



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 104756

(13) C2

(51) МПК

C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

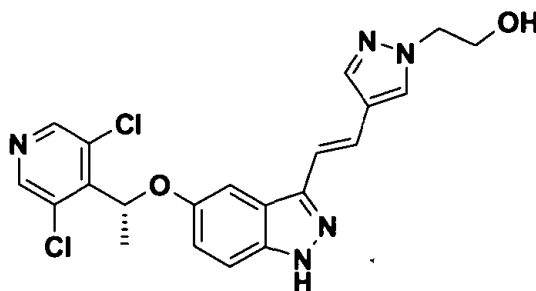
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2011 12804	(72) Винахідник(и):	Чень Даохун (US), Лі Хонг-Ю (US), Чжао Геньши (US)
(22) Дата подання заявки:	04.05.2010	(73) Власник(и):	ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, Lilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	11.03.2014	(74) Представник:	Шляховецький Олександр Михайлович, реєстр. №21
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/176,290, 61/301,416	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 0210137 A2, 07.02.2002 EP 1510516 A1, 02.03.2005
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	07.05.2009, 04.02.2010		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	26.12.2011, Бюл.№ 24		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	11.03.2014, Бюл.№ 5		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2010/033487, 04.05.2010		

(54) СПОЛУКИ РЯДУ ВІНІЛІНДАЗОЛУ

(57) Реферат:

Винахід стосується сполук вініліндазолу, корисних при лікуванні онкологічних захворювань.



UA 104756 C2

Фактор росту фібробластів (fibroblast growth factor, FGF) дістав визнання як важливий медіатор багатьох фізіологічних процесів - таких як морфогенез під час розвитку плоду та розвиток кровоносних судин. Сімейство рецепторів фактора росту фібробластів (FGFR) складається з чотирьох представників (FGFR1-FGFR4), які являють собою глікопротеїни, до складу яких входять імуноглобуліно-(Ig)-подібні домени, гідрофобна трансмембранна область, а також цитоплазмову частину, до складу якої входить домен тирозинкінази. Зв'язування FGF веде до димеризації FGFR із наступним автофосфорилуванням рецепторів і активацією сигнальних шляхів по ходу транскрипції. Активація рецепторів є достатньою для залучення і активації специфічних співучасників процесу передачі сигналу по ходу транскрипції, які беруть участь у регулюванні різноманітних процесів, таких як ріст клітин, клітинний метаболізм, а також виживання клітин. Таким чином, шлях передачі сигналу FGF/FGFR справляє плейотропний вплив на численні біологічні процеси, що мають важливе значення для проліферації пухлинних клітин, їх міграції, інвазії, а також розвитку кровоносних судин.

Вініліндазоли належать до сполук, відомих фахівцям з терапії злоякісних пухлин (див., наприклад, WO0210137 та WO2003101968). Так само відомі у галузі і інгібітори FGFR (див., наприклад, WO2002022598).

Винахід пропонує нові сполуки вініліндазолу, які напевно матимуть клінічне використання в лікуванні проліферативних захворювань (таких як рак) і, зокрема, при захворюваннях за посередництва генної розрегуляції в системі FGF та (або) FGFR.

Крім того, певні сполуки за цим винаходом мають кращу здатність до пригнічення функції FGFR1 та FGFR3 порівняно з певними інгібіторами FGFR, відомими дотепер.

Об'єктом цього винаходу є сполука, що являє собою (E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанол, або її фармацевтично прийнятна сіль.

Винахід також пропонує сполуку, що являє собою (R)-(E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанол, або її фармацевтично прийнятну сіль.

Винахід пропонує метод лікування раку, при цьому рак обирають з групи, яка складається з раку молочної залози, недрібноклітинного раку легенів (NSCL cancer), раку сечового міхура, раку шлунка, раку підшлункової залози, раку простати, раку ободової кишки, множинної мієломи, раку печінки, меланоми, злоякісних новоутворень голови і шиї, раку щитовидної залози, нирково-клітинного раку, гліобластоми, а також раку яєчка у ссавців, а метод передбачає введення ссавцю, який потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки або солі, за цим винаходом.

Цей винахід також пропонує фармацевтичні композиції, які містять сполуку або сіль за цим винаходом разом із одним або більшою кількістю фармацевтично прийнятних носіїв, розріджувачів або наповнювачів. У одному з особливих варіантів здійснення цього винаходу композиція також містить один чи більшу кількість терапевтичних засобів.

Цей винахід також пропонує сполуку або сіль за цим винаходом для терапевтичного застосування. Крім того, цей винахід пропонує застосування сполуки або солі за цим винаходом у виготовленні лікарського засобу для лікування раку. Зокрема, рак обирають з групи, яка складається з раку молочної залози, раку легенів, раку сечового міхура, раку шлунка, раку підшлункової залози, раку простати, раку ободової кишки, множинної мієломи, гострого мієлоїдного лейкозу (AML), раку печінки, меланоми, злоякісних новоутворень голови і шиї, раку щитовидної залози, нирково-клітинного раку, гліобластоми, а також раку яєчка. Більш конкретно, рак обирають з групи, яка складається з раку молочної залози, недрібноклітинного раку легенів, раку сечового міхура, раку шлунка, раку підшлункової залози, раку простати, раку ободової кишки, множинної мієломи, раку печінки, меланоми, злоякісних новоутворень голови і шиї, раку щитовидної залози, нирково-клітинного раку, гліобластоми, а також раку яєчка. Найбільш конкретно раком є недрібноклітинний рак легенів. Найбільш конкретно раком є рак шлунку. Найбільш конкретно раком є множинна мієлома. Крім того, цей винахід пропонує фармацевтичну композицію для лікування раку, який обирають з групи, яка складається з раку молочної залози, недрібноклітинного раку легенів, раку сечового міхура, раку шлунка, раку підшлункової залози, раку простати, раку ободової кишки, множинної мієломи, раку печінки, меланоми, злоякісних новоутворень голови і шиї, раку щитовидної залози, нирково-клітинного раку, гліобластоми і раку яєчка, яка містить як активний складник сполуку або сіль за цим винаходом.

Фахівцеві буде зрозуміло, що рацемічний (E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанол можна одержати по суті в такий самий спосіб, як це описано для (R)-(E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанолу, якщо виходити з рацемічного 1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етанолу замість (S)-1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етанолу. Фахівцеві так само буде зрозуміло, що (E)-2-(4-(2-(5-(1-

(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанол містить один хіральний центр. Перевага віддається тому, щоб (E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанол існував у вигляді єдиного енантіомеру. Єдиний енантіомер можна одержати, використовуючи як похідні хіральні реагенти, або

5 методами стереоселективного або стереоспецифічного синтезу. Як альтернативний варіант, єдиний енантіомер можна виділити з рацематів стандартними методами хіральної хроматографії або кристалізації.

Читачу, який має фахову підготовку, буде зрозуміло, що всі сполуки за цим винаходом здатні утворювати солі. Згадані сполуки за цим винаходом являють собою аміни і відповідно

10 реагують із будь-якою з численних органічних або неорганічних кислот із утворенням фармацевтично прийнятних солей - продуктів приєднання кислот. Такі фармацевтично прийнятні солі, які є продуктом приєднання кислот, добре відомі фахівцям у відповідній галузі (див., наприклад, P. Stahl, et al., HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE (СОЛІ У ФАРМАЦІЇ - ВЛАСТИВОСТІ, АСОПТИМЕНТ, КРИТЕРІЇ ВІДБОРУ І ЗАСТОСУВАННЯ: ДОВІДНИК) (VCH/VCH-Wiley-VCH, 2008); S.M. Berge, et al, "Pharmaceutical Salts" («Солі у фармації»), Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol 66, No. 1, January 1977.

15

Сполуки за цим винаходом можна одержувати шляхом, який проілюстровано нижче у препаративних методиках і прикладах. Пойменування наведених нижче препаративних методик і прикладів здійснювали за допомогою функції Struct=Name у складі прикладного пакету ChemDraw® Ultra 10.0.

20

Препаративна методика 1

1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етанол

До круглодонної колби місткістю 12 л з трьома горловинами вносять тетрагідрофуран (THF, 3 л) та діізопропіламін (DIPA, 315 мл, 2,24 моль), і охолоджують до температури -78°C. Повільно

25 додають н-бутиллітій (1,6 М розчин у гексані, 1400 мл, 2,24 моль). Коли додавання буде завершено і температура встановиться на -78°C, повільно додають розчин 3,5-дихлоропіридину (296,7 г, 2,00 моль), при цьому одразу ж утворюється жовтий розчин, який перетворюється на суспензію кольору іржи. Коли додавання буде завершено, і температура встановиться на -78°C, повільно додають ацетальдегід (230 мл, 4,05 моль) у THF (600 мл). Продовжують перемішувати

30 при -78°C. З години по тому відставляють баню з сухим льодом, і приступають до гасіння реакції, додаючи краплями насичений водний розчин хлориду амонію (1 л). Перемішуючи реакційну масу протягом ночі, дозволяють їй нагрітися до кімнатної температури (КТ). Розводять суміш метил-трет-бутиловим простим ефіром (MTBE, 2 л), насиченим водним розчином хлориду амонію (1 л) і водою (2 л). Відділяють шар органічних продуктів, і промивають

35 насиченим водним розчином хлориду натрію (ропою). Екстрагують водну фазу MTBE (1,5 л). Органічні шари поєднують, висушують над сульфатом натрію, фільтрують і згущують у вакуумі. Залишок очищують хроматографією на силікагелі [25% етилацетату (EA) у гексані], одержуючи сполуку, вказану у заголовку, у вигляді червоного масла. Вихід 352 г (90%). Мас-спектр (MS(ES) (мас-спектрометрія з електронним розпиленням)): m/z 192 [M+1]⁺.

40

Препаративна методика 2

(S)-1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етанол

Розділяють суміш стереоізомерів, одержану за описаною вище реакцією, на колонці CHIRALPAK® AD-H, елюючи сумішшю, що складається з 90% гептанів та 10% етанолу. Пік №2

45 відповідає цільовому енантіомеру. Для з'ясування абсолютної конфігурації розчиняють пробу продукту у CDCl₃ (дейтерований хлороформ) (остаточна концентрація 100 мг/мл). Одержують спектри коливального колового дихроїзму (ККД) та інфрачервоні (ІЧ) спектри із роздільною здатністю 4 см⁻¹ із застосуванням спектрофотометра ChiralIR FT VCD (BioTools Inc®), у кюветі для ІЧ спектроскопії із віконцями з BaF₂ і довжиною оптичного шляху 100 мм. Сигнали ККД та ІЧ від проби у 150 мкл накопичують протягом 6 год. Дані подають у первинному (не згладженому і не обробленому) вигляді. Одержують частоти колювання та інтенсивності поглинання та ККД оптимізацією найнижчого за енергією конформера, в пакеті Gaussian з базисом B3PW91/6-31G** на робочій станції з Linux, і моделюють відповідний спектр, застосовуючи Лоренцеву ширину смуги 6 см⁻¹ коливального колового дихроїзму. Цей аналіз засвідчив, що продукт є S-ізомером. Вихід 84,37 г (27%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 192 [M+1]⁺.

50

Препаративна методика 3

(S)-1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етил метансульфонат

Розчиняють (S)-1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етанол (5,02 г, 26,14 ммоль) у дихлорометані (DCM, 100 мл), і охолоджують колбу в бані з льодом. Додають триетиламін (TEA, 3,5 мл, 25,11 ммоль), і потім краплями додають метансульфонілхлорид (2,2 мл, 28,42 ммоль). Відставляють

60 баню з льодом, і дозволяють реакційній масі нагрітися до КТ. 4 години по тому гасять реакцію

водою (100 мл), і розділяють шари, що утворилися. Водний шар екстрагують спочатку DCM (50 мл), а згодом - 20%-ним розчином ізопропилового спирту в хлороформі (50 мл). Органічні екстракти поєднують, висушують над безводним сульфатом натрію, фільтрують, і згущують у вакуумі. Вихід 7,15 г (100%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 270 $[M+1]^+$.

5 Препаративна методика 4

4-йодо-1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)етил)-1Н-піразол

У колбі місткістю 1 л із трьома горловинами, спорядженій магнітною мішалкою, внутрішнім температурним зондом і захистом атмосферою азоту, розчиняють 2-(2-бромоетокси)тетрагідро-2Н-піран (34 г, 156 ммоль) у ацетонітрилі (ACN, 400 мл). Додають 4-йодопіразол (29,34 г, 149,74 ммоль) і потім карбонат цезію (73,4 г, 223,02 ммоль). Перемішують суміш при КТ протягом 18 год. Фільтрують реакційну суміш крізь целіт (CELITE®), осад на фільтрі промивають ACN, та згущують фільтрат до одержання золотистого масла. Використовують без подальшого очищення. Вихід 47,819 г (99%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 323 $[M+1]^+$.

15 Препаративна методика 5

5-(трет-бутилдиметилсилілокси)-1Н-індазол

У реакційну посудину місткістю 10 л завантажують N,N-диметилформамід (DMF - 2,50 л), 5-гідроксиіндазол (150,20 г, 1,12 моль) та 1Н-імідазол (114,35 г, 1,68 моль). Охолоджують суміш до 0°C, і додають трет-бутилдиметилхлоросилан (253,16 г, 1,68 моль) протягом 0,5 год. Перемішують масу при 18°C протягом 3 год. До реакційної маси повільно додають воду (2,5 л), помістивши реактор у баню з льодом температурою у 5°C, аби підтримувати всередині температуру близько 20°C. Переносять суміш у ділильну лійку і екстрагують ЕА (2×2,5 л). Екстракти поєднують, промивають водою (3×2,5 л) і ропою. Висушують органічні розчини над безводним сульфатом натрію, фільтрують, і випаровують розчинник до одержання червоного масла. Пропускають масло крізь шар силікагелю і елюють розчином ЕА у гексані (від 0% до 30% ЕА у гексані) до одержання сполуки, вказаної у заголовку, у вигляді оранжевого масла, що кристалізується. Вихід 300 г (100%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 249 $[M+1]^+$.

25 Препаративна методика 6

5-(трет-бутилдиметилсилілокси)-3-йодо-1Н-індазол

Розчин 5-(трет-бутилдиметилсилілокси)-1Н-індазолу (300,00 г, 1,21 моль) у DCM (4,00 л), поміщений у реакційну посудину місткістю 10 л, оздоблену кожухом, охолоджують до 10°C. До розчину, що утворився, порціями додають N-йодосукцинімід (298,89 г, 1,33 моль) протягом 0,5 год. Перемішують суміш при КТ протягом 3 год, досягаючи повного перетворення, за даними рідинної хромато-мас-спектрометрії (LC-MS) і хроматографії в тонкому шарі (TLC). Охолоджують суміш до 10°C, і гасять реакцію водою (2,5 л). Переносять суміш у ділильну лійку, і екстрагують водний шар DCM (2,5 л). Поєднані органічні екстракти промивають 10%-ним водним розчином тіосульфату натрію (5 л) і ропою. Органічні екстракти висушують над сульфатом магнію, фільтрують, і згущують у вакуумі до одержання сполуки, вказаної у заголовку, у вигляді оранжевої твердої речовини. Вихід 388 г (90%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 375 $[M+1]^+$.

40 Препаративна методика 7

5-(трет-бутилдиметилсилілокси)-3-йодо-1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-1Н-індазол

Розчин 5-(трет-бутилдиметилсилілокси)-3-йодо-1Н-індазолу (387,00 г, 1,08 моль) у DCM (2,50 л) та THF (1,00 л), поміщений у реактор з оболонкою місткістю 10 л, охолоджують до 10°C. До суміші, що утворилася, додають спочатку метансульфонову кислоту (14,0 мл, 216,02 ммоль), і потім протягом 0,5 год 3,4-дигідро-2Н-піран (296 мл, 3,24 ммоль); спостерігають незначне вивільнення тепла. Перемішують масу при КТ протягом 3 год. Охолоджують реакційну суміш до 10°C, і гасять реакцію насиченим водним розчином бікарбонату натрію (2 л). Розводять суміш водою (2 л), і екстрагують водний шар DCM (2 л). Поєднані органічні екстракти промивають водою (2 л) і ропою. Суміш органічних речовин висушують над безводним сульфатом натрію, фільтрують, і згущують у вакуумі. Залишок пропускають крізь шар силікагелю і елюють розчином ЕА у гексані (від 0% до 30% ЕА у гексані) до одержання сполуки, вказаної у заголовку. Вихід 150 г (31%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 459 $[M+1]^+$.

50 Препаративна методика 8

(Е)-1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-3-(2-(1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)етил)-1Н-піразол-4-іл)вініл)-1Н-індазол-5-ол

Суспензію 5-(трет-бутилдиметилсилілокси)-3-йодо-1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-1Н-індазолу (14 г, 30,54 ммоль) в DMF (150 мл) вносять у круглодонну колбу місткістю 500 мл з трьома горловинами, магнітною мішалкою, температурним зондом і холодильником з перегородками, і барботують крізь неї азот протягом 10 хв. До розчину, що утворився, додають трибутиламін (ТВА, 6,7 г, 36,1 ммоль) та 4,4,5,5-тетраметил-2-вініл-1,3,2-діоксаборолан (7,0 г, 43,18 ммоль), і

продовжують барботувати азот протягом 10 хв. До суміші, що утворилася, додають біс(трифенілфосфін) паладій (II) хлорид (0,45 г, 0,63 ммоль), і продовжують барботувати азот ще 0,5 год. Гріють суміш при 95-100°C протягом 18 год. Охолоджують реакційну суміш до температури, яка не перевищує 40°C, і вносять 4-йодо-1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)етил)-1Н-піразол (9,8 г, 30,42 ммоль). До суміші, що утворилася, додають гідроксиду барію октагідрат (19,3 г, 60,3 ммоль) і воду (13 мл), і продовжують барботувати азот протягом 10 хв. До реакційної маси додають комплекс 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен паладій (II) хлориду з DCM (1,3 г, 1,56 ммоль) і продовжують барботувати азот протягом 0,5 год. Гріють суміш при 95°C протягом 3 годин в атмосфері азоту. Розводять суміш ЕА, і фільтрують крізь шар целіту (Celite®). Промивають згаданий шар сілікагелю ропою (400 мл), і розділяють фільтрат на шари. Промивають органічний шар ропою, і екстрагують об'єднані водні шари ЕА. Поєднують органічні розчини, і згущують до стану брунатного масла. Розчиняють масло у DCM (100 мл), і наносять на шар сілікагелю. Цей шар сілікагелю елюють розчином ЕА у гексані (спочатку 50% ЕА в гексані і потім 70% ЕА в гексані), і одержують ясно-брунатне масло. Розтирають із MTBE (100 мл), одержуючи сполуку, вказану у заголовку. Вихід 5 г (37%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 439 [M+1]⁺.

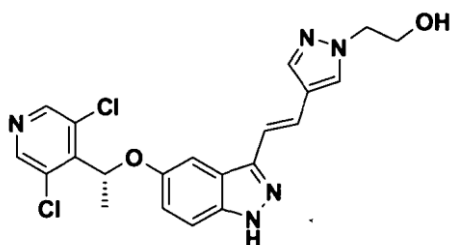
Препаративна методика 9

5-((R)-1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-3-((E)-2-(1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)етил)-1Н-піразол-4-іл)вініл)-1Н-індазол

У круглодонній колбі місткістю 250 мл з трьома горловинами, спорядженій внутрішнім температурним зондом, зворотним холодильником, атмосферою азоту і магнітною мішалкою, суспензію (E)-1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-3-(2-(1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)етил)-1Н-піразол-4-іл)вініл)-1Н-індазол-5-олу (10,00 г, 22,83 ммоль) і карбонату цезію (7,88 г, 23,94 ммоль) у ACN (92 мл) підігрівують до 60°C. До суспензії додають (S)-1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етил метансульфонат (7,03 г, 26,02 ммоль), і перемішують протягом ночі. Охолоджують реакційну суміш до КТ, фільтрують, і тверді продукти промивають на фільтрі ACN. Фільтрат згущують, і очищують хроматографією на сілікагелі (система: 2-4% (2 М розчину аміаку у метанолі) /DCM). Поєднують фракції, що містять цільовий продукт, і згущують у вакуумі до стану білої піни. Вихід 12,5 г (86%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 612 [M+1]⁺.

Приклад 1

(R)-(E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1Н-індазол-3-іл)вініл)-1Н-піразол-1-іл)етанол



У круглодонну колбу місткістю 250 мл із трьома горловинами, споряджену крапельною лійкою, штуцером для введення азоту, внутрішнім температурним зондом і магнітним перемішувачем, вносять метанол (57 мл), і охолоджують у бані з льодом. До охолодженого метанолу через крапельну лійку повільно додають ацетилхлорид (20 мл, 281,03 ммоль). До розчину з крапельної лійки додають 5-((R)-1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етокси)-1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-3-((E)-2-(1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)етил)-1Н-піразол-4-іл)вініл)-1Н-індазол (7,1 г, 11,59 ммоль) у вигляді розчину в метанолі (40 мл). Після завершення додавання відставляють баню з льодом, підігрівують суміш до КТ і перемішують протягом 4 год. Згущують реакційну масу в вакуумі до жовтої піни. Розчиняють жовту піну в метанолі (10 мл), і повільно додають розчин до насиченого водного розчину бікарбонату натрію (120 мл). Перемішують суміш при КТ протягом 30 хв. Суміш фільтрують, промивають тверду речовину водою (100 мл), і висушують у вакуумі. Тверду речовину рекристалізують з гарячого розчинника ЕА/метанол/гексан для одержання сполуки, вказаної у заголовку, у вигляді білої твердої речовини. Вихід 2,1 г (41%). Мас-спектр (MS(ES)): m/z 444 [M+1]⁺.

Аберантна регуляція шляху передачі сигналу за участю факторів FGF/FGFR залучена у багатьох різних видах злоякісних новоутворень людини. Надекспресія FGFR та FGF нерідко спостерігається при багатьох формах ракових пухлин, при цьому зазначена експресія нерідко співвідноситься з несприятливим діагнозом. Активуючі мутації у домені FGFR-кінази було виявлено у декількох формах пухлин, в тому числі в пухлинах раку молочної залози, недрібноклітинного раку легенів (NSCLC), раку сечового міхура, раку шлунка, раку простати,

раку ободової кишки, множинної мієломи тощо. Ампліфікацію генів локусу FGFR також виявлено у багатьох хворих на рак молочної залози, рак шлунка і множинну мієлому. Надекспресію FGFR та FGF спостерігали також у багатьох різних типах пухлин, таких як рак сечового міхура, множинна мієлома, рак простати, рак легенів тощо. До інших форм раку, для яких можлива ефективна терапія за допомогою інгібітора шляху передачі сигналу сімейства FGFR, належать гострий мієлолейкоз (AML), рак печінки, меланома, злоякісні новоутворення голови і шиї, рак щитовидної залози, рак підшлункової залози, нирково-клітинний рак, гліобластома, а також рак яєчка. Окрім їхньої ролі в утворенні і розвитку пухлин, FGFR та FGF також є головними регуляторами розвитку кровоносних судин, особливо під час проліферації пухлин. Вільна FGF/FGFR також відіграє важливу роль у процесах росту і збільшення інших стромальних клітин пухлин, таких як фібробласти, що мають відношення до онкологічних захворювань. Підвищуюча регуляція FGF також веде до підвищення опірності до анти-ангіогенної та інших видів хіміотерапій. Нарешті, у низькомолекулярних інгібіторів FGFR в рамках декількох доклінічних моделей виявлено протипухлинну активність, та наразі ці сполуки досліджують у клінічних умовах. Ці факти разом узяті свідчать про те, що шлях передачі сигналу FGF/FGFR є невід'ємною частиною декількох важливих клітинних процесів у ракових клітинах. Завдяки цьому терапевтична дія, спрямована на сигнальну систему FGFR та/або FGF, здатна впливати на пухлинні клітини як безпосередньо, так і через розвиток кровоносних судин пухлини.

Всі сполуки, наведені у прикладах, пройшли випробування згідно наведеному нижче опису принаймні за однією з наведених нижче методик оцінювання: ферментативна методика оцінювання FGFR1 (зв'язування з фільтром (НЦФ)); ферментативна методика оцінювання FGFR3 (зв'язування з НЦФ); методика оцінювання, заснована на індукованому FGF9 фосфорилуванні кінази p-ERK у клітинах RT-112 (у присутності бичачого сироваткового альбуміну (BSA)); методика оцінювання реакції фосфорилування ERK (Thr202/Tyr204) у клітинах ендотелію пупкової вени людини (HUVEC) за допомогою техніки AlphaScreen SureFire; методика оцінювання прицільного інгібування FGFR in vivo та гетеротрансплантовані моделі на клітинах RT112 раку сечового міхура людини та інших форм злоякісних пухлин. Ці випробування засвідчили, що досліджувані сполуки є інгібіторами шляху передачі сигналу за участю сімейства FGFR і виявляють протипухлинну активність.

Ферментативна методика оцінювання FGFR1 та FGFR3 (зв'язування з нітроцелюлозним фільтром (НЦФ))

Кіназу FGFR1 або FGFR3 (0,15 нг/мкл FGFR1 людини або 0,32 нг/мкл FGFR3 людини) піддавали інкубації у 50 мкл буферного розчину, який містить 4-(2-гідроксиетил)-1-піперазиноетансульфонової кислоти (HEPES), (pH 7,5, 10 ммоль/л), трис(гідроксиметил)амінометан (Tris-HCl) (pH 7,5, 8 ммоль/л), дітіотреїтол (DTT) (5,0 ммоль/л), аденозінтрифосфат (АТФ) (10,0 ммоль/л), $MnCl_2$ (10,0 ммоль/л), NaCl (150 ммоль/л), TRITON® X-100 (0,01%), ^{33}P -АТФ 0,5 мкКюрі, а також поліпептид Poly(Glu-Tyr) 0,05 мкг/мкл. Реакцію вели у об'ємі 50 мкл при КТ протягом 30 хв, після чого гасили, додаючи 130 мкл 10%-ної H_3PO_4 . Реакційну суміш (120 мкл) переносили у 96-лунковий фільтрувальний мікропланшет із скловолоконним фільтром з отворами 1,0 мкм, піддавали інкубації при КТ протягом 20-30 хв, після чого тричі промивали 0,5%-ною H_3PO_4 в пристрої TITERTEK® Zoom. Лунки підсушували на повітрі перш ніж додати 40 мкл сцинтиляційного розчину MicroScint 20 (Packard), після чого підраховували сцинтиляції за допомогою лічильника Wallac Micobeta. Сполуки, призначені для випробування в якості інгібіторів, готували у вигляді вихідних розчинів (10 ммоль/л) у диметилсульфоксиді (DMSO). Концентрати послідовно розводили у пропорції 1:3 20%-ним розчином DMSO, що дає змогу одержати 10-точкову криву залежності ефекту від концентрації, і розводили у пропорції 1:5 на мікропланшеті для проведення реакції (одержуючи кінцеву концентрацію від 20 мкмоль/л до 0,001 мкмоль/л у 4%-ному DMSO) після цього додавали реакційну суміш з фільтрувального мікропланшету для визначення активності сполуки. Контрольні лунки містили лише 4%-ний розчин DMSO, в той час як базову лінію встановлювали по інших контрольних лунках, які містили розчин етилендіамінтетраацетату натрію (EDTA) 0,1 моль/л. Значення рівня інгібування у відсотках обчислювали для кожної з 10 концентрацій, виходячи з даних по контрольних лунках на кожному планшеті, дані щодо залежності від концентрації для згаданих 10 точок, згодом аналізували із застосуванням 4-параметрового логістичного рівняння залежності ефекту від концентрації у прикладному програмному пакеті ActivityBase (IDBS) та, виходячи з одержаної кривої, оцінювали абсолютні величини IC_{50} . За ферментативною оцінкою FGFR1 та FGFR3 мали «мінімальні значущі співвідношення» (Minimum Significant Ratios, MSR) для обчисленого IC_{50} відповідно 1,38 та 1,47. Підсумкові величини IC_{50} по цим оцінюванням у прикладі 1 для FGRF1 та FGRF3 дістали оцінок відповідно

0,0077 мкмоль/л та 0,0064 мкмоль/л. Ці дані свідчать про те, що певні сполуки за цим винаходом є сильними ферментними інгібіторами FGFR1 та FGFR3.

Індуковане FGF9 фосфорилування кінази ERK у присутності BSA

Клітини RT112 злоякісних пухлин сечового міхура людини висівали на 96-лункові мікропланшети CELLBIND® (Corning 3340) з густиною 5000 клітин на лунку у живильне середовище RPMI 1640 (Gibco 11875-085) (100 мкл) із додаванням 10% бичачої плідної сироватки (FBS, Gibco 10082-147) і 1% розчину пеніцилін-стрептоміцин (Gibco 15140-122), і піддавали інкубації протягом ночі при 37°C. Наступного ранку зливали рідину, і натомість додавали 100 мкл живильного середовища RPMI 1640, що містить 20 мг/мл бичачого сироваткового альбуміну (BSA). Після інкубації протягом 3 год при 37°C у кожен лунку додавали 20 мкл розчину сполуки, послідовно розведеного втричі середовищем RPMI 1640, із додаванням 20 мг/мл BSA у 6% розчині DMSO. Таким чином одержували 10 точок кривої залежності ефекту від дози, що відповідала діапазону концентрацій від 10 мкмоль/л до 0,005 мкмоль/л у 1%-ному DMSO. Проводили інкубацію протягом 1 год при 37°C. Клітини стимулювали 50 мкл розчину FGF9 (R&D Systems 273-F9) концентрації 50 мкг/мкл у RPMI без сироватки, одержуючи остаточну концентрацію FGF9 500 нг/мл. Клітини фіксували, додаючи 30 мкл 25%-ного розчину формальдегіду у фосфатно-сольовому буферному розчині (PBS) (одержуючи остаточну концентрацію формальдегіду 3,7%), і піддавали інкубації при 4°C протягом 30 хв. Клітини тричі промивали PBS, після чого додавали 100 мкл охолодженого метанолу, і піддавали інкубації при -20°C протягом 30 хв. Метанол зливали, клітини обробляли PBS, що містив 0,1% TRITON® X-100 (PBST), тричі промивали PBS і піддавали інкубації при 4°C протягом 15 хв. Після цього клітини піддавали інкубації при 4°C протягом ночі, обережно збовтуючи з 50 мкл доданого розчину наступного складу: концентрат розчину первинного антитіла p-p44/42 MAPK (Cell Signaling 9101S), розведений у пропорції 1:400 PBS, до якого додано 2% BSA, 0,01% концентрату першого інгібітора фосфатази (Phosphatase Inhibitor Cocktail 1) (Sigma P2850), 0,01% концентрату другого інгібітора фосфатази (Phosphatase Inhibitor Cocktail 2) (Sigma P5726) та 0,01% концентрату інгібітора протеази (Phosphatase Inhibitor Cocktail) (Sigma P8340). Наступного ранку планшети промивали двічі розчином PBST та двічі розчином PBS, і піддавали інкубації в темряві при 4°C протягом 1 години, додавши перед цим 80 мкл розчину наступного складу: концентрат розчину вторинного антитіла Alexa Fluor 488 козячого антикролячого IgG H+L (Invitrogen A11034), розведений у пропорції 1:1000 PBS, до якого додано 1% BSA, 0,01% концентрату першого інгібітора фосфатази, 0,01% концентрату другого інгібітора фосфатази та 0,01% концентрату інгібітора протеази. Клітини тричі промивали PBS, після чого додавали 100 мкл розчину, одержаного розведенням PBS у пропорції 1:200 молекулярного зонду пропідію йодиду (PI) (Molecular Probe P-3566), і піддавали інкубації в темряві протягом 1 год. Ідентифікацію і підрахунок клітин, позитивних до p-ERK, та підрахунок всіх клітин здійснювали за допомогою флуоресцентного цитометра для роботи з мікропланшетами ACUMEN EXPLORER™ (TTP LabTech Ltd) із використанням оптичних фільтрів 500-530 нм та 575-640 нм відповідно для Alexa 488 та PI. Усереднену повну інтенсивність pERK на одну лунку, одержану з сигналу барвника Alexa 488, згодом переводили у значення ступеня інгібування у відсотках, використовуючи для цього граничні контрольні проби MIN (сполука позитивного контролю у вигляді розчину у DMSO 10 мкмоль/л) та MAX (лише DMSO), які піддавали зазначеній вище обробці на тому самому планшеті. Значення рівня інгібування у відсотках та дані щодо залежності від концентрації для згаданих 10 точок згодом аналізували із застосуванням 4-параметрового рівняння сігмоїдальної кривої залежності ефекту від дози та виходячі з одержаної кривої оцінювали відносні величини IC₅₀. Оцінювання згаданого індукованого FGF9 фосфорилування кінази ERK у присутності BSA для оцінювання IC₅₀ має «мінімальне значуще співвідношення» (MSR) 2,7. Величина IC₅₀ у цих оцінюваннях у прикладі 1 дістала оцінки 0,0004 мкмоль/л. Ці дані свідчать про те, що певні сполуки за цим винаходом є сильними інгібіторами індукованого FGF9 фосфорилування ERK, яке відбувається у клітинах злоякісних пухлин людини.

Методика оцінювання реакції фосфорилування ERK (Thr202/Tyr204) у клітинах ендотелію пупкової вени людини (HUVEC) за допомогою техніки

AlphaScreen SureFire

Вплив досліджуваних сполук на інгібування FGFR1 здійснювали, відслідковуючи реакцію фосфорилування ERK (pERK) у клітинах ендотелію пупкової вени людини (HUVEC) у відповідь на стимуляцію основного фактору росту фіброblastів (b-FGF). Кількість утвореної pERK вимірювали за допомогою аналітичної системи ALPHASCREEN® SUREFIRE® (TGR Biosciences, TGRES50K). У зазначеній системі реалізовано варіант гомогенного аналізу із застосуванням так званої сендвіч-імуносорбції продукту фосфорилування із наступною реєстрацією за допомогою

бісеру ALPHASCREEN® (Perkin Elmer) з імобілізованими на поверхні антитілами, що генерують підсилений сигнал.

Клітини HUVEC активували і підтримували у стані життєдіяльності в живильному середовищі, що складається з основи живильного середовища для клітин ендотелію (Clonetics, CC-3132) із доданням 10% FBS, 0,4% бичачого мізкового екстракту, 0,1% гідрокортизону, 0,1% GA-1000, а також 0,1% фактору росту епідермісу (людська рекомбінація до 7 переносу). Клітини, призначені для аналізу, вирощували за стандартною методикою, після чого підраховували. Після цього клітини наносили на 96-лунковий мікропланшет, поверхня якого вкрита поліпептидом полі-D-лізину (BD, 354640), по 20 000 клітин на лунку. Планшети піддавали інкубації протягом ночі при 37°C у атмосфері із вмістом 5% CO₂

У день проведення аналізу клітини піддавали інкубації протягом 3 год при 37°C у атмосфері із вмістом 5% CO₂ у 100 мкл безсироваткового середовища EBM (живильного середовища для клітин ендотелію) із доданням 1,5% FBS та 20 мг/мл BSA, після чого обробляли розчином досліджуваних сполук, починаючи з концентрації 20 мкл, з послідовними трикратними розведеннями середовищем без поживних речовин, протягом 1 год при 37°C. Це дає змогу одержати 10 точок кривої залежності ефекту від концентрації у діапазоні концентрації від 10 мкмоль/л до 0,005 мкмоль/л у 1%-ному DMSO. Після обробки сполукою впродовж 1 год клітини стимулювали, 50 мкл b-FGF (Sigma, F0291) (остаточна концентрація b-FGF становила 50 нг/мл) при 37°C протягом 15 хв. 3 лунок, що містили клітини разом із 50 мкл розчину стимулятора b-FGF, одержували граничний сигнал MAX, а з лунок, що містили клітини разом із розчином сполуки позитивного контролю (10 мкмоль/мл) та 50 мкл розчину стимулятора b-FGF, одержували граничний сигнал MIN. Після цього рідину зливали, і однократно додавали у кожен лунку 50 мкл лізис-буферу SUREFIRE® (складова набору TGR Biosciences SUREFIRE®). Інкубація тривала 10 хв при 37°C з обережним збовтуванням. Для реєстрації pERK 6 мкл лізату та 10 мкл реакційної суміші (60 частин робочого буферного розчину на 10 частин активаційного буферного розчину і по 0,6 частини кожного з двох різновидів бісеру Perkin Elmer, 6760617R - донорного і акцепторного) наносили на 384-лунковий мікропланшет ProxiPlate (Perkin Elmer, 6006280). Планшет герметизували і піддавали інкубації при 37°C протягом 2 год, обережно збовтуючи, після чого зчитували показники на зчитувальному пристрої для мікропланшетів, обладнаному додатковим модулем TurboModule зі стандартними для ALPHASCREEN® параметрами (збудження 680 нм (Ex_{680nm}) та емісія 520-620 нм (Em_{520-620nm})). Сигнал емісії переводили у значення рівня інгібування у відсотках, для чого застосовували граничні контрольні проби MAX (лише DMSO) та MIN (сполука позитивного контролю у вигляді розчину у DMSO 10 мкмоль/л) на кожному планшеті, та дані по 10 точках концентрації сполуки після цього підганяли для 4-параметрового логістичного рівняння із застосуванням прикладного програмного пакета ACTIWITYBASE® 4.0, і оцінювали величини IC₅₀. Оцінка фосфорилювання (Thr202/Tyr204) за методикою ALPHASCREEN® SUREFIRE® має величину «мінімального значущого співвідношення» (MSR) для оцінок IC₅₀ 2,1. Величина IC₅₀ у цьому випробуванні з прикладу 1 дістала оцінки 0,0006 мкмоль/л. Ці дані свідчать про те, що певні сполуки за цим винаходом є сильними інгібіторами індукованого bFGF фосфорилювання ERK, яке відбувається у клітинах ендотелію пупкової вени людини.

Методика оцінювання прицільного інгібування FGFR in vivo

Мишей-самиць безтимусової лінії (CD1/nu/nu) перед випробуванням акліматизували протягом 1 тижня. Тварин розвели по групах позитивного контролю, негативного контролю і вживання досліджуваної сполуки. Досліджувану сполуку (рецептура на основі 10% камеді), сполуку позитивного контролю (на основі 10% камеді) і сполуку негативного контролю (на основі 10% камеді) вводили примусово за допомогою шлункового зонду. Доза кожної сполуки становила від 0,15 мг/кг до 25 мг/кг. 2 години по тому групі вживання досліджуваної сполуки, а також групі позитивного контролю вводили у вену щойно приготований препарат мишачого bFGF (6 мкг/тварину у розп. Biosource PMG0033) на основі фізіологічного розчину. Групі негативного контролю вводили у вену фізіологічний розчин. 10 хв по введенні препарату у вену мишей умертвляли. У тварин забирали серце і піддавали гомогенізації протягом 10 секунд у 300 мкл охолодженого льодом лізис-буферу (RIPA; Boston BioProduct BP-115), що містив розведений у пропорції 1:100 комплекс інгібіторів наступного складу: концентрат першого інгібітора фосфатази (Sigma P2850), концентрат другого інгібітора фосфатази (Sigma P5726) та концентрат інгібітора протеази (Sigma P8340). Гомогенати центрифугували протягом 15 хв при 14 000 об/хв і центрифугат переносили до 96-лункового мікропланшету. Концентрацію білку визначали згідно методу аналізу білків COOMASSIE PLUS™ (Pierce # 1856210). Методики аналізу відповідали настановам виробника (див. брошуру-інструкцію, включену у набір реактивів).

Гомогенати серцевої тканини аналізували за допомогою набору тестів MSD® phospho-Erk ELISA (Meso Scale Discovery, номер за каталогом N41CB-1), що дає змогу визначати концентрацію фосфорильованої форми Erk у тканинах. Методики аналізу ELISA відповідали настановам виробника (див. брошуру-інструкцію, включену у набір реактивів), за винятком того, що до лізис-буферу додавали 0,2% додецилсульфату натрію. Групу позитивного контролю вважали на таку, в якій відбувається найменше інгібування фосфорильованої форми Erk (0%); групу негативного контролю вважали на таку, в якій відбувається максимально можливе інгібування фосфорильованої форми Erk (100%). Значення у відсотках рівня інгібування у групах вживання досліджуваної сполуки обчислювали відносно груп із максимальним та мінімальним рівнем інгібування. Із вивчення залежності ефекту від дози обчислювали величину TEC_{90} , яка являє собою концентрацію, необхідну для досягнення 90-відсоткового рівня інгібування за відведений відрізок часу. Наприклад, сполука з прикладу 1 характеризується величиною TEC_{90} , яку оцінено у 28 нмоль/л. Ці дані свідчать про те, що певні сполуки за цим винаходом є сильними інгібіторами індукованого bFGF фосфорилування ERK, яке відбувається *in vivo*.

З метою оцінювання активності досліджуваної сполуки відносно Kdr мишей-самиць безтимусової лінії (CD1/nu/nu) акліматизували і піддавали процедурам, описаним вище, за винятком того, що автофосфорилування Kdr індукували за допомогою VEGF {VEGF (6 мкг/тварину, R & D Systems 493-MV/CF). Тканини серця забирали і гомогенізували, як зазначено вище. Гомогенати, що утворилися, аналізували за допомогою набору тестів MSD® phospho-Kdr ELISA (Meso Scale Discovery, номер за каталогом N41ZA-1), що дає змогу визначати концентрацію фосфорильованої форми Kdr у тканинах. Методики аналізу ELISA відповідали настановам виробника (див. брошуру-інструкцію, включену у набір реактивів), за винятком того, що до лізис-буферу додавали 0,2% додецилсульфату натрію. Групі позитивного контролю вводили у вену розчин VEGF (96 мкг/тварину) на основі фізіологічного розчину; цю групу вважали за таку, в якій відбувається найменше інгібування p-KDR (0%). Групі негативного контролю вводили у вену фізіологічний розчин; цю групу вважали за таку, в якій відбувається максимально можливе інгібування p-KDR (100%). Значення у відсотках рівня інгібування у групах вживання досліджуваної сполуки обчислювали відносно груп із максимальним та мінімальним рівнем інгібування. Із вивчення залежності ефекту від дози обчислювали величину TED_{50} , яка являє собою дозу, необхідну для досягнення 50-відсоткового рівня інгібування за відведений відрізок часу. Наприклад, сполука з прикладу 1 характеризується величиною TED_{50} , яку оцінено у 1,34 мг/кг. Із вивчення залежності ефекту від дози обчислювали величину TEC_{50} , яка являє собою концентрацію, необхідну для досягнення 50-відсоткового рівня інгібування за відведений відрізок часу. Наприклад, сполука з прикладу 1 характеризується величиною TEC_{90} , яку оцінено у 252 нмоль/л. Ці дані свідчать про те, що певні сполуки за цим винаходом є слабшими інгібіторами індукованого VEGF фосфорилування Kdr, яке відбувається *in vivo*, порівняно з певними раніше відомими інгібіторами FGFR.

Гетеротрансплантовані моделі злоякісних пухлин

Зразки клітин раку сечового міхура людини RT112 (з Європейської колекції культивованих клітин), клітин множинної мієломи людини OPM-2 (з Німецької колекції мікроорганізмів і культивованих клітин), клітин недрібноклітинного раку легенів (NSCL) людини NCI-H460 (з Американської колекції типових культур), клітин раку підшлункової залози людини BxPC-3 (з Американської колекції типових культур) або клітин раку шлунка людини SNU-16 (з Американської колекції типових культур) витримували для набрякання у живильному середовищі, згідно настанов Південнокорейського банку клітинних ліній (KCLB), вирощували, і імплантували під шкіру у задню черевну частину тулуба мишей-самиць безтимусової лінії. Після формування пухлин (за 7-21 днів після імплантування) тварин рандомізували і розводили по контрольних і досліджуваних групах. Досліджувану сполуку готували із використанням відповідного інертного носія (тобто на основі 10% камеді); тваринам примусово вводили за допомогою шлункового зонду досліджувану сполуку і контроль у вигляді носія. Реакцію пухлини на введення препарату визначали шляхом вимірювання об'єму пухлини, яке здійснювали двічі на тиждень протягом курсу лікування, і подавали у вигляді значення рівня пригнічення об'ємного розвитку у відсотках відносно контрольної групи, що одержувала носій. Сполука з прикладу 1 виявила залежну від дози протипухлинну активність у декількох моделях гетеротрансплантованих пухлин. Наприклад, у моделі злоякісної пухлини сечового міхура (RT-112) при введенні дози 3 мг/кг раз на добу (QD) протягом 21 дня досягли пригнічення у 41,3%; при введенні дози 3 мг/кг двічі на добу (BID) протягом 21 дня досягли пригнічення у 85,9%. У моделі злоякісної пухлини шлунка (SNU-16) при введенні дози 3 мг/кг (QD) протягом 17 днів досягли пригнічення у 62%; при введенні дози 3 мг/кг (BID) протягом 17 днів досягли

пригнічення у 83%. У моделі множинної мієломи (OPM-2) при введенні дози 3 мг/кг (QD) протягом 21 дня досягли пригнічення у 68%; при введенні дози 3 мг/кг (BID) протягом 21 дня досягли пригнічення у 84%. У моделі пухлини NSCLC (NCI-H460) при введенні дози 3 мг/кг (QD) протягом 17 днів досягли пригнічення у 46%; при введенні дози 3 мг/кг (BID) протягом 17 днів

5 досягли пригнічення у 69%. У моделі злоякісної пухлини підшлункової залози (BxPC-3) при введенні дози 3 мг/кг (QD) протягом 21 дня досягли пригнічення у 1%; при введенні дози 3 мг/кг (BID) протягом 21 дня досягли пригнічення у 55%. Ці дані свідчать про те, що певні сполуки за цим винаходом є інгібіторами проліферації гетеротрансплантованих злоякісних пухлин людини у декількох моделях на тваринах.

10 Сполуки за винаходом переважно створені як фармацевтичні композиції, які вводять різними шляхами. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, такі композиції вводять пероральним або внутрішньовенним шляхом. Такі фармацевтичні композиції та технологічні процеси для їх виготовлення загальновідомі у галузі. Дивись, наприклад, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (D. Troy, et al., eds., 21st ed., Lippincott Williams &

15 Wilkins, 2005).

Сполуки за цим винаходом здебільшого виявляють ефективність у широкому діапазоні дозування. Наприклад, щоденна доза зазвичай знаходиться у діапазоні від приблизно 0,5 мг до приблизно 100 мг на кілограм ваги тіла. У деяких випадках більш ніж достатньою може виявитися доза, нижча за нижчу межу зазначеного діапазону, натомість у інших випадках цілком

20 припустимим є застосування ще більших доз без заподіяння жодної шкідливої побічної дії і, отже, зазначений вище діапазон жодним чином не має на меті обмежувати обсяг цього винаходу. Слід усвідомлювати, що кількість сполуки, яку фактично слід застосовувати, визначатиме лікар, зважаючи на відповідні обставини, зокрема діагноз, обраний спосіб введення до організму, особливості сполуки, що застосовується, вік, вагу тіла конкретного

25 пацієнта і його чутливість до препарату, а також ступінь тяжкості симптомів хвороби.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука, яка являє собою (E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етоксі)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанол, або її фармацевтично прийнятна сіль.
2. Сполука за п. 1, яка являє собою (R)-(E)-2-(4-(2-(5-(1-(3,5-дихлоропіридин-4-іл)етоксі)-1H-індазол-3-іл)вініл)-1H-піразол-1-іл)етанол, або її фармацевтично прийнятна сіль.
3. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку або сіль за п. 1 або п. 2 у поєднанні з фармацевтично прийнятними носієм, розріджувачем або наповнювачем.
- 35 4. Сполука або сіль за п. 1 або п. 2 для застосування у терапії.
5. Сполука або сіль за п. 1 або п. 2 для лікування онкологічних захворювань.
6. Сполука за п. 5, яка **відрізняється** тим, що онкологічне захворювання являє собою недрібноклітинний рак легенів.
7. Сполука за п. 5, яка **відрізняється** тим, що онкологічне захворювання являє собою рак шлунка.
- 40 8. Сполука за п. 5, яка **відрізняється** тим, що онкологічне захворювання являє собою множинну мієлому.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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

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