенью очистки, с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательные вещества или стабилизаторы (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), в форме лиофилизированных составов или водных растворов. Такие терапевтические составы описанных в настоящем документе ингибиторов AhR или неконститутивных агонистов AhR предусматривают составление в виде фармацевтических композиций или фармацевтических составов для парентерального введения, например внутривенного; введения через слизистую, например интраназального; энтерального, например перорального; местного, например трансдермального; глазного или другого способа введения.

Используемая в настоящем документе фраза "фармацевтически приемлемый" относится к тем соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые в пределах объема тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения в соответствии с целесообразным соотношением риск/польза. Используемая в настоящем документе фраза "фармацевтически приемлемый носитель" означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или наполнитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель, среда, инкапсулирующий материал, вспомогательное средство для производства (например, смазывающее средство, тальк, стеарат магния, кальция или цинка или стеариновая кислота) или инкапсулирующий растворитель материал, вовлеченный в поддержание активности, перенос или транспортировку низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, из одного органа или части организма к другому органу или части организма.

Некоторые не ограничивающие примеры приемлемых носителей, вспомогательных веществ или стабилизаторов, которые являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, включают в себя pH буферные растворы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая в себя аскорбиновую кислоту и метионин; смазывающие средства, такие как стеарат магния, лаурилсульфат натрия и тальк; вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для суппозитория; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, масло сафлора, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; консерванты (такие как октадецилдиметилбензиламмония хлорид; гексаметония хлорид; бензалкония хлорид, бензетония хлорид; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол и m-крезол); низкомолекулярный (меньше чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин, ЛПВП, ЛПНП или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая в себя маннозу, крахмалы (кукурузный крахмал или картофельный крахмал) или декстрины; целлюлоза и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза и ацетат целлюлозы; хелатирующие средства, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, глюкоза, лактоза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, Zn-белковые комплексы); гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные средства, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; сложные полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды; C₂-C₁₂ спирты, такие как этанол; порошкообразный трагакант; солод; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG); и/или другие нетоксические совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах. В составе могут также присутствовать смачивающие средства, красители, высвобождающие средства, оболочки, подсластители, вкусовые добавки, ароматизаторы, консервант и антиоксиданты.

Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтический состав, содержащий ингибитор AhR, содержит фармацевтически приемлемую соль, как правило, например, хлорид натрия, и предпочти-

тельно в приблизительно физиологических концентрациях. Необязательно описанные в настоящем документе составы могут содержать фармацевтически приемлемый консервант. Согласно некоторым вариантам осуществления концентрация консерванта находится в диапазоне от 0,1 до 2,0%, как правило, об./об. Подходящие консерванты включают в себя те, которые известны в фармацевтической области техники. Бензиловый спирт, фенол, m-крезол, метилпарабен и пропилпарабен являются примерами консервантов. Необязательно составы настоящего изобретения могут содержать фармацевтически приемлемое поверхностно-активное вещество в концентрации 0,005-0,02%.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе аспектов описанный в настоящем документе низкомолекулярный модулятор AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, можно специфически составить для введения соединения субъекту в твердой, жидкой или гелеобразной форме, предусматривая форму, адаптированную для следующего: (1) пероральное введение, например кисели (водные или неводные растворы или суспензии), леденцы, драже, капсулы, пилюли, таблетки (например, предназначенные для буккальной, сублингвальной и системной абсорбции), боллусы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; (2) парентеральное введение, например, с помощью подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции, как, например, стерильный раствор или суспензия или состав замедленного высвобождения; (3) местное нанесение, например, в виде крема, мази или пластыря контролируемого высвобождения или спрея, нанесенного на кожу; (4) интравагинально или интаректально, например, в виде пессария, крема или пены; (5) сублингвально; (6) окулярное введение; (7) трансдермально; (8) трансмукозально или (9) назально. Дополнительно, низкомолекулярный модулятор AhR формулы (I) или формулы (II), описанный в настоящем документе, например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, можно имплантировать пациенту или ввести инъекцией с использованием системы доставки лекарственного средства (см., например, Urquhart, et. al., Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 24: 199-236 (1984); Lewis, ed. "Controlled Release of Pesticides and Pharmaceuticals" (Plenum Press, New York, 1981); патент США № 3773919 и патент США № 353270960. Примеры лекарственных форм включают в себя без ограничения таблетки; капли; капсулы, такие как твердые желатиновые капсулы и мягкие эластичные желатиновые капсулы; крахмальные капсулы; пастилки; леденцы; дисперсии; суппозитории; мази; горячие компрессы (примочки); пасты; порошки; перевязки; кремы; пластыри; растворы; накладки; аэрозоли (например, назальные спреи или ингаляторы); гели; жидкости, такие как суспензии (например, водные или неводные жидкие суспензии, эмульсии типа масло-в-воде или эмульсии типа вода-в-масле), растворы и эликсиры; и стерильные твердые вещества (например, кристаллические или аморфные твердые вещества), которые можно растворить для обеспечения жидких лекарственных форм.

Согласно некоторым вариантам осуществления парентеральные лекарственные формы описанных в настоящем документе низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, могут быть введены больному злокачественной опухолью или субъекту, подверженному повышенному риску возникновения злокачественной опухоли, различными путями, включая в себя без ограничения подкожное, внутривенное (включая в себя болюсную инъекцию), внутримышечное и интраартериальное. Поскольку введение парентеральных лекарственных форм, как правило, обходит естественные защитные механизмы пациента против загрязняющих примесей, то парентеральные лекарственные формы предпочтительно являются стерильными или способными быть стерилизованными перед введением пациенту. Примеры парентеральных лекарственных формы содержат без ограничения готовые для инъекции растворы, сухие продукты, готовые к растворению или суспендированию в фармацевтически приемлемом наполнителе для инъекции, суспензии, готовые для инъекции, парентеральные лекарственные формы контролируемого высвобождения и эмульсии.

Подходящие наполнители, которые могут быть использованы для обеспечения описанных в настоящем документе парентеральных лекарственных форм, являются хорошо известными специалистам в настоящей области техники. Примеры содержат без ограничения следующее: стерильная вода; вода для инъекции согласно Фармакопее США; солевой раствор; раствор глюкозы; водные наполнители, такие как без ограничения инъекция хлорида натрия, инъекция Рингера, инъекция декстрозы, инъекция декстрозы и хлорида натрия и инъекция раствора Рингера с лактатом; смешиваемые с водой наполнители, такие как без ограничения этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль; и неводные наполнители, такие как без ограничения кукурузное масло, хлопковое масло, арахисовое масло, кунжутное масло, этилолеат, изопропилмириститат и бензилбензоат.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, составляют так, чтобы они подходили для перорального введения, например, в виде дискретных лекарственных форм, таких как без ограничения таблетки (включая в себя без ограничения таблетки с насечкой или таблетки с оболочкой), пилюли, капли, капсулы, жевательные таблетки, пакеты с порошком, крахмальные капсулы, пастилки, вафли, аэрозольные спреи или жидкости, такие как без ограничения сиропы, эликсиры, растворы или

суспензии в водной жидкости, неводной жидкости, эмульсия типа масло-в-воде или эмульсия типа вода-в-масле. Такие композиции содержат заданное количество фармацевтически приемлемой соли раскрытых соединений и могут быть получены с помощью фармакологических способов, хорошо известных специалистам в настоящей области техники (см., в общем, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990)).

Вследствие простоты введения таблетки и капсулы представляют наиболее предпочтительные твердые пероральные стандартные дозированные формы, причем в этом случае используются твердые фармацевтические вспомогательные вещества. При необходимости таблетки могут быть покрыты оболочками с помощью стандартных водных или неводных техник. Эти лекарственные формы могут быть получены с помощью любых способов фармакологии. В общем, фармацевтические композиции и лекарственные формы получают путем однородного и тщательного перемешивания активного ингредиента(ов) с жидкими носителями, мелкодисперсными твердыми носителями или обоими типами носителей и затем придания формы продукта в необходимую форму выпуска при необходимости.

Типичные пероральные лекарственные формы композиций получают с помощью комбинирования фармацевтически приемлемой соли описанного в настоящем документе низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, в тщательном перемешивании по меньшей мере с одним вспомогательным веществом согласно общепринятым фармацевтическим техникам приготовления смесей. Вспомогательные вещества могут принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы композиции, необходимой для введения. Например, вспомогательные вещества, подходящие для применения в пероральных жидких или аэрозольных лекарственных формах, содержат без ограничения воду, гликоли, масла, спирты, вкусовые добавки, консерванты и красители. Примеры вспомогательных веществ, подходящих для применения в твердых пероральных лекарственных формах (например, порошках, таблетках, капсулах и каплетках), содержат без ограничения крахмалы, сахара, микрокристаллическую целлюлозу, каолин, разбавители, гранулирующие средства, смазывающие средства, связующие средства и разрыхлители.

Связующие средства, подходящие для применения в описанных в настоящем документе фармацевтических составах, содержат без ограничения кукурузный крахмал, картофельный крахмал или другие крахмалы, желатин, натуральные и синтетические камеди, такие как гуммиарабик, альгинат натрия, альгиновая кислота, другие альгинаты, порошкообразный трагакант, гуаровая камедь, целлюлозу и ее производные (например, этилцеллюлозу, ацетат целлюлозы, карбоксиметилцеллюлозу кальция, карбоксиметилцеллюлозу натрия), поливинилпирролидон, метилцеллюлозу, прежелатинизированный крахмал, гидроксипропилметилцеллюлозу (например, №№ 2208, 2906, 2910), микрокристаллическую целлюлозу и их смеси.

Примеры наполнителей, подходящих для применения в описанных в настоящем документе фармацевтических составах, содержат без ограничения тальк, карбонат кальция (например, гранулы или порошок), микрокристаллическую целлюлозу, порошкообразную целлюлозу, декстраны, каолин, маннит, силициловую кислоту, сорбит, крахмал, прежелатинизированный крахмал и их смеси. Связующее средство или наполнитель в описанных в настоящем документе фармацевтических композициях, как правило, присутствует в форме приблизительно 50-приблизительно 99 мас.% фармацевтической композиции.

Разрыхлители применяются в описанных в настоящем документе пероральных фармацевтических составах для обеспечения таблеток, которые распадаются при воздействии водного окружения. Достаточное количество разрыхлителя, которое является и не слишком маленьким, и не слишком большим для неблагоприятного изменения высвобождения активного ингредиента(ов), должно быть использовано для образования твердых пероральных лекарственных форм низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996. Количество используемого разрыхлителя варьирует на основании типа состава и без труда определяется специалистами в настоящей области техники. Разрыхлители, которые могут быть использованы для образования пероральных фармацевтических составов, содержат без ограничения агар, альгиновую кислоту, карбонат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, кроскармеллозу натрия, кросповидон, полакрилин калия, карбоксиметилкрахмал натрия, кукурузный крахмал или крахмал тапиоки, другие крахмалы, прежелатинизированный крахмал, глины, другие альгины, другие целлюлозы, камеди и их смеси.

Смазывающие средства, которые могут быть использованы для образования пероральных фармацевтических составов описанных в настоящем документе ингибиторов AhR, содержат без ограничения стеарат кальция, стеарат магния, минеральное масло, слабое минеральное масло, глицерин, сорбит, маннит, полиэтиленгликоль, другие гликоли, стеариновую кислоту, лаурилсульфат натрия, тальк, гидрогенизированное растительное масло (например, арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло), стеарат цинка, этилолеат, этиллаурат, агар и их смеси. Дополнительные смазывающие средства содержат, например, силиконовый силикагель (AEROSIL® 200, производимый W.R. Grace Co. Балтимора, Md.), коагулированный аэрозоль син-

тетического кремнезема (продаваемый Degussa Co. Пиано, Тех.), CAB-O-SIL® (продукт пирогенного диоксида кремния, продаваемого Cabot Co. Бостона, Mass.) и их смеси. Если они вообще используются, смазывающие средства, как правило, используются в количестве меньше чем приблизительно 1 мас.% фармацевтических композиций или лекарственных форм, в которые они включены.

Согласно другим вариантам осуществления представлены не содержащие лактозу фармацевтические составы и лекарственные формы, где такие композиции предпочтительно содержат, если вообще ее содержат, немного лактозы или других моно- или дисахаридов. Используемый в настоящем документе термин "не содержащий лактозу" означает, что количество присутствующей лактозы, если она вообще присутствует, является недостаточным для существенного повышения степени деградации активного ингредиента. Не содержащие лактозу композиции настоящего раскрытия могут содержать вспомогательные вещества, которые хорошо известны в настоящей области техники и перечислены в Фармакопее США (XXI)/NF (XVI), которая включена в настоящий документ посредством ссылки.

Пероральные составы низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, дополнительно включают в себя согласно некоторым вариантам осуществления безводные фармацевтические композиции и лекарственные формы, содержащие описанные в настоящем документе ингибиторы AhR или неконститутивные агонисты AhR в качестве активных ингредиентов, поскольку вода может облегчать деградацию некоторых соединений. Например, добавление воды (например, 5%) является широко признанным в фармацевтической области техники как средство стимуляции длительного хранения для того, чтобы определить такие характеристики, как срок хранения или стабильность составов с течением времени (см., например, Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 379-80 (2nd ed., Marcel Dekker, NY, N.Y.: 1995)). Описанные в настоящем документе безводные фармацевтические композиции и лекарственные формы могут быть получены с использованием безводных или содержащих низкое содержание влаги ингредиентов и условий низкого содержания влаги и низкой влажности. Фармацевтические композиции и лекарственные формы, которые содержат лактозу и по меньшей мере один активный ингредиент, который содержит первичный или вторичный амин, являются предпочтительно безводными, если ожидается значительный контакт с влагой и/или влажностью в ходе производства, упаковки и/или хранения. Безводные композиции предпочтительно упаковывают с использованием материалов, которые, как известно, предотвращают влияние воды, так чтобы они могли быть включены в подходящие наборы согласно формулам. Примеры подходящей упаковки содержат без ограничения герметически запаивающую фольгу, пластиковые пакеты, контейнеры для стандартных доз (например, флаконы) с осушителями или без, блистерные упаковки и контурные упаковки.

Описанный в настоящем документе ингибитор AhR, такой как малая молекула формулы (I) или формулы (II), например CB7993113 и CMLD-2166, может быть введен напрямую в дыхательные пути в форме аэрозоля или с помощью распыления. Соответственно для применения в виде аэрозолей согласно некоторым вариантам осуществления описанный в настоящем документе ингибитор AhR, такой как малая молекула формулы (I) или формулы (II), например CB7993113 и CMLD-2166, может быть упакован в аэрозольный контейнер под давлением вместе с подходящими пропеллентами, например углеводородными пропеллентами, такими как пропан, бутан или изобутан с общепринятыми вспомогательными средствами. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор AhR может быть введен в форме, не находящейся под давлением, например в небулайзере или распылителе.

Термин "распыление" является хорошо известным в настоящей области техники и включает в себя преобразование жидкости в мелкокапельный спрей. Предпочтительно с помощью такого распыления небольшие капли жидкости однородного размера получают из большего количества жидкости контролируемым способом. Распыление может быть достигнуто любым подходящим способом, включая в себя использование многочисленных небулайзеров, известных и присутствующих на рынке в настоящее время. Как хорошо известно, любой подходящий газ может быть использован для приложения давления в ходе распыления, при этом предпочтительными газами будут те, которые являются химически инертными по отношению к низкомолекулярным модуляторам AhR формулы (I) или формулы (II), описанным в настоящем документе, например ингибитору AhR, такому как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивному агонисту AhR, такому как CB7950996. Иллюстративные газы предусматривают без ограничения азот, аргон или гелий.

Согласно другим вариантам осуществления низкомолекулярный модулятор AhR формулы (I) или формулы (II), описанный в настоящем документе, например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, может быть введен напрямую в дыхательные пути в форме сухого порошка. Для применения в виде сухого порошка ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR может быть введен путем использования ингалятора. Иллюстративные ингаляторы предусматривают ингаляторы отмеренных доз и ингаляторы для сухих порошков.

Подходящие порошковые композиции предусматривают для иллюстрации порошкообразные препараты низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного

агониста AhR, такого как CB7950996, тщательно перемешанные с лактозой или другими инертными порошками, приемлемыми, например, для интрабронхиального введения. Порошковые композиции могут быть введены посредством аэрозольного распылителя или упакованы в распадающуюся капсулу, которая может быть введена субъектом в устройство, которое прокалывает капсулу и выдувает порошок в виде стационарного потока, подходящего для ингаляции. Композиции могут содержать пропелленты, поверхностно-активные вещества и соразтворители и могут быть заполнены в общепринятые аэрозольные контейнеры, которые закрываются подходящим клапаном-дозатором.

Аэрозоли для доставки в респираторный тракт являются известными в настоящей области техники (см., например, Adjei, A. and Garren, J. *Pharm. Res.*, 1: 565-569 (1990); Zanen, P. and Lamm, J.-W. *J. Int. J. Pharm.*, 114: 111-115 (1995); Gonda, I. "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract" в *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 6:273-313 (1990); Anderson et. al., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 140: 1317-1324 (1989)) и также характеризуются потенциалом для системной доставки пептидов и белков (Patton and Platz, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 8:179-196 (1992)); Timsina et. al., *Int. J. Pharm.*, 101: 1-13 (1995) and Tansey, I.P., *Spray Technol. Market*, 4:26-29 (1994); French, D.L., Edwards, D.A. and Niven, R.W., *Aerosol Sci.*, 27: 769-783 (1996); Visser, J., *Powder Technology* 58: 1-10 (1989)); Rudt, S. and R.H. Muller, *J. Controlled Release*, 22: 263-272 (1992); Tabata, Y. and Y. Ikada, *Biomed. Mater. Res.*, 22: 837-858 (1988); Wall, D.A., *Drug Delivery*, 2: 10 1-20 (1995); Patton, J. and Platz, R., *Adv. Drug Del. Rev.*, 8: 179-196 (1992); Bryon, P., *Adv. Drug. Del. Rev.*, 5: 107-132 (1990); Patton, J.S., et. al., *Controlled Release*, 28: 15 79-85 (1994); Damms, B. and Bains, W., *Nature Biotechnology* (1996); Niven, R.W., et. al., *Pharm. Res.*, 12(9): 1343-1349 (1995) и Kobayashi, S., et. al., *Pharm. Res.*, 13(1): 80-83 (1996), содержания всех из них включены в настоящий документ посредством ссылки в их полноте.

Местные лекарственные формы низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), описанных в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, также представлены согласно некоторым вариантам осуществления и включают в себя без ограничения кремы, лосьоны, мази, гели, шампуни, спреи, аэрозоли, растворы, эмульсии и другие формы, известные специалисту в настоящей области техники (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990); и *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, Pa. (1985)). Для нераспыляемых местных лекарственных форм используются, как правило, вязкие - полутвердые или твердые формы, содержащие носитель или одно или несколько вспомогательных веществ, совместимые с местным нанесением и характеризующиеся динамической вязкостью предпочтительно больше чем у воды. Подходящие составы включают в себя без ограничения растворы, суспензии, эмульсии, кремы, мази, порошки, жидкие мази для растирания, мази и подобное, которые при необходимости стерилизуют или смешивают со вспомогательными средствами (например, консервантами, стабилизаторами, смачивающими средствами, буферами или солями) для воздействия на различные свойства, такие как, например, осмотическое давление. Другие подходящие местные лекарственные формы содержат распыляемые аэрозольные препараты, где активный ингредиент предпочтительно в комбинации с твердым или жидким инертным носителем упакован в смесь с находящимся под давлением летучим веществом (например, газообразным пропеллентом, таким как фреон) или в легкосжимаемый флакон. Увлажнители или смачивающие средства могут также быть добавлены к фармацевтическим композициям и лекарственным формам при необходимости. Примеры таких дополнительных ингредиентов хорошо известны в настоящей области техники (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^{sup}.th Ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990) и *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, Pa. (1985)). Лекарственные формы, подходящие для лечения слизистых тканей в ротовой полости, могут быть составлены в виде полосканий для рта, в виде пероральных гелей или в виде буккальных пластырей. Дополнительные трансдермальные лекарственные формы включают в себя пластыри "резервуарного типа" или "матричного типа", которые могут быть нанесены на кожу и могут носиться в течение определенного периода времени для обеспечения проникновения необходимого количества активного ингредиента.

Примеры трансдермальных лекарственных форм и способов введения, которые могут быть использованы для введения низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, предусматривают без ограничения те, которые описаны в патентах США №№ 4624665, 4655767, 4687481, 4797284, 4810499, 4834978, 4877618, 4880633, 4917895, 4927687, 4956171, 5035894, 5091186, 5163899, 5232702, 5234690, 5273755, 5273756, 5308625, 5356632, 5358715, 5372579, 5421816, 5466465, 5494680, 5505958, 5554381, 5560922, 5585111, 5656285, 5667798, 5698217, 5741511, 5747783, 5770219, 5814599, 5817332, 5833647, 5879322 и 5906830, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки в их полноте.

Подходящие вспомогательные вещества (например, носители и разбавители) и другие материалы, которые могут быть использованы для обеспечения трансдермальных и мукозальных лекарственных форм описанных в настоящем документе ингибиторов, хорошо известны специалистам в фармацевтических областях техники и зависят от конкретной ткани или органа, на который будут наносить данную

фармацевтическую композицию или лекарственную форму. Кроме того, в зависимости от конкретной ткани, подлежащей лечению, дополнительные компоненты могут быть использованы перед, вместе с или после лечения с помощью низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996. Например, усилители проникновения могут быть использованы для содействия в доставке активных ингредиентов к или через ткань.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанных в настоящем документе аспектов фармацевтические составы, содержащие низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), описанные в настоящем документе, например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, могут дополнительно содержать более чем одно активное соединение, как необходимо для конкретного назначения, подлежащего лечению, предпочтительно соединения с комплементарными активностями, которые не воздействуют неблагоприятно друг на друга. Например, согласно некоторым вариантам осуществления может быть необходимым дополнительно обеспечить антитела, которые связываются с EGFR, VEGF, VEGFR или ErbB2 (например, Нерсептин™) в составе, содержащем ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR формулы (I) или формулы (II). Согласно другим вариантам осуществления состав, содержащий ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR формулы (I) или формулы (II), может содержать цитотоксическое средство, цитокин, ингибирующее рост средство и/или антагонист VEGFR. Такие молекулы соответственным образом присутствуют в комбинации в количествах, которые эффективны для предусмотренной цели.

Согласно некоторым вариантам осуществления активные ингредиенты составов, содержащих описанные в настоящем документе ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR, могут также быть заключены в микрокапсулы, полученные, например, с помощью техник коацервации или с помощью полимеризации на границе фаз, например гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и поли-(метилметакрилатные) микрокапсулы соответственно, в коллоидных системах доставки лекарственных средств (например, липосомах, альбуминовых микросферах, микроэмульсиях, наночастицах и микрокапсулах) или в макроэмульсиях. Такие техники описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Согласно некоторым вариантам осуществления этих аспектов описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, могут быть введены субъекту с помощью средств контролируемого или замедленного высвобождения. Оптимально применение оптимально разработанного препарата контролируемого высвобождения в медицинском лечении характеризуется минимумом лекарственного вещества, подлежащего использованию для лечения или контроля состояния в минимальном количестве времени. Преимущества составов контролируемого высвобождения предусматривают следующее: 1) пролонгированная активность лекарственного средства; 2) сниженная частота дозирования; 3) повышенное соблюдение пациентом схемы лечения; 4) использование меньшего общего количества лекарственного средства; 5) снижение местных или системных побочных эффектов; 6) минимизация накопления лекарственного средства; 7) снижение колебаний содержания в крови; 8) улучшение эффективности лечения; 9) снижение потенцирования или потери активности лекарственного средства и 10) улучшение уровня контроля заболеваний или состояний (Kim, Chongju, Controlled Release Dosage Form Design, 2 (Technomic Publishing, Lancaster, Pa.: 2000)). Составы контролируемого высвобождения могут быть использованы для контроля начала действия, длительности действия, содержания в плазме в пределах терапевтического окна и максимального содержания в крови ингибитора AhR. В частности, лекарственные формы или составы контролируемого или пролонгированного высвобождения могут быть использованы для гарантирования того, что максимальная эффективность описанных в настоящем документе низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, достигается при минимизации потенциальных неблагоприятных эффектов и проблем безопасности, которые могут возникать как из-за снижения дозировки лекарственного средства (т.е. понижаясь ниже минимальных терапевтических уровней), а также повышения уровня токсичности для лекарственного средства.

Разнообразные известные лекарственные формы, составы и устройства контролируемого или пролонгированного высвобождения могут быть адаптированы для применения с описанными в настоящем документе низкомолекулярными модуляторами AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитором AhR, таким как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивным агонистом AhR, таким как CB7950996. Примеры включают в себя без ограничения те, которые описаны в патентах США №№ 3845770, 3916899, 3536809, 3598123, 4008719, 5674533, 5059595, 5591767, 5120548, 5073543, 5639476, 5354556, 5733566 и 6365185 B1; каждый из которых включен в его полноте в настоящий документ посредством ссылки. Эти лекарственные формы могут быть использованы для обеспечения медленного или контролируемого высвобождения одного или нескольких активных ингредиентов с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы, других полимерных матриц, гелей, проницаемых

мембран, осмотических систем (таких как OROS® (Alza Corporation, Mountain View, Calif. USA)), многослойных оболочек, микрочастиц, липосом или микросфер или их комбинации для обеспечения необходимого профиля высвобождения в различных пропорциях. Дополнительно ионообменные материалы могут быть использованы для получения иммобилизованных, адсорбированных солевых форм раскрытых соединений и, таким образом, воздействовать на контролируемую доставку лекарственного средства. Примеры конкретных анионообменных средств содержат без ограничения Duolite® A568 и Duolite® AP143 (Rohm&Haas, Spring House, Pa. USA).

Согласно некоторым вариантам осуществления аспектов описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, для применения в различных терапевтических составах и композициях, и их способы, описанные в настоящем документе, вводят субъекту путем замедленного высвобождения или высвобождения импульсами. Импульсная терапия не является формой прерывистого введения одинакового количества композиции в течение времени, но содержит введение одинаковой дозы композиции со сниженной частотой или введение уменьшенных доз. Замедленное высвобождение или импульсные введения являются особенно предпочтительными при хронических состояниях, таких как злокачественная опухоль, поскольку каждая импульсная доза может быть снижена и общее количество соединения ингибитора AhR, введенная в течение курса лечения пациенту, минимизируется.

Интервал между импульсами при необходимости может быть определен специалистом в настоящей области техники. Зачастую интервал между импульсами может быть рассчитан путем введения другой дозы композиции, когда композиция или активный компонент композиции уже не обнаруживается у субъекта перед доставкой следующего импульса. Интервалы могут также рассчитываться из *in vivo* времени полураспада композиции. Интервалы могут быть рассчитаны как больше чем *in vivo* время полураспада или в 2, 3, 4, 5 и даже 10 раз больше времени полураспада композиции. Различные способы и устройства для подачи композиций импульсами с помощью инфузии или других форм доставки пациенту раскрыты в патентах США №№ 4747825, 4723958, 4948592, 4965251 и 5403590.

Согласно некоторым вариантам осуществления замедленного высвобождения могут быть получены препараты, содержащие описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996. Подходящие примеры препаратов замедленного высвобождения включают в себя полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащих ингибитор, в которых матрицы находятся в форме изделий определенной формы, например пленок, или в форме микрокапсулы. Примеры матриц замедленного высвобождения включают в себя сложные полиэферы, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтил-метакрилат) или поли(виниловый спирт)), полилактиды (патент США № 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и γ -этил-L-глутамата, неспособный к разложению этиленвинилацетат, способные к разложению сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPOT.TM. (вводимые инъекцией микросферы, состоящие из сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты и леупролидацетата), и поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту.

Составы, содержащие описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, подлежащие использованию для *in vivo* введения, являются предпочтительно стерильными. Это легко осуществляется путем фильтрации через, например, стерильные фильтрационные мембраны и другие способы, известные специалисту в настоящей области техники.

Эффективность лечения.

Одним ключевым преимуществом способов, применений и композиций, содержащих описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, является способность производить отчетливо выраженные противораковые эффекты у субъекта-человека, не вызывая значительные уровни токсичности или неблагоприятные эффекты. Эффективность описанных в настоящем документе способов лечения может быть измерена с помощью различных параметров, обычно используемых в оценке способов лечения злокачественных опухолей, включая в себя без ограничения регрессию опухоли, сокращение массы или размера опухоли, снижение скорости роста опухоли, присутствие или размер латентной опухоли, присутствие или размер метастазов или микрометастазов, степень инвазивности опухоли или злокачественной опухоли, размер или число кровеносных сосудов, время до прогрессирования, длительность выживаемости, выживаемость без прогрессирования, суммарную частоту ответа, длительность ответа и качество жизни. Например, сокращение опухоли на больше чем 50% в 2-мерном анализе представляет собой стандартное пороговое значение для заявления об ответе. Тем не менее, согласно некоторым вариантам осуществления композиции, содержащие описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II),

могут быть использованы, чтобы вызывать ингибирование распространения метастазов без сокращения первичной опухоли, или могут просто проявлять опухолестатический эффект. В случае злокачественных опухолей терапевтически эффективное количество композиций, содержащих описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), могут снижать число злокачественных клеток; снижать размер опухоли; ингибировать (т.е. замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) инфильтрацию злокачественных клеток в периферические органы; ингибировать (т.е. замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) метастазирование опухоли; ингибировать до некоторой степени рост опухоли и/или облегчать до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с нарушением. В том случае, когда композиции, содержащие описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), могут предотвращать рост и/или обеспечивать гибель существующих злокачественных клеток, то этот эффект может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. Для терапии злокачественных опухолей эффективность *in vivo* может, например, быть измерена путем оценки длительности выживаемости, длительности выживаемости без прогрессирования (PFS), частоты ответов (RR), длительности ответа и/или качества жизни.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описаны способы для увеличения выживаемости без прогрессирования субъекта-человека, подверженного злокачественной опухоли или которому поставили диагноз злокачественной опухоли. Используемый в настоящем документе термин "время до прогрессирования заболевания" определяют как время от введения лекарственного средства до прогрессирования заболевания или смерти. Согласно предпочтительным вариантам осуществления описанные в настоящем документе способы лечения с использованием описанных в настоящем документе низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, и согласно некоторым дополнительным вариантам осуществления одно или несколько химиотерапевтических средств существенно повышают выживаемость без прогрессирования по меньшей мере приблизительно на 1 месяц, по меньшей мере приблизительно на 2 месяца, по меньшей мере приблизительно на 3 месяца, по меньшей мере приблизительно на 4 месяца, по меньшей мере приблизительно на 5 месяцев, по меньшей мере приблизительно на 6 месяцев, по меньшей мере приблизительно на 7 месяцев, по меньшей мере приблизительно на 8 месяцев, по меньшей мере приблизительно на 9 месяцев, по меньшей мере приблизительно на 10 месяцев, по меньшей мере приблизительно на 11 месяцев по сравнению с отсутствием лечения или лечением только с помощью химиотерапии.

Согласно другим вариантам осуществления описанные в настоящем документе способы лечения существенно повышают частоту ответов в группе субъектов-людей, подверженных злокачественной опухоли или которым поставили диагноз злокачественной опухоли, которые получают лечение с помощью различных терапевтических средств. Используемый в настоящем документе термин "частота ответов" определяют как процентное отношение получивших лечение субъектов, которые ответили на лечение. Согласно некоторым таким вариантам осуществления описанные в настоящем документе комбинированные виды лечения, содержащие применение низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, и, согласно некоторым дополнительным вариантам осуществления одно или несколько химиотерапевтических средств, существенно повышают частоту ответов в получающей лечение группе субъектов по сравнению с не получающей лечение группой или группой, получающей лечение только с помощью химиотерапии.

Согласно другим вариантам осуществления этих способов введение низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, используют для увеличения длительности ответа у субъекта-человека или группы субъектов-людей, подверженных злокачественной опухоли или которым поставили диагноз злокачественной опухоли. Используемый в настоящем документе термин "длительность ответа" определяют как время от начального ответа до прогрессирования заболевания. Согласно некоторым таким вариантам осуществления описанные в настоящем документе ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR могут быть использованы для увеличения длительности выживаемости субъекта-человека, подверженного злокачественной опухоли или которому поставили диагноз злокачественной опухоли.

Используемые в настоящем документе термины "лечить", "лечение", "процесс лечения" или "улучшение" относятся к терапевтическим видам лечения, где целью является развить в обратном направлении, облегчить, улучшить, ингибировать, замедлить или остановить прогрессирование или тяжесть состояния, связанного с заболеванием или нарушением. Термин "лечение" предусматривает снижение или ослабление по меньшей мере одного неблагоприятного эффекта или симптома состояния, заболевания или нарушения, связанного с хроническим иммунным состоянием, таким как без ограничения хроническая инфекция или злокачественная опухоль. Лечение, в общем, является "эффективным", если один или несколько симптомов или клинических маркеров снижаются. Альтернативно, лечение является "эффективным", если прогрессирование заболевания снижается или уменьшается наполовину. Иными словами,

термин "лечение" включает в себя не просто улучшение симптомов или маркеров, но также прекращение, меньшей мере, замедления прогресса или ухудшения симптомов, которые могли бы ожидаться при отсутствии лечения. Благоприятные или желательные клинические результаты предусматривают без ограничения облегчение одного или нескольких симптомов (а) снижение степени заболевания, стабилизированное (т.е. отсутствие ухудшения) состояние заболевания, отсрочка или замедление прогрессирования заболевания, улучшение или временное облегчение состояния заболевания и ремиссия (или частичная, или полная), либо обнаруживаемая, либо не обнаруживаемая. Термин "лечение" заболевания также включает в себя обеспечение избавление от симптома или побочных эффектов заболевания (включая в себя паллиативное лечение).

Например, согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе способы предусматривают введение эффективного количества описанных в настоящем документе низкомолекулярных модуляторов AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, описанного в настоящем документе, субъекту для облегчения симптома злокачественной опухоли или другого такого нарушения. Используемый в настоящем документе термин "облегчение симптома злокачественной опухоли" представляет собой улучшение или снижение любого состояния или симптома, связанного со злокачественной опухолью. По сравнению с эквивалентным не получающим лечение контролем, такое снижение или степень профилактики составляет по меньшей мере 5, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 90, 95 или 100%, что измеряют с помощью любой стандартной техники. Оптимально злокачественная опухоль полностью устраняется, что обнаруживают с помощью любого стандартного способа, известного в настоящей области техники, в таком случае злокачественную опухоль рассматривают как излеченную. Пациент, который получает лечение от злокачественной опухоли, является пациентом, у которого лечащий врач диагностировал такое состояние. Диагностика может быть осуществлена с помощью любого подходящего способа. Диагностика и мониторинг могут включать в себя, например, обнаружение содержания злокачественных клеток в биологическом образце (например, биопсия ткани или лимфатического узла, анализ крови или анализ мочи), определение содержания суррогатного маркера злокачественной опухоли в биологическом образце, обнаружение симптомов, связанных с конкретной злокачественной опухолью, или обнаружение иммунных клеток, вовлеченных в иммунный ответ, типичный при таких злокачественных опухолях или инфекциях.

Комбинированные виды терапии.

Согласно некоторым вариантам осуществления композиции и способы, включающие в себя описанные в настоящем документе новые низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, дополнительно предусматривают введение или лечение с помощью одного или нескольких дополнительных противораковых видов терапии. Примеры противораковых видов терапии включают в себя без ограничения операцию, радиационную терапию (лучевую терапию), биотерапию, иммунотерапию, химиотерапию или комбинацию этих видов терапии. Кроме того, цитотоксические средства, антиангиогенные и антипролиферативные средства могут быть использованы в комбинации с ингибитором(ами) AhR.

Для лечения злокачественной опухоли согласно таким вариантам осуществления, содержащим комбинированные виды терапии, соответствующая дозировка описанного в настоящем документе низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, будет зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, как определено выше, тяжести и течения заболевания, вне зависимости от того, вводят ли ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR для профилактических или терапевтических целей, предварительной терапии, анамнеза субъекта и ответа на ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR и решения лечащего врача. Ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR соответственным образом вводят субъекту один раз или в течение серии периодов лечения.

Согласно таким вариантам осуществления, где применяют схему комбинированной терапии, описанные в настоящем документе низкомолекулярный модулятор AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, и одно или несколько противораковых терапевтических средств, как описано в настоящем документе, вводят в терапевтически эффективном или синергическом количестве. Как используют в таких вариантах осуществления, предусматривающих комбинированные виды терапии, терапевтически эффективное количество является таким, чтобы совместное введение описанного в настоящем документе низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, и одного или нескольких других терапевтических средств или введение терапевтической композиции или состава, содержащего ингибитор AhR или неконститутивный агонист AhR, как описано в настоящем документе, приводило в результате к снижению или ингибированию злокачественной опухоли, как описано в настоящем документе. Термин "терапевтически синергическое количество" представляет собой такое ко-

личество низкомолекулярного модулятора AhR формулы (I) или формулы (II), описанного в настоящем документе, например ингибитора AhR, такого как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивного агониста AhR, такого как CB7950996, и одно или несколько других терапевтических средств, необходимое для синергического или существенного снижения или устранения состояний или симптомов, связанных с конкретной злокачественной опухолью.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанный в настоящем документе низкомолекулярный модулятор AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, и одно или несколько другие терапевтических средств могут быть введены одновременно или последовательно в количестве и в течение времени, достаточном для снижения или устранения возникновения или рецидива опухоли, латентной опухоли или микрометастазов. Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе низкомолекулярные модуляторы AhR формулы (I) или формулы (II), например ингибитор AhR, такой как CB7993113 и CMLD-2166, или неконститутивный агонист AhR, такой как CB7950996, и одно или несколько других терапевтических средств могут быть введены как поддерживающая терапия для профилактики или снижения вероятности рецидива опухоли.

Как будет понятно специалистам в настоящей области техники, соответствующие дозы химиотерапевтических средств или других противораковых средств будут, в общем, находиться около доз, уже используемых в клинических видах терапии, например, там, где химиотерапевтические средства вводят отдельно или в комбинации с другими химиотерапевтическими средствами. Различие в дозировке будет, вероятно, возникать в зависимости от подлежащего лечению состояния. Лечащий врач, вводящий лечение, будет способен определить соответствующую дозу для отдельного субъекта.

В дополнение к перечисленным выше терапевтическим схемам субъект может быть подвергнут лучевой терапии.

Термин "противораковая терапия" относится к терапии, применяемой в лечении злокачественной опухоли. Примеры противораковых терапевтических средств включают в себя без ограничения, например, операцию, лучевую терапию, химиотерапевтические средства, ингибирующие рост средства, цитотоксические средства, используемые в лучевой терапии средства, антиангиогенные средства, апоптотические средства, антифолликулиновые средства и другие средства для лечения злокачественной опухоли, такие как антитела к HER-2 (например, Нерсептин™), антитела к CD20, антагонист рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, ингибитор тирозинкиназы), ингибитор HER1/EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva™), ингибиторы плазмодитарного фактора роста (например, Gleevec™ (Imatinib Mesylate)), ингибиторы COX-2 (например, целекоксиб), интерфероны, цитокины, антагонисты (например, нейтрализующие антитела), которые связываются с одной или несколькими из следующих мишеней: рецептор(ы) ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA или VEGF, TRAIL/Apo2, и другие биоактивные и органические химические средства и т.д. Их комбинации также включены в описанные в настоящем документе варианты осуществления.

Используемый в настоящем документе термин "цитотоксическое средство" относится к веществу, которое ингибирует или предотвращает функцию клеток и/или вызывает разрушение клеток. Предполагается, что термин включает в себя радиоактивные изотопы (например, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² и радиоактивные изотопы Lu), химиотерапевтические средства и токсины, такие как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, включая в себя их фрагменты и/или варианты.

Используемый в настоящем документе термин "химиотерапевтическое средство" представляет собой химическое соединение, применимое в лечении злокачественной опухоли. Примеры химиотерапевтических средств предусматривают без ограничения алкилирующие средства, такие как циклофосфамид тиотепа и CYTOXAN™; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая в себя алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотедин (включая в себя синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая в себя его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (особенно криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая в себя синтетические аналоги, KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холлофосфамид, эстармустин, ифосфамид, меклоретамин, меклоретамин оксид гидрохлорид, мелфалан, новембицин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; нитромочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как энедин-новые антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гамма II и калихеамицин омега II (см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); динемин, включая в себя динемин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также хромофор неокарзиностатин и родственные хромопротеиновые хромофоры энединовых антибиотиков, аклациномистины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кантиномицин, карабицин, каминомицин, карзинофилин, хромомицины,

дактиномицин, даунорубин, деторубин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, ADRIAMYCIN™, доксорубин (включая в себя морфолино-доксорубин, цианоморфолино-доксорубин, 2-пирролино-доксорубин и дезоксидоксорубин), эпирубин, эзрубин, идарубин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофенольная кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, пофиромицин, пуромидин, квеламицин, родорубин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностин, зорубин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; пуриновые аналоги, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; пиримидиновые аналоги, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, тестостерон; антиадреналы, такие как аминоглутетимид, митотан, трилостан; наполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамидный гликозид; аминолевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрон; эдатраксат; дефофамин; демексолон; диазиквон; элформитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглоурид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидайнин; майтансиноиды, такие как майтансин и ансамитины; митогуазон; титоксантрон; мопиданмол; нитразин; пентостатин; фенамет; пирарубин; лозоксантрон; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарабин; PSK™, полисахаридный комплекс (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); разоксан; ризоксин; сизофуран; спирогерманий; теназоновую кислоту; триазикувон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно Т-2 токсин, верракурин А, роридин А и ангиудин); уретан; виндесин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ara-C"); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например TAXOL™, паклитаксел (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™, не содержащий кремофор состав паклитаксела из наночастиц, сконструированных на основе альбумина (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) и TAXOTERE™, доксетаксел (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Франция); хлоранбуцил; GEMZAR™ гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин NAVELBINE.RTM.; новантрон; тенипозид; эдатраксат; дауномицин; аминоптерин; кселоду; ибандронат; иринотекан (Campotar, CPT-11) (включая в себя схему лечения иринотеканом с 5-FU и лейковорином); ингибитор топоизомеразы RFS 2000; диформетилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; комбретастатин; лейковорин (LV); оксалиплатин, включая в себя схему лечения оксалиплатином (FOLFOX); лапатиниб (Tykerb™); ингибиторы PKC-альфа, Raf, H-Ras, EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva™)) и VEGF-A, которые снижают клеточную пролиферацию, и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных.

Также в настоящее определение включены антигормональные средства, которые действуют для регуляции или ингибирования гормонального действия на опухоли, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы рецептора эстрогена (SERM), включая в себя, например, тамоксифен (включая в себя тамоксифен NOLVADEX™), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен FARESTON; ингибиторы ароматазы, которые ингибируют фермент ароматазу, который регулирует продукцию эстрогена в надпочечниках, такие как, например, 4(5)-имидазолы, аминоглутетимид, мегестрол ацетат MEGASE™, эксеместан AROMASIN™, форместан, фадрозол, ворозол RIVISOR™, летрозол FEMARA™ и анастрозол ARLMIDEX™; и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гoserелин; а также троксацитабин (аналог 1,3-диоксолан-нуклеозида цитозина); антисенсовый олигонуклеотид, особенно те, которые ингибируют экспрессию генов в путях передачи сигнала, вовлеченных в аномальную клеточную пролиферацию, такую как, например, PKC-альфа, Raf и H-Ras; рибозимы, такие как ингибитор экспрессии VEGF (например, рибозим ANGIOZYME™) и ингибитор экспрессии HER2; вакцины, такие как вакцины генной терапии, например вакцина ALLOVECTIN™, вакцина LEUVECTIN™ и вакцина VAXID™; rIL-2 PROLEUKIN™; ингибитор топоизомеразы 1 LURTOTECAN™; gmRH ABARELIX™; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных.

Термин "цитокин" представляет собой обобщенный термин для белков, высвобожденных одной клеточной популяцией, которые действуют на другую клетку как межклеточные медиаторы. Примеры таких цитокинов представляют собой лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. В термин цитокины включены гормон роста, такой как гормон роста человека, N-метионильный гормон роста человека и бычий гормон роста; паратиреоидный гормон; тироксин; инсулин; проинсулин; релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (FSH), тиреотропный гормон (TSH) и лютеинизирующий гормон (LH); эпидермальный фактор роста; печеночный фактор роста; фактор роста фибробластов; проактин; плацентарный лактоген; фактор некроза опухоли - альфа и бета; фактор регрессии мюллеровых протоков; связанный с мышью гонадотропин пептид; ингибин; активин; сосудистый эндотелиальный фактор роста; интегрин; тромбопоэтин (TPO); факторы роста нервов, такие как NGF-альфа; фактор роста тромбоцитов; трансформирующие факторы роста (TGF), такие как TGF-альфа и TGF-бета; инсулиноподобный фактор роста-I и -II; эритропоэтин (EPO);

остеоиндуктивные факторы; интерфероны, такие как интерферон-альфа, -бета и -гамма, колониестимулирующие факторы (CSF), такие как макрофагальный CSF (M-CSF); гранулоцитарно-макрофагальный-CSF (GM-CSF) и гранулоцитарный-CSF (G-CSF); интерлейкины (IL), такие как IL-1, 1b-1альфа, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; фактор некроза опухоли, такой как TNF-альфа или TNF-бета; и другие полипептидные факторы, включая в себя LIF и kit-лиганд (KL). Используемый в настоящем документе термин "цитокин" включает в себя белки из естественных источников или из рекомбинантной клеточной культуры и биологически активных эквивалентов нативных последовательностей цитокинов.

Используемый в настоящем документе термин "ингибирующее рост средство" относится к соединению или композиции, которая ингибирует рост клетки *in vitro* и/или *in vivo*. Таким образом, ингибирующее рост средство может быть средством, которое существенно снижает процентное отношение клеток в S фазе. Примеры ингибирующих рост средств предусматривают средства, которые блокируют прогрессирование клеточного цикла (в точке, отличающейся от фазы S), такие как средства, который индуцируют остановку G1 и остановку M-фазы. Классические блокаторы M-фазы включают в себя средства из барвинка (винкристин и винбластин), TAXOL™ и ингибиторы топо II, такие как доксорубицин, эпирубицин, даунорубицин, этопозид и блеомицин. Те средства, которые останавливают G1, также способствуют остановке S-фазы, например ДНК алкилирующие средства, такие как тамоксифен, преднизон, дакарбазин, меклоретамин, цисплатин, метотрексат, 5-фторурацил и ara-C. Дополнительную информацию можно найти в *The Molecular Basis of Cancer*, Mendelsohn and Israel, eds., главе 1, имеющей название "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" Murakami et. al. (WB Saunders: Philadelphia, 1995), особенно с. 13.

Используемый в настоящем документе термин "пролекарство" относится к форме предшественника или производного фармацевтически активного вещества, которая является менее цитотоксической к опухолевым клеткам по сравнению с исходным лекарственным средством и способна быть ферментативно активирована или превращена в более активную исходную форму (см., например, Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" *Biochemical Society Transactions*, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) и Stella et. al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," *Directed Drug Delivery*, Borchardt et. al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)). Пролекарства настоящего изобретения включают в себя без ограничения содержащие фосфат пролекарства, содержащие тиофосфат пролекарства, содержащие сульфат пролекарства, содержащие пептид пролекарства, D-аминокислота-модифицированные пролекарства, гликозилированные пролекарства, содержащие бета-лактамы пролекарства, содержащие необязательно замещенный феноксиацетамид пролекарства или содержащие необязательно замещенный фенилацетамид пролекарства, 5-фторцитозинового и другие 5-фторуридинового пролекарства, которые могут быть превращены в более активное не характеризующееся цитотоксическим эффектом лекарственное средство. Примеры цитотоксических лекарственных средств, которые могут быть дериватизованы в форму пролекарства для применения согласно настоящему изобретению, включают в себя без ограничения описанные выше химиотерапевтические средства.

Под термином "лучевая терапия" понимают применение направленных гамма-лучей или бета-лучей, чтобы вызвать достаточное повреждение клетки так, чтобы ограничить ее способность нормально функционировать или чтобы полностью разрушить клетку. Следует понимать, что многие способы известны в настоящей области техники для определения дозировки и длительности лечения. Типичные виды лечения представлены как однократное введение, и типичные дозировки находятся в диапазоне от 10 до 200 ед. (Грей) в день.

Настоящее изобретение далее проиллюстрировано следующими примерами, которые не должны рассматриваться как ограничивающие.

Примеры

Связывание и активация арилуглеводородного рецептора (AhR) представляет собой проксимальное событие передачи сигнала, посредством которого классы повсеместно распространенных загрязняющих веществ окружающей среды инициируют онкогенез в молочной железе. Авторы настоящего изобретения показали, что AhR также играет важную роль в более поздних стадиях онкогенеза путем регулирования роста и инвазии опухоли. Было обнаружено, что ингибирование конститутивной активности AhR посредством молекулярных или биохимических средств существенно снижает рост и инвазию иммортализованной опухоли во множественных анализах *in vitro*. В частности, авторы настоящего изобретения обнаружили, что это опосредованное AhR прогрессирование опухоли возникает при отсутствии лигандов AhR из окружающей среды и касается фактически всех опухолей молочной железы, включая "спонтанные" опухоли, которые не индуцируются химическими соединениями из окружающей среды. Данные дополнительно указывают на то, что оказывается, что AhR играет сходную роль в большинстве солидных злокачественных опухолей. Следовательно, в настоящем документе описаны ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR и для применения в качестве терапевтических средств для снижения роста, инвазии и метастазирования опухоли. В настоящем документе описаны новые целенаправленные терапевтические средства для лечения злокачественной опухоли молочной железы на любой стадии. Согласно некоторым вариантам осуществления эти новые целенаправленные терапевтические средства особен-

но применимы у пациентов, у которых была безуспешной терапия с помощью общепринятых нецеленаправленных химиотерапевтических средств или Her2/neu-, ER- или PR-зависимых терапевтических средств.

Скрининг с высокой пропускной способностью свыше 4000 соединений идентифицировал некоторые модификаторы AhR, включая в себя как ингибиторы AhR, так и неконститутивные агонисты AhR, по меньшей мере три из которых ингибируют инвазию опухоли. Химическую оптимизацию отобранных лидеров можно использовать с применением новых биологических описанных в настоящем документе анализов агрессивности опухолей для разработки набора высокоактивных и специфических ингибиторов AhR для оценки в доклинических исследованиях на животных. С использованием скрининга, основанного на оценке формы и электростатических параметров, техники смены скелета и вычислительной медицинской химии ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR можно идентифицировать в коммерческих химических библиотеках. Такие ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR можно оценить с помощью HTS и в итеративном процессе химически изменить для получения лигандов с улучшенной аффинностью связывания с AhR, активностью, стабильностью и растворимостью. Новые синтетические ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR можно оценить с использованием описанных в настоящем документе вторичных анализов роста и инвазия опухоли молочной железы, перед исследованием *in vitro* токсичности, специфичности, стабильности и абсорбции. Описанные в настоящем документе синтетические ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR можно использовать в синтезе лидерных соединений, которые существенно блокируют прогрессирование опухоли *in vitro* и проявляют высокий уровень эффективности и специфичности в доклиническом исследовании на животных. Синтетические ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR являются применимыми в лечении распространенных видов злокачественных опухолей молочной железы, в качестве профилактики для пациентов с высоким риском развития и являются применимыми для лечения разнообразных солидных опухолей.

Предпосылки.

Повсеместно распространенные лиганды AhR инициируют онкогенез молочной железы путем активирования арилуглеводородного рецептора/фактора транскрипции. В нормальных клетках цитозольный AhR может быть "активирован" с помощью загрязняющих веществ, таких как диоксины, не ортозамещенные полихлорированные бифенилы и полициклические ароматические углеводороды, приводя к транслокации AhR в ядро и регуляции генов. Авторы настоящего изобретения исследовали активацию и функцию этого рецептора/фактора транскрипции в злокачественных клетках и впервые показали значительное в 50 раз повышение мРНК AhR в опухолях молочной железы крыс по отношению к нормальной ткани (2) в отличие от других исследований, которые описывают острые токсикологические эффекты активации AhR в нормальных клетках.

Авторы настоящего изобретения идентифицировали AhR избыточную экспрессию в опухолях молочной железы мышей, опухолевых линиях человека и мышей и первичных опухолях молочной железы человека (3-15). Авторы настоящего изобретения показали во всех этих системах, что AhR является конститутивно активным при отсутствии стимулов из окружающей среды, указывая на то, что AhR вносит вклад в инициацию, рост и инвазию злокачественной опухоли молочной железы. Другие показывают корреляцию конститутивной транскрипционной активности AhR со скоростями роста и инвазивности опухоли и с положительно регулируемым онкогенами, связанными с ростом и инвазией опухоли (9, 12, 16), и с помощью непосредственной демонстрации того, что нокдаун AhR с помощью молекулярных техник ингибирует рост immortalized клеток (посредством положительной регуляции p21) и инвазии опухоли *in vitro* (8, 12, 14, 17) (фиг. 1-3). Принимая во внимание то, что известно о биологии AhR и большое терапевтическое окно, обеспеченное гиперэкспрессией AhR в опухоли, основанная на механизме токсичность представляет собой сниженный риск, и ингибиторы AhR и неконститутивные агонисты AhR могут являться защитными средствами для особей с высоким риском, обусловленным генетическими предрасположенностями или воздействиями окружающей среды.

Результаты.

С использованием биоанализа с высокой пропускной способностью основанного на репортера AhR и анализа клеточной жизнеспособности свыше 4000 соединений CMLD, лекарственных средств FDA и созданных в NCI (Национальный институт рака) экстрактов подвергли скринингу и идентифицировали 8 нетоксических ингибиторов AhR (2 из CMLD) и 19 агонистов AhR (14 из CMLD) (как показано, например, на фиг. 4A-4B). Определяли значения IC_{50} для ингибиторов и значения EC_{50} для агонистов (таблица). Один из этих обнаруженных ингибиторов (CMLD-2166), его энантиомер (CMLD-2186) и ранее описанный растворимый в липидах ингибитор AhR (CH223191) блокировали рост и инвазию опухоли (фиг. 5A-5B и 7A-7B).

Для определения того, включает ли ингибирующее действие CB7993113 связывание с AhR и блокирование его транслокации в ядро, клетки Нера-1 обрабатывали с помощью 1-10 мкМ CB7993113. Через один час их сенсibilizировали с помощью сильного агониста AhR и прототипного PAH, DMBA (1 мкМ). Через 30 мин инкубационного периода клетки собирали и получали экстракты из ядер и цитоплазмы клеток. Эти экстракты затем исследовали в отношении содержания AhR и в качестве контроля

нагрузки β-актина с помощью вестерн-иммуноблоттинга.

Как можно увидеть на фиг. 6, обработка клеток с помощью отдельно ингибитора AhR не характеризовалось эффектом на транслокацию AhR в ядро (полосы 3 и 6), подтверждая отсутствие активности агониста AhR. В отличие от этого обработка с помощью DMBA отдельно существенно индуцировала ядерную транслокацию (полоса 5). Добавление 1-10 мкМ CB7993113 полностью блокировало вызванную DMBA транслокацию AhR (полосы 4 и 7). Эти результаты согласуются с гипотезой, что CB7993113 и сходные конкурентные ингибиторы AhR блокируют транскрипционную активность AhR путем предотвращения транслокации AhR в ядро.

Для исследования способности одного из описанных в настоящем документе лидерных соединений, CB7993113, быть абсорбированным и функционировать эффективно *in vivo*, 6 мышей C57BL лечили с помощью остро токсической дозы (50 мг/кг) DMBA, сильного агониста AhR, в присутствии или при отсутствии CB7993113 или другого ингибитора AhR, CH223191. Мы ранее показали, что лечение мышей с помощью 50 мг/кг DMBA вызывает быструю потерю (с течение 48 ч) костного мозга гематопозитических клеток. Эти исследования подтвердили в настоящем документе путем демонстрации того, что лечение с помощью DMBA приводило к существенному снижению общего числа клеток костного мозга через 48 ч и.п. инъекции DMBA (фиг. 8A). Это снижение общего числа клетки костного мозга предотвратили с помощью и.п. инъекции 50 мг/кг CH223191 или CB7993113.

Более того, предыдущие эксперименты продолжили путем демонстрации того, что введение острой дозы DMBA приводило к специфической потере про-В клеток, пре-В клеток и нейтрофилов (фиг. 8B). Важно, что совместное введение либо CH223191, либо CB7993113 полностью блокировало это снижение про-В клеток, пре-В клеток и нейтрофилов. Это представляет собой важные результаты, поскольку они показывают, что описанные в настоящем документе ингибиторы AhR абсорбировались *in vivo*, и что фармакологически эффективные дозы могут быть достигнуты в периферических органах, таких как костный мозг.

Активность агонистов/антагонистов AhR	
Антагонисты AhR	IC ₅₀
CH223191	0,33 мкМ
CMLD 2166	0,20 мкМ
CMLD 2186	NT
NCI 1D4	4,44 мкг/мл
NCI 4B2	8,83 мкг/мл
Агонисты AhR	EC ₅₀
CMLD001815, планшет 4, C3	>10мкМ
Агонист – 2190, планшет 4, F5	3,5 мкМ
CMLD 614, планшет 6, B9	5,32 мкМ
CMLD 216, планшет 6, G8	3,93 мкМ
CMLD 4262, планшет 9, E5	>10мкМ
CMLD 4878, планшет 15, B5	>10мкМ
CMLD 5352, планшет 15, D4	>10мкМ
CMLD 2168, планшет 25, C5	>10мкМ
CMLD 5354, планшет 28, F6	>10мкМ
CMLD 05854, планшет 30, D4	3,96 мкМ
Соединения, которые, как было показано в скрининге с высокой пропускной способностью, ингибируют или индуцируют AhR, не воздействуя на жизнеспособность исследуемой клеточной линии, титровали при отсутствии (агонисты) или присутствии (антагонисты) 1 мкМ BNF, известного агониста AhR. Значения IC ₅₀ или EC ₅₀ рассчитывали, как показано на фигуре 5.	

Установив начальный набор данных лигандов AhR (таблица), эти химические структуры можно использовать для предсказания и, в конце концов, разработки заново ингибиторов AhR с большей активностью с целью создания высоко специфических и растворимых ингибиторов, эффективных в 10-100 наномолярном диапазоне. Для этой цели коммерческие химические библиотеки можно подвергнуть скринингу для идентификации лигандов AhR и затем в итеративном процессе можно сфокусироваться на химических характеристиках, которые улучшают активность ингибитора AhR при сохранении или улучшении специфичности, стабильности и растворимости.

Вычислительные основанные на характеристиках формы и электростатических параметров техники смены скелета зачастую используют в случаях, когда модели состыковки лиганда являются не возможными из-за отсутствия данных рентгеноструктурного анализа (18-22), как в случае с AhR. Для получения точной критической информации о химической структуре, необходимой для разработки более активных ингибиторов AhR, основанный на характеристиках формы скрининг и технику смены скелета можно применить для идентификации дополнительных новых лигандов AhR в коммерческих библиотеках (смотрите фиг. 9 для иллюстративных подробностей). Библиотеки, содержащие свыше 700000 соединений, доступны от ASDI и ChemBridge. Эти библиотеки представляют широкий охват фармакофоров при сохранении хороших лидерных свойств и свойств, характерных для лекарственных средств. Программу

OpenEye OMEGA версии 2.2 (23) можно использовать для этого вычислительного подхода с использованием наших известных лигандов AhR в качестве обучающей выборки. Идентификация агонистов, а также антагонистов является важной, поскольку структуры агонистов помогают определить фрагменты, важные для связывания AhR, тогда как сравнение агонистов и антагонистов облегчает идентификацию остатков, отвечающих за ингибирование рецептора.

Моделирование фармакофоров также можно провести в виде комплементарного вычислительного подхода. С использованием вычислительного пакета Accelrys Discovery Studio структуры и конформации фармакофоров можно вводить с использованием нашей обучающей выборки лигандов AhR. Можно создавать трехмерные карты каждой структуры с функциональностью связанного фрагмента (например, акцепторы/доноры водородных связей, липофильные участки). Кандидатные соединения можно затем подвергнуть повторной селекции из коммерческих химических наборов. Хотя вероятно, что перекрывающиеся наборы потенциальных лидерных соединений можно идентифицировать для скрининга из основанного на характеристиках формы исследования и моделирования фармакофоров, эти соединения, предсказанные обоими способами, можно ранжировать по приоритетности в отношении покупки и скрининга в биоанализе AhR с высокой пропускной способностью. Подтвержденные потенциальные лидерные соединения будут титровать для установления значений IC_{50}/EC_{50} . Антагонисты можно охарактеризовать как конкурентные по сравнению с неконкурентными по их способности перемещать радиомеченый TCDD, как было описано (24).

Информацию, собранную из этого первого цикла прогноза/исследования, можно использовать для разработки для потребителя модификаторов AhR с большей аффинностью. Можно провести синтез модифицированных соединений второго поколения с использованием или CMLD-BU или коммерческой смены скелета соединений. Синтезированные соединения можно оценить в отношении активности (и токсичности) в AhR репортерном биоанализе, модифицировать снова, что продиктовано эмпирическими результатами и моделированием фармакофоров и повторно исследовать в репортерном анализе.

Второстепенные анализы и ADMET *in vitro*.

Лидерные соединения, которые, как было показано в биоанализах, являются активными, но нетоксическими, можно далее внимательно исследовать в отношении токсичности с использованием витальных красителей для проточной цитометрии и разнообразных первичных клеток и клеточных линий человека, доступных авторам настоящего изобретения, включая в себя первичные эпителиальные клетки молочной железы человека, лимфоциты и гематопозитические стволовые клетки. Специфичность до 10 нетоксических лидерных соединений можно оценить с использованием репортерных анализов на основании $ER\alpha$ -, $PPAR\gamma$ - и $NF-\kappa B$, доступных авторам настоящего изобретения. Лидерные соединения затем можно подвергать всестороннему скринингу в отношении нецелевых эффектов с использованием коммерческого набора факторов транскрипции TransAm от Active Motif. Для подтверждения ингибирования AhR в опухолевых клетках молочной железы человека лидерные соединения можно титровать в культуры BP1 и Hs578T опухолевых клеток молочной железы человека и ингибирование ядерной транслокации AhR оценивать, как описано (24). Соединения CMLD-2166, которые, как показано, ингибируют инвазию опухоли (фиг. 7A-7B), можно использовать как положительный контроль. Соединения, ингибирующие ядерную транслокацию конститутивного AhR, затем можно оценить во второстепенных анализах на ингибирование роста опухоли (включение 3H -тимидина) и инвазии (морфология в матриксе и миграция в камерах Бойдена), как описано в настоящем документе (см. фиг. 5A-5B и 7A-7B).

Установив активность, токсичность, специфичность и эффективность *in vitro*, дальнейшие анализы для определения абсорбции, распределения, метаболизма, выведения и токсичности (ADMET) лидерных соединений можно передать на выполнение сторонним компаниям, таким как, например, Apredica, Inc. Среди других эффектов параметры, которые можно оценить, содержат без ограничения 1) проницаемость соединения с использованием монослоев Caco-2 для прогноза пероральной биодоступности для человека; 2) метаболическое расщепление в присутствии микросом печени или плазмы мыши/человека и 3) стабильность в присутствии желудочных и кишечных соков. Кроме того, экспериментальное измерение растворимости соединения можно выполнить для дополнения расчетных значений, используемых в ходе разработки соединений и циклов оптимизации.

Описанные в настоящем документе исследования применимы для разработки улучшенного продукта от биологического открытия до фазы оптимизации лидеров. Кроме того, *in vivo* исследования фармакокинетики и эффективности можно провести с использованием, например, модели ксенотрансплантата опухоли молочной железы человека для количественной оценки роста и метастазирования опухоли у живых мышей в реальном времени в 3 измерениях (25, 26).

В США стандартизированный по возрасту рост заболеваемости злокачественными опухолями молочной железы увеличивался на ~1% ежегодно с 1940 по 1990 гг. (27, 28) и на 0,4% ежегодно с 1987 по 2002 гг. (29), частично вследствие возросшего воздействия канцерогенов окружающей среды. На сегодняшний день злокачественная опухоль молочной железы является второй наиболее распространенной злокачественной опухолью (после злокачественной опухоли кожи) у женщин, характеризуясь ежегодно 225000 новых случаев в США и 40000 летальных исходов, связанных со злокачественными опухолями молочной железы. По оценкам у 1 из 8 женщин, рожденных в этом году, будет диагностирована злокаче-

ственная опухоль молочной железы в течение жизни (34). Общее количество женщин с диагностированными злокачественными опухолями молочной железы, вероятно, значительно вырастет в течение следующих 20 лет, поскольку демографические показатели населения сдвигаются в направлении старения населения (34). Таким образом, даже подгруппы больных злокачественными опухолями молочной железы, которые получали терапевтические средства направленного действия, такие как описанные в настоящем документе, представляют относительно большую популяцию.

Будучи приемлемыми в качестве целенаправленных терапевтических средств для всех больных злокачественными опухолями молочной железы, описанные в настоящем документе соединения могут быть целенаправленными в отношении пациентов с агрессивными "трижды негативными" видами злокачественных опухолей молочной железы, например, тем пациентам, у которых была неэффективной общепринятая химиотерапия или Her2/neu-, ER- или PR-зависимые терапевтические средства, поскольку конститутивная активность AhR повышается и, вероятно, вносит свой вклад в рост уровня агрессивности опухоли (8). Так как описанные в настоящем документе низкомолекулярные соединения формулы (I) и формула (II) применимы в качестве целенаправленных терапевтических средств, направленных специфически на белок (AhR), экспрессируемый в чрезвычайно высоком содержании в злокачественных опухолях, и поскольку не предполагается, что модификаторы AhR связаны со значительными основанными на механизме токсичностями, согласно некоторым вариантам осуществления низкомолекулярные соединения формулы (I) и формула (II) можно использовать, например, в качестве адъювантного (например, послеоперационного) терапевтического средства для пациентов, которые нуждаются в нетоксических альтернативных средствах для улучшения качества жизни, или для пациентов, которые нуждаются в целенаправленных терапевтических средствах из-за накопленной токсичности в органе.

В дополнение к вкладу в прогрессирование опухоли на конечной стадии исследования, описанные в настоящем документе, и на крысиных и мышиных моделях онкогенеза молочной железы показывают, что AhR играет роль в раннем онкогенезе до выраженного образования опухоли (2-4, 8, 13). Следовательно, согласно некоторым вариантам осуществления терапии AhR с использованием описанных в настоящем документе низкомолекулярных соединений формулы (I) и формула (II) можно использовать как длительную профилактику для женщин, подверженных высокому риску развития злокачественной опухоли молочной железы. Например, согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе соединения используют как профилактические терапевтические средства у женщин, подверженных высокому или повышенному генетическому или экологическому риску развития злокачественной опухоли молочной железы вследствие наследования мутированных BRCA1, BRCA2, CHEK2, ATM, BRIP1 или PALB2 генов, семейного анамнеза со злокачественными опухолями репродуктивных органов или хронического воздействия канцерогенов окружающей среды (36). Согласно другим вариантам осуществления описанные в настоящем документе низкомолекулярные соединения формулы (I) и формула (II) можно использовать как длительные профилактики для 42000 женщин, подверженных высокому риску, у которых ежегодно диагностируют предраковые поражения (карцинома протока *in situ*/DCIS), большинство из которых разовьются в инвазивные аденокарциномы (37). Важно, что описанные в настоящем документе исследования дополнительно показывают, что AhR гиперэкспрессируется и является конститутивно активным фактически во всех типах злокачественных опухолей, предусматривая другие эпителиальные опухоли, такие как карциномы простаты, легкого и карциномы клеток протоков поджелудочной железы. Соответственно согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе соединения можно использовать в лечении злокачественной опухоли.

На фиг. 1 показано, что ингибирование AhR с помощью AhRR положительно регулирует p21 и снижает рост MCF-10F. Клетки MCF-10F стабильно трансдуцировали с лентивирусными векторами, кодирующими GFP или GFP и репрессор AhR (AhRR) для подавления активности AhR. Клетки с высоким содержанием AhRR-GFP и низким содержанием AhRR-GFP подвергали селекции с помощью проточной цитометрии. Клетки помещали на планшеты в равных количествах и определяли количества клеток через 1-6 дней. Вставка: содержание белка p21 в контроле или AhRR-трансдуцированных клетках.

На фиг. 2 показано, что ингибирование AhR с помощью AhRR ингибирует инвазию опухоли в матриксе. Злокачественные клетки BP1 и Hs578T транзитивно трансфектировали с контрольными (pSport) плазмидами или плазмидами репрессора AhR для подавления активности AhR и помещали на планшеты в матрикс. Делали фотографии через 5-7 дней.

На фиг. 3 показано, что отрицательное регулирование AhR с помощью мiPНК AhR ингибирует инвазию в камерах Бойдена. Злокачественные клетки BP1 и Hs578T транзитивно трансфектировали с контрольными или AhR-специфическими мiPНК и помещали на планшеты в верхнюю камеру в бессывороточную среду. Содержащую сыворотку среду добавляли к нижней камере. Число клеток выше и ниже содержащей матрикс мембраны определяли через 48 ч и рассчитывали процентное отношение клеток в нижней камере: * $p < 0,04$; ** $p < 0,03$.

На фиг. 4A-4B показан скрининг с высокой пропускной способностью (HTS) в отношении агонистов и антагонистов AhR. На фиг. 4A показаны клетки H1G1, экспрессирующие управляемый AhR GFP репортерный конструктор, помещали в 384 луночные планшеты и обрабатывали кандидатными модификаторами AhR отдельно (темная линия) или вместе с BNF, известным агонистом AhR (светлая линия). Че-

рез 24 ч измеряли флюоресценцию GFP и клетки окрашивали для определения жизнеспособности. Темный кружок обозначает ингибитор AhR, тогда как светлый кружок обозначает агонист. На фиг. 4B показаны данные, полученные от нетоксического соединения, определенного в "А," который титровали в присутствии BNF для расчета значения IC_{50} . Свыше 4000 соединений подвергли скринингу в этом полуавтоматизированном анализе.

На фиг. 5A-5B показано, что CH223191 и CMLD 2166 ингибируют конститутивную активность AhR и клеточный рост. На фиг. 5A показанные данные, полученные от злокачественных клеток BP1 и иммортализованных клеток MCF-10F, которые транзиторно трансфектировали с чувствительным к AhR pGud-Luc и обрабатывали наполнителем (DMSO), CH2231 91 или 2166. Активность pGudLuc оценивали через 24 ч. На фиг. 5B показаны данные, полученные от клеток BP1 и MCF-10F, которые выращивали в течение 18 ч в присутствии DMSO, CH2231 91 или 2166 и определяли включение 3H-тимидина: * $p < 0,05$.

На фиг. 6 показано, что CB7993113 блокирует транслокацию AhR в ядро после стимуляции клеток с помощью DMBA, агониста AhR. Клетки Нера-1 обрабатывали наполнителем или 1-10 мкМ CH223191. Через один час клетки обрабатывали с помощью 0,1 мкМ DMBA (где это показано) и инкубировали в течение 30 мин. Клетки собирали и экстрагировали белки из цитоплазмы и ядер. Экстрагированные белки подвергали AhR- или, в качестве контроля нагрузки, β -актинспецифическим анализам вестерн-иммуноблоттингу. Данные являются репрезентативными от 3 независимых экспериментов.

На фиг. 7A-7B показано, что CH223191, CMLD-2166 и CMLD-2186 ингибируют инвазию опухоли. Клетки Hs578T культивировали в камерах Бойдена (фиг. 7A) или в матригеле (фиг. 7B) в присутствии DMSO, 10^{-5} М CMLD-2166, CMLD-2186 (2166 энантиомер) или CH223191 и анализировали в отношении инвазии через 2 дня (камеры Бойдена) или 7 дней (матригель).

На фиг. 8A-8B показано, что CB7993113 способен блокировать острые токсические эффекты сильного лиганда AhR и прототипного PAH, DMBA, *in vivo*, и что все три субпопуляции клеток костного мозга, подверженных воздействию DMBA, спасали путем лечения с помощью CB7993113. На фиг. 8A показаны данные, полученные от 6 мышей C57BL (6 на группу), которым вводили инъекцией и.п. на день -1 и день 0 наполнитель (масло) или 50 мг/кг CB7993113. Мышам затем вводили инъекцией 50 мг/кг DMBA. Мышей умерщвляли через 48 ч. Гематopoэтические клетки костного мозга удаляли из кости и подсчитывали жизнеспособные клетки. Данные представлены как среднее количество жизнеспособных лейкоцитов+SE. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, критерий Стьюдента. На фиг. 8B подтверждаются данные, показанные на фиг. 8A, и дополнительно показано, что все три субпопуляции клеток костного мозга, подверженных воздействию DMBA, спасали путем лечения с помощью CB7993113. 6 мышей C57BL (6 на группу) обрабатывали, как показано на фиг. 8A. Процентное отношение и число жизнеспособных про-В клеток, пре-В клеток и нейтрофилов костного мозга определяли через 48 ч с помощью проточной цитометрии. Данные представлены как среднее число жизнеспособных клеток каждого подтипа+SE. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, критерий Стьюдента).

На фиг. 9 изображены вычислительные стратегии для поиска сходства формы и электростатического сходства. Последовательности SMILES можно продлить в базу данных 3D конформеров с использованием программы OpenEye OMEGA (версия 2.2.1), обеспечивая канал регистрации излучения 8 ккал/моль выше состояния покоя и пороговое значение msd 0,8 Å на способ, описанный в (1). Максимальное количество вращающихся соединений для этих экспериментов составляет 16. Для ускорения этого вычисления библиотеку фрагментов можно предварительно создать с использованием программы makefragmentlib. Затем можно провести поиск в базе данных 3D конформеров с использованием ROCS (версия 2.3.1), запрашивая информацию относительно лучших 20 наименее энергетических конформаций наиболее активных потенциальных лидеров HTS, определенных с использованием OMEGA. Программу сравнения формы ROCS можно применить с использованием встроенного цветового силового поля и потенциальные лидеры можно ранжировать на основании суммы их коэффициента формы Танимото и цветового коэффициента (известного как "комбинированный коэффициент"). Самые высокие перекрытия коэффициентов из ROCS можно подвергать сравнению электростатического перекрытия с использованием EON. Для ранжирования списка потенциальных лидеров электростатический комбинированный коэффициент Танимото можно использовать для ранжирования. Он представляет собой сумму коэффициента формы Танимото и электростатического коэффициента Пуассона-Больцмана Танимото. Лучшие 200 соединений из каждого коммерческого набора можно приобрести и подвергнуть скринингу в функциональных анализах AhR с высокой пропускной способностью.

На фиг. 10 показано, что соединения CMLD-2166 и CB7993113 связываются с AhR человека. Соединения CMLD-2166 и CB7993113 смешивали с *in vitro* транслированным AhR человека и радиомеченым TCDD (диоксином), лигандом AhR с высокой аффинностью. Комплексы затем разделяли на градиенте сахарозы и фракции анализировали в отношении радиоактивности. Снижение сигнала (перемещение радиомеченого TCDD) можно увидеть во фракциях 13-16, что указывает на связывание исследуемого соединения с AhR и перемещение TCDD. Эти результаты показывают, что эти соединения являются конкурентными ингибиторами AhR.

На фиг. 11 показано, что ингибиторы AhR не блокируют PPAR γ -опосредованную транскрипцию.

Клетки Cos7 трансфектировали с помощью рецептора-γ активатора пролифератора пероксисом (PPARγ), его партнера димеризации, RXR, PPARγ-управляемым конструктом репортера люциферазы и контрольным CMV-управляемым GFP репортером в течение 24 ч. Клетки затем обрабатывали наполнителем, 10 мкМ ингибитора AhR CH223191, 50 мкМ ингибитора AhR CMLD-2166 или 10 мкМ ингибитора AhR CB7993113. (Это представлены высокие дозы ингибитора AhR). Розиглитазон (1 мкМ), сильный агонист PPARγ, добавляли через 1 ч и клетки анализировали через 18-24 ч после этого в отношении PPARγ-управляемой репортерной активности (интенсивность люциферазы), нормализовали к сигналу GFP. Данные объединяли от 4 экспериментов. В отличие от их способности блокировать управляемую AhR репортерную активность, ингибиторы AhR не характеризовались эффектом на управляемую PPARγ репортерную активность.

На фиг. 12 показано, что трансфекция мРНК AhR блокирует инвазию опухоли в матрикеле. Опухолевые клетки молочной железы человека BP1 или Hs578T транзитивно трансфектировали с контрольными мРНК или мРНК AhR для нокдауна экспрессии AhR и клетки культивировали в матрикеле в течение 6 дней. Показаны колонии опухолевых клеток, которые выращивали из отдельных клеток в течение этих 6 дней.

На фиг. 13 показано, что индуцируемая доксициклином кшРНК AhR блокирует инвазию опухоли в матрикеле. Клетки Hs578T стабильно трансдуцировали с доксициклин-индуцируемой контрольной (скремблированной/не молчащей) кшРНК (слева) или специфической для AhR кшРНК (справа). Клетки обрабатывали доксициклином, чтобы активировать как контрольные, так и AhR кшРНК векторы и клетки культивировали в матрикеле в течение 5 дней.

На фиг. 14 показано, что ингибитор AhR CB993113 блокирует инвазию опухоли BP1 в матрикеле. Клетки BP1 культивировали в присутствии наполнителя (справа) или 5 мкМ CB7993113 в матрикеле в течение 5 дней. CB7993113 является не токсическим при самых высоких исследуемых дозах, 10 мкМ.

Фиг. 15 представляет собой схему, изображающую как ингибиторы и агонисты AhR могут ингибировать инвазию опухоли.

На фиг. 16A-16B показано, что агонисты AhR снижают инвазию опухолевых клеток молочной железы человека (BP1) в матрикеле. Клетки BP1 культивировали в матрикеле в присутствии наполнителя, 5 мкМ DIM (16A), наполнителя или 5 мкМ CB7950998 (16B) в течение 5 дней.

Не желая быть связанными или ограниченными теорией, описанные в настоящем документе данные также показывают, что некоторые конститутивные агонисты AhR положительно регулируют экспрессию CYP1A1 и CYP1B1, оба из которых связаны с повышенным риском возникновения злокачественной опухоли молочной железы, яичника и легкого (36, 39-44).

Ссылки.

- Hawkins, P. C., A. G. Skillman, and A. Nicholls. 2007. Comparison of shape-matching and docking as virtual screening tools. *J Med Chem* 50:74-82.
- Trombino, A. F., R. A. Matulka, S. Yang, L. J. Hafer, A. E. Rogers, P. Tosselli, D. Kim, G. E. Sonenshein, R. I. Near, and D. H. Sherr. 2000. Expression of the aryl hydrocarbon receptor/transcription factor (AhR) and AhR-regulated CYP1 gene transcription in a rat model of mammary tumorigenesis. *Breast Canc. Res. and Treatment* 62:117-131.
- Currier, N., S. Solomon, E. Demicco, D. Chang, M. Farago, H. Ying, I. Dominguez, A. Rogers, G. Sonenshein, R. Cardiff, J. Xiao, D. Sherr, and D. Seldin. 2005. Oncogenic signaling pathways activated in DMBA-induced mouse mammary tumors. *Toxicologic Path* 33:726.
- Murray, S. A., S. Yang, E. Demicco, H. Ying, D. H. Sherr, L. J. Hafer, A. E. Rogers, G. E. Sonenshein, and Z. X. Xiao. 2005. Increased expression of MDM2, cyclin D1, and p27(Kip1) in carcinogen-induced rat mammary tumors. *J Cell Biochem*.
- Kim, D. W., L. Gazourian, S. A. Quadri, R. Romieu-Mourez, D. H. Sherr, and G. E. Sonenshein. 2000. The RelA NF-κB subunit and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) cooperate to transactivate the c-myc promoter in mammary cells *Equal contributions. *Oncogene* 19:5498-5506.
- Murray, T. J., X. Yang, and D. H. Sherr. 2006. Growth of a human mammary tumor cell line is blocked by galangin, a naturally occurring bioflavonoid, and is accompanied by down-regulation of cyclins D3, E, and A. *Breast Cancer Res* 8:R17.
- Kavanagh, K. T., L. J. Hafer, D. W. Kim, K. K. Mann, D. H. Sherr, A. E. Rogers, and G. E. Sonenshein. 2001. Green tea extracts decrease carcinogen-induced mammary tumor burden in rats and rate of breast cancer cell proliferation in culture. *J Cell Biochem* 82:387-398.
- Schleizinger, J., D. Liu, M. Farago, D. Seldin, K. Belguise, G. Sonenshein, and D. Sherr. 2006. A role for the aryl hydrocarbon receptor in mammary gland tumorigenesis. *Biological Chemistry* 387:1175-1187.
- Shin, S. R., N. Sanchez-Velaz, D. H. Sherr, and G. E. Sonenshein. 2006. 7,12-dimethylbenz(a)anthracene treatment of a c-rel mouse mammary tumor cell line induces epithelial to mesenchymal transition via activation of nuclear factor-κB. *Cancer Res* 66:2570-2575.
- Narasimhan, S., S. Rolfe, J. Schleizinger, and D. Sherr. 2010. The aryl hydrocarbon receptor influences human mammary tumor cell invasion. Manuscript in preparation.

11. Solomon, S., X. Yang, S. Narasimhan, S. Karchner, M. Hahn, and D. Sherr. 2010. An inhibitory feedback loop mediated by the aryl hydrocarbon receptor and its repressor in human mammary cells. Manuscript in preparation.
12. Belguise, K., S. Guo, S. Yang, A. E. Rogers, D. C. Seldin, D. H. Sherr, and G. E. Sonenshein. 2007. Green tea polyphenols reverse cooperation between c-Rel and CK2 that induces the aryl hydrocarbon receptor, slug, and an invasive phenotype. *Cancer Res* 67:11742-11750.
13. Yang, X., S. Solomon, L. R. Fraser, A. F. Trombino, D. Liu, G. E. Sonenshein, E. V. Hestermann, and D. H. Sherr. 2008. Constitutive regulation of CYP1 B1 by the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in pre-malignant and malignant mammary tissue. *J Cell Biochem* 104:402-417.
14. Rolfe, S. S., O. Novikov, S. Narasimhan, D. Liu, and D. H. Sherr. 2010. Constitutively active aryl hydrocarbon receptor (AhR) drives immortalized mammary epithelial cell growth through repression of ChK2 and p21 and CYP1 B1 up-regulation. Manuscript in preparation.
15. Yang, X., D. Liu, T. J. Murray, G. C. Mitchell, E. V. Hesterman, S. I. Karchner, R. R. Merson, M. E. Hahn, and D. H. Sherr. 2005. The aryl hydrocarbon receptor constitutively represses c-myc transcription in human mammary tumor cells. *Oncogene* 24:7869-7881.
16. Min, C., S. F. Eddy, D. H. Sherr, and G. E. Sonenshein. 2008. NF-kappaB and epithelial to mesenchymal transition of cancer. *J Cell Biochem* 104:733-744.
17. Hahn, M. E., L. L. Allan, and D. H. Sherr. 2009. Regulation of constitutive and inducible AHR signaling: complex interactions involving the AHR repressor. *Biochem Pharmacol* 77:485-497.
18. Jakobi, A. J., H. Mauser, and T. Clark. 2008. ParaFrag--an approach for surface-based similarity comparison of molecular fragments. *Journal of molecular modeling* 14:547-558.
19. Low, C. M., I. M. Buck, T. Cooke, J. R. Cushnir, S. B. Kalindjian, A. Kotecha, M. J. Pether, N. P. Shankley, J. G. Vinter, and L. Wright. 2005. Scaffold hopping with molecular field points: identification of a cholecystokinin-2 (CCK2) receptor pharmacophore and its use in the design of a prototypical series of pyrrole- and imidazole-based CCK2 antagonists. *Journal of medicinal chemistry* 48:6790-6802.
20. Manallack, D. T. 2008. The use of local surface properties for molecular superimposition. *Journal of molecular modeling* 14:797-805.
21. Tresadern, G., D. Bemporad, and T. Howe. 2009. A comparison of ligand based virtual screening methods and application to corticotropin releasing factor 1 receptor. *Journal of molecular graphics & modelling* 27:860-870.
22. Vainio, M. J., J. S. Puranen, and M. S. Johnson. 2009. ShaEP: molecular overlay based on shape and electrostatic potential. *Journal of chemical information and modeling* 49:492-502.
23. <http://www.eyesopen.com/products/applications/omega.html>.
24. Quadri, S. A., A. N. Qadri, M. E. Hahn, K. K. Mann, and D. H. Sherr. 2000. The bioflavonoid galangin blocks aryl hydrocarbon receptor activation and polycyclic aromatic hydrocarbon-induced pre-B cell apoptosis. *Mol Pharmacol* 58:515-525.
25. Javed, A., G. L. Barnes, J. Pratap, T. Antkowiak, L. C. Gerstenfeld, A. J. van Wijnen, J. L. Stein, J. B. Lian, and G. S. Stein. 2005. Impaired intranuclear trafficking of Runx2 (AML3/CBFA1) transcription factors in breast cancer cells inhibits osteolysis *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:1454-1459.
26. Jenkins, D. E., Y. S. Hornig, Y. Oei, J. Dusich, and T. Purchio. 2005. Bioluminescent human breast cancer cell lines that permit rapid and sensitive *in vivo* detection of mammary tumors and multiple metastases in immune deficient mice. *Breast Cancer Res* 7:R444-454.
27. Wingo, P. A., T. Tong, and S. Bolden. 1995. Cancer Statistics, 1995. *CA Cancer J Clin* 45:8-30.
28. Harris, J. R., M. E. Lippman, U. Veronesi, and W. Willett. 1992. Breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 327:319-328.
29. Edwards, B. K., M. L. Brown, P. A. Wingo, H. L. Howe, E. Ward, L. A. Ries, D. Schrag, P. M. Jamison, A. Jemal, X. C. Wu, C. Friedman, L. Harlan, J. Warren, R. N. Anderson, and L. W. Pickle. 2005. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2002, featuring population-based trends in cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 97:1407-1427.
30. Dusich, K., F. Sigurson, W. Hall, and A. Dean. 1980. Cancer rates in a community exposed to low levels of creosote components in municipal water. *Minn. Med.* 63:803-806.
31. Morris, J. J., and E. Seifter. 1992. The role of aromatic hydrocarbons in the genesis of breast cancer. *Med Hypotheses* 38:177-184.
32. DiAugustine, R., and D. Davis. 1993. A holistic approach to breast cancer. *Environ. Health Perspect.* 101:116-120.
33. Terry, M. B., M. D. Gammon, F. F. Zhang, S. M. Eng, S. K. Sagiv, A. B. Paykin, Q. Wang, S. Hayes, S.

- L. Teitelbaum, A. I. Neugut, and R. M. Santella. 2004. Polymorphism in the DNA repair gene XPD, polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts, cigarette smoking, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:2053-2058.
34. 2010. U.S. Surveillance, Epidemiology, and End Results <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>.
35. Frost, and Sullivan. 2008. www.Frost.com.
36. Ishibe, N., S. E. Hankinson, G. A. Colditz, D. Spiegelman, W. C. Willett, F. E. Speizer, K. T. Kelsey, and D. J. Hunter. 1998. Cigarette smoking, cytochrome P450 1A1 polymorphisms, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. *Cancer Res* 58:667-671.
37. Silverstein, M. J., R. Parker, J. C. Grotting, R. J. Cote, and C. A. Russell. 2001. Ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast: diagnostic and therapeutic controversies. *Journal of the American College of Surgeons* 192:196-214.
38. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01015521?term=aminoflavone&rank=1>.
39. Hayes, C. L., D. C. Spink, B. C. Spink, J. Q. Cao, N. J. Walker, and T. R. Sutter. 1996. 17 betaestradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1 B1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:9776-9781.
40. Liehr, J. G., and M. J. Ricci. 1996. 4-Hydroxylation of estrogens as marker of human mammary tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:3294-3296.
41. Belous, A. R., D. L. Hachey, S. Dawling, N. Roodi, and F. F. Parl. 2007. Cytochrome P450 1B1-mediated estrogen metabolism results in estrogen-deoxyribonucleoside adduct formation. *Cancer Res* 67:812-817.
42. Watanabe, J., T. Shimad, E. Gillam, T. Ikuta, K. Suemasu, Y. Higashi, O. Gotoh, and K. Kawajiri. 2000. Association of CYP1 B1 genetic polymorphism with incidence to breast and lung cancer. *Pharmacogen*. 10:25-33.
43. Sellers, T. A., J. M. Schildkraut, V. S. Pankratz, R. A. Vierkant, Z. S. Fredericksen, J. E. Olson, J. Cunningham, W. Taylor, M. Liebow, C. McPherson, L. C. Hartmann, T. Pal, and A. A. Adjei. 2005. Estrogen bioactivation, genetic polymorphisms, and ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:2536-2543.
44. Faraglia, B., S. Y. Chen, M. D. Gammon, Y. Zhang, S. L. Teitelbaum, A. I. Neugut, H. Ahsan, G. C. Garbowski, H. Hibshoosh, D. Lin, F. F. Kadlubar, and R. M. Santella. 2003. Evaluation of 4-aminobiphenyl-DNA adducts in human breast cancer: the influence of tobacco smoke. *Carcinogenesis* 24:719-725.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> ТРАСТИС ОФ БОСТОН ЮНИВЕРСИТИ
НОРСИСТЕРН ЮНИВЕРСИТИ
БОСТОН МЕДИКАЛ СЕНТЕР КОРПОРЕЙШН

<120> МОДИФИКАТОРЫ АРИЛУГЛЕВОДОРОДНОГО РЕЦЕПТОРА (AhR) В КАЧЕСТВЕ НОВЫХ ПРОТИВООРАКОВЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

<130> 701586-067987-ЕА

<140> ЕА 201390031
<141> 2011-07-27

<150> PCT/US2011/045526
<151> 2011-07-27

<150> 61/368,042
<151> 2010-07-27

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 848
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 1
Met Asn Ser Ser Ser Ala Asn Ile Thr Tyr Ala Ser Arg Lys Arg Arg
1 5 10 15

Lys Pro Val Gln Lys Thr Val Lys Pro Ile Pro Ala Glu Gly Ile Lys
20 25 30

Ser Asn Pro Ser Lys Arg His Arg Asp Arg Leu Asn Thr Glu Leu Asp
35 40 45

Arg Leu Ala Ser Leu Leu Pro Phe Pro Gln Asp Val Ile Asn Lys Leu
50 55 60

Asp Lys Leu Ser Val Leu Arg Leu Ser Val Ser Tyr Leu Arg Ala Lys
65 70 75 80

Ser Phe Phe Asp Val Ala Leu Lys Ser Ser Pro Thr Glu Arg Asn Gly
85 90 95

Gly Gln Asp Asn Cys Arg Ala Ala Asn Phe Arg Glu Gly Leu Asn Leu
100 105 110

Gln Glu Gly Glu Phe Leu Leu Gln Ala Leu Asn Gly Phe Val Leu Val
115 120 125

Val Thr Thr Asp Ala Leu Val Phe Tyr Ala Ser Ser Thr Ile Gln Asp
130 135 140

Tyr Leu Gly Phe Gln Ser Asp Val Ile His Gln Ser Val Tyr Glu
145 150 155 160

Leu Ile His Thr Glu Asp Arg Ala Glu Phe Gln Arg Gln Leu His Trp
165 170 175

Ala Leu Asn Pro Ser Gln Cys Thr Glu Ser Gly Gln Gly Ile Glu Glu
180 185 190

Ala Thr Gly Leu Pro Gln Thr Val Val Cys Tyr Asn Pro Asp Gln Ile
195 200 205

Pro Pro Glu Asn Ser Pro Leu Met Glu Arg Cys Phe Ile Cys Arg Leu
210 215 220

Arg Cys Leu Leu Asp Asn Ser Ser Gly Phe Leu Ala Met Asn Phe Gln
225 230 235 240

Gly Lys Leu Lys Tyr Leu His Gly Gln Lys Lys Gly Lys Asp Gly
245 250 255

Ser Ile Leu Pro Pro Gln Leu Ala Leu Phe Ala Ile Ala Thr Pro Leu
260 265 270

Gln Pro Pro Ser Ile Leu Glu Ile Arg Thr Lys Asn Phe Ile Phe Arg
275 280 285

Thr Lys His Lys Leu Asp Phe Thr Pro Ile Gly Cys Asp Ala Lys Gly
290 295 300

Arg Ile Val Leu Gly Tyr Thr Glu Ala Glu Leu Cys Thr Arg Gly Ser
305 310 315 320

Gly Tyr Gln Phe Ile His Ala Ala Asp Met Leu Tyr Cys Ala Glu Ser
325 330 335

His Ile Arg Met Ile Lys Thr Gly Glu Ser Gly Met Ile Val Phe Arg
340 345 350

Leu Leu Thr Lys Asn Asn Arg Trp Thr Trp Val Gln Ser Asn Ala Arg
355 360 365

Leu Leu Tyr Lys Asn Gly Arg Pro Asp Tyr Ile Ile Val Thr Gln Arg
370 375 380

Pro Leu Thr Asp Glu Glu Gly Thr Glu His Leu Arg Lys Arg Asn Thr
385 390 395 400

Lys Leu Pro Phe Met Phe Thr Thr Gly Glu Ala Val Leu Tyr Glu Ala
405 410 415

Thr Asn Pro Phe Pro Ala Ile Met Asp Pro Leu Pro Leu Arg Thr Lys
420 425 430

Asn Gly Thr Ser Gly Lys Asp Ser Ala Thr Thr Ser Thr Leu Ser Lys
435 440 445

Asp Ser Leu Asn Pro Ser Ser Leu Leu Ala Ala Met Met Gln Gln Asp
450 455 460

Glu Ser Ile Tyr Leu Tyr Pro Ala Ser Ser Thr Ser Ser Thr Ala Pro
465 470 475 480

Phe Glu Asn Asn Phe Phe Asn Glu Ser Met Asn Glu Cys Arg Asn Trp
485 490 495

Gln Asp Asn Thr Ala Pro Met Gly Asn Asp Thr Ile Leu Lys His Glu
500 505 510

Gln Ile Asp Gln Pro Gln Asp Val Asn Ser Phe Ala Gly Gly His Pro
515 520 525

Gly Leu Phe Gln Asp Ser Lys Asn Ser Asp Leu Tyr Ser Ile Met Lys
530 535 540

Asn Leu Gly Ile Asp Phe Glu Asp Ile Arg His Met Gln Asn Glu Lys
545 550 555 560

Phe Phe Arg Asn Asp Phe Ser Gly Glu Val Asp Phe Arg Asp Ile Asp
565 570 575

Leu Thr Asp Glu Ile Leu Thr Tyr Val Gln Asp Ser Leu Ser Lys Ser
580 585 590

Pro Phe Ile Pro Ser Asp Tyr Gln Gln Gln Gln Ser Leu Ala Leu Asn
595 600 605

Ser Ser Cys Met Val Gln Glu His Leu His Leu Glu Gln Gln Gln
610 615 620

His His Gln Lys Gln Val Val Val Glu Pro Gln Gln Gln Leu Cys Gln
625 630 635 640

Lys Met Lys His Met Gln Val Asn Gly Met Phe Glu Asn Trp Asn Ser
645 650 655

Asn Gln Phe Val Pro Phe Asn Cys Pro Gln Gln Asp Pro Gln Gln Tyr
660 665 670

Asn Val Phe Thr Asp Leu His Gly Ile Ser Gln Glu Phe Pro Tyr Lys
675 680 685

Ser Glu Met Asp Ser Met Pro Tyr Thr Gln Asn Phe Ile Ser Cys Asn
690 695 700

Gln Pro Val Leu Pro Gln His Ser Lys Cys Thr Glu Leu Asp Tyr Pro
705 710 715 720

Met Gly Ser Phe Glu Pro Ser Pro Tyr Pro Thr Thr Ser Ser Leu Glu
725 730 735

Asp Phe Val Thr Cys Leu Gln Leu Pro Glu Asn Gln Lys His Gly Leu
740 745 750

Asn Pro Gln Ser Ala Ile Ile Thr Pro Gln Thr Cys Tyr Ala Gly Ala
755 760 765

Val Ser Met Tyr Gln Cys Gln Pro Glu Pro Gln His Thr His Val Gly
770 775 780

Gln Met Gln Tyr Asn Pro Val Leu Pro Gly Gln Gln Ala Phe Leu Asn
785 790 795 800

Lys Phe Gln Asn Gly Val Leu Asn Glu Thr Tyr Pro Ala Glu Leu Asn
805 810 815

Asn Ile Asn Asn Thr Gln Thr Thr Thr His Leu Gln Pro Leu His His
820 825 830

Pro Ser Glu Ala Arg Pro Phe Pro Asp Leu Thr Ser Ser Gly Phe Leu
835 840 845

<210> 2
<211> 7
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<220> Описание искусственной последовательности: синтетический олигонуклеотид

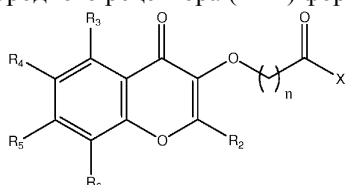
<220>
<221> модифицированное_основание
<222> (2), (2)
<223> a, c, t, g, неизвестно или другое

<400> 2
tnngcgtg

7

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения рака, содержащая один или более фармацевтически приемлемых носителей, вспомогательных веществ или стабилизаторов и терапевтически эффективное количество модулятора арилуглеводородного рецептора (AhR) формулы (Ia)



где

X' представляет собой H, C₁-C₆алкил, аминсульфонил, C₁-C₆алкокси, amino, арил или 5-14-членный гетероарил, содержащий 1-9 гетероатомов, выбранных из N, O или S, каждый из которых необязательно замещен 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо; и где арил выбран из группы, состоящей из фенила, нафтила, антраценила, азуленила, флуоренила, инданила, инденила и тетрагидронафтила;

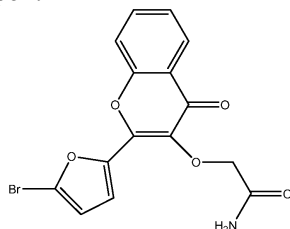
n равно 0-6;

R₂ представляет собой 5-14-членный гетероарил, содержащий 1-9 гетероатомов, выбранных из N, O или S, где 5-14-членный гетероарил необязательно замещен 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, C₁-C₆алкил или галоген;

и его фармацевтически приемлемых солей или стереоизомеров.

2. Композиция по п.1, в которой модулятор AhR представляет собой CB7993113, характеризующийся следующей химической структурой:



3. Композиция по п.1, где

X' представляет собой C₁-C₆алкил, C₁-C₆алкокси, amino или amino, замещенный 1-2 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

n равно 0-6;

R₂ представляет собой 5-14-членный гетероарил или 5-14-членный гетероарил, замещенный 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

R₃, R₄, R₅ и R₆ независимо представляют собой H, галоген.

4. Композиция по п.3, где

X' представляет собой C₁-C₆алкил, C₁-C₆алкокси, amino или amino, замещенный 1-2 заместителями, выбранными из галогена, C₁-C₆алкила, C₁-C₆алкокси, CF₃, циано, гидроксид, оксо, нитро, amino и уреидо;

n равно 0 или 1;

R_2 представляет собой 5-14-членный гетероарил или 5-14-членный гетероарил, замещенный 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C_1 - C_6 алкила, C_1 - C_6 алкокси, CF_3 , циано, гидроксид, оксо, нитро, амино и уреидо;

R_3 , R_4 , R_5 и R_6 представляют собой H.

5. Композиция по п.3 или 4, где 5-14-членный гетероарил R_2 замещен одним заместителем, выбранным из галогена, C_1 - C_6 алкила, C_1 - C_6 алкокси, CF_3 , циано, гидроксид, оксо, нитро, амино и уреидо.

6. Композиция по любому из пп.3 или 4, где 5-14-членный гетероарил R_2 замещен 1-4 заместителями, представляющими собой галоген.

7. Композиция по любому из пп.3-6, где 5-14-членный гетероарил R_2 замещен одним галогеном.

8. Композиция по п.4, где

X' представляет собой C_1 - C_6 алкил или амино, замещенный 1-2 заместителями, выбранными из галогена, C_1 - C_6 алкила, C_1 - C_6 алкокси, CF_3 , циано, гидроксид, оксо, нитро, амино и уреидо;

n равно 1,

R_2 представляет собой 5-14-членный гетероарил, замещенный 1-4 заместителями, выбранными из галогена, C_1 - C_6 алкила, C_1 - C_6 алкокси, CF_3 , циано, гидроксид, оксо, нитро, амино и уреидо;

R_3 , R_4 , R_5 и R_6 представляют собой H.

9. Композиция по п.8, где

X' представляет собой амино, замещенный 1 C_1 - C_6 алкилом,

n равно 1,

R_2 представляет собой 5-членный гетероарил, замещенный 1 галогеном;

R_3 , R_4 , R_5 и R_6 представляют собой H.

10. Применение композиции по любому из пп.1-9 в качестве терапевтического средства для лечения рака.

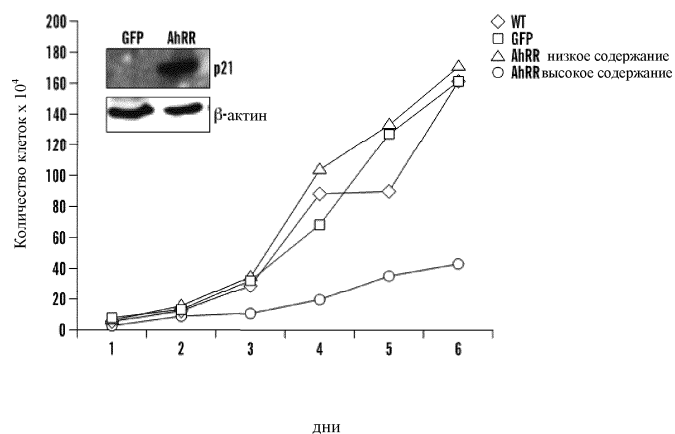
11. Применение композиции по любому из пп.1-9 для лечения рака.

12. Применение композиции по любому из пп.1-9 для ингибирования инвазивности опухолевых клеток у больного раком.

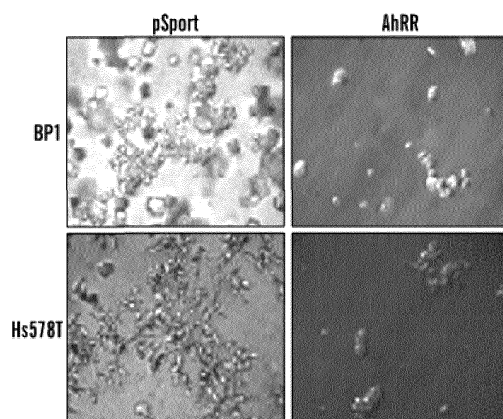
13. Применение по любому из пп.10-12, где рак выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, плоскоклеточного рака, рака легкого, рака брюшины, печеночно-клеточного рака, рака желудка, рака поджелудочной железы, глиобластомы, рака шейки матки, рака яичника, рака печени, рака мочевого пузыря, гепатомы, рака толстой кишки, колоректального рака, эндометриальной или маточной карциномы, карциномы слюнной железы, рака почки или ренального рака, рака предстательной железы, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака головы и шеи, В-клеточной лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL); острого лимфобластного лейкоза (ALL), волосатоклеточного лейкоза или хронического миелобластного лейкоза.

14. Применение по п.13, где рак представляет собой рак молочной железы.

15. Применение композиции по любому из пп.1-9 для модулирования конститутивной активности AhR у субъекта, нуждающегося в этом.

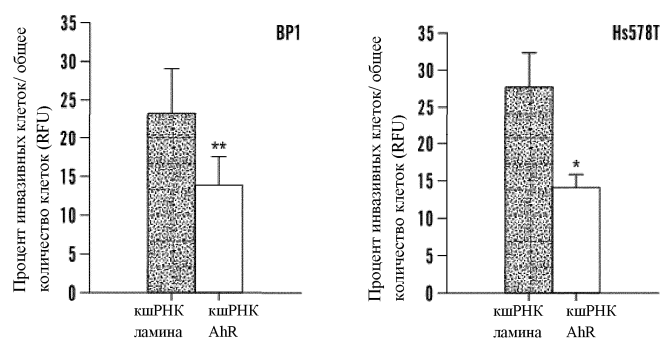


дни
Фиг. 1

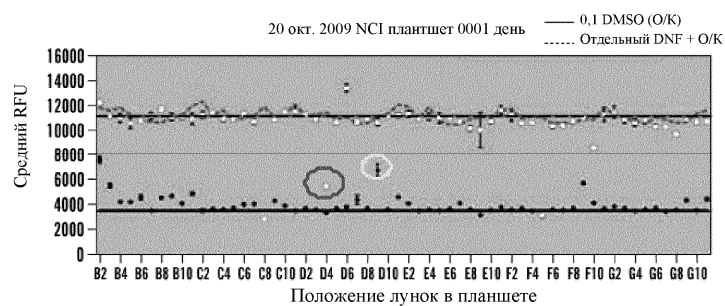


Фиг. 2

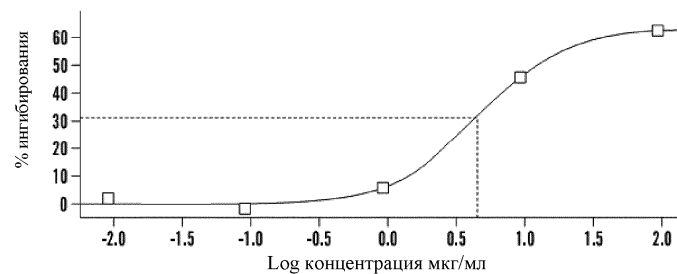
Анализ инвазии в камере Бойдена



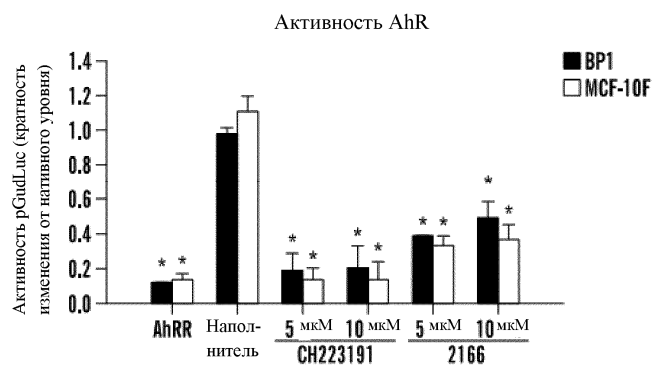
Фиг. 3



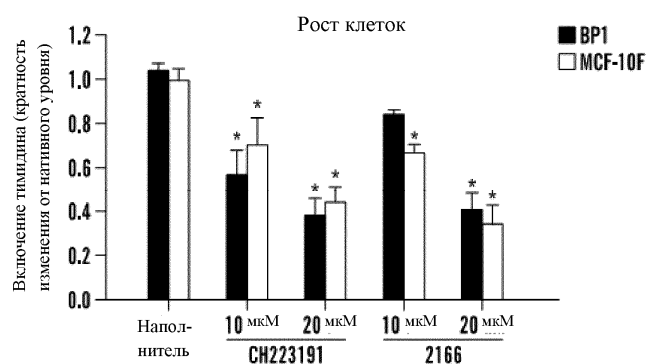
Фиг. 4А



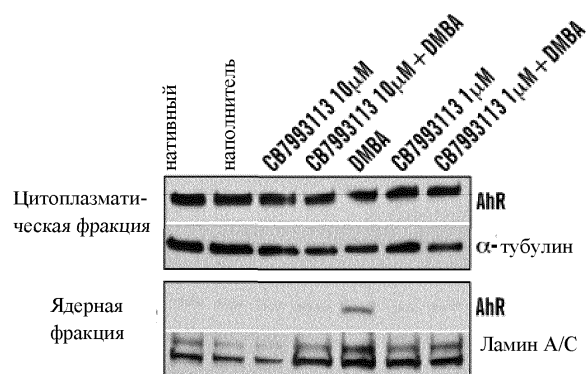
Фиг. 4В



Фиг. 5А

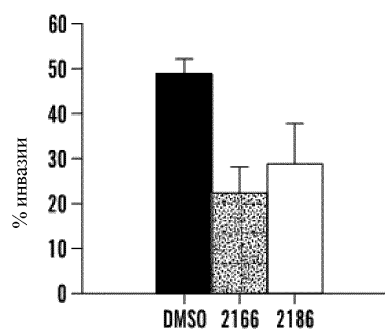


Фиг. 5В



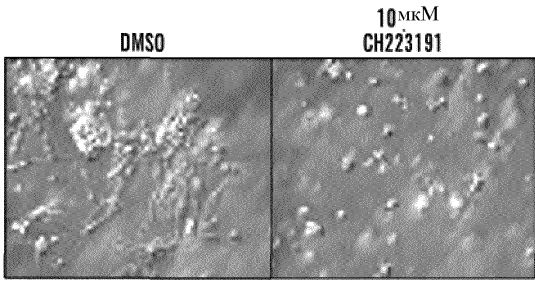
Фиг. 6

Анализ инвазии в камере Бойдена



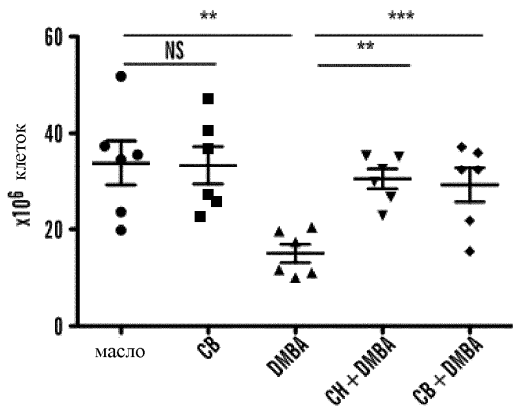
Анализ инвазии в матрикеле

Фиг. 7А

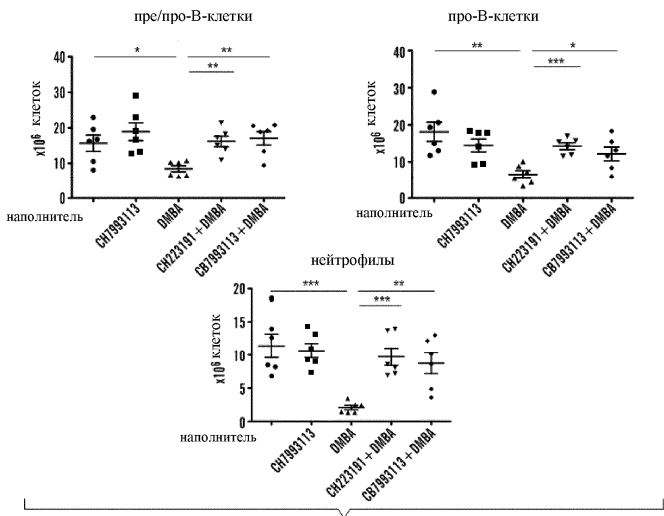


Фиг. 7В

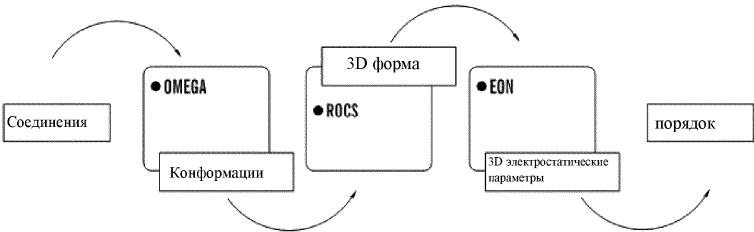
Количество клеток костного мозга



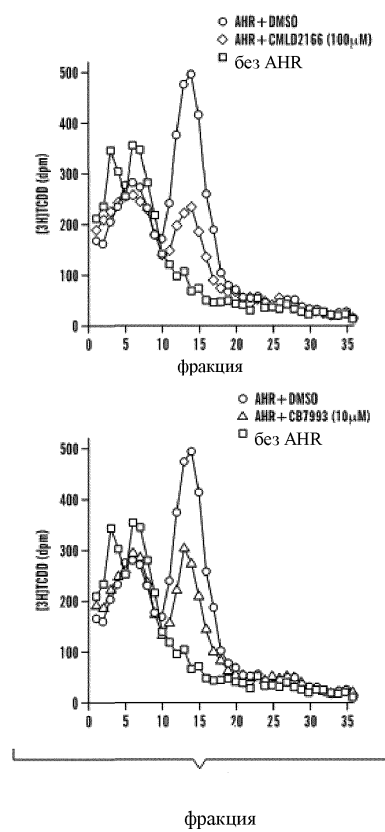
Фиг. 8А



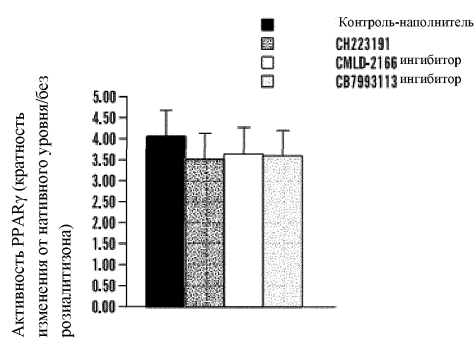
Фиг. 8В



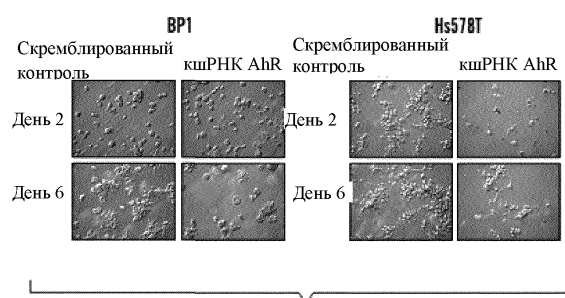
Фиг. 9



Фиг. 10

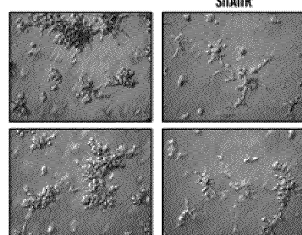


Фиг. 11

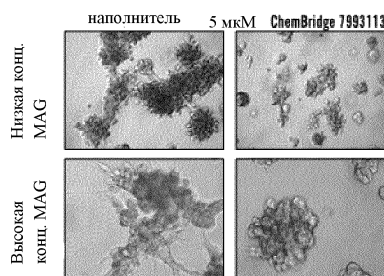


Фиг. 12

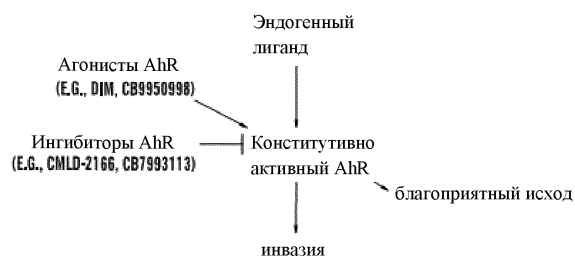
Немолчащий
контроль



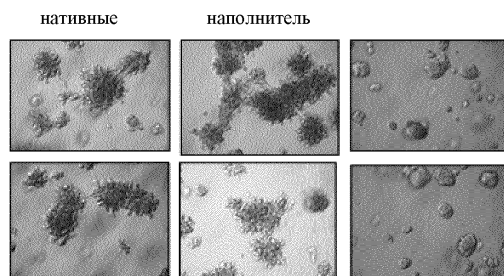
Фиг. 13



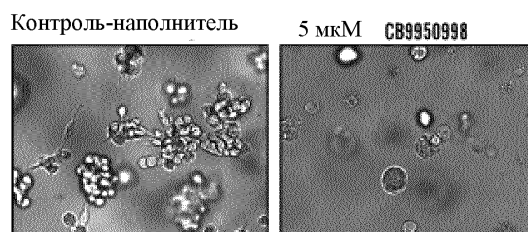
Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16А



Фиг. 16В



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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