



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **103792** (13) **C2**  
(51) МПК  
**A61K 31/5517** (2006.01)  
**A61P 35/02** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2011 11273</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Шедід Марсіу (US)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>08.04.2010</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ,</b> Lilly Corporate Center, Indianapolis, IN 46285, United States of America (US)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.11.2013</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Шляховецький Олександр Михайлович,</b> реєстр. №21
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/169,094</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WANG ZHONG ET AL: "Glycogen synthase kinase 3 in MLL leukaemia maintenance and targeted therapy" NATURE (LONDON), vol. 455, no. 7217, October 2008 (2008-10), реферат ENGLER THOMAS A ET AL: "Substituted 3- imidazo(1,2-a)pyridin-3-yl-4-(1,2,3,4-te trahydro-(1,4)diazepino- (6,7,1-hi)indol-7- yl)pyrrole-2,5-diones as highly selective and potent inhibitors of glycogen synthase kinase- 3" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 47, no. 16, 29 July 2004 (2004-07-29) , pages 3934-3937, XP002584771 ISSN: 0022- 2623
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>14.04.2009</b>	
<b>(33)</b> Код держави-учасниці <b>US</b> Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	
<b>(41)</b> Публікація відомостей <b>12.12.2011, Бюл.№ 23</b> про заявку:	
<b>(46)</b> Публікація відомостей <b>25.11.2013, Бюл.№ 22</b> про видачу патенту:	
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ <b>PCT/US2010/030315,</b> <b>08.04.2010</b>	

**(54) ПОХІДНА БЕНЗОДІАЗЕПІНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ГЕМОПОЕТИЧНОЇ НЕОПЛАЗМИ ТА ЛЕЙКОЗУ****(57) Реферат:**

Винахід стосується сполуки - 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату, призначеної для застосування при лікуванні недиференційованого лейкозу; недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL; гострого мієлогенного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL; гострого лімфоїдного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL; хронічного мієлопроліферативного захворювання без транслокації гена MLL або гострого лімфоїдного лейкозу без транслокації гена MLL.

**UA 103792 C2**



Лейкози (мієлоїдної, лімфоїдної та змішаної ліній диференціювання), представляють собою клональні неоплазми, що виникають як наслідок щонайменше однієї хромосомної аномалії. Наслідком цих аномалій є зміна структури та функції гену. Схеми лікування, як правило, включають декілька хіміотерапевтичних засобів, що вводяться одночасно або послідовно.

Нещодавні розробки, наприклад, іматинібу мезилат (imatinib mesylate), нілотиніб (nilotinib) та дазатиніб (dasatinib), збільшили період часу до початку розвитку захворювання та загальний період виживаності у хворих на хронічний мієлоїдний лейкоз. Незважаючи на ці розробки, терапевтична ефективність конкретного засобу або комбінації засобів часто не зберігається, оскільки з'являються додаткові генетичні та/або епігенетичні аномалії. Необхідними є більш ефективні хіміотерапевтичні засоби для лікування хронічного мієлоїдного лейкозу та інших гемопоетичних неоплазм.

Кіназа-3 глікогенсинтази (GSK3) являє собою серин/треонін кіназу, конститутивно активну у нормальних клітин у фазі G<sub>0</sub> (спочиваючих клітин), яка регулюється шляхом пригнічення її активності. Припускається причетність GSK3 до різних сіток трансдукції сигналу, що, як відомо, регулюють різноманітні клітинні функції. Припускається причетність аномалій у шляхах, що застосовують GSK3 як регулятор, до патогенезу захворювань, що підказало спрямування зусиль на розробку специфічних інгібіторів GSK3 для різних терапевтичних застосувань, наприклад, у разі інсуліннезалежного діабету, хвороби Альцгеймера та інших нейродегенеративних розладів і порушень розвитку. Унаслідок свого залучення до числених шляхів, відповідна ефективність пригнічення GSK3 є важливим фактором при розробці інгібіторів для терапевтичного застосування.

Нещодавно було повідомлено про специфічний інгібітор GSK3, який підсилює дію визначених хіміотерапевтичних засобів у разі солідних пухлин конкретних типів, хоча йому і бракує власної придатної протипухлинної активності (WO2009/006043).

Було також розкрито, що GSK3 відіграє роль у підтриманні генетично визначеного недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL (MLL лейкоз). Wang et al., Nature, 455, 1205-1210 (2008). У цьому ж самому повідомленні розкривається також пригнічення GSK3 у разі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL специфічними сполуками-інгібіторами GSK3. Інгібітор GSK-3 [(3-(2,4-дихлорофеніл)-4-(1-метил-1H-індол-3-іл)-1H-пірол-2,5-діон (SB216763) та інгібітор GSK3-IX (2'Z, 3'E)-6-бромоіндирубін-3'-оксим ("GSK3-IX") згадуються як такі, що демонструють позитивні результати.

Існує потреба у протилейкозних хіміотерапевтичних засобах з вибірковою активністю, що демонструють *per se* терапевтичну активність та поліпшену ефективність при лікуванні хворого на лейкоз з лейкозом конкретного типу. Інгібітор GSK3β, 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепін, демонструє вибірккову активність, *per se* терапевтичну активність та поліпшену ефективність проти лейкозу декількох типів, порівняно з SB216763 та GSK3-IX.

За одним з аспектів, цей винахід пропонує спосіб лікування хворого, що страждає на недиференційований лейкоз; недиференційований лейкоз з транслокацією гену MLL; гострий мієлогенний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL; гострий лімфоїдний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL; хронічне мієлопроліферативне захворювання без транслокації гену MLL або гострий лімфоїдний лейкоз без транслокації гену MLL, що включає введення хворому на лейкоз, який потребує такого лікування, ефективної кількості 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату.

За другим аспектом, цей винахід пропонує спосіб лікування хворого, що страждає на недиференційований лейкоз; недиференційований лейкоз з транслокацією гену MLL; гострий мієлогенний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL або гострий лімфоїдний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL, що включає введення хворому на лейкоз, який потребує такого лікування, ефективної кількості 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату.

За третім аспектом, цей винахід пропонує спосіб лікування хворого, що страждає на недиференційований лейкоз, що включає введення хворому на лейкоз, який потребує такого лікування, ефективної кількості 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату.

За четвертим аспектом, цей винахід пропонує спосіб лікування хворого, що страждає на





піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату для виготовлення лікарського засобу для лікування гострого мієлогенного лейкозу без транслокації гену MLL.

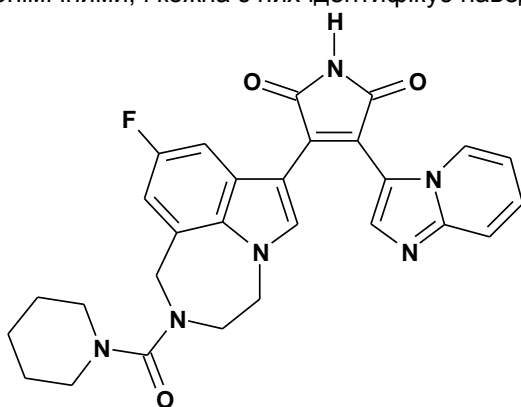
За двадцять шостим аспектом, цей винахід пропонує застосування 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату для виготовлення лікарського засобу для лікування хронічного мієлопроліферативного захворювання JAK2(+) без транслокації гену MLL.

За двадцять сьомим аспектом, цей винахід пропонує застосування 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату для виготовлення лікарського засобу для лікування філадельфійська хромосома-позитивного (Ph+) хронічного мієлогенного лейкозу без транслокації гену MLL.

За двадцять восьмим аспектом, цей винахід пропонує застосування 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату для виготовлення лікарського засобу для лікування гострого лімфоїдного лейкозу без транслокації гену MLL.

За двадцять дев'ятим аспектом, цей винахід пропонує застосування 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату для виготовлення лікарського засобу для лікування недиференційованого лейкозу; недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL; гострого мієлогенного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL; гострого лімфоїдного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL; хронічного мієлопроліферативного захворювання без транслокації гену MLL або гострого лімфоїдного лейкозу без транслокації гену MLL. За конкретним прикладом здійснення, згаданим лейкозом є гострий мієлогенний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL; гострий лімфоїдний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL; хронічне мієлопроліферативне захворювання без транслокації гену MLL, вибране з-посеред гострого мієлогенного лейкозу без транслокації гену MLL, еритролейкозу або хронічного мієлогенного лейкозу; гострий мієлогенний лейкоз без транслокації гену MLL; або хронічний мієлогенний лейкоз без транслокації гену MLL.

WO 03/076442 розкриває сполуку 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепін, як інгібітор GSK-3 $\beta$ , де згадану сполуку називають 3-(9-фтор-6-(піперидин-1-іл)карбоніл)-6,7-дигідро-6H-[1,4]діазепіно-[6,7,1-hi]індол-1-іл)-4-(імідазо[1,2-а]піридин-3-іл)-2,5-діоксопіролом (Приклад 365, стор. 113). Дві вищеописані загальноприйнятні назви вважаються синонімічними, і кожна з них ідентифікує наведену нижче структуру:



Сполука 1

Сполука 1 являє собою основу і, відповідно, може реагувати з будь-якою з цілого ряду неорганічних та органічних кислот з одержанням фармацевтично прийнятних солей, які одержують шляхом додання кислот. Фармацевтично прийнятні кислоти надають солі сполуки за цим винаходом та традиційна методика їх виготовлення є добре відомою у цій галузі техніки. Дивись, наприклад, P. Stahl, et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, No. 1, January 1977. До фармацевтично прийнятних кислот, яким віддають

перевагу, належать HCl, HBr, сірчана кислота та метансульфонова кислота.

Сполука 1 утворює сольвати, наприклад, з водою (гідрат та дигідрат), метанолом та етанолом. Сольватом, якому віддають перевагу, є сольват, який утворений з етанолом.

Термін "хворий", у значенні, вживаному у цьому описі, означає ссавця; "ссавець" означає клас *Mammalia* вищих хребетних; і згаданий термін "ссавець" означає людину, але не обмежується нею. Хворим, якому віддають перевагу, є людина.

Терміни "мієлоїдний" та "мієлогенний", у значенні, вживаному у цьому описі, застосовують взаємозамінно. Подібним же чином, взаємозамінно застосовують терміни "лімфоїдний" та "лімфогенний".

Термін "per se", також у значенні, вживаному у цьому описі, означає незалежну терапевтичну ефективність. Не існує вимоги щодо сумісного введення другого активного онкологічного хіміотерапевтичного засобу для одержання лікування або підвищення ефективності лікування лейкозу, хоча таке сумісне введення може бути бажаним.

Існує значна змінність ступеню, до якого ракові геноми відхиляються від норми на хромосомному рівні. Деякі ракові захворювання характеризуються однією розпізнавальною хромосомною аберацією, у той час як інші мають численні аберації і дуже складні каріотиби. У солідних пухлин, наприклад, епітеліального походження, цитогенетичними аналізами було ідентифіковано багато структурних хромосомних аберацій. Це різнить їх від гемопоетичних неоплазій, відносно невелика кількість яких є причинно зв'язаною та рецидивною. Більшість рецидивних хромосомних аберацій, на відміну від солідних пухлин, виявляється у гемопоетичних неоплазій. Делеція та ампліфікація є більш характерними для солідних пухлин, разом з прогресуючою генетичною нестабільністю та набуттям складного набору геномних аберацій, на відміну від гемопоетичних неоплазій.

"Хронічні мієлопроліферативні захворювання без транслокації гену MLL" представляють собою набуті клональні аномалії гемопоетичних стовбурових клітин і до їхнього числа належить істинна поліцитемія, мієлофіброз, ідіопатичний тромбоцитоз, хронічний мієлоїдний лейкоз, мієлодиспластичний синдром та гострий мієлоїдний лейкоз, у тому числі еритролейкоз. Оскільки стовбурова клітина диференціюється на мієлоїдні, еритроїдні та тромбоцитарні клітини, кількісні та якісні зміни можуть спостерігатись у одній, двох або усіх цих клітинних ліній, у залежності від того, на якій стадії процесу визрівання з плюрипотентної стовбурової клітини до стовбурової клітини-попередника визначеного клітинного типу трапляється аномалія. У разі деяких розладів (наприклад, у разі хронічного мієлоїдного лейкозу) спостерігаються специфічні характеристичні хромосомні зміни. Хронічні мієлопроліферативні розлади спричиняють характеристичні синдроми з визначеними клінічними та лабораторними особливостями.

Істинна поліцитемія без транслокації гену MLL спричинює надпродукування усіх трьох ліній гемопоетичних клітин, найбільше еритроїдних клітин. Продукування еритроїдних клітин не залежить від еритропоетину. Гадають, що мутація янус-кінази 2, диск хромосоми 9p24, (JAK2 (+)), молекули клітинної сигналізації, є залученою до патогенезу і представляє собою діагностичний критерій.

Мієлофіброз без транслокації гену MLL характеризується фіброзом кісткового мозку, спленомегалією та лейкоеритробластною картиною периферичної крові з пойкилоцитозом з еритроцитами у вигляді слізних крапель. У відповідь на фіброз кісткового мозку, у печінці, селезінці та лімфатичних вузлах відбувається екстрамедулярний гемопоєз. Гадають, що до патогенезу є залученими аномалії JAK2 (JAK2 (+)) та її сигнальних шляхів.

Ідіопатичний тромбоцитоз без транслокації гену MLL характеризується явно вираженою проліферацією мегакаріоцитів у кістковому мозку, наслідком чого є підвищена кількість тромбоцитів. У хворих спостерігається висока частота мутацій JAK2 (JAK2 (+)), які вважають залученими до патогенезу.

Хронічний лімфоїдний лейкоз (CML) без транслокації гену MLL характеризується надпродукуванням мієлоїдних клітин. Ці мієлоїдні клітини зберігають здатність до диференціювання і на початкових стадіях зберігається нормальне функціонування кісткового мозку. CML часто характеризується специфічною хромосомною аномалією і специфічною молекулярною аномалією. Філадельфійська хромосома є наслідком реципрокної транслокації між довгими плечами хромосом 9 і 22. Велика частина 22q транслокована до 9q, а менший шматочок 9q пересунутий до 22q. Згадана частина 9q, що є транслокованою, містить *abl*, протоонкоген, що являє собою гомолог вірусу мишачого лейкозу Абельсона. Ген *abl* сприймається специфічною ділянкою на 22q, ділянкою кластеризації точок розриву (*bcr*). Гібридний ген *bcr/abl* продукує новий білок, що різниться від нормального транскрипту гену *abl* тим, що посідає тирозинкіназну активність. Доказ того, що гібридний ген *bcr/abl* є патогенним, наданий трансгенними мишачими моделями, у яких введення згаданого гену майже незмінно

викликає лейкоз. Присутність цієї транслокації позначають як філадельфія-позитивну. На ранньому етапі CML (хронічна фаза) нормальна функція кісткового мозку зберігається. Еритроцити диференціюються, лейкоцити розрізняються, і, незважаючи на деякі якісні відхилення від норми, нейтрофіли нормально протидіють інфекції. CML, однак, є вроджено нестійким і, за відсутності лікування, переходить у прискорену фазу, а потім у гостру фазу (або бластну фазу), яка у морфологічному відношенні не відрізняється від звичайного гострого мієлоїдного лейкозу. Цей розвиток захворювання пов'язують з набуттям додаткових генетичних та/або епігенетичних аномалій.

Мієлодиспластичні синдроми без транслокації гену MLL представляють собою групу набутих клональних розладів гемопоетичних стовбурових клітин. Вони характеризуються цитопенією, гіперцелюлярним кістковим мозком і рядом морфологічних та цитологічних відхилень від норми. Як правило, морфологічні відхилення від норми є присутніми у двох або декількох ліній гемопоетичних клітин. Ці розлади є, як правило, ідіопатичними, однак можуть спостерігатись після цитотоксичної хіміотерапії. Незважаючи на те, що у разі мієлодисплазії не спостерігається однієї специфічної хромосомної аномалії, часто спостерігаються аномалії, що залучають довге плече хромосоми 5, а також делеції хромосом 5 і 7. Мієлодисплазії без транслокації гену MLL називають хронічним мієломоноцитарним лейкозом (CMML).

Гострий мієлоїдний лейкоз (AML) без транслокації гену MLL є неоплазією однієї або декількох ліній мієлоїдних гемопоетичних клітин-попередників не на основі лейкомогенезу недиференційованого лейкозу. Ці клітини проліферують неконтрольованим чином і замінюють нормальні елементи кісткового мозку. Незважаючи на те, що більшість випадків виникає без чітко визначеної причини, лейкемогенним фактором є випромінювання та деякі токсини. На додаток до цього, лейкоз може спричинюватись рядом хіміотерапевтичних засобів. Лейкози, що спостерігаються після впливу токсинів або хіміотерапії, часто асоціюються з аномаліями у хромосомах 5 та 7 або хромосомі 11q23. Найпоширенішими цитогенетичними аномаліями, причинно пов'язаними з AML без транслокації гену MLL, є t(8;21)(q22;q22), що дає гібридний ген AML1/ETO; Inv(16)(p13q22), що дає гібридний ген CBFβ/MYH11; t(16;16)(p13;q22), t(15;17)(q21;q11), t(11;17)(q23;q11), t(5;17)(q35;q12-21), t(11;17)(q13;q21) та t(17;17)(q11;q21), що дають різні RARα-вмісні гібридні гени; 5/5q-; -7/7q-; 17p abn або i(17q); del(20q); dmins hrs; +13; Inv(3)(q21q26) та t(3;3)(q21;q26), що дають гібридний ген Ribophorin/EV11. Паличка Ауера, еозинофільне включення голкоподібної форми у цитоплазмі, є патогномонічною для гострого мієлоїдного лейкозу (AML) без транслокації гену MLL. Лейкозні клітини зберігають властивості ліній, які становлять їхню основу або з яких вони походять. Клітини AML, як правило, експресують мієлоїдні антигени, наприклад, CD13 або CD33.

Гострий лімфоїдний лейкоз (ALL) без транслокації гену MLL є неоплазією лінії лімфоїдних гемопоетичних клітин-попередників не на основі лейкомогенезу недиференційованого лейкозу. Як вказувалось вище, лейкозні клітини зберігають властивості ліній, які становлять їхню основу або з яких вони походять. Клітини ALL без транслокації гену MLL В-клітинної лінії диференціювання будуть експресувати лімфоїдні антигени, наприклад, CD19, спільний для усіх В-клітин, і у більшості випадків будуть експресувати CD10, також відомий як спільний ALL антиген. Клітини ALL без транслокації гену MLL Т-клітинної лінії диференціювання, як правило, не будуть експресувати зрілих Т-клітинних маркерів, наприклад, CD3, 4 або 8, однак будуть експресувати деяку комбінацію CD2, 5 та 7 і не будуть експресувати поверхневого імуноглобуліну. Клітини ALL без транслокації гену MLL часто експресують термінальну дезоксирибонуклеотидилтрансферазу (TdT). Найчастіше повторювані генетичні підтипи включають TEL-AML1; BCR-ABL; E2A/PBX1; IgH/MYC; численні транслокації із залученням локусів TCR ab (7q35) або TCR gd (14q11); делеції 1q; мутації SIL-SCL та NOTCH.

AML без транслокації гену MLL характеризується декількома способами. Класифікація FAB (французька, американська, британська) базується на морфології та гістохімії кісткового мозку таким чином: гострий недиференційований лейкоз (M0), гострий мієлобластний лейкоз (M1), гострий мієлобластний лейкоз з диференціацією (M2), гострий промієлоцитарний лейкоз (APL) (M3), гострий мієломоноцитарний лейкоз (M4), гострий монобластний лейкоз (M5), еритролейкоз (M6) та мегакаріобластний лейкоз (M7). Всесвітня організація охорони здоров'я спонсувала розробку класифікації лейкозу та інших гематологічних неоплазій, що включає цитогенетичну, молекулярну та імунофенотипову інформацію, International Classification of Diseases for Oncology, Third edition, Percy et al., 2000.

ALL без транслокації гену MLL може бути класифікованим за імунологічним фенотипом наступним чином: звичайний, В-клітинний та Т-клітинний. Як і у разі AML без транслокації гену MLL, ALL без транслокації гену MLL може бути спричинений певними токсинами, випромінюванням та хіміотерапевтичними засобами.



Недиференційований лейкоз (мієлоїдно-лімфоїдний лейкоз; MLL) має характеристики як AML без транслокації гену MLL, так і ALL без транслокації гену MLL. MLL визначає чіткий профіль експресії генів, порівняно з AML без транслокації гену MLL та ALL без транслокації гену MLL; Armstrong et. al., Nature Genetics, 30, 41-47 (2002). MLL може бути наслідком повторюваних хромосомних аберацій на диску q23 хромосоми 11 (ген MLL), злиття хромосом із залученням довгого плеча (q) хромосоми 11 на диску q23 з геном з іншої хромосомної ділянки, який може бути транслокованим, або 11q23 може бути внутрішньо дуплікованою. Лейкози, що експресують MLL злиття, часто є агресивними і стійкими до хіміотерапії. Ці злиття можуть бути транслокованими з наслідковим реаранжуванням гену MLL. Злиття транслокованого гену MLL можуть спричинювати AML на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL або ALL на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL. Наприклад, злиття транслокованого гену MLL-AF9 часто, але не виключно, спричинюють AML (AML на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL). Інші злиття транслокованого гену MLL, пов'язані з AML на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL, включають MLL-AF10 та MLL-ELL. Злиттям транслокованого гену MLL, пов'язаним з ALL на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гену MLL, є MLL-AF4.

Був складений і зараз підтримується і регулярно оновлюється он-лайн великий каталог цитогенетичних аберацій раку людини (дивись The Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer на веб-сайті US National Cancer Institute (NCI) Cancer Genome Anatomy Project (CGAP): <http://cgap.nci.nih.gov>). Згадана база даних включає хромосомні аберації гемопоетичних неоплазм за цим винаходом. The Wellcome Trust Sanger Institute Cancer Genome Project підтримує докладний он-лайн "Cancer Gene Census" усіх людських генів, причинно зв'язаних з туморогенезом (дивись <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census>), а також базу даних COSMIC (Каталог ракових соматичних мутацій), що представляє собою перелік соматичних мутацій у разі людського раку (дивись <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic>). Додатковим джерелом, що містить велику інформацію стосовно цитогенетичних змін, причинно пов'язаних з лейкозом, є Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology (<http://atlasgeneticsoncology.org//Anomalies/Anomliste.html#MDS>). Ці бази даних включають також хромосомні аберації гемопоетичних неоплазм за цим винаходом. Альтернативним джерелом бази даних Cancer Gene Census є Holland-Frei Cancer Medicine, 7<sup>th</sup> Ed., (2006), Таблиця 8-1 (Див. також Таблицю 8-4, яка надає найчастіше повторювані хромосомні аномалії при мієлоїдних розладах та Таблицю 8-5, яка надає найчастіше повторювані генетичні підтипи В- та Т-клітинного ALL), а альтернативним джерелом бази даних COSMIC є Forbes et al., Br. J. Cancer, 2006, 94(2), 318-22.

Відомим і широко застосовуваним є діагностування гемопоетичних неоплазм за допомогою аналізу крові, аспірації кісткового мозку та біопсії, шляхом імунофенотипування та інших тестів. Окрім визначення розподілу дисків на хромосомі з високою роздільною здатністю та прогресивних методів візуалізації хромосом, хромосомні аберації у гаданих випадках гемопоетичних неоплазм можуть визначатись за допомогою цитогенетичних аналізів, наприклад, гібридизації in situ з флуоресцентною міткою (FISH), каріотипування, спектрального каріотипування (SKY), мультиплексної FISH (M-FISH), компаративної геномної гібридизації (CGH), наборів для визначення одонуклеотидних поліморфізмів (SNP Chips) та інших діагностичних та аналітичних тестів, відомих та застосовуваних фахівцями у цій галузі.

Окрім вищезгаданих генетичних хромосомних аберацій, кожен з лейкозів може включати епігенетичні модифікації геному, у тому числі, метилування ДНК, геномний імпринтинг та модифікацію гістону шляхом ацетилювання, метилування або фосфорилування. Епігенетична модифікація може відігравати важливу роль при неоплазії.

Словосполучення "ефективна кількість 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятої солі чи сольвату" означає дозу Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі чи сольвату, необхідну для знищення лейкозних клітин-мішеней або уповільнення чи зупинення розвитку лейкозу у хворого. Передбачувані дози Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі чи сольвату знаходяться у межах від 5 мг/хворого/добу до 600 мг/хворого/добу. Дози, яким віддається перевага, знаходяться у межах від 50 мг/хворого/добу до 400 мг/хворого/добу. Дози, яким віддається найбільша перевага, знаходяться у межах від 100 мг/хворого/добу до 400 мг/хворого/добу. Точна доза, необхідна для лікування хвороб, буде визначатись лікарем з прийняттям до уваги стадії та тяжкості захворювання, а також специфічних потреб та індивідуальної реакції хворого.

Наведені нижче in vitro та in vivo дослідження демонструють per se терапевтичну активність та поліпшену ефективність Сполуки 1 проти різних специфічних ліній лейкозних клітин.

Приклади *in vitro* ефективності

Апоптоз або запрограмована смерть клітини характеризується рядом біохімічних реакцій, однією з яких є індукція каспаз. Активовані каспази представляють собою протеази, які приймають участь у каскаді явищ розщеплення, наслідком яких є блокування ключових ферментів, що несуть відповідальність за гомеостаз і репарацію клітин. Каспази 3 і 7 відіграють ключові ефекторні ролі у апоптозі і можуть бути виявленими та визначеними за допомогою флуоресцентного біохімічного аналізу. Підвищення активності каспаз-3/7 у клітинах безпосередньо корелює з апоптозною активністю. (D.W. Nicholson, et al., Nature, 376, 37-43 (1995)). Для проведення згаданого аналізу застосовують аналітичний набір Apo-ONE Homogeneous Caspase-3/7 Assay Kit компанії Promega (№ за каталогом G7791). До складу аналітичного буферу, що лізує/підвищує коефіцієнт проникності культивованих клітин, входить 30 mM розчин ГЕПЕС (N-(2-гідроксиетил)піперазин-N'-(2-етансульфонова кислота), pH 7,4, 150 mM розчин NaCl, 50 mM розчин KCl, 10 mM розчин MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM розчин EGTA (етиленглікольтетраоцтова кислота), 0,5 % розчин Nonidet P40 (октилфенолполі(етиленгліколевий простий ефір)), 0,1 % розчин CHAPS (гідрат 3-[(3-холамідопропіл)диметиламоній]-1-пропансульфонату), 10 % розчин цукрози та субстрат каспази 3/7, Z-DEVD (Z-Asp(OMe)-Glu(OMe)-Val-Asp(OMe)), сполучений з попередником флуоресцентного барвника родаміну 110. У разі додання суміші буфер-субстрат до експериментального зразку, наслідком розщеплення і подальшого видалення пептидів DEVD унаслідок активності каспази 3/7 є інтенсивна флуоресценція рухомої групи родаміну 110, яку виявляють шляхом збудження при 490 нм. Кількість флуоресцентного продукту є пропорційною рівню розщеплювальної активності каспази 3/7 у згаданому зразку.

Для визначення апоптозного ефекту експериментальних сполук, пухлинні клітини висівають (1×10<sup>4</sup> клітин/лунку) на 96-лункові планшети та інкубують впродовж ночі при температурі 37°C з 5 % CO<sub>2</sub>. Пухлинні клітини тричі обробляють експериментальною сполукою у необхідних концентраціях, з включенням лунок з необробленими клітинами/негативними контролюми. Аналітичні планшети повторно інкубують впродовж 48 год. Під кінець інкубаційного періоду до кожної експериментальної лунки додають суміш аналітичного буферу і субстрату. Інтенсивність флуоресценції у кожній лунці визначають при довжині хвилі збудження 480 нм +/- 20 нм і довжині хвилі випромінювання 530 нм +/- 25 нм. Відсоток підвищення активності каспаз у оброблених клітин обчислюють відносно необроблених контрольних зразків.

Життєздатність клітин визначають за допомогою люмінесцентного аналізу життєздатності клітин CellTiter-Glo<sup>®</sup> Luminescent Cell Viability Assay (компанія Promega, № за каталогом G7570), що представляє собою метод визначення кількості життєздатних клітин на основі кількісного визначення АТФ у метаболічно активних клітинах. Після завершення лізування клітин, монооксигенація субстратного люциферину каталізується ферментом люциферазою у присутності Mg<sup>2+</sup>, АТФ і молекулярного кисню з наслідковою появою люмінесцентного сигналу, інтенсивність якого є пропорційною кількості життєздатних клітин у аналітичних лунках.

Для визначення життєздатності клітин після обробки сполуками, пухлинні клітини висівають (2×10<sup>4</sup> клітин/лунку) на 96-лункові планшети та інкубують впродовж ночі при температурі 37°C з 5 % CO<sub>2</sub>. Пухлинні клітини тричі обробляють експериментальною сполукою у необхідних концентраціях, з включенням лунок з необробленими клітинами/негативними контролюми. Аналітичні планшети повторно інкубують впродовж 48 год. Під кінець інкубаційного періоду до кожної експериментальної лунки додають суміш аналітичного буферу і субстрату. Інтенсивність люмінесценції у кожній лунці визначають за допомогою люмінометру для титраційних мікропланшетів.

MV4;11 представляє собою клітинну лінію людського гострого мієлоїдного лейкозу, що характеризується присутністю гібридного транскрипту, який складається з генів MLL та AF4, і присутністю внутрішньої тандемної дуплікації на юстамембранній ділянці гену FLT-3. RS4;11 представляє собою клітинну лінію людського гострого лімфоїдного лейкозу, що характеризується присутністю гібридного транскрипту, який складається з генів MLL та AF4. REH представляє собою клітинну лінію людського гострого лімфоїдного лейкозу (ні-T; ні-B), що характеризується присутністю гібридного транскрипту, який складається з генів TEL та AML1. Kasumi 1 представляє собою клітинну лінію людського гострого мієлоїдного лейкозу, що характеризується присутністю гібридного транскрипту, який складається з генів AML1 та ETO. K562 представляє собою клітинну лінію людського хронічного мієлогенного лейкозу, що характеризується присутністю гібридного транскрипту, який складається з генів Bcr та Abl. HEL 92.1.7 представляє собою клітинну лінію людського еритролейкозу, що характеризується присутністю мутації V617F у гені JAK2. Jurkat представляє собою клітинну лінію людського гострого Т-клітинного лейкозу. Кожна із згаданих клітинних ліній була одержана від

Американської колекції типових культур (ATCC). У представлених нижче таблицях термін "Сполука 1" або "Спол 1" означає 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепін.

Інгібітор GSK-3 [(3-(2,4-дихлорофеніл)-4-(1-метил-1H-індол-3-іл)-1H-пірол-2,5-діон (SB216763), компанії Sigma-Aldrich, застосовують у деяких експериментах як позитивний порівняльний контроль. Сполуку-інгібітор GSK-3 IX, (2'Z, 3'E)-6-бромоіндирубін-3'-оксим ("GSK3-IX"), компанії Calbiochem, застосовують у деяких експериментах як позитивний контроль. Як SB216763, так і GSK3-IX згадуються у роботі Wang et al., Nature, 455, 1205-1210 (2008) як такі, що дають позитивні результати.

Дані у Таблиці 1 представлені як % підвищення активності каспази 3, порівняно з необробленими контролями, якщо не вказується інше.

Таблиця 1

## Активність каспази 3

Клітинна лінія	% підвищення активності каспази 3 з носієм	Концентрація Сполуки 1 (у мкМ)	% підвищення активності каспази 3 після обробки Спол 1 (середнє потроєних повторів)	Концентрація SB216763 (у мкМ)	% підвищення активності каспази 3 після обробки SB216763 (середнє потроєних повторів)
MV4;11	0	0,010	188	30	83
RS4;11	0	0,009	111	20	117
REH	0	0,0007	132	20	113
Kasumi 1	0	0,370	133	10	27
HEL 92.1.7	0	0,120	284	10	250
K562	0	0,0007	1057	20	223
Jurkat	0	0,370	140	10	101

Дані у Таблиці 1 підтверджують per se активність Сполуки 1 проти усіх випробуваних клітинних ліній і, зокрема, проти AML без транслокації гену MLL, CML, еритролейкозу та ALL. Згадані дані також підтверджують поліпшену ефективність Сполуки 1, порівняно з SB216763, проти усіх випробуваних клітинних ліній.

Дані у Таблиці 2 представлені, як обчислена концентрація, необхідна для 50 % зниження життєздатності клітин (EC50) після обробки Сполукою 1 або SB216763.

Таблиця 2

## Зниження життєздатності клітин

Клітинна лінія	Зниження життєздатності клітин після обробки Спол 1 EC50 у мкМ (середнє потроєних повторів)	Зниження життєздатності клітин після обробки SB216763-EC50 у мкМ (середнє потроєних повторів)	Зниження життєздатності клітин після обробки GSK3-IX-EC50 у мкМ (середнє потроєних повторів)
MV4;11	0,082	12,6	0,2
RS4;11	0,005	4,4	0,3
REH	0,006	4,2	1,1
Kasumi	0,016	10	1,2
HEL 92.1.7	0,034	11,3	>3,3
K562	0,046	20	>3,3
Jurkat	0,046	>10	>3,3

Дані у Таблиці 2 надають додаткове підтвердження per se активності Сполуки 1 проти усіх випробуваних клітинних ліній і, зокрема, проти AML без транслокації гену MLL, CML, еритролейкозу та ALL. Згадані дані також підтверджують поліпшену ефективність Сполуки 1, порівняно з SB216763 та GSK3-IX, проти усіх випробуваних клітинних ліній.

Експерименти з визначення *in vivo* ефективності

Культивовані клітини (ATCC) імплантують підшкірно до задньої бічної частини мишей-самиць лінії CD-1 nu/nu, яких акліматизували у віварії впродовж одного тижня після одержання від продавця. Мишей довільно розподіляють на групи з 10 мишей/групу і обробку починають, коли середній об'єм пухлин досягає  $\sim 100 \text{ мм}^3$ . Сполуку 1 вводять внутрішньовенним шляхом (IV). Пухлини вимірюють двічі на тиждень за допомогою електронного штангенциркуля для одержання кривих росту. Тварин також постійно перевіряють для визначення коливань маси тіла та виживаності.

Сполуку 1 (внутрішньовенно) у дозі 5 мг/кг тваринам вводять трьома циклами, кожен з яких відокремлюється періодом часу тривалістю 7 днів. Сполуку 1 (внутрішньовенно) у дозі 0,1 мг/кг та 1 мг/кг тваринам також вводять шістьма циклами, кожен з яких відокремлюється періодом часу тривалістю 3,5 дня. Кожного дня впродовж 14 послідовних днів тварини одержують (внутрішньоочеревинним шляхом) антиметаболіт арабінозилцитозин (Arabinosylcytosine) у дозі 30 мг/кг, як порівняльний контроль. Значення  $p$  для кожної експериментальної групи визначають шляхом порівняння з контрольною групою, яка одержує носій каптизол (Captisol).

Таблиця 3

Протипухлинна ефективність Сполуки 1  
на ксенотрансплантатах лінії лейкозних клітин MV4;11

Експериментальна група	Об'єм пухлини на 33 день Середнє $\pm$ Середня квадратична помилка ( $\text{мм}^3$ )	Значення $p$
Контроль (носій каптизол)	233 $\pm$ 23,2	-
Сполука 1 (5 мг/кг) один раз на тиждень	167 $\pm$ 11,7	<0,01
Сполука 1 (0,1 мг/кг) двічі на тиждень	189 $\pm$ 22,3	-
Сполука 1 (1 мг/кг) тричі на тиждень	154 $\pm$ 15	<0,01
Арабінозилцитозин (30 мг/кг) кожного дня впродовж 14 днів	129 $\pm$ 11,2	<0,001

Дані Таблиці 3 підтверджують, що *in vitro* дані стосовно Сполуки 1, які демонструють *per se* активність та поліпшену ефективність у цьому експерименті, у порівнянні з антиметаболітом арабінозилцитозином (який вводять внутрішньоочеревинним шляхом), також спостерігаються *in vivo*.

Синтез 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну здійснюють по суті, як описано у WO 2009/006043. Як описано нижче, синтез здійснюють за традиційними методами органічної хімії, відомими фахівцю у цій галузі.

## Підготовчий синтез 1

## 2-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-ацетамід

## Етиловий складний ефір 4,4-диметокси-бут-2-енової кислоти

Карбонат калію (16,5 г, 120 ммоль) додають до розчину диметоксиацетальдегіду (60 % (мас.) у воді) (15 мл, 100 ммоль) та триетилфосфоноацетату (20 мл, 100 ммоль) у 210 мл тетрагідрофурану і 30 мл води. Перемішують суміш при кімнатній температурі впродовж 4 год. Виливають реакційну суміш до діетилового ефіру (200 мл), і промивають насиченим водним розчином хлориду натрію. Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском з одержанням цільової сполуки у вигляді масла жовтого кольору (15,8 г, 90 %).

$^1\text{H}$ -ЯМР(300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6,77 (dd,  $J=15,9$  Гц, 4,0 Гц, 1H), 6,13 (dd,  $J=15,9$  Гц, 1,4 Гц, 1H), 4,95 (dd,  $J=4,0$  Гц, 1,4 Гц, 1H), 4,22 (q,  $J=7,1$  Гц, 2H), 3,34 (s, 6H), 1,30 (t,  $J=7,1$  Гц, 3H).

## Етиловий складний ефір імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-оцтової кислоти

Нагрівають суміш етилового складного ефіру 4,4-диметокси-бут-2-енової кислоти (43,5 г, 250 ммоль) та  $p$ -толуолсульфонової кислоти (4,75 г, 25 ммоль) у ацетонітрилі (240 мл) і воді (15 мл) до кипіння зі зворотним холодильником впродовж 2 год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, і додають 2-амінопіридин (18,8 г, 200 ммоль). Нагрівають суміш до кипіння зі зворотним холодильником впродовж 16 год., після чого охолоджують до кімнатної температури. Розбавляють реакційну суміш етилацетатом (1200 мл), після чого послідовно промивають насиченим водним розчином бікарбонату натрію (600 мл $\times$ 3) і насиченим водним розчином хлориду натрію (600 мл $\times$ 2). Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, і концентрувати під зниженим тиском з одержанням цільової сполуки у вигляді масла брудного

кольору (30 г, 73 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,06 (d, J=6,6 Гц, 1H), 7,63 (d, J=9,1 Гц, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,20 (dd, J=8,9 Гц, 6,8 Гц, 1H), 6,84 (t, J=6,7 Гц, 1H), 4,17 (q, J=7,3 Гц, 2H), 3,93 (s, 2H), 1,25 (t, J=7,3 Гц, 3H).

#### 5 Одержання аміду

Нагрівають розчин етилового складного ефіру імідазо[1,2-α]піридин-3-іл-оцтової кислоти (30 г, 147 ммоль) у NH<sub>3</sub>/MeOH (7н розчин, 250 мл) при температурі 85°C у герметично закритій пробірці впродовж 15 год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, і концентрують під зниженим тиском. Обробляють залишок дихлорметаном, ультразвуком, і відфільтровують одержаний осад з одержанням цільової сполуки у вигляді твердої речовини жовтого кольору (8,9 г, 35 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, DMSO): δ 8,30 (d, J=6,9 Гц, 1H), 7,62 (br s, 1H), 7,54 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,21 (dd, J=7,7 Гц, 6,7 Гц, 1H), 7,18 (br s, 1H), 6,91(t, J=6,8 Гц, 1H), 3,81 (s, 2H).

#### Підготовчий синтез 2

#### 15 Трет-бутиловий складний ефір 9-фтор-7-метоксиоксаліл-3,4-дигідро-1H-[1,4]діазепіно[6,7,1-h]індол-2-карбонової кислоти

##### 2-дибутоксиметил-4-фтор-1-нітробензол

Нагрівають розчин 5-фтор-2-нітробензальдегіду (10 г, 59,17 ммоль), бутанолу (20 мл, 219 ммоль) та n-толуолсульфонової кислоти (600 мг, 3,15 ммоль) у толуолі (200 мл) до кипіння зі зворотним холодильником впродовж 2 год. у колбі, спорядженій насадкою Діна-Старка. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом (400 мл), після чого послідовно промивають насиченим водним розчином бікарбонату натрію (300 мл×3) і насиченим водним розчином хлориду натрію (300 мл×2). Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском з одержанням цільової сполуки у вигляді масла блідо-жовтого кольору (17 г, 96 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,91 (dd, J=8,9 Гц, 4,9 Гц, 1H), 7,53 (dd, J=9,3 Гц, 2,9 Гц, 1H), 7,15-7,09 (m, 1H), 6,04 (s, 1H), 3,67-3,50 (m, 4H), 1,63-1,54 (m, 4H), 1,44-1,32 (m, 4H), 0,92 (t, J=7,3 Гц, 6H).

##### 5-фтор-1H-індол-7-карбальдегід

30 Додають краплями розчин вінілмагнійброміду (1 М розчин у тетрагідрофурані, 85,2 мл, 85,2 ммоль) до розчину 2-дибутоксиметил-4-фтор-1-нітробензолу (8,5 г, 28,4 ммоль) у тетрагідрофурані (250 мл) при температурі -78°C. Прогрівають реакційну суміш при температурі від -45°C до -50°C впродовж 30 хв, охолоджують до температури -78°C, і краплями додають розчин вінілмагнійброміду (1 М розчин у тетрагідрофурані, 85,2 мл, 85,2 ммоль). Прогрівають реакційну суміш при температурі від -45°C до -50°C впродовж 20 хв, після чого додають насичений водний розчин хлориду амонію (300 мл). Підігрівують суміш до кімнатної температури і екстрагують діетиловим ефіром (200 мл×2). Промивають поєднані органічні фази насиченим водним розчином хлориду натрію (400 мл×2), висушують над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском. Розчиняють залишок у тетрагідрофурані (100 мл), додають 0,5 н розчин HCl (10 мл), і перемішують впродовж 20 хв. Розбавляють суміш діетиловим ефіром (200 мл), послідовно промивають насиченим водним розчином бікарбонату натрію (200 мл×3) і насиченим водним розчином хлориду натрію (200 мл×2). Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском. Піддають залишок хроматографуванню на колонках на силікагелевій основі, елюють 5 %-10 % розчином етилацетату у гексані з одержанням цільової сполуки у вигляді твердої речовини блідо-жовтого кольору (2,6 г, 56 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,07 (s, 1H), 10,05 (br s, 1H), 7,62 (d, J=7,6 Гц, 1H), 7,42-7,39 (m, 2H), 6,60 (d, J=5,4 Гц, 1H).

##### 2-[(5-фтор-1H-індол-7-ілметил)-аміно]-етанол

50 Додають до розчину 5-фтор-1H-індол-7-карбальдегіду (2,6 г, 16,0 ммоль) у 1,2-дихлоретані (40 мл) спочатку 2-аміноетанол (1,93 мл, 32,0 ммоль), потім оцтову кислоту (2,01 мл, 48,0 ммоль). Перемішують при кімнатній температурі впродовж 15 хв. Порціями додають триацетоксигідрід натрію (4,07 г, 19,2 ммоль). Перемішують реакційну суміш при кімнатній температурі впродовж 3 год. Повільно додають спочатку насичений водний розчин бікарбонату натрію (100 мл), потім 1н розчин NaOH до pH ~9. Екстрагують етилацетатом (100 мл×3). Промивають органічну фазу насиченим водним розчином хлориду натрію (200 мл×2), висушують над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском з одержанням цільової сполуки у вигляді твердої речовини блідо-жовтого кольору (3,2 г, 96 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,71 (br s, 1H), 7,24 (d, J=2,7 Гц, 1H), 7,19 (dd, J=9,5 Гц, 2,3 Гц, 1H), 6,79 (dd, J=9,8 Гц, 2,2 Гц, 1H), 6,49 (dd, J=3,1 Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,15 (s, 2H), 3,77 (t, J=5,2 Гц, 2H), 2,84 (t, J=5,2 Гц, 2H).

Трет-бутиловий ефір (5-фтор-1H-індол-7-ілметил)-(2-гідроксиетил)-карбамінової кислоти

Додають краплями розчин ди-трет-бутилдикарбонату (3,63 г, 16,65 ммоль) у тетрагідрофурані (40 мл) до розчину 2-[(5-фтор-1H-індол-7-ілметил)-аміно]-етанолу (3,15 г, 15,14 ммоль) у тетрагідрофурані (60 мл) при температурі 0°C. Перемішують реакційну суміш при кімнатній температурі впродовж 2 год. Додають етилацетат (200 мл), і промивають насиченим водним розчином хлориду натрію. Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском з одержанням цільової сполуки у вигляді масла білого-жовтого кольору (4,9 г, >100 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,17 (br s, 1H), 7,27-7,23 (m, 2H), 6,81 (dd, J=9,4 Гц, 2,4 Гц, 1H), 6,50 (dd, J=2,9 Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,67 (s, 2H), 3,72 (br s, 2H), 3,33 (t, J=5,3 Гц, 2H), 1,50 (s, 9H).

2-[трет-бутоксикарбоніл-(5-фтор-1H-індол-7-ілметил)аміно]етилловий складний ефір метансульфонової кислоти

До розчину трет-бутилового складного ефіру (5-фтор-1H-індол-7-ілметил)-(2-гідроксиетил)карбамінової кислоти (4,9 г, приблизно 15,14 ммоль) у дихлорметані (70 мл) при температурі 0°C додають спочатку триетиламін (4,64 мл, 33,3 ммоль), потім метансульфонілхлорид (1,29 мл, 16,65 ммоль). Перемішують реакційну суміш впродовж 30 хв при температурі 0°C. Розбавляють етилацетатом (200 мл), після чого послідовно промивають насиченим водним розчином бікарбонату натрію (200 мл×3) і насиченим водним розчином хлориду натрію (200 мл×2). Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском з одержанням цільової сполуки у вигляді масла жовто-брунатного кольору (5,9 г, >100 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,07 (br s, 1H), 7,28-7,2 (m, 2H), 6,83 (dd, J=9,3 Гц, 2,3 Гц, 1H), 6,50 (dd, J=2,9 Гц, 2,2 Гц, 1H), 4,67 (s, 2H), 4,17 (t, J=5,5 Гц, 2H), 3,51 (t, J=5,6 Гц, 2H), 2,79 (s, 3H), 1,51 (s, 9H).

Трет-бутиловий складний ефір 9-фтор-3,4-дигідро-1H-[1,4]діазепіно[6,7,1-hi]індол-2-карбонової кислоти

Додають однією порцією розчин гідриду натрію (60 %) (666 мг, 16,65 ммоль) до розчину 2-[трет-бутоксикарбоніл-(5-фтор-1H-індол-7-ілметил)аміно]етилового складного ефіру метансульфонової кислоти (5,9 г, приблизно 15,14 ммоль) у диметилформаміді (40 мл) при температурі 0 °C. Перемішують реакційну суміш при температурі 0°C впродовж 10 хв, потім при кімнатній температурі впродовж 30 хв. Повільно додають воду (200 мл). Відфільтровують, і висушують одержаний осад жовтого кольору з одержанням цільової сполуки (4,14 г, 94 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,15 (d, J=9,1 Гц, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,78 (dd, J=14,7 Гц, 8,8 Гц, 1H), 6,49 (d, J=3,1 Гц, 1H), 4,81 (s, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,25-4,23 (m, 2H), 3,94-3,83 (m, 2H), 1,49 (s, 9H).

Трет-бутиловий складний ефір 9-фтор-7-метоксиоксаліл-3,4-дигідро-1H-[1,4]діазепіно[6,7,1-hi]індол-2-карбонової кислоти

Додають оксалілхлорид (1,62 мл, 18,56 ммоль) до розчину трет-бутилового складного ефіру 9-фтор-3,4-дигідро-1H-[1,4]діазепіно[6,7,1-hi]індол-2-карбонової кислоти (4,14 г, 14,28 ммоль) у метил-трет-бутиловому ефірі (100 мл) при температурі -5°C. Нагрівають реакційну суміш до кімнатної температури впродовж 1,5 год., після чого охолоджують до температури -5°C. Додають метанол (11,6 мл, 286 ммоль), і перемішують при температурі -5°C впродовж 30 хв. Додають насичений водний розчин бікарбонату натрію (100 мл), і екстрагують етилацетатом (100 мл×3). Послідовно промивають поєднані органічні фази насиченим водним розчином бікарбонату натрію (200 мл×3) і насиченим водним розчином хлориду натрію (200 мл×2). Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, після чого концентрують під зниженим тиском з одержанням цільової сполуки у вигляді твердої речовини жовтого кольору (5,13 г, 93 %).

<sup>1</sup>H-ЯМР(300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,38 (s, 1H), 8,04 (d, J=6,8 Гц, 1H), 6,89 (dd, J=19,7 Гц, 8,6 Гц, 1H), 4,90 (s, 1H), 4,81 (s, 1H), 4,45-4,43 (m, 2H), 4,05-3,93 (m, 2H), 3,95 (s, 3H), 1,42 (s, 9H).

Препаративна методика 3

3-(9-фтор-1,2,3,4-тетрагідро-[1,4]діазепіно[6,7,1-hi]індол-7-іл)-4-імідазо[1,2-a]піридин-3-ілпірол-2,5-діон дигідрохлорид

Додають однією порцією трет-бутоксид калію (4,58 г, 40,92 ммоль) до розчину трет-бутилового складного ефіру 9-фтор-7-метоксиоксаліл-3,4-дигідро-1H-[1,4]діазепіно[6,7,1-hi]індол-2-карбонової кислоти (5,13 г, 13,64 ммоль) та 2-імідазо[1,2-a]піридин-3-ілацетаміду (2,39 г, 13,64 ммоль) у диметилформаміді (80 мл). Перемішують реакційну суміш при кімнатній температурі впродовж трьох годин. Додають насичений водний розчин хлориду амонію (200 мл), і екстрагують етилацетатом (200 мл×3). Промивають поєднані органічні фази насиченим водним розчином хлориду натрію (200 мл×3), висушують над сульфатом натрію і концентрують під зниженим тиском. Розчиняють залишок у дихлорметані (20 мл), і краплями

додають 4н розчин HCl у діоксані (40 мл), після чого перемішують при кімнатній температурі впродовж 4 год. Відфільтровують одержаний осад, і промивають діетиловим ефіром з одержанням вказаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини червоного кольору (4,4 г, 68 %).

5 MS(APCI):  $m/z=402$  [ $C_{22}H_{16}FN_5O_2+H$ ]<sup>+</sup>.

#### ПРИКЛАД 1

7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепін

10 Додають піперидин-1-карбонілхлорид (0,5 мл, 4,0 ммоль) до розчину 3-(9-фтор-1,2,3,4-тетрагідро-[1,4]діазепіно[6,7,1-hi]індол-7-іл)-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-ілпірол-2,5-діону (1,42 г, 3,0 ммоль) та триетиламіну (2,09 мл, 15,0 ммоль) у метанолі (80 мл). Перемішують при кімнатній температурі впродовж ночі. Додають триетиламін (1,04 мл, 7,5 ммоль) та піперидин-1-карбонілхлорид (0,5 мл, 4,0 ммоль). Перемішують при кімнатній температурі впродовж 5 год. Додають етилацетат (500 мл), і послідовно промивають насиченим водним розчином

15 бікарбонату натрію (300 мл×3) і насиченим водним розчином хлориду натрію (200 мл). Висушують органічну фазу над сульфатом натрію, і концентрують під зниженим тиском. Піддають залишок хроматографуванню на колонках на силікагелевій основі, елюють 0 %-3 % розчином метанолу у етилацетаті з одержанням вказаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини червоного кольору (700 мг, 45 %).

20 Температура плавлення=188-190°C.

MS(APCI):  $m/z=513$  [ $C_{28}H_{25}FN_6O_3+H$ ]<sup>+</sup>.

#### ПРИКЛАД 2

7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну метансульфонат

25 Нагрівають суспензію 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну (500 мг, 0,976 ммоль) у метанолі (2,5 мл) до температури 64°C. Впродовж 5 хв додають розчин метансульфонової кислоти (64 мкл, 0,976 ммоль) у метанолі (1,0 мл). Перемішують суміш при температурі 64°C впродовж 15 хв, після чого впродовж 30 хв додають ізопропанол (5,0 мл). Витримують одержану суспензію з охолодженням до кімнатної температури впродовж 1 год., після чого перемішують при кімнатній температурі впродовж 4 год. Відфільтровують суспензію, промивають ізопропанолом і висушують під зниженим тиском при температурі 42°C з одержанням вказаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини оранжевого кольору (478 мг, 88,5 % (з доведенням вмісту летких компонентів до 9,9 % у вихідному матеріалі і 1,0 % летких компонентів у продукті)).

35 Температура плавлення=282,3°C (DSC)

#### ПРИКЛАД 3

7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну етанолат

40 Нагрівають суспензію 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну (2,0 г, 3,9 ммоль) у етанолі (30 мл) до температури 70°C. Однією порцією додають 5 М розчин HCl (0,73 мл). Перемішують суміш при температурі 70°C впродовж 10 хв, після чого впродовж 3 хв додають 1н розчин NaOH (3,63 мл). Перемішують суміш при температурі 70°C впродовж 2 год. Витримують одержану суспензію з охолодженням до кімнатної температури впродовж 1 год., після чого перемішують при кімнатній температурі впродовж 3,5 год. Відфільтровують суспензію, промивають етанолом і висушують під зниженим тиском при температурі 42°C з одержанням вказаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини оранжевого кольору (1,84 г, 92 % (з доведенням вмісту летких компонентів до 7,5 % у вихідному матеріалі і 7,7 % летких компонентів у продукті)).

50 Температура плавлення=179,4°C (DSC)

Головні піки порошкової рентгенограми (градуси 2 тета, інтенсивність): 8,989°, 100 %; 9,787°, 48,7 %; 12,846°, 20,0 %; та 7,444°, 17,5 %.

#### ПРИКЛАД 4

55 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну гідрат I

Нагрівають суспензію 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну етанолату (198,5 мг) у воді (10 мл) до температури 80°C впродовж 2,75 год. Додають 3,11 мл 1н розчину

HCl. Після повернення температури на рівень 80°C, швидко додають 3,11 мл 1н розчину NaOH. Підтримують температуру на рівні 80°C впродовж приблизно 15 хв, після чого витримують суспензію з охолодженням до кімнатної температури. Збирають тверду речовину шляхом фільтрації під вакуумом через ватманський папір № 1 і висушують у вільно прикритому стані впродовж ночі.

Головні піки порошкової рентгенограми (градуси 2 тета, інтенсивність): 12,089°, 100 %; 10,485°, 83,6 %; 13,227°, 56,0 %; та 7,660°, 8,0 %.

#### ПРИКЛАД 5

7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну гідрат II

Нагрівають суспензію 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну етанолату (200,6 мг) у воді (25 мл) до температури 75°C впродовж 0,5 год. Додають 0,72 мл 1н розчину HCl, і продовжують нагрівання впродовж 0,75 год. Швидко додають 0,72 мл 1н розчину NaOH. Витримують суспензію з охолодженням до кімнатної температури. Збирають тверду речовину шляхом фільтрації під вакуумом через ватманський папір № 1, промивають 20 мл деіонізованої води, і сушать у вільно прикритому стані впродовж 2 днів.

Головні піки порошкової рентгенограми (градуси 2 тета, інтенсивність): 6,878°, 100 %; 5,732°, 58,7 %; 11,550°, 82,8 %; 18,426°, 20,7 %; та 10,856°, 44,2 %.

#### ПРИКЛАД 6

7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну дигідрат

Нагрівають суспензію 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1Н-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну етанолату (200,8 мг) у воді (25 мл) до температури 75°C впродовж 0,67 год. Додають 0,72 мл 1н розчину HCl, і продовжують нагрівання впродовж 1,75 год. Додають 0,1н розчин NaOH з 1 мл збільшення кожні 5 хв, доки не буде додано 7,2 мл. Після останнього додавання витримують суспензію при температурі 75°C впродовж 0,67 год., після чого витримують суспензію з охолодженням до кімнатної температури. Збирають тверду речовину шляхом фільтрації під вакуумом через ватманський папір № 1, промивають 20 мл деіонізованої води, і висушують у вільно прикритому стані впродовж 2 днів.

Головні піки порошкової рентгенограми (градуси 2 тета, інтенсивність): 5,498°, 100 %; 22,149°, 100 %; 14,921°, 32,9 %; 11,399°, 36,7 %; та 11,019°, 20,5 %.

Сполуку 1, за варіантом, якому віддають перевагу, вводять до складу фармацевтичної композиції перед введенням хворому. Корисні композиції містять Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват та SBE7-β-CD. Згадана сполука SBE7-β-CD являє собою сульфобутиловий ефір β-циклодекстрину, описаний у патенті США № 5,134,127. Ця сполука продається під торговою маркою CAPTISOL®. Опис конкретних композицій наведено у представлених нижче прикладах технології одержання композицій.

Корисну фармацевтичну композицію можна одержати шляхом розчинення Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі або сольвату (50 мг/мл) у 2-піролідоні (SOLUPHOR®-P). Цей розчин у подальшому розбавляють водним розчином SBE7-β-CD (30 % у об'ємному відношенні) та полуксамером 188 (Lutrol®-F 68) (10 % у об'ємному відношенні).

#### Приклад 1 композиції

Виготовляють перший розчин додаванням 30,0 г SBE7-β-CD до 71,25 мл води, і перемішують або збовтують до повного розчинення. Додають 10,0 г полуксамеру 188, і продовжують перемішування до повного розчинення. Виготовляють другий розчин шляхом додавання етанолату Сполуки 1 до 2-піролідону за наведеною нижче формулою: мл 2-піролідону=(фактична маса етанолату Сполуки 1 (мг)/50 мг/мл)×0,5. Додають перший розчин до другого розчину. Відфільтровують одержаний розчин за допомогою 0,2 мкм фільтру SUPOR® (гідрофільний поліефірсульфон) (виробник – компанія Pall Corporation) до знепиленого контейнеру.

Інший приклад здійснення фармацевтичної композиції одержують шляхом об'єднання Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі чи сольвату з еквімолярною кількістю фармацевтично прийнятної кислоти у воді. Цю суміш у подальшому об'єднують із щонайменше одним мольним еквівалентом SBE7-β-CD у вигляді водного розчину. До числа переважних фармацевтично прийнятних кислот належить HCl, HBr, сірчана кислота та метансульфонова кислота. Особливу перевагу віддають застосуванню HCl.

#### Приклад 2 композиції



Одержують перший розчин додаванням 20,0 г SBE7-β-CD до 80,0 мл води, і перемішують або збовтують до повного розчинення. Додають цей розчин до етанолату Сполуки 1 за наведеною нижче формулою:  $\text{мл першого розчину} = \frac{\text{фактична маса етанолату Сполуки 1 (мг)}}{20 \text{ мг/мл}} - \frac{\text{фактична маса етанолату Сполуки 1 (мг)}}{1200 \text{ мг/мл}} - \frac{\text{фактична маса етанолату Сполуки 1 (мг)} \times 0,00195107 \text{ мл 1н розчину HCl/мг етанолату Сполуки 1)}}{1}$ . Додають 1н розчин HCl за наведеним нижче розрахунком:  $\text{мл 1н розчину HCl, що додається} = \frac{\text{фактична маса етанолату Сполуки 1 (мг)} \times 0,00195107 \text{ мл 1н розчину HCl/мг етанолату Сполуки 1)}}{1}$ . Суміш перемішують або піддають обробці в ультразвуковій ванні до розчинення усієї сполуки.

Варіант здійснення фармацевтичної композиції, якому віддається перевага, одержують шляхом додаванням одного мольного еквіваленту Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі чи сольвату до водного розчину щонайменше одного мольного еквіваленту SBE7-β-CD при pH нижче 5,5 (pH вихідного розчину), факультативно, у присутності фармацевтично прийнятного буферу, перемішуванням до розчинення Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі чи сольвату. Після цього значення pH доводять до рівня 2,5-3,5 за допомогою фармацевтично прийнятної основи (pH кінцевого розчину). Композиція у формі розчину, яку одержують подібним чином, може вводиться хворому безпосередньо, або згаданий розчин, за варіантом, якому віддають перевагу, може бути ліофілізованим з одержанням твердої лікарської форми, придатної для відновлення за допомогою води.

SBE7-β-CD може бути присутньою у межах від 1 мольного еквіваленту до кількості, необхідної для введення не більше за 13,4 г SBE7-β-CD хворому на добу.

Кількість SBE7-β-CD, за варіантом, якому віддають перевагу, становить від 1,0 мольного еквіваленту до 4,0 мольних еквівалентів, за варіантом, якому віддають більшу перевагу, становить від 2,0 мольних еквівалентів до 3,0 мольних еквівалентів, і, за варіантом, якому віддають особливу перевагу, становить від 2,5 мольного еквіваленту до 2,7 мольного еквіваленту відносно Сполуки 1.

Незважаючи на прийнятність будь-якого значення pH вихідного розчину нижче 5,5, за варіантом, якому віддають перевагу, значення pH вихідного розчину є меншим за 3,0, за варіантом, якому віддають більшу перевагу, значення pH вихідного розчину становить від 1,0 до 2,0 і, за варіантом, якому віддають найбільшу перевагу, значення pH вихідного розчину становить від 1,2 до 1,4. Цільове значення pH вихідного розчину досягається шляхом додання будь-якої фармацевтичної кислоти, придатної для доведення значення pH розчину до рівня, нижчого за 5,5. Перевагу віддають застосуванню хлористоводневої кислоти.

До складу композиції факультативно може входити фармацевтично прийнятний буфер. До числа фармацевтично прийнятних буферів належать ті сполуки, що застосовуються фахівцем у галузі одержання фармацевтичних композицій для стабілізації значення pH кінцевого розчину у конкретному діапазоні значень pH. Фармацевтично прийнятні буфери включають фосфатні буфери, а також цитратні буфери, гліцин і винну кислоту або їхні фармацевтично прийнятні солі.

До числа фармацевтично прийнятних солей цих кислот належать натрієві та калієві солі. Варіанту, за яким фармацевтично прийнятний буфер є присутнім у складі композиції, віддають перевагу. Винна кислота являє собою варіант фармацевтично прийнятного буфера, якому віддається перевага.

Важливо, щоб Сполука 1 повністю розчинилась перед тим, як значення pH буде доведеним до значення pH кінцевого розчину. Процесу розчинення, у разі необхідності або бажання, можуть допомагати будь-які механічні перемішувальні пристрої або регулювання температури розчину. Перевагу віддають перемішуванню розчину при кімнатній температурі.

Значення pH кінцевого розчину досягають шляхом додання будь-якої фармацевтично прийнятної основи, здатної до регулювання значення pH розчину у межах від 2,5 до 3,5. Перевагу віддають застосуванню гідроксиду натрію. Значення pH кінцевого розчину може бути у межах 2,5-3,5, але, за варіантом, якому віддають перевагу, воно знаходиться у межах 2,5-3,1. Найбільшу перевагу віддають значенню pH кінцевого розчину у межах 2,7-3,1. Після досягнення значення pH кінцевого розчину, згаданий розчин може піддаватись ліофілізації, у разі необхідності або бажання, за стандартних умов ліофілізації з одержанням твердої фармацевтичної композиції, придатної для відновлення за допомогою води.

Приклад 3 композиції

Одержують розчин 0,15 г винної кислоти та 12 г (5,55 ммоль) SBE7-β-CD у 70 мл води. Додають 5 мл 1,0 н розчину HCl, і перемішують при кімнатній температурі. Додають 1,1 г (2,15 ммоль) етанолату Сполуки 1, і перемішують при кімнатній температурі до розчинення. Додають 1н розчин гідроксиду натрію до pH приблизно 2,9. Додають воду у кількості, достатній для одержання кінцевого об'єму 100 мл. Ліофілізують цей розчин з одержанням аморфної

твердої речовини оранжево-червоного кольору.

# ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Застосування 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепіну або його фармацевтично прийнятної солі чи сольвату для виготовлення лікарського засобу для лікування недиференційованого лейкозу, недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL, гострого мієлогенного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією
- 10 гена MLL, гострого лімфоїдного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL, хронічного мієлопроліферативного захворювання без транслокації гена MLL або гострого лімфоїдного лейкозу без транслокації гена MLL.
2. Застосування за п. 1, де лейкозом є недиференційований лейкоз, недиференційований лейкоз з транслокацією гена MLL, гострий мієлогенний лейкоз на основі недиференційованого
- 15 лейкозу з транслокацією гена MLL або гострий лімфоїдний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL.
3. Застосування за п. 2, де лейкозом є недиференційований лейкоз.
4. Застосування за п. 2, де лейкозом є недиференційований лейкоз з транслокацією гена MLL.
5. Застосування за п. 2, де лейкозом є гострий мієлогенний лейкоз на основі
- 20 недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL.
6. Застосування за п. 2, де лейкозом є гострий лімфоїдний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL.
7. Застосування за п. 1, де лейкозом є хронічне мієлопроліферативне захворювання без транслокації гена MLL.
- 25 8. Застосування за п. 7, де хронічним мієлопроліферативним захворюванням без транслокації гена MLL є гострий мієлогенний лейкоз без транслокації гена MLL, еритролейкоз або хронічний мієлогенний лейкоз.
9. Застосування за п. 8, де хронічним мієлопроліферативним захворюванням без транслокації гена MLL є хронічний мієлогенний лейкоз без транслокації гена MLL.
- 30 10. Застосування за п. 8, де хронічним мієлопроліферативним захворюванням без транслокації гена MLL є гострий мієлогенний лейкоз без транслокації гена MLL.
11. Застосування за п. 8, де хронічним мієлопроліферативним захворюванням без транслокації гена MLL є еритролейкоз.
12. Застосування за п. 1, де лейкозом є гострий лімфоїдний лейкоз без транслокації гена MLL.
- 35 13. Застосування за п. 7, де хронічним мієлопроліферативним захворюванням без транслокації гена MLL є JAK2(+).
14. Застосування за п. 7, де хронічним мієлопроліферативним захворюванням без транслокації гена MLL є філадельфійська хромосома-позитивний (Ph+) хронічний мієлогенний лейкоз.
15. Сполука, яка являє собою 7-(2,5-дигідро-4-імідазо[1,2-а]піридин-3-іл-2,5-діоксо-1H-пірол-3-іл)-9-фторо-1,2,3,4-тетрагідро-2-(1-піперидинілкарбоніл)піроло[3,2,1-jk][1,4]бензодіазепін, або її фармацевтично прийнятна сіль чи сольват, для застосування при лікуванні
- 40 недиференційованого лейкозу, недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL, гострого мієлогенного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL, гострого лімфоїдного лейкозу на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL, хронічного мієлопроліферативного захворювання без транслокації гена MLL або
- 45 гострого лімфоїдного лейкозу без транслокації гена MLL.
16. Сполука для застосування за п. 15, де лейкозом є гострий мієлогенний лейкоз на основі недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL.
17. Сполука для застосування за п. 15, де лейкозом є гострий лімфоїдний лейкоз на основі
- 50 недиференційованого лейкозу з транслокацією гена MLL.
18. Сполука для застосування за п. 15, де лейкозом є хронічне мієлопроліферативне захворювання без транслокації гена MLL, вибране з-посеред гострого мієлогенного лейкозу без транслокації гена MLL, еритролейкозу або хронічного мієлогенного лейкозу.
19. Сполука для застосування за п. 18, де лейкозом є гострий мієлогенний лейкоз без
- 55 транслокації гена MLL.
20. Сполука для застосування за п. 18, де лейкозом є хронічний мієлогенний лейкоз без транслокації гена MLL.

---

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

---

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