

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11)

**023404**

(13)

**B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации  
и выдачи патента: **2016.05.31**

**(21)** Номер заявки: **201391114**

**(22)** Дата подачи: **2012.02.02**

**(51)** Int. Cl. **A61K 31/00** (2006.01)  
**A61K 31/506** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

**(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКИХ**

**(31)** 61/438,878

**(32)** 2011.02.02

**(33)** US

**(43)** 2013.12.30

**(86)** PCT/US2012/023669

**(87)** WO 2012/106540 2012.08.09

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**НОВАРТИС АГ (CH)**

**(72)** Изобретатель:  
**Ли Наньсинь, Харрис Дженнифер Л.,  
МакНамара Питер, Сунь Фансянь (US)**

**(74)** Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

**(56)** WO-A2-2008073687

LI YONGJUN ET AL.: "Evaluation of EML4-ALK fusion proteins in non-small cell lung cancer using small molecule inhibitors", NEOPLASIA, vol. 13, no. 1, January 2011 (2011-01), pages 1-11, XP002672742, NEW YORK, N.Y. ISSN: 1476-5586 abstract; last of introduction; p. 6, bridging col. 1 and 2; p. 9, col. 1, last

SEN ZHANG ET AL.: "Crizotinib-Resistant Mutants of EML4-ALK Identified Through an Accelerated Mutagenesis Screen", CHEMICAL BIOLOGY & DRUG DESIGN, vol. 78, no. 6, 1 December 2011 (2011-12-01), pages 999-1005, XP055023162, ISSN: 1747-0277, DOI: 10.1111/j.1747-0285.2011.01239.x table 1; p. 1004, first full

KATAYAMA RYOHEI ET AL.: "Therapeutic strategies to overcome crizotinib resistance in non-small cell lung cancers harboring the fusion oncogene EML4-ALK", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 108, no. 18, May 2011 (2011-05), pages 1-6, XP002672743, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1019559108 abstract; p. 3, second full to p. 4 bridging; title

**(57)** Изобретение относится к применению 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамина или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-она или их фармацевтически приемлемых солей для лечения EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких, для производства лекарственного средства для лечения EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких. Изобретение также относится к способу лечения опосредованного EML4-ALK<sup>+</sup> состояния немелкоклеточного рака легких, включающему введение индивидууму указанных соединений или их фармацевтически приемлемых солей. EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточный рак легких может быть устойчив к кризотинибу.

**023404**

**B1**

**B1**

**023404**

### Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка заявляет приоритет заявки 61/438878, поданной 2 февраля 2011 г., которая настоящим включается в данную заявку посредством ссылки во всей своей полноте.

### Область техники

Настоящее изобретение относится к области использования ALK-ингибиторов в качестве лекарственных препаратов.

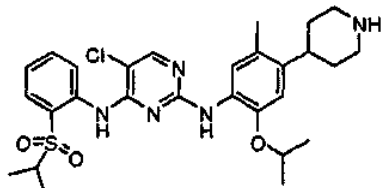
### Предшествующий уровень техники

В западных странах рак легких остается ведущей причиной смертности от онкологических заболеваний. (Jemal et al., CA Cancer J. Clin. 56, 106-130 (2006)). Пациентов с немелкоклеточным раком легких (NSCLC), число которых составляет ~80% от общего числа больных раком легких, часто диагностируют на поздних стадиях болезни. Учитывая, что современные химиотерапии лишь в незначительной степени улучшают исход таких пациентов, их средняя продолжительность жизни после постановки диагноза составляет меньше одного года (Schiller et al., N. Engl. J. Med. 346, 92-98 (2002)). Поэтому постоянно требуются новые терапевтические препараты для пациентов с раком легких. В ходе клинических исследований ингибитор с-MET/ALK-киназы кризотиниб продемонстрировал значимую активность у пациентов с EML4-ALK. Однако также отмечался рецидив (или вторичная резистентность). Таким образом, до сих пор востребованы лекарственные препараты для пациентов, несущих слияние EML4-ALK.

### Описание изобретения

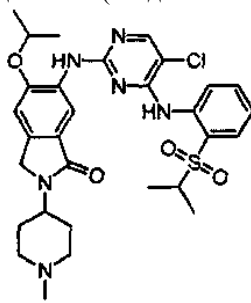
В настоящем изобретении предложены соединения и фармацевтические композиции для лечения опосредованных EML4-ALK<sup>+</sup> состояний, например EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких (NSCLC).

В одном из аспектов изобретения предложен способ лечения опосредованных EML4-ALK<sup>+</sup> состояний, такого как EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких, необязательно устойчивого к кризотинибу, включающий в себя введение в клетку или индивидууму такого соединения, как 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин (соединение 1)



ИЛИ

6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он (соединение 6)



или их фармацевтически приемлемых солей.

В другом аспекте в изобретении предложено применение таких соединений, как 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или их фармацевтически приемлемых солей, для лечения EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких, в частности устойчивого к кризотинибу.

В следующем аспекте в изобретении предложено применение таких соединений, как 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или их фармацевтически приемлемых солей, в производстве лекарственного средства для лечения опосредованных EML4-ALK<sup>+</sup> состояний, такого как EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких, в частности устойчивого к кризотинибу.

В любом из выше перечисленных способов и применений указанные соединения можно вводить в клетку или организм млекопитающего, в частности организм человека или животного.

### Краткое описание фигур

Фиг. 1 показывает противоопухолевую активность соединения 1 на мышинной модели NCI-H2228 NSCLC при дозировке 1 раз в день.

Фиг. 2 и 3 показывают противоопухолевую активность соединения 1 в отношении роста опухоли в кризотиниб-устойчивых NCI-H2228 опухолях.

### Способы осуществления изобретения

Генетические аномалии на ALK-генном локусе были описаны с целью их связывания с несколькими видами рака. Благодаря хромосомной перестройке слияние гена белка иглокожих, ассоциированного с микротрубочками, тип 4 (EML4)-ALK, было описано у группы пациентов с немелкоклеточным раком легких (NSCLC) (Soda et al., Nature 448, 561-566 (2007)). Амплификация, увеличение числа копий и точечные мутации гена ALK были описаны у ряда нейробластом. Благодаря хромосомным перестройкам 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или их фармацевтически приемлемые соли можно использовать для лечения пациентов, имеющих слияние генов ALK, например NSCLC пациентов с EML4-ALK, имеющих амплификацию гена, увеличение числа генов и точечные мутации гена ALK, таких как пациенты с нейробластомой, или других пациентов с опухолями, характеризующимися генетическими аномалиями гена ALK или усиленной экспрессией ALK по сравнению с таковой в нормальной ткани.

С одной стороны, в изобретении предложен способ лечения опосредованных EML4-ALK<sup>+</sup> состояний, например EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких (NSCLC), необязательно устойчивого к кризотинибу, включающий в себя введение в клетку или индивидууму такого соединения, как 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или их фармацевтически приемлемых солей.

WO 2008/07368 A1 раскрывает процесс получения указанных соединений. Как показано на фиг. 1, соединение формулы 1 вызвало полную регрессию опухоли (T/C=100%) на мышинной модели NCI-H2228 NSCLC при дозировке 25 мг/кг (орально) раз в день в течение двух недель. Как показано на фиг. 2 и 3, соединение 1 показало значительную противоопухолевую активность в отношении роста опухоли в кризотиниб-устойчивых NCI-H2228. Действие этого соединения изучали в ходе клинических испытаний на резистентных к кризотинибу и пациентах, ранее не получавших кризотиниб.

В основном, соединения 1 и 6 вводят в терапевтически эффективных количествах как отдельно, так и в комбинации с одним и более терапевтическими средствами, посредством любого используемого и применимого способа, известного из уровня техники. Терапевтически эффективные количества могут широко варьироваться в зависимости от тяжести заболевания, возраста и состояния здоровья индивидуума, активности используемого соединения и других факторов, известных специалистам в данной области. Например, для лечения неопластических заболеваний и расстройств иммунной системы требуемая дозировка также варьируется в зависимости от способа введения, конкретного состояния и желаемого эффекта.

Пример 1. Противоопухолевая активность на мышинной модели NCI-H2228 NSCLC.

Рост клеток *in vitro* и пролиферация.

NCI-H2228 клетки были получены из американских коллекций типовых культур (ATCC) (Манасса, США) и модифицированы путем вирусной инфекции до стабильно экспрессирующих люциферазу. В ходе исследований клеточного роста и пролиферации 2250 клеток в 50  $\mu$ L раствора RPMI (Gibco, Carlsbad, CA), содержащего 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Gibco, Carlsbad, CA), были помещены при помощи  $\mu$ -Fill оборудования (Bio-Tek) в белые 384-луночные планшеты с твердым дном (Corning, Acton, MA). Перед добавлением соединения при помощи MiniTrak оборудования (Perkin-Elmer) планшеты инкубировали в течение 1 ч при 37°C в инкубаторе культуры клеток ткани. 50 nL соединения в чашках Петри, разведенного 1:3, добавляли в аналитические планшеты с получением итоговых концентраций: 10000, 3333, 1111, 370, 123, 41, 14, 4,6, 1,5, 0,5 и 0,17 nM. После добавления соединения планшеты инкубировали в течение 3 дней при 37°C в инкубаторе культуры клеток ткани. На 3 день планшеты анализировали на клеточный рост и пролиферацию путем измерения активности люциферазы в каждой отдельной лунке. Подробнее, 25 мкл BRIGHT-GLO® (Promega, Madison, WI) или BRITELITE™ (PerkinElmer, Waltham, Massachusetts) добавляли в каждую лунку. После 10 мин инкубации при комнатной температуре планшеты исследовали при помощи Analyst-GT или Envision plate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). IC<sub>50</sub> интерполировали как значение концентрации соединения, требуемого для уменьшения клеточного роста и пролиферации до 50% к DMSO контролю.

Модель подкожного ксенотрансплантата опухоли, извлеченной из NCI-H2228 клеток.

В день имплантации NCI-H2228 клетки собрали при помощи 0,05% Trypsin/EDTA и повторно суспендировали в смеси бессывороточной питательной среды RPMI 1640 и матригеля (BD Biosciences #354234, La Jolla, CA) в соотношении 1:1. Пять миллионов клеток подкожно имплантировали в правый задний пах SCID мыши бежевого окраса. Когда размер опухолей достиг объема 300-400 мм<sup>3</sup>, опухоли извлекли и разрезали на маленькие части объема 1-2 мм<sup>3</sup> в питательной среде для проведения подкожной имплантации. После того как опухоли трижды пересадили в SCID мышей бежевого окраса, опухоли рас-

сматривали в качестве основных опухолей для изучения имплантации. Части опухолей держали в смеси бессывороточной питательной среды RPMI 1640 и матригеля в соотношении 1:1 на водном льду для имплантации в SCID мышей бежевого окраса. Имплантация в безтимусных мышей: две-три части опухоли со смесью матригеля подкожно имплантировали в правый пах мыши. После имплантации опухоли трижды в неделю измеряли кронциркулем до тех пор, пока опухоли не стали пальпируемыми.

SCID мышей бежевого окраса, имеющих H2228 опухоли, в случайном порядке разделили на 5 групп (n=4 мыши на группу) со средним объемом опухоли  $85 \pm 35 \text{ мм}^3$ . Тестируемое соединение вводили путем орального принудительного питания. На 14-й день оценивали концентрацию соединения в опухолях самок SCID мышей бежевого окраса. Рост опухоли подсчитывали при помощи % T/C, как описано ниже:  $\% T/C = (\Delta T / \Delta C) \times 100$ , где  $\Delta T > 0$ ; или  $\% T/C = (\Delta T / \Delta TI) \times 100$ , где  $\Delta T < 0$ . Изменения в объеме опухоли ( $\Delta$  объемы) для каждой обработанной (Т) и контрольной (С) групп подсчитывали каждый день, опухоли измеряли путем вычитания медианы объема опухоли в день первой обработки (день стадирования опухоли) из медианы объема опухоли в определенный день наблюдения.

Как показано в таблице, соединения 1 и 6 ингибируют рост *in vitro* и пролиферацию человеческих клеток линии NCI-H2228 с EIML4-ALK, извлеченных из NSCLC.

	IC <sub>50</sub> (нМ)
5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)-фенил]-пиримидин-2,4-диамин (Соединение 1)	11 нМ
6-{5-Хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)-финиламино]-пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метил-пиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он (Соединение 6)	16 нМ

В это время соединение 1 тестировали на модели ксенотрансплантата на мышах путем подкожной имплантации фрагмента ткани опухоли NCI-H2228. Как показано на фиг. 1, соединение 1 вызвало полную регрессию опухоли при дозировке 25 мг/кг (орально) раз в день в течение 2 недель. Соединение хорошо переносилось животными, потеря животными в весе не наблюдалось.

Пример 2. Противоопухолевая активность в кризотиниб-устойчивых опухолях.

Ксенотрансплантаты опухолей мышей, извлеченные из NCI-H2228, непрерывно обрабатывали кризотинибом 50 мг/кг в течение 9 дней, затем 75 мг/кг в течение 9 дней и затем 100 мг/кг в течение 33 дней. В качестве альтернативы после того как ксенотрансплантаты опухолей, извлеченные из NCI-H2228, обрабатывали кризотинибом 100 мг/кг в течение 14 дней, обработку кризотинибом прекращали на несколько дней до тех пор, пока опухоли не увеличивались повторно. После повторного увеличения опухолей животных обрабатывали кризотинибом 100 мг/кг до тех пор, пока опухоли не становились устойчивыми к обработке кризотинибом. После того как опухоли становились устойчивыми к обработке кризотинибом, опухоли определенного животного извлекали. Несколько таких опухолей случайным образом отбирали для дальнейших исследований, описанных ниже. Каждую устойчивую опухоль разрезали на маленькие части в ходе сбора ткани и имплантировали 5 животным; после того как у 5 животных размер опухоли достаточно увеличился, опухоли извлекали и затем имплантировали 25 животным для исследования соединения. Часть извлеченных опухолей также использовали для экстракции РНК и затем для установления последовательности EML4-ALK транскрипта.

Как показано на фиг. 2, (5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин (соединение 1) продемонстрировало значительную противоопухолевую активность в отношении роста опухоли в кризотиниб-устойчивых NCI-H2228. В других кризотиниб-устойчивых NCI-H2228 опухолях соединение 1 продемонстрировало большую активность, чем кризотиниб - 100 мг/кг (фиг. 3). На основании 4-недельных GLP токсикологических исследований, концентрация соединения 1, соответствующая 50 мг/кг для мышей, была предположительно ниже концентрации MTD для людей.

Понятно, что примеры и варианты осуществления данного изобретения описаны в данном документе только для иллюстрации целей изобретения, различные модификации и их незначительные изменения будут предложены специалистам в данной области и включены в область данной заявки и содержание прилагаемых пунктов патентной формулы. Все публикации, патенты и патентные заявки, упомянутые в данном документе, включаются в данную заявку посредством ссылки во всей своей полноте.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения для лечения EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких, где соединение представляет собой 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-

сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил-амино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или их фармацевтически приемлемые соли.

2. Применение по п.1, где указанное соединение представляет собой 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Применение по п.1, где указанное соединение представляет собой 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или его фармацевтически приемлемую соль.

4. Применение по любому из пп.1-3, где EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточный рак легких устойчив к кризотинибу.

5. Применение соединения для производства лекарственного средства для лечения EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточного рака легких, где соединение представляет собой 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или их фармацевтически приемлемые соли.

6. Применение по п.5, где указанное соединение представляет собой 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или его фармацевтически приемлемую соль.

7. Применение по п.5, где указанное соединение представляет собой 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или его фармацевтически приемлемую соль.

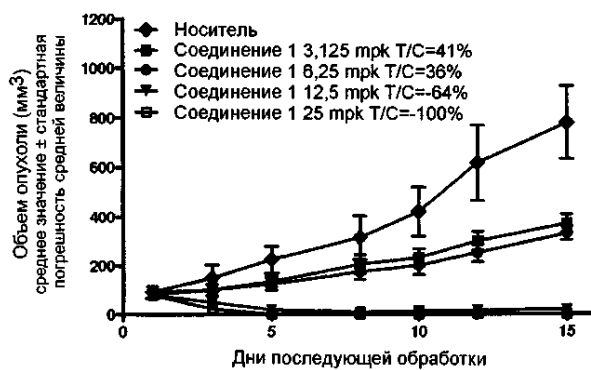
8. Применение по любому из пп.5-7, где EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточный рак легких устойчив к кризотинибу.

9. Способ лечения опосредованного EML4-ALK<sup>+</sup> состояния немелкоклеточного рака легких, включающий введение индивидууму соединения, выбранного из 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамина или 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-она или их фармацевтически приемлемых солей.

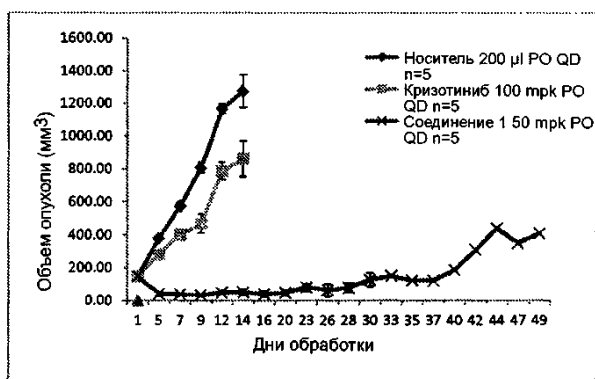
10. Способ по п.9, где указанное соединение представляет собой 5-хлоро-N2-(2-изопропокси-5-метил-4-(пиперидин-4-ил)фенил)-N4-[2-(пропан-2-сульфонил)фенил]пиримидин-2,4-диамин или его фармацевтически приемлемую соль.

11. Способ по п.9, где указанное соединение представляет собой 6-{5-хлоро-4-[2-(пропан-2-сульфонил)фениламино]пиримидин-2-иламино}-5-изопропокси-2-(1-метилпиперидин-4-ил)-2,3-дигидроизоиндол-1-он или его фармацевтически приемлемую соль.

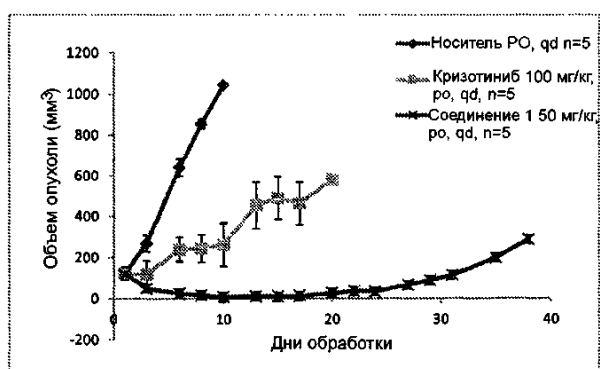
12. Способ по любому из пп.9-11, где EML4-ALK<sup>+</sup> немелкоклеточный рак легких устойчив к кризотинибу.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

