



УКРАЇНА

(19) UA (11) 82492 (13) C2

(51) МПК (2006)  
A61K 31/517  
A61K 45/00  
A61P 35/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) КОМБІНАЦІЯ ZD4054 І EGFR ТКІ ТА ЇЇ ЗАСТОСУВАННЯ В ЛІКУВАННІ ЗЛОЯКІСНОГО НОВОУТВОРЕННЯ

1

(21) а200504329  
(22) 07.10.2003  
(24) 25.04.2008  
(86) РСТ/GB2003/004347, 07.10.2003  
(31) 0223854.1  
(32) 12.10.2002  
(33) GB  
(46) 25.04.2008, Бюл.№ 8, 2008 р.  
(72) БОЙЛ ФРАНСІС ТОМАС, КЕРУЕН ДЖОН ОУЕН, ГАЛЛАХЕР НЕЙЛ ДЖЕЙМС, ІЕ/US, ХАНКОКС УРСУЛА ДЖОЙ, ХЬЮЗ ЕНДРЮ МАРК, ДЖОНСТОН ДОННА, ТЕЙЛОР СІАН ТОМІКО, ТОНГ ДЕВІД ВІЛЛЬЯМ  
(73) АСТРАЗЕНЕКА АБ  
(56) WO A 99/55683 4.11.1999  
US A 2002/107284 08.08.2002  
CARDUCCI M A ET AL: "ENDOTHELIN RECEPTOR ANTAGONIST, ABT-627, FOR PROSTATE CANCER: INITIAL TRIAL RESULTS" JOURNAL OF UROLOGY, BALTIMORE, MD, US, vol. 161, no. 4, SUPPL, April 1999 (1999-04), page 176 XP001037609 ISSN: 0022-5347  
(57) 1. Комбінація, яка містить N-(3-метокси-5-метилпіразин-2-іл)-2-(4-[1,3,4-оксадіазол-2-іл]феніл)піридин-3-сульфонамід (ZD4054) або його фармацевтично прийнятну сіль і EGFR ТКІ або його фармацевтично прийнятну сіль.  
2. Комбінація за п. 1, у якій EGFR ТКІ вибраний з:  
N-(3-хлоро-4-фторофеніл)-7-метокси-6-(3-морфолінопропокси)хіназолін-4-аміну (ZD1839);  
N-(3-етинілфеніл)-6,7-біс(2-метоксіетокси)хіназолін-4-аміну або його фармацевтично прийнятної солі (зв'язаної з кодovими номерами CP 358774 і OSI-774 (монометансульфонатна сіль));  
6-акриламід-N-(3-хлоро-4-фторофеніл)-7-(3-морфолінопропокси)хіназолін-4-аміну (зв'язаного з кодovими номерами PD 183805 і CI 1033);  
4-[(1R)-1-фенілетиламіно]-6-(4-гідроксифеніл)-7H-піроло[2,3-d]піримідину (зв'язаного з кодovими номерами PKI-166, CGP 75166 і CGP 59326);  
N-[4-(3-бромоеаніліно)хіназолін-6-іл]бут-2-инамід (зв'язаного з кодovими номерами CL-387785 і EKB-785); і

2

4-(3-хлоро-4-фтороеаніліно)-3-ціано-6-(4-диметиламінобут-2(Е)-енамідо)-7-етоксифіноліну (EKB-569);  
або його фармацевтично прийнятної солі.  
3. Комбінація за п. 1, у якій антагоніст рецептора ендотеліну вибраний з ZD4054 або його фармацевтично прийнятної солі і EGFR ТКІ вибраний з ZD1839 або його фармацевтично прийнятної солі.  
4. Комбінація за будь-яким з пп. 1-3 для застосування як лікарський засіб.  
5. Фармацевтична композиція, яка містить комбінацію за будь-яким з пп. 1-3 у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм.  
6. Спосіб лікування злоякісного новоутворення в теплокровної тварини, такої як людина, яка має потребу в такому лікуванні, який передбачає введення вказаній тварині ефективної кількості комбінації за будь-яким з пп. 1-3.  
7. Застосування комбінації за будь-яким з пп. 1-3 для приготування лікарського засобу для застосування для лікування злоякісного новоутворення в теплокровної тварини, такої як людина.  
8. Комбінація за будь-яким з пп. 1-3 для застосування для лікування злоякісного новоутворення.  
9. Спосіб за п. 6, де злоякісне новоутворення являє собою рак стравоходу, мієлому, печінково-клітинний рак, рак підшлункової залози, рак шийки матки, дифузійну ендотеліому кісток, нейробластому, саркому Капоши, рак яєчника, рак молочної залози, рак прямої кишки, рак передміхурової залози, рак сечового міхура, меланому, рак легені - недрібноклітинний рак легені (NSCLC) і дрібноклітинний рак легені (SCLC), рак шлунку, рак голови і шиї, рак головного мозку, рак нирки, лімфому і лейкоз.  
10. Застосування комбінації за будь-яким з пп. 1-3 для приготування лікарського засобу для застосування для забезпечення антиангіогенної дії в теплокровної тварини, такої як людина.  
11. Спосіб за п. 6, де злоякісне новоутворення являє собою рак передміхурової залози.  
12. Спосіб за п. 6, де злоякісне новоутворення являє собою NSCLC.

(13) C2

(11) 82492

(19) UA

13. Спосіб за п. 6, де злякисне новоутворення являє собою рак яєчника.
14. Спосіб за п. 6, де злякисне новоутворення являє собою рак сечового міхура.
15. Спосіб за п. 9, де злякисне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії.

16. Спосіб за п. 9, де злякисне новоутворення знаходиться на неметастатичній стадії.
17. Спосіб за п. 9, де злякисне новоутворення являє собою рак нирки, щитовидної залози, легені, молочної залози або передміхурової залози, який утворює метастази в кістках.

Даний винахід стосується комбінації, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль і інгібітор тирозинкінази (TKI) рецептора фактора росту епідермісу (EGFR) або його фармацевтично прийнятну сіль. Ця комбінація придатна в новому способі лікування або профілактики злякисного новоутворення. Винахід також стосується фармацевтичної композиції, яка містить таку комбінацію, і її застосування для приготування лікарського засобу для застосування для лікування або профілактики злякисного новоутворення, особливо раку передміхурової залози злякисних новоутворень, за приблизними підрахунками, страждають 10млн. людей в усьому світі. Ці дані включають захворюваність, поширення і смертність. В Азії виявлено понад 4,4млн. випадків злякисних пухлин, включаючи 2,5млн. випадків у Східній Азії, яка є регіоном світу з найвищим коефіцієнтом захворюваності. Для порівняння, у Європі виявлено 2,8млн. випадків, у Північній Америці 1,4млн. випадків і в Африці - 627 тисяч випадків.

Наприклад, у Великобританії й у США більше ніж в одній людині з трьох розвивається злякисне новоутворення протягом життя. У США злякисні новоутворення викликають смерть, відповідно до статистики, близько 600 тисяч людей на рік і є причиною смертності в одному з чотирьох випадків, займаючи друге місце за рівнем смертності після серцевих захворювань, а також є другою причиною смертності дітей у віці від 1 до 14 років. Зараз у США щорічно виявляється близько 1млн. 380 тисяч нових випадків захворювань, окрім близько 900 тисяч випадків немеланомних новоутворень шкіри (базальних і плоскоклітинних). Важливою причиною захворюваності у Великобританії, і в 1997 році було зареєстровано близько 260 тисяч нових випадків (окрім немеланомного раку шкіри). Злякисні пухлини є захворюванням, від якого страждають переважно люди літнього віку, близько 65% випадків захворювання виявляється в людей, старше 65. Оскільки очікується збільшення середньої тривалості життя у Великобританії майже в два рази в порівнянні із середньою дев'ятнадцятого століття, то ризик захворювання раком населення зростає. Коефіцієнт смертності від інших захворювань, які викликають смерть, таких як захворювання серця, в останні роки знижується, тоді як смертність від злякисних новоутворень залишається відносно постійною. Це призведе до того, що в одній людині з трьох протягом життя буде діагностовано злякисне новоутворення і одна з чотирьох людей помре від раку. У людей до 75 років смертність від злякисних новоутворень

чисельно перевершує смертність від захворювань серцево-судинної системи, включаючи ішемічну хворобу серця й удар. У 2000 році було зареєстровано 151 тисяч 200 смертей від раку. Більше однієї п'ятої (22%) цих смертей було викликано раком легень і четверта частина (26%) - раком ободової кишки, молочної залози і передміхурової залози.

В усьому світі захворюваність і смертність внаслідок певних типів злякисних новоутворень (шлунка, молочної залози, передміхурової залози, шкіри і т.д.) характеризуються значними територіальними відмінностями, які приписують расовим, культурним впливам і, особливо, впливу навколишнього середовища. Виявлено понад 200 різних типів злякисних новоутворень, але чотири основні типи, а саме легень, молочної залози, передміхурової залози і прямої кишки, становлять більше половини всіх діагностованих випадків раку у Великобританії і США. Рак передміхурової залози займає четверте місце серед злякисних захворювань у чоловіків в усьому світі і щорічно діагностується 400 тисяч нових випадків захворюваності, що становить 3,9% усіх нових виявлених випадків раку.

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

Останнім часом антагоністи рецептора ендотеліну А були ідентифіковані як ефективні засоби при лікуванні злякисних новоутворень [Cancer Research, 56, 663-668, 15-е лютого, 1996 і Nature Medicine, том 1, №9, вересень 1999, 944-949]. Ендотеліни являють собою сімейство ендогенних пептидів, які складаються з 21 амінокислоти, що включає три ізоформи: ендотелін-1 (ЕТ-1), ендотелін-2 і ендотелін-3. Ендотеліни утворюються шляхом розщеплення ендотелінперетворюючим ферментом зв'язку  $\text{Trp}^{21}\text{-Val}^{22}$  їх відповідних проендотелінів. Ендотеліни є одними з найбільш відомих ефективних судинозвужувальних засобів і характеризуються значною тривалістю дії. Також вони мають багато інших дій, включаючи стимулювання проліферації клітин і мітозу, інгібування апоптозу, трансудацію і хемотаксис, а також взаємодіють з багатьма іншими засобами, які впливають на судини, включаючи багатьма тканинами і клітинами, включаючи ендотелій судин, гладенькі м'язи судин, нирки, печінку, матку, дихальні шляхи, кишечник і лейкоцити. Секреція може стимулюватися гіпоксією, вібраційним стресом, фізичною травмою і багатьма гормонами і

цитокінами. Підвищені рівні ендотеліну були виявлені при багатьох хворобливих станах у людей, включаючи злоякісні новоутворення.

Недавно було відкрито, що певні ферменти тирозинкінази факторів росту є важливими для передачі біохімічних сигналів, які викликають поділ клітин. Вони являють собою великі білки, розташовані в клітинній мембрані, які мають позаклітинний зв'язувальний домен для факторів росту, таких як фактор росту епідермісу (EGF), і внутрішньоклітинну частину, яка діє як кіназа, фосфорилуючи амінокислотні залишки тирозину в білках, і в такий спосіб впливає на проліферацію клітин.

Відомі різні класи рецепторних тирозинкіназ [Wilks, *Advances in Cancer Research*, 1993, 60, 43-73], виходячи із сімейств факторів росту, які зв'язуються з різними рецепторними тирозинкіназами. Ця класифікація включає рецепторні тирозинкінази класу I, які включають сімейство EGF рецепторних тирозинкіназ, таких як EGF, TGF $\alpha$ , NEU, erbB, Xmrk, HER і let23 рецептори, рецепторні тирозинкінази класу II, які включають сімейство інсулінів рецепторних тирозинкіназ, таких як інсулін і IGF1 рецептори і рецептор, споріднений інсуліну (IRR), і рецепторні тирозинкінази класу III, які включають сімейство рецепторних тирозинкіназ сімейства фактора росту похідних тромбоцитів (PDGF), таких як PDGF $\alpha$ , PDGF $\beta$  і рецептори колатального зв'язування фактора росту (CSF1). Сімейство рецепторних тирозинкіназ часто зустрічаються в найбільш поширених видах раку епітелію в людей, таких як рак передміхурової залози [Visakorpi і ін., *Histochem. J.* 1992, 24, 481]. Таким чином, загально визнаним є той факт, що інгібітор рецепторних тирозинкіназ є цінним як селективний інгібітор росту певних видів раку.

Раніше було показано, що стимуляція rat-1 клітин фібробластів ендотеліном-1 приводить до трансактивації EGFR в умовах in vitro [Daub, H і ін., *Nature*, 1996, 379:557]. Оскільки системи ендотеліну і EGFR обидві відіграють важливу роль у канцерогенезі, то автори даного винаходу досліджували потенційні можливості комбінованого застосування антагоністів ендотеліну і EGFR TKI для лікування злоякісного новоутворення. Автори даного винаходу несподівано виявили, що комбіноване застосування переважних антагоністів рецепторів ендотеліну або їх фармацевтично прийнятних солей і переважних EGFR TKI або їх фармацевтично прийнятних солей може мати синергетичну і/або адитивну дію при лікуванні злоякісного новоутворення. даним винаходом забезпечується комбінація, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль.

У даному винаході під терміном "комбінація" мають на увазі одночасне, окреме або послідовне введення. В одному варіанті винаходу "комбінація" стосується одночасного введення. В іншому варіанті винаходу "комбінація" стосується окремого введення. В подальшому варіанті винаходу "комбінація" стосується послідовного

введення. Якщо введення є послідовним або окремим, то часовий інтервал для введення другого компонента повинен бути достатнім для збереження корисної синергетичної і/або адитивної дії комбінації.

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

Посилення на злоякісне новоутворення переважно стосується раку стравоходу, мієломи, печінково-клітинного раку, раку підшлункової залози, раку шийки матки, дифузійної ендотеліоми кісток, нейробластоми, саркоми Капоши, раку яєчників, раку молочної залози, раку прямої кишки, раку передміхурової залози, раку сечового міхура, меланоми, раку легені - недрібноклітинного раку легені (NSCLC) і дрібноклітинного раку легені (SCLC), раку шлунка, раку голови і шиї, раку головного мозку, раку нирки, лімфоми і лейкозу. Більш переважно воно стосується раку передміхурової залози. Крім того, воно переважно стосується SCLC, NSCLC, раку прямої кишки, раку яєчників і/або раку молочної залози. Більш переважно воно стосується SCLC. Більш переважно воно стосується NSCLC. Більш переважно воно стосується раку прямої кишки. Крім того, воно більш переважно стосується раку яєчників. Більш переважно воно стосується раку молочної залози. Більш переважно воно стосується раку нирки. Також воно більш переважно стосується раку сечового міхура, раку стравоходу, раку шлунка, меланоми, раку шийки матки і/або раку нирки. Додатково воно стосується раку ендометрію, печінки, шлунка, щитовидної залози, прямої кишки і/або головного мозку. В іншому варіанті здійснення винаходу, злоякісне утворення не являє собою меланому. В іншому варіанті здійснення винаходу переважно злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії і більш переважно рак утворює метастази в кістках. В подальшому варіанті здійснення винаходу переважно злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії і більш переважно рак утворює метастази в шкірі. В подальшому варіанті здійснення винаходу переважно злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії і більш переважно рак утворює метастази в лімфатичній системі. В подальшому варіанті здійснення винаходу злоякісне новоутворення знаходиться на метастатичній стадії лікування злоякісних пухлин, які експресують як ендотелій А, так і EGFR. Це лікування полягає в подовженні одного або декількох критеріїв, таких як реакція-відповідь, ступінь реакції-відповіді, час прогресування захворювань і коефіцієнт виживання. Також додатково вважають, що комбіноване застосування переважних антагоністів рецептора ендотеліну або їх фармацевтично прийнятних солей і переважних EGFR TKI або їх фармацевтично прийнятних солей буде мати корисну дію для запобігання виникнення злоякісного новоутворення в теплокровних тварин, таких як людина.

Придатними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є сполуки, описані в US 5292740, US 5334598, US 5378715, US 5389620, US 5420123, US 5464853, US 5482960, US 5514691, US 5514696, US 5541186, US 5543521, US 5559105, US 5571821, US 5780473, US 5962490, US 5965732, US 6080774, US 6420567, US 2002091272 (A1), WO 93/08799, WO 93/21219, WO 93/23404, WO 93/25580, WO 94/02474, WO 94/03483, WO 94/14434, WO 94/21259, WO 94/21590, WO 94/24084, WO 94/25013, WO 94/27979, WO 95/03044, WO 95/03295, WO 95/04530, WO 95/04534, WO 95/05372, WO 95/05374, WO 95/05376, WO 95/08989, WO 95/12611, WO 95/13262, WO 95/15944, WO 95/15963, WO 96/20177, WO 95/26360, WO 95/26716, WO 95/26360, WO 95/26957, WO 95/33748, WO 95/33752, WO 95/35107, WO 96/04905, WO 96/06095, WO 96/07653, WO 96/08483, WO 96/08486, WO 96/08487, WO 96/09818, WO 96/11914, WO 96/11927, WO 96/12706, WO 96/15109, WO 96/19455, WO 96/19459, WO 96/22978, WO 96/23773, WO 96/30358, WO 96/31492, WO 96/33170, WO 96/33190, WO 96/40681, WO 97/30045, WO 98/09953, WO 95/08550, WO 98/49162, WO 99/06397, WO 01/49685, WO 02/64573, EP 436189, EP 496452, EP 510526, EP 526708, EP 552417, EP 555537, EP 601386, EP 617001, EP 628569, EP 633259, EP 658548, EP 682016, EP 713875, EP 702012, EP 733626, EP 743307, EP 749964, GB 2266890, GB 2275926, GB 2276383, GB 2277446, GB 2295616, DE 4341663, JP 6256261, JP 6122625, JP 7330622, JP 7133254, JP 8059635, JP 7316188, і JP 7258098 і антагоністи рецептора, описані в них, особливо ті, які описані у пункті 1 і вказані в прикладах вищенаведених патентів і заявок, включені в даний винахід шляхом посилання.

Додатковими придатними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є сполуки, описані в статтях у J Med Chem 1996, 39, 2123-2128; 1997, 40, 3, 322-330; 2001, 44, 1211-1216; 2001, 44, 3978-3984 і антагоністи рецептора ендотеліну, описані в них, також включені в даний винахід шляхом посилання.

Подальшими придатними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є A-127722, атрасентан (ABT-627), BQ-123, BQ-788, BMS 182874, фелопрентан, BSF 420627, FR139317, IPI-950, L-749,329, L-754,142, LU 110896, LU 110897, PD 156707, PD 155080, Ro 46-2005, босентан (Ro 47-0203), SB 217242, SB 209670, TAK-044, YM598, сітаксентан (TBC11251), амбрисентан, тезосентан, дарусентан, N-[[2'-[[[(4,5-диметил-3-ізоксазоліл)аміно]сульфоніл]-4-(2-оксазоліл)][1,1'-біфеніл]-2-іл]метил]-N,3,3-триметилбутанамід, ZD1611 і N-(3-метокси-5-метилпіразин-2-іл)-2-(4-[1,3,4-оксадіазол-2-іл]феніл)піридин-3-сульфонамід (ZD4054).

Подальшими придатними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є A-104029, A-158112, A-182086, A-192621, A-201661,

A-203719, A-206377, A-207508, A-308165, ABT-306552, ABT-546, BE-18257B, BQ-017, BQ-145, BQ-238, BQ-518, BQ-928, J-104121, J-104132, J-112287, BSF-461314, BMS-187308, BMS-193884, едонентан, IRL-543, IRL-1722, IRL-1841, TBC-10662, TBC-11040, TBC-11299, TBC-3711, Ro-48-5694, Ro-61790C, VML-588, FR-901367, FR-901533, Ro-46-8443, JPI-616, LU-127043, K-8794, RES 1214-1, RES-1149-1, RES-701-1, RES-701-2, BQ-153, BQ-485, BQ-610, L-744453, L-746072, L-747844, EMD-122801, EMD-122946, EMD-94246, CGP-49941, CGS-27830, IRL-1038, IRL-1666, IRL-3461, PD-102566, PD-152884, PD-155719, PD-156123, PD-156252, PD-159020, PD-159433, PD-160672, PD-160874, PD-162073, PD-163070, PD-166673, PD-155218, CI-1034, PD-142893, PD-145065, PD-151242, PD-159110, PD-161721, PD-163610, PD-164800, RPR-105227, RPR-111613, RPR-110477, Ro-06-2687, Ro-43-1736, Ro-44-9099, Ro-48-5695, SPP-301, 50-235 (Shionogi & Co Ltd), 97-139 (Shionogi & Co Ltd), S-0139, S-1255, SB-255757, SB-215355, SB-234551, SB-247083, SQ-34520, SQ-35469, TAN-2162, T-0201, ATZ-1993, YM-62899 і ZD-2574.

Переважною сполукою, яка має антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є атрасентан (ABT-627) або його фармацевтично прийнятна сіль. Переважною сполукою, яка має антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є YM598 або його фармацевтично прийнятна сіль. Переважною сполукою, яка має антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є ZD4054 або його фармацевтично прийнятна сіль. Переважною сполукою, яка має антагоністичну дію на рецептор ендотеліну, є ZD1611 або його фармацевтично прийнятна сіль.

В іншому варіанті здійснення винаходу антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятна сіль являє собою антагоніст рецептора ендотеліну А. В подальшому варіанті здійснення винаходу антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятна сіль являє собою антагоніст рецептора ендотеліну В. У додатковому варіанті здійснення винаходу антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятна сіль являє собою змішаний антагоніст рецептора ендотеліну А і В.

Придатними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають EGFR TKI дію, є сполуки, описані в EP 0566226, EP 0787722, WO 96/30347, WO 96/33980, WO 97/02266, WO 97/30034, WO 97/38983, WO 98/50038, WO 99/09016, WO 99/24037, WO 99/55683, Nature Medicine, 2000, 6, 1024-1028 і US 6,002,008 і ці EGFR TKI, особливо ті, які описані в пункті 1 і вказані в прикладах вищенаведених патентів і заявок, включені в даний винахід шляхом посилання. Переважними класами EGFR TKI є хіназоліни або їх фармацевтично прийнятні солі.

Переважними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають EGFR TKI активність, є:

N-(3-хлор-4-фторфеніл)-7-метокси-6-(3-морфолінопропокси)хіназолін-4-амін (ZD1839);

N-(3-етинілфеніл)-6,7-біс(2-метоксіетокси)хіназолін-4-амін або його фармацевтично прийнятна сіль (зв'язана з

кодovими номерами CP 358774 і OSI-774 (монометансульфонатна сіль));

6-акриламідo-N-(3-хлор-4-фторфеніл)-7-(3-морфолінопропокси)хіназолін-4-амін (зв'язаний з кодovими номерами PD 183805 і CI 1033);

4-[(1R)-1-фенілетиламіно]-6-(4-гідроксифеніл)-7H-піроло[2,3-d]піримідин (зв'язаний з кодovими номерами PKI-166, CGP 75166 і CGP 59326);

N-[4-(3-броманіліно)хіназолін-6-іл]бут-2-инамід (зв'язаний з кодovими номерами CL-387785 і EKB-785); і

4-(3-хлор-4-фтораніліно)-3-ціано-6-(4-диметиламінобут-2(Е)-енамідo)-7-етоксихінолін (EKB-569).

Подальшими переважними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають EGFR TKI дію, є ZD1839, CP 358774, CI 1033, PKI-166, CL-387785 і EKB-569. Переважною сполукою або її фармацевтично прийнятною сіллю, яка має EGFR TKI дію, є ZD1839 або CP 358774. Більш переважною сполукою або її фармацевтично прийнятною сіллю, яка має EGFR TKI дію, є ZD1839. Подальшими переважними сполуками або їх фармацевтично прийнятними солями, які мають EGFR TKI дію, є BE-23372M, BE-23372M похідні Banyu, BIBX-1382, BBR-1611, наамідин А, AS-23, DAB-720, ADL-681, CGP-52411, CGP-60261, групи CGP-62706, цетуксимаб, PKI-166, CP-292597, ерлотиніб, PD-0158780, hEGF-токсин, Прізм, RG-13022, RG-14620, RG-50875, AG-1478, VRCTC-310, SU-5271. Переважні комбінації згідно із даним винаходом включають:

- ZD4054 або його фармацевтично прийнятну сіль і ZD1839 або його фармацевтично прийнятну сіль;

- ZD4054 або його фармацевтично прийнятну сіль і CP358774 або його фармацевтично прийнятну сіль;

- ZD1611 або його фармацевтично прийнятну сіль і ZD1839 або його фармацевтично прийнятну сіль;

- ZD1611 або його фармацевтично прийнятну сіль і CP358774 або його фармацевтично прийнятну сіль;

- атрасентан або його фармацевтично прийнятну сіль і ZD1839 або його фармацевтично прийнятну сіль;

- атрасентан або його фармацевтично прийнятну сіль і CP 358774 або його фармацевтично прийнятну сіль;

- YM598 або його фармацевтично прийнятну сіль і ZD1839 або його фармацевтично прийнятну сіль; і

- YM598 або його фармацевтично прийнятну сіль і CP 358774 або його фармацевтично прийнятну сіль.

- босентан або його фармацевтично прийнятну сіль і ZD1839 або його фармацевтично прийнятну сіль;

- босентан або його фармацевтично прийнятну сіль і CP 358774 або його фармацевтично прийнятну сіль.

У будь-якій з комбінацій, описаних у даному винаході, включаючи застосування таких комбінацій, наборів або препаратів, які їх містять, і т.д., необов'язково може бути присутня додаткова

сполука або додаткові сполуки (див. далі). Комбінація антагоніста рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятної солі і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятної солі, необов'язково може вводитися в додатковому сполученні з:

i) аналогом LHRH; і / або

ii) бісфосфонатом.

У даному винаході під терміном "LHRH аналог" мають на увазі будь-яку хімічну сполуку або її фармацевтично прийнятну сіль, включаючи невеликі молекули і пептиди, які діють як агоніст або антагоніст на рецептор LHRH, або шляхом взаємодії із зв'язувальним сайтом LHRH або шляхом алостеричного механізму, тобто діють у ділянці рецептора LHRH, що відрізняється від зв'язувального сайту LHRH. В одному варіанті здійснення винаходу "LHRH аналог" стосується антагоніста LHRH або його фармацевтично прийнятної солі. В іншому варіанті здійснення винаходу "LHRH аналог" стосується LHRH агоніста або його фармацевтично прийнятної солі. В подальшому варіанті здійснення винаходу "LHRH аналог" стосується комбінації LHRH антагоніста або його фармацевтично прийнятної солі і LHRH агоніста або його фармацевтично прийнятної солі.

Переважні сполуки або їх фармацевтично прийнятні солі, які мають активність аналогів LHRH, включають Азалін В, А-198401, А-75998, А-76154, А-84861, абарелікс, АН-152, АН-207, Антід, аворелін, цетрорелікс, D-21775, D-23487, D-26344, D-63153, D-85108, дегарелікс, деслорелін, детирелікс, FE 200486, ганірелікс, гонадімун, гозерелін, гістрелін, лейпролід, лейпрорелін, метарелін, нафарелін, NBI-42902 (Neurocrine), Org-30850, PH-45 (Pherin Corp), PTL-03001, раморелікс, RWJ-47428-021, SPD-424, сульфатон, T-66 (Matrix Therapeutics Ltd), TAK-013, TAK-810, теверелікс, трипторелінацетат, трипторелінпамоат, вомероферин або ZK-157348.

Переважними аналогами LHRH є пептиди або похідні пептидів.

Приклади переважних агоністів LHRH включають, але не обмежуючись тільки ними:

i) бузерелін [патент US 4 024 248]

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(Bu)<sup>1</sup>-Leu-Arg-Pro-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

ii) трипторелін [патент US 4 010 125]

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>

iii) лейпрорелін (патент US 4 005 063)

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

iv) гозерелін [патент US 4 100 274]

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(Bu)<sup>1</sup>-Leu-Arg-Pro-(Azygly)NH<sub>2</sub>

v) деслорелін [патент US 4 659 695]

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>

vi) гістерелін [патент US 4 244 946]

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-His(Bzl)-Leu-Arg-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>

vii) аворелін [US 5 668 254]

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp(2-Me)-Leu-Arg-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>

viii) нафарелін [патент US 4 234 571]

(pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Nal(2)-Leu-Arg-Pro-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>;

лутрелін, цисторелін, гонадорелін або детирелікс.

Переважно агоніст LHRH вибраний з лейпрореліну, бузереліну, триптореліну і гозереліну. Найбільш переважно агоніст LHRH являє собою гозерелін.

Приклади придатних антагоністів LHRH включають, але не обмежуючись тільки ними, антид, абарелікс, антарелікс, цетрорелікс, азалін, ганірелікс і ті сполуки, які розкриті в патентах US 5 470 947 (Folkers); 5 413 990 і 5 300 492 (Haviv); 5 371 070 (Koerber); 5 296 468 (Hoeger); 5 171 635 (Janaky); 5 003 011 і 4 431 635 (Coy); 4 992 421 (De); 4 801 577 (Nestor); і 4 851 385, 4 689 396 і 5 843 901 (Roeske).

Подальші приклади придатних антагоністів LHRH включають, але не обмежуючись тільки ними, сполуки, описані в WO 02/066477, WO 02/066478, WO 02/066459, WO 02/092565, PCT/GB 03/003603 і PCT/GB 03/003606, і сполуки, розкриті в цих заявках, особливо сполуки за пунктом 1 і вказані в прикладах, включені в даний винахід шляхом посилання.

"Бісфосфонат" являє собою сполуку або її фармацевтично прийнятну сіль, здатну регулювати вміст катіонів металів (особливо вміст кальцію) у людей, і вона являє собою сполуку, яка містить два вуглець-фосфорні зв'язки. Додаткове пояснення терміну "бісфосфонат" можна знайти в Endocrine Reviews, 1998, 19(1): 80-100, зміст якого включений в дану заявку шляхом посилання.

Переважні бісфосфонати для застосування в даному винаході вибирають з тилудронової кислоти, ібандронової кислоти, інкадренової кислоти, ризедронової кислоти, золедренової кислоти, клодронової кислоти, неридронової кислоти, памідренової кислоти, алендренової кислоти, мінодренової кислоти, олапдренової кислоти, TRK 530, CGP 47072, клодронату кальцію або EB 1053. Подальші переважні бісфосфонати для застосування в даному винаході вибрані з етидренової кислоти, PNU-91638, NE-21650, NE-58025, NE-10790 або NE-10446.

Придатні фармацевтично прийнятні солі включають, наприклад, солі з лужним металом (таким як натрій, калій або літій), лужноземельними металами (такими як кальцій або магній), солі амонію і солі з органічними підставами, які утворюють фізіологічно прийнятні катіони, такі як солі з метиламіном, диметиламіном, триметиламіном, піперидином і морфоліном. Крім того, для тих сполук, які є достатньо основними, придатні фармацевтично прийнятні солі включають фармацевтично прийнятні кислото-адитивні солі з галогенідами водню, сірчаною кислотою, фосфорною кислотою й органічними кислотами, такими як лимонна кислота, малеїнова кислота, метансульфонова кислота і п-толуолсульфонова кислота. Альтернативно, сполуки можуть використовувати для стимуляції клітин і/або для на викликання клітин або індукція апоптотичної реакції-відповіді) комбінації може досліджуватися в умовах in vitro шляхом застосування антагоністів рецептора

ендотеліну і EGFR TKI на культурах ракових клітин людини, які експресують як ендотелій А, так і EGFR.

Таким чином, відповідно до даного винаходу забезпечується комбінація, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль для застосування як лікарський засіб.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу, забезпечується фармацевтична композиція, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу, забезпечується фармацевтична композиція, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм у сполученні з фармацевтичною композицією, яка містить EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм відповідно до даного винаходу забезпечується спосіб лікування злоякісного новоутворення в теплокровній тварині, такої як людина, яка має потребу в такому лікуванні, який передбачає введення вказаній тварині ефективної кількості антагоніста рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятної солі в сполученні з ефективною кількістю EGFR TKI або його фармацевтично прийнятної солі.

Для запобігання невизначеності, при згадуванні лікування злоякісного новоутворення мається на увазі, що воно також стосується запобігання метастазам і лікування метастаз, тобто поширення раку. Таким чином, комбінація згідно із даним винаходом може застосовуватися для лікування пацієнта, у якого не виявлені метастази для призупинення їх прояву або для збільшення періоду часу, протягом якого вони виявляються, а також для лікування пацієнта, у якого вже діагностовані метастази для їх лікування. Крім того, лікування злоякісного новоутворення також стосується лікування вже сформованої первинної пухлини або пухлин та первинної пухлини або пухлин, які розвиваються. В одному варіанті здійснення винаходу лікування злоякісного новоутворення стосується запобігання метастазам. В іншому варіанті здійснення винаходу лікування злоякісного новоутворення стосується лікування метастаз. В іншому варіанті здійснення винаходу лікування злоякісного новоутворення стосується лікування вже сформованої первинної пухлини або пухлин чи первинної пухлини або пухлин, які розвиваються. У даному винаході лікування злоякісного новоутворення також стосується запобігання злоякісному новоутворенню. Злоякісного новоутворення також стосується забезпечення антиангіогенної дії в теплокровній тварині.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується набір, який містить антагоніст рецептора ендотеліну або його

фармацевтично прийнятну сіль і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль; необов'язково разом з інструкціями для застосування.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується набір, який містить:

а) антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль у першій одиничній дозованій формі;

б) EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у другій одиничній дозованій формі; і містить, у якій містяться вказані перша і друга дозовані форми; і необов'язково

d) з інструкціями для застосування.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується набір, який містить:

а) антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль разом з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм у першій одиничній дозованій формі;

б) EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у другій одиничній дозованій формі; і містить, у якій містяться вказані перша і друга дозовані форми; і необов'язково

d) з інструкціями для застосування.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу, забезпечується фармацевтична композиція, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування для лікування злоякісного новоутворення.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення винаходу, забезпечується фармацевтична композиція, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм у комбінації з фармацевтичною композицією, яка містить EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у сполученні з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм для застосування для лікування злоякісного новоутворення.

Фармацевтичні композиції можуть знаходитися у формі, яка підходить для перорального введення, наприклад, у вигляді таблетки або капсули, для парентерального введення (включаючи внутрішньовенне, підшкірне, внутрішньом'язове, внутрішньосудинне введення або інфузію) у вигляді стерильного розчину, суспензії або емульсії, для місцевого введення у вигляді мазі або паст, або для ректального введення у вигляді супозиторію. Загалом, вищенаведені композиції можуть бути приготовлені звичайним способом при використанні звичайних фармацевтичних носіїв. Фармацевтична композиція в основі ZD4054 у вигляді таблетки може бути приготовлена, використовуючи такі наповнювачі:

ZD4054;

моногідрат лактози (наповнювач);

кроскармелоза натрію (засіб, який розпадається);

повідон (в'язуче);

стеарат магнію (змащувальна речовина); гіпромелоза (компонент плівкового покриття); поліетиленгліколь 300 (компонент плівкового покриття); і

діоксид титану (компонент плівкового покриття).

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується набір, який містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль; необов'язково з інструкціями для застосування; для застосування для лікування злоякісного новоутворення.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується набір, який містить:

а) антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль у першій одиничній дозованій формі;

б) EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у другій одиничній дозованій формі; і містить, у якій містяться вказані перша і друга дозовані форми; і необов'язково

d) з інструкціями для застосування;

для застосування для лікування злоякісного новоутворення.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується набір, який містить:

а) антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль разом з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм у першій одиничній дозованій формі;

б) EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль у другій одиничній дозованій формі; і містить, у якій містяться вказані перша і друга дозовані форми; і необов'язково

d) з інструкціями для застосування;

для застосування для лікування злоякісного новоутворення.

Відповідно до іншого варіанта здійснення винаходу, забезпечується застосування антагоніста рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятної солі в комбінації з EGFR TKI або його фармацевтично прийнятною сіллю для приготування лікарського засобу для застосування для лікування злоякісного новоутворення в теплокровної тварини, такої як людина.

Відповідно до іншого варіанта здійснення винаходу, забезпечується застосування антагоніста рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятної солі в комбінації з EGFR TKI або його фармацевтично прийнятною сіллю для лікування злоякісного новоутворення в теплокровної тварини, такої як людина.

Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується комбінація, яка містить антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятну сіль і EGFR TKI або його фармацевтично прийнятну сіль для застосування для лікування злоякісного новоутворення. Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, забезпечується комбіноване лікування, яке передбачає введення ефективною кількістю антагоніста рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятної солі

необов'язково разом з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм у сполученні з ефективною кількістю EGFR TKI або його фармацевтично прийнятною солі необов'язково разом з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм теплокровній тварині, такий як людина, яка має потребу в такому терапевтичному лікуванні, для застосування для лікування злоякісного новоутворення.

Антагоніст рецептора ендотеліну або його фармацевтично прийнятна сіль звичайно вводиться теплокровній тварині в стандартній дозі 1г або менше щодня, однак більше ніж 2,5мг і звичайно вона є терапевтично ефективною дозою. Однак, добова доза обов'язково залежить від організму, який піддається лікуванню, конкретного шляху введення і тяжкості захворювання, яке піддається лікуванню. Отже, оптимальна доза може бути визначена лікуючим лікарем індивідуально для кожного пацієнта. Переважно, антагоніст ендотеліну може вводиться теплокровній тварині в стандартній дозі менше 250мг на добу. В іншому варіанті здійснення винаходу антагоніст ендотеліну може вводиться теплокровній тварині в стандартній дозі менше 130мг на добу. В подальшому варіанті здійснення винаходу антагоніст ендотеліну може вводиться теплокровній тварині в стандартній дозі менше 50мг на добу, або його фармацевтично прийнятна сіль звичайно вводиться теплокровній тварині в стандартній дозі, наприклад приблизно від 20мг до 1г активного компонента. Якщо EGFR TKI являє собою ZD1839, то для перорального введення може застосовуватися звичайна лікарська форма у вигляді таблетки, яка містить 50мг, 100мг, 250мг або 500мг активного компонента. Підходяще добова пероральна доза ZD1839 становить близько 150мг, наприклад, знаходиться в діапазоні від 150 до 750мг, переважно знаходиться в діапазоні від 200 до 500мг. Для одичинної лікарської форми активні компоненти можуть змішуватися з придатною і прийнятною кількістю наповнювачів, які можуть змінюватися приблизно від 5 до 98% за масою від загальної маси композиції. Стандартні дозовані форми, як правило, можуть містити приблизно від 20мг до 500мг кожного активного компонента. Однак, добова доза обов'язково залежить від організму, який піддається лікуванню, конкретного шляху введення і тяжкості захворювання, яке піддається лікуванню. Отже, оптимальна доза може бути визначена лікуючим лікарем індивідуально для кожного пацієнта. Дозування кожного з двох лікарських засобів і їх співвідношення повинні складатися таким чином, щоб забезпечити максимально можливу лікувальну дію, яка визначається відповідно до національних і міжнародних посібників (які періодично рецензуються і перевидаються).

Підпису на фігурах

Фігура 1: За допомогою вестерн-блотингу показано, що ET-1 стимулює MC-3T3. E1/J1 p44/42 MAPK фосфорилування.

Фігура 2: За допомогою вестерн-блотингу показано, що EGF стимулює MC-3T3. E1/J1 EGFR<sup>tyr1173</sup> фосфорилування.

Фігура 3: За допомогою вестерн-блотингу показано, що EGF стимулює MC-3T3. E1/J1 AKT і p44/42 MAPK фосфорилування.

Наступне дослідження здійснювали для підтвердження участі MAPK в обох ET-1 і EGF шляхах передачі сигналів остеобластів.

Клітинну лінію MC3T3. E1/J1 виділяли з батьківської клітинної лінії MC3T3-E1 (доступної з Invitrogen), яка, у свою чергу, була отримана з C57BL/6 склепіння черепа новонароджених мишей. Лінія MC3T3 E1/J1 описана як лінія остеобластів. Слід врахувати, що в культурі не можна застосовувати середовище з рН, що перевищує 7,5 або дозволяти клітинам зливатися, тому що це викликає втрату здатності до диференціації з утворенням фібробластного фенотипу. Така реверсія до фібробластного фенотипу є характерною рисою культур клітин остеобластів. MC3T3.E1/J1 витримували, як прийнято, у повному середовищі ( $\alpha$ -модифіковане мінімальне основне середовище Ігла + 10% фетальна теляча сироватка + 1% глутамін + 10% M1). Клітини MC3T3.E1/J1 поміщали при щільності  $1,7 \times 10^4$  клітин/лунку (24-лункові планшети) у повне середовище і інкубували при 37°C у 5% CO<sub>2</sub> протягом 48 годин. Клітини двічі промивали у фосфатно-сольовому буферному розчині і повторно інкубували приблизно протягом 17 годин у середовищі, збідненім сироваткою ( $\alpha$ -модифіковане мінімальне основне середовище Ігла + 10% глутамін). стимулювали фактором росту (ET-1 або EGF) протягом 3 хвилин. Після цього все середовище видаляли і клітини двічі лізували в буфері Лемлі. Потім здійснювали електрофорез і вестерн-блотинг, мембрани досліджували з фосфо-p44/42 білковою кіназою, яка активує мітоз (MAPK)<sup>(Thr202/204)</sup>, фосфор-AKT<sup>(Ser 473)</sup> і фосфо-EGF рецептор<sup>(tyr 1173)</sup> специфічними антитілами.

Результати

Див. прикладені фігури

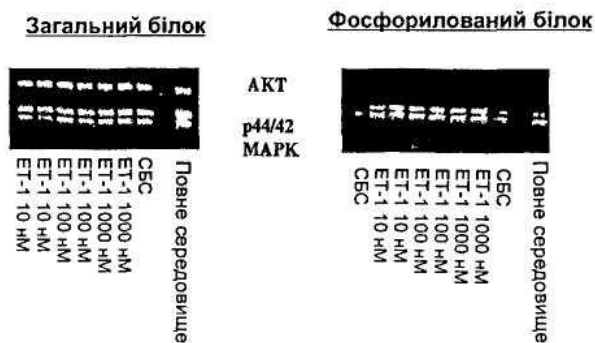
Висновки

Нами було показано, що EGF однаково стимулює проліферативні шляхи передачі сигналів і шляхи передачі сигналів виживання в остеобластах як ET-1. Було показано, що MAPK бере участь у стимуляції проліферації остеобластів, а також у стимуляції вироблення факторів росту, що призводить до виживання пухлинних клітин у кістках<sup>(1,2)</sup>. Антагоністи ендотеліну є ефективними інгібіторами опосередкованої ET-1 активації MAPK в остеобластах. Таким чином, комбіноване лікування за допомогою антагоніста ендотеліну і EGFR TKI позитивно впливає на запобігання патологічній кістковій інвазії.<sup>(1,2)</sup> Kawanishi et al. (1999) "Involvement of p42/p44 MAP kinase in endothelin-1-induced interleukin-6 synthesis in osteoblast-like cells" Bone 24: 315-320

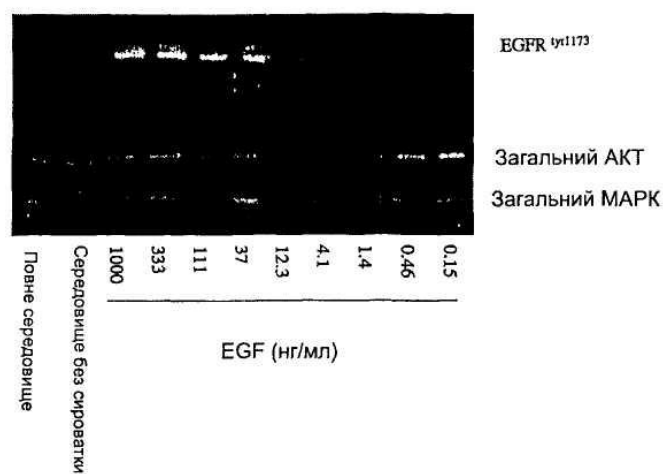
<sup>2</sup> Gonzalez, E i ін. (1996). "Retinoids Modulate the effect of PTH and Calcitriol on EGF Receptor Expression in UMR 106-01 Cells." Calcif Tissue Int 58 (6): 429-434.



# Фігура 1



# Фігура 2



# Фігура 3

